



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA

LETÍCIA KENIA BESSA DE OLIVEIRA

**NANOBIOESTIMULANTE À BASE DE *CARBON DOTS* EM PLANTAS DE FEIJÃO-
CAUPI SOB ESTRESSE SALINO: ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS,
BIOQUÍMICOS, METABÓLICOS E PRODUTIVOS**

FORTALEZA

2024

LETÍCIA KENIA BESSA DE OLIVEIRA

NANOBIOESTIMULANTE À BASE DE *CARBON DOTS* EM PLANTAS DE FEIJÃO-
CAUPI SOB ESTRESSE SALINO: ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS,
METABÓLICOS E PRODUTIVOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fitotecnia – Fisiologia, bioquímica e biotecnologia vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosilene Oliveira Mesquita

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O48n Oliveira, Letícia Kenia Bessa de.
Nanobioestimulante à base de carbon dots em plantas de feijão-caupi sob estresse salino : aspectos morfofisiológicos, bioquímicos, metabólicos e produtivos / Letícia Kenia Bessa de Oliveira. – 2024.
117 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Rosilene Oliveira Mesquita.
1. Melhorador Fisiológico. 2. Salinidade. 3. Nanopartículas de Carbono. 4. *Vigna unguiculata* L. Walp. .
I. Título.

CDD 630

LETÍCIA KENIA BESSA DE OLIVEIRA

NANOBIOESTIMULANTE À BASE DE *CARBON DOTS* EM PLANTAS DE FEIJÃO-
CAUPI SOB ESTRESSE SALINO: ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS,
METABÓLICOS E PRODUTIVOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fitotecnia – Fisiologia, bioquímica e biotecnologia vegetal.

Aprovada em: 15/06/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Rosilene Oliveira Mesquita (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Claudivan Feitosa de Lacerda
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Aiala Vieira Amorim
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr^ª. Stelamaris de Oliveira Paula Marinho
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Dr^ª. Adriana Guirado Artur
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Osana Bessa e Ernandes Oliveira, à minha irmã, Brena Shellem, e ao meu noivo, Bruno Alves.

Às minhas avós, Francisca e Zeca, e à minha tia Teresinha Mateus (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e saúde, por sua infinita bondade, misericórdia, amor e proteção. Agradeço por ter sido minha fortaleza e por ter me dado coragem, sabedoria, paciência e discernimento para perseverar em minha jornada acadêmica, mostrando-me que sou capaz de enfrentar e vencer qualquer desafio.

Aos meus amados pais, Francisco Ernandes de Oliveira e Maria Osana Bessa da Silva Oliveira, por todo incentivo, esforço, confiança, educação, ensinamentos e apoio incondicional durante toda a minha vida. À minha irmã, Brena Shellem Bessa de Oliveira, pela amizade, força, companheirismo e encorajamento.

Ao meu noivo, Bruno Alves Sousa da Silva, por ter me ajudado na condução do experimento, por toda compreensão e paciência, por me ajudar a superar as dificuldades, por ser meu maior incentivador, por acreditar em meu potencial e por me ajudar a realizar meus sonhos.

À toda minha família, em especial, às minhas avós Francisca e Maria José ‘Zeca’ e à minha tia Teresinha Mateus (in memorian), mulheres de força e garra, que foram exemplos de caráter, dignidade e incentivo à educação. O orgulho que cada uma delas sentia em me ver estudando e me destacando transbordava, o que me dava ainda mais vontade de vencer através dos estudos. Tenho certeza que elas ficariam radiantes em saber que estou me tornando a primeira doutora da família.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) pelo acolhimento, apoio, suporte e disponibilização do espaço para realização do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisa do doutorado e por todo suporte dado a mim enquanto pesquisadora.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Krilltech, empresa brasileira desenvolvedora do produto Arbolin Biogenesis, pelo apoio, ajuda e disponibilização da nanotecnologia Arbolina utilizada e testada nesse trabalho de tese.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia (PPGAF), representado por seus professores, coordenadores e colaboradores, por todo reconhecimento, ajuda e empenho em minha formação acadêmica e profissional. Em especial, agradecer ao professor e

ex-coordenador Wagner Melo por seu incentivo, ajuda, esforço e apoio durante toda a minha jornada acadêmica no PPGAF; e ao professor Márcio Cleber, que foi meu orientador durante os primeiros dois anos do doutorado, por todo conhecimento a mim repassado e por toda compreensão e apoio.

À minha querida orientadora Rosilene Oliveira Mesquita, por quem tenho profundo respeito, admiração e carinho. Agradeço pela receptividade, paciência, confiança, consideração, apoio, ensinamentos e oportunidades de crescimento pessoal e profissional. Agradeço também por todo suporte a mim concedido para que eu conseguisse alcançar grandes voos.

Aos membros participantes da banca examinadora, Claudivan Feitosa de Lacerda, Aiala Vieira Amorim, Stelamaris de Oliveira Paula Marinho e Adriana Guirado Artur, pela disponibilidade de tempo para a realização das devidas correções, por todo conhecimento repassado e por terem dividido comigo este momento tão importante e esperado.

Aos professores do departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC, Dr. Humberto Henrique de Carvalho e Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda, por permitirem o uso dos Laboratórios de Fisiologia Vegetal e Fisiologia Pós-Colheita para a realização das análises necessárias.

Aos amigos do meu grupo de pesquisa, Rafael Santiago, Johny Souza e Bruna Alves, por toda a parceria, ajuda e amizade. Por darem força, ânimo e leveza nos dias difíceis e por terem sido peças fundamentais na condução do experimento e das análises laboratoriais.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Daniela Freitas e Sávio Justino, por me acompanharem durante as análises bioquímicas e pelo conhecimento repassado. Aos colegas Domingos e Jesimiel, pela disponibilidade de tempo e ajuda com as análises metabólicas. Aos bolsistas e ex-bolsistas do PET Agronomia, Brena Barbosa, Ana Beatriz, Késsia Vanessa, Felipe Jader, por terem ajudado no experimento de campo e pelo companheirismo.

Aos demais colegas da UFC, Lucas Lobo, Andreza Mendonça, Caris Viana, Fernanda Carla, Ingrid Pinheiro, Larissa Alves, Arnaldo Sales e Vieira, que participaram da minha formação acadêmica e compartilharam momentos alegres e descontraídos.

A todos que não foram aqui mencionados, mas que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização dessa etapa tão importante em minha vida.

Todo amanhã se cria num ontem, através de um hoje. É preciso saber o que fomos para entender o que somos e ter clareza do que queremos ser. (Paulo Freire).

RESUMO

Os bioestimulantes vegetais estão sendo cada vez mais utilizados para potencializar a produção agrícola e melhorar o desempenho das plantas cultivadas sob condições adversas, tais como o estresse abiótico induzido pela salinidade. Estudos recentes indicam que bioestimulantes à base de nanopartículas de carbono, por exemplo, são capazes de auxiliar mecanismos de tolerância das plantas ao estresse. No entanto, devido à natureza complexa desses nanomateriais, são necessários mais estudos para que estes possam ser utilizados com segurança na agricultura. Nesse sentido, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos do nanobioestimulante à base de *carbon dots* no desempenho morfofisiológico, bioquímico, metabólico e produtivo de plantas de feijão-caupi submetidas ou não ao estresse salino. O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente à Universidade Federal do Ceará, situada em Fortaleza, Ceará. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em um arranjo fatorial 2×6 , sendo duas condutividades elétricas da água de irrigação (CEa: 0,35 e 4,0 dS m⁻¹) e seis concentrações do nanobioestimulante Arbolina aplicadas via foliar (0, 80, 160, 240, 320 e 400 mg L⁻¹), com quatro repetições. Foram avaliadas variáveis biométricas, fisiológicas, bioquímicas, produtivas e de perfil metabólico das folhas. A salinidade da água de irrigação reduziu todas as variáveis biométricas, as trocas gasosas, os teores de pigmentos, a eficiência do aparato fotossintético e as variáveis produtivas. Por outro lado, aumentou a temperatura foliar, o teor de Na⁺ em folhas e raízes, os danos nas membranas, a peroxidação lipídica e a atividade de enzimas antioxidantes. A análise do perfil metabólico identificou sessenta e nove metabólitos foliares, sendo, em sua maioria, aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos. Do total identificado, dez demonstraram regulações significativas: prolina, serina, glicina, treonina, ácido ascórbico, tirosina, galactitol, galactinol, ácido succínico e galactose; podendo estar associados com possível tolerância das plantas ao estresse salino. Concentrações entre 240 e 320 mg L⁻¹ do nanobioestimulante proporcionam maiores incrementos no crescimento, nas variáveis fisiológicas, bioquímicas e produtivas de plantas não estressadas. Por outro lado, concentrações entre 160 e 240 mg L⁻¹ do nanobioestimulante atenuam os efeitos deletérios da salinidade. Sob estresse salino (4,0 dS m⁻¹), não foi possível definir com precisão a faixa de concentração que proporciona a mitigação dos efeitos deletérios causados pela salinidade.

Palavras-chave: melhorador fisiológico; salinidade; nanopartículas de carbono; *Vigna unguiculata* L. Walp.

ABSTRACT

Plant biostimulants are increasingly being used to enhance agricultural production and improve the performance of plants grown under adverse conditions, such as abiotic stress induced by salinity. Recent studies indicate that biostimulants based on carbon nanoparticles, for example, are capable of supporting plants' stress tolerance mechanisms. However, due to the complex nature of these nanomaterials, more studies are needed so that they can be used safely in agriculture. In this sense, the aim of this work was to evaluate the effects of carbon dot-based nanobiostimulant on the morphophysiological, biochemical, metabolic and productive performance of cowpea plants subjected or not to salt stress. The experiment was conducted in a greenhouse belonging to the Federal University of Ceará, located in Fortaleza, Ceará. The experimental design used was completely randomized, in a 2×6 factorial scheme, with two electrical conductivities of irrigation water (ECw: 0.35 and 4.0 dS m⁻¹) and six concentrations of nanobiostimulant Arbolina applied through the leaves (0, 80, 160, 240, 320, and 400 mg L⁻¹), with four replications. Biometric, physiological, biochemical, productive and metabolic profile variables of the leaves were evaluated. The salinity of the irrigation water reduced all biometric variables, gas exchange, pigment content, the efficiency of the photosynthetic apparatus and the productive variables. On the other hand, it increased leaf temperature, Na⁺ content in leaves and roots, membrane damage, lipid peroxidation and the activity of antioxidant enzymes. The metabolic profile analysis identified sixty-nine leaf metabolites, the majority of which were amino acids, sugars and organic acids. Of the total identified, ten demonstrated significant regulations: proline, serine, glycine, threonine, ascorbic acid, tyrosine, galactitol, galactinol, succinic acid and galactose; and may be associated with possible plant tolerance to salt stress. Concentrations between 240 and 320 mg L⁻¹ of the nanobiostimulant provide greater increases in growth, physiological, biochemical and productive variables of non-stressed plants. On the other hand, concentrations between 160 and 240 mg L⁻¹ of the nanobiostimulant attenuate the harmful effects of salinity. Under salt stress (4.0 dS m⁻¹), it was not possible to precisely define the concentration range that provides mitigation of the deleterious effects caused by salinity.

Keywords: physiological improver; salinity; carbon nanoparticles; *Vigna unguiculata* L. Walp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Médias diárias das temperaturas máximas e mínimas e da umidade relativa do ar durante o período experimental.....	33 3
Figura 2 –	Esquema experimental incluindo estádios fenológicos, imposição do estresse salino, aplicação dos tratamentos com nanobioestimulante e variáveis analisadas em plantas de feijão-caupi cv. Pingo de Ouro 1-2.....	38
Figura 3 –	Plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, submetidas ou não ao estresse salino em cada uma das concentrações do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura: 0 mg L ⁻¹ (A), 80 mg L ⁻¹ (B), 160 mg L ⁻¹ (C), 240 mg L ⁻¹ (D), 320 mg L ⁻¹ (E) e 400 mg L ⁻¹ (F), estando as plantas não estressadas à esquerda e as plantas submetidas à salinidade à direita.....	48
Figura 4 –	Comprimento da haste principal (A e B) e número de folhas (C e D) de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	49
Figura 5 –	Área foliar (A), diâmetro do caule (B), comprimento radicular (C) e razão CR/CHP (D) de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	50
Figura 6 –	Massa seca total (A e D), massa seca das folhas (B) e massa seca das raízes (C) de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	53
Figura 7 –	Potencial hídrico foliar de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	58

Figura 8 –	Transpiração (A), temperatura foliar (B), fotossíntese líquida (C) e razão Ci/Ca (D) de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	59
Figura 9 –	Teores de clorofila <i>a</i> (A), clorofila <i>b</i> (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) em plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	62
Figura 10 –	Coeficiente de extinção não-fotoquímico de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	64
Figura 11 –	Teores foliares de K ⁺ (A), Na ⁺ (B) e razão Na ⁺ /K ⁺ (C) em plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	66
Figura 12 –	Teores radiculares de K ⁺ (A e B), Na ⁺ (C) e razão Na ⁺ /K ⁺ (D) em plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	68
Figura 13 –	Extravasamento de eletrólitos (A) e teores de MDA (B e C) em folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	70
Figura 14 –	Teores de prolina livre (A) e proteínas solúveis (B) em folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura.....	72

- Figura 15 – Atividade das enzimas catalase (A), peroxidase do ascorbato (B) e superóxido dismutase (C) em folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura..... 74
- Figura 16 – Número de vagens por planta (A), peso médio das vagens (B), número de grãos por vagem (C), peso total dos grãos (D) e peso de 100 grãos (E) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da concentração do nanobioestimulante, aos 65 dias após semeadura..... 78
- Figura 17 – Análise discriminante de mínimos quadrados (PLS-DA) do perfil metabólico foliar de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) cv. Pingo de Ouro 1-2 sob condições controle (T1), controle + nanobioestimulante (T4), estresse salino (T7), estresse salino + nanobioestimulante (T10), aos 45 dias após semeadura. (A) Gráfico de pontuações e (B) gráfico de carregamento..... 80
- Figura 18 – VIP score de metabólitos de maior peso (VIP >1,2) na explicação da variação observada no Componente 1 (A) e no Componente 2 (B) pela análise de PLS – DA, envolvendo plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) cv. Pingo de Ouro 1-2 sob condições controle (T1), controle + nanobioestimulante (T4), estresse salino (T7), estresse salino + nanobioestimulante (T10), aos 45 dias após semeadura..... 82
- Figura 19 – Heatmap com valores padronizados de metabólitos em folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) cv. Pingo de Ouro 1-2 sob condições controle (T1), controle + nanobioestimulante (T4), estresse salino (T7), estresse salino + nanobioestimulante (T10), aos 45 dias após semeadura..... 83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Atributos químicos e físicos do solo (profundidade 0-20 cm) usado no experimento.....	33
Tabela 2 –	Condutividade elétrica da água de irrigação sobre os caracteres fisiológicos de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, aos 45 dias após semeadura.....	55
Tabela 3 –	Condutividade elétrica da água de irrigação sobre os parâmetros de fluorescência da clorofila a de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, aos 45 dias após semeadura.....	63
Tabela 4 –	Condutividade elétrica da água de irrigação sobre os caracteres produtivos de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, aos 65 dias após semeadura.....	76

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	HIPÓTESES.....	18
3	OBJETIVOS.....	18
3.1	Geral.....	18
3.2	Específicos.....	18
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
4.1	Aspectos gerais do feijão-caupi.....	19
4.2	Salinidade e agricultura irrigada.....	21
4.3	Efeitos do estresse salino sobre as plantas.....	22
4.4	Respostas das plantas à salinidade.....	24
4.5	Bioestimulantes e sua ação mitigadora de estresse salino.....	28
4.6	Nanotecnologia e uso de <i>Carbon Dots</i> como bioestimulante em plantas.....	30
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
5.1	Localização experimental.....	33
5.2	Material vegetal utilizado.....	34
5.3	Análise de solo e adubação.....	34
5.4	Condução do experimento.....	35
5.5	Delineamento experimental e tratamentos.....	35
5.6	Água de irrigação.....	36
5.7	Bioestimulante Arbolina.....	37
5.8	Variáveis analisadas.....	38
5.8.1	<i>Variáveis biométricas</i>	38
5.8.2	<i>Variáveis fisiológicas</i>	39
5.8.2.1	<i>Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a</i>	39
5.8.2.2	<i>Status hídrico da planta (Ψ_w)</i>	40
5.8.2.3	<i>Pigmentos fotossintéticos</i>	40
5.8.3	<i>Variáveis bioquímicas</i>	41
5.8.3.1	<i>Determinação dos teores de sódio (Na^+) e potássio (K^+)</i>	41
5.8.3.2	<i>Proteínas solúveis</i>	41

5.8.3.3	<i>Prolina livre</i>	42
5.8.3.4	<i>Danos de membranas</i>	43
5.8.3.5	<i>Peroxidação lipídica</i>	43
5.8.3.6	<i>Mecanismos antioxidativos de defesa</i>	44
5.8.3.6.1	Atividade da Catalase (CAT, EC 1.11.1.6).....	44
5.8.3.6.2	Atividade da Superóxido Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....	44
5.8.3.6.3	Atividade da Peroxidase do Ascorbato (APX, EC 1.11.11.1).....	45
5.8.4	<i>Análise de Produção</i>	45
5.8.5	<i>Análise metabolômica</i>	45
5.8.6	<i>Análise estatística</i>	47
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
6.1	Crescimento das plantas de feijão-caupi	48
6.2	Status hídrico, trocas gasosas, fluorescência da clorofila a e teor de pigmentos em folhas de feijão-caupi	54
6.3	Análises bioquímicas	65
6.3.1	<i>Homeostase iônica de folhas e raízes de feijão-caupi</i>	65
6.3.2	<i>Danos de membranas e peroxidação lipídica em folhas de feijão-caupi</i>	69
6.3.3	<i>Ajustamento osmótico e metabolismo antioxidativo em folhas de feijão-caupi</i>	71
6.4	Aspectos produtivos das plantas de feijão-caupi	75
6.5	Respostas metabólicas em folhas de feijão-caupi	79
7	CONCLUSÕES	87
	REFERÊNCIAS	88
	APÊNDICE A – VALORES NÃO PADRONIZADOS DE CONCENTRAÇÃO RELATIVA DE METABÓLITOS EM FOLHAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI (<i>Vigna unguiculata</i> L.) CV. PINGO DE OURO 1-2	109
	APÊNDICE B – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS BIOMÉTRICAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE	113
	APÊNDICE C – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM	

FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE.....	114
APÊNDICE D – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE.....	115
APÊNDICE E – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE.....	116
APÊNDICE F – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS DE PRODUÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE.....	117

1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), pertencente à família Fabaceae, é uma eficiente fonte de proteínas, aminoácidos, carboidratos, fibras e minerais para a alimentação humana (Pereira *et al.*, 2016; Omirou *et al.*, 2019) e, devido às suas características de rusticidade e precocidade, tornou-se uma das leguminosas mais cultivadas e consumidas em regiões áridas e semiáridas de todo o mundo (Mukhtar *et al.*, 2020). No Brasil, essa cultura possui grande expressividade socioeconômica, principalmente na região Nordeste, tendo em vista que seus grãos se destacam como um dos mais importantes componentes da dieta alimentar e como fonte de renda para inúmeras famílias (Andrade *et al.*, 2019).

Ainda que o feijão-caupi possua ampla adaptabilidade a diversas condições edafoclimáticas, alguns fatores abióticos, tais como a salinidade, podem tornar limitante a sua produção no semiárido brasileiro (Lima *et al.*, 2019), tendo em vista que é um território caracterizado pela alta concentração de sais no perfil do solo. Esse fato se dá devido à acumulação de sais, provenientes de áreas circunvizinhas, nos horizontes superiores de áreas rebaixadas com camadas impermeáveis em pequena profundidade; à alta variabilidade na distribuição pluviométrica e à alta taxa evaporativa; e também pela utilização de irrigação com águas de baixa qualidade e/ou águas subterrâneas, as quais apresentam altas concentrações de sais dissolvidos (Ribeiro *et al.*, 2016; Lucena *et al.*, 2018).

O estresse salino é uma problemática recorrente em regiões semiáridas e pode causar sérios danos aos sistemas agrícolas, bem como provocar grandes reduções na produtividade das culturas, uma vez que tende a reduzir o potencial osmótico da solução do solo, dificultando a absorção de água e de elementos essenciais às plantas, como K, Ca, Mg e N (Zörb *et al.*, 2019; Fernandes *et al.*, 2022). Ademais, o excesso de sais também pode ocasionar desequilíbrios nutricionais, causados pela alta concentração de íons tóxicos no protoplasma, principalmente Na^+ e Cl^- , e promover distúrbios fisiológicos e bioquímicos que comprometem processos essenciais, como fotossíntese, integridade da membrana celular e síntese de biomoléculas (Bezerra *et al.*, 2020; Khare *et al.*, 2020).

Muitas espécies vegetais desenvolvem mecanismos fisiológicos e bioquímicos que as permitem manter ativos seu crescimento e desenvolvimento, mesmo estando sob condições adversas como o excesso de sais na zona radicular (Santos *et al.*, 2018; Fernandes *et al.*, 2022). A grande maioria dessas respostas estão atreladas à modificação em suas estruturas morfológicas, síntese de metabólitos e solutos compatíveis para osmorregulação,

compartimentalização de íons em excesso no vacúolo, ativação do sistema antioxidativo de defesa enzimático e/ou não-enzimático, controle da absorção de Na^+ pelas raízes e indução de hormônios vegetais (Grupta *et al.*, 2014; Hussain *et al.*, 2019; Zainab *et al.*, 2021).

Com o intuito de identificar meios que favoreçam a ativação dessa cascata de reações e resultem em maior tolerância de plantas glicófitas à salinidade, nas últimas décadas, diversas inovações tecnológicas foram propostas e, entre elas, está o uso de bioestimulantes vegetais (Rouphael; Colla, 2020). Segundo Du Jardin (2015), esses bioestimulantes podem ser substâncias ou microrganismos que são aplicados às plantas com a finalidade de aumentar a eficiência nutricional, a qualidade das culturas e/ou a tolerância a estresses bióticos e abióticos, independentemente do seu teor de nutrientes.

Diversas categorias de bioestimulantes foram propostas por Du Jardin (2015), contudo, com o avanço da tecnologia, uma nova classe vem ganhando espaço na agricultura: os nanomateriais à base de carbono, que são partículas biodegradáveis, de baixa toxicidade e com dimensões menores que 10 nm, capazes de estimular a absorção de nutrientes, o crescimento de plantas e, em alguns casos, induzir a tolerância a estresses abióticos, aumentando assim a produtividade das culturas (Juárez-Maldonado *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020a; Li *et al.*, 2020b).

Contudo, estudos detalhados com foco na aplicação desses nanobioestimulantes em plantas sob estresse salino são bastante escassos, principalmente no que diz respeito à sua influência sobre os aspectos morfofisiológicos, bioquímicos, metabólicos e produtivos de culturas agrícolas, como o feijão-caupi. Nesse sentido, buscou-se testar o bioestimulante à base de *carbon dots* chamado Arbolina, desenvolvido pela empresa brasileira Krilltech, o qual vem proporcionando ganhos em termos de produtividade e desempenho agrônomo em culturas, como feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) e soja (*Glycine max*).

Em vista disso, torna-se relevante avaliar as implicações do uso desse bioestimulante nanotecnológico na fisiologia, na bioquímica, no metaboloma e na produção de plantas de feijão-caupi irrigadas com água salina, sendo esses estudos importantes para uma possível indicação desse produto frente às condições edafoclimáticas do semiárido brasileiro.

2. HIPÓTESES

O nanobioestimulante à base *carbon dots* melhora os atributos morfofisiológicos, bioquímicos, metabólicos e produtivos de plantas de feijão-caupi.

O nanobioestimulante atenua os efeitos danosos causados pela salinidade, induzindo a produção de metabólitos que condicionam as plantas a tolerarem o estresse.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar os efeitos das concentrações do nanobioestimulante à base de *carbon dots* no desempenho morfofisiológico, bioquímico, metabólico e produtivo de plantas de feijão-caupi submetidas ou não ao estresse salino.

3.2. Específicos

- Averiguar o potencial das concentrações do nanobioestimulante à base de *carbon dots* em atenuar os efeitos negativos ocasionados pelo estresse salino;
- Determinar qual concentração do nanobioestimulante contribui para melhoria das características agronômicas das plantas de feijão-caupi;
- Identificar e analisar mecanismos fisiológicos e bioquímicos associados com a tolerância à salinidade, como ajustamento osmótico e atividade do sistema antioxidativo de defesa, em respostas às concentrações do nanobioestimulante aplicadas nas plantas de feijão-caupi;
- Avaliar as respostas morfofisiológicas, metabólicas (folhas) e produtivas de plantas de feijão-caupi em função dos tratamentos aplicados.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Aspectos gerais do feijão-caupi

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), planta originária da África e que se expandiu pela América Latina e Sudeste Asiático, é uma leguminosa anual da família Fabaceae globalmente utilizada na alimentação humana e animal (Herniter *et al.*, 2020; Kuruval *et al.*, 2023). É uma cultura que possui grande importância socioeconômica e alto valor nutricional, com grãos ricos em amido, proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais, como potássio, cálcio, ferro e zinco (Gonçalves *et al.*, 2016; Coffigniez; Briffaz, 2023).

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura (FAO), no ano de 2021, a produção mundial de feijão-caupi (grão seco) foi de quase 9 milhões de toneladas, sendo que a Nigéria contribuiu com mais de 40% dessa produção total (Faostat, 2021). O Brasil, apesar de apresentar volumes expressivos de produção, não possui seus dados incluídos e contabilizados nas estatísticas da FAO, tendo em vista que o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE não apresenta resultados separados para as produções de feijão-caupi e feijão-comum (IBGE, 2022).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento – Conab (2022), a safra brasileira 2021/22 atingiu uma produção de cerca de 632 mil toneladas de grãos em uma área estimada em 1.287,3 mil hectares, sendo 91,3% dessa área concentrada nas regiões Norte e Nordeste, onde a produção é conduzida, em sua maioria, por agricultores familiares com a utilização de práticas tradicionais de cultivo e baixo uso de tecnologias (Linhares *et al.*, 2016).

Porém, com a aplicação de novas tecnologias de manejo e o desenvolvimento de cultivares com características que favorecem o cultivo mecanizado, a cultura vem conquistando seu espaço nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, sendo cultivada em safrinha com uso da mesma tecnologia empregada no cultivo da soja (Rocha *et al.*, 2017). Nessas regiões, o feijão-caupi é produzido em larga escala por médios e grandes produtores, o que tem contribuído para o aumento da área de cultivo, da produção e da produtividade.

No Brasil, o feijão-caupi é cultivado, principalmente, com a finalidade de produzir grãos secos ou verdes, destinados ao consumo humano; no entanto, suas folhagens também podem ser utilizadas na alimentação animal na forma de forragem, feno, silagem e farinha, assim como podem ser utilizadas como adubação verde e cobertura para proteção do solo (Muñoz-Amatriaín *et al.*, 2017; Boukar *et al.*, 2019).

O feijão-caupi é caracterizado como uma planta de ciclo curto, versátil, rústica e capaz de se desenvolver em solos com baixa fertilidade, possuindo ampla variabilidade genética, tolerância a condições adversas, como seca e salinidade, alto potencial produtivo e excelente valor nutricional, além de promover benefícios à conservação do solo por meio da fixação biológica de nitrogênio (Murunaka *et al.*, 2016; Sousa *et al.*, 2019).

A análise das condições edafoclimáticas locais e a escolha da época de semeadura são muito importantes para garantir o pleno desenvolvimento da cultura, principalmente no que se refere aos aspectos hídricos e térmicos. As exigências hídricas do feijão-caupi variam de 250 a 400 mm durante o seu ciclo, no entanto, é importante destacar que existem fases fenológicas nas quais a cultura é mais sensível à falta de água, tais como a germinação, florescimento e enchimento de grãos. Deste modo, para a obtenção da máxima produtividade, deve-se evitar que tais fases coincidam com o período seco, sendo imprescindível também que a colheita não coincida com a ocorrência de chuvas, pois pode ocasionar o surgimento de fungos nas vagens, afetando assim a qualidade dos grãos (Bastos *et al.*, 2017).

Quanto à temperatura, o bom desenvolvimento da cultura ocorre na faixa de 18 a 34 °C. Em geral, para que se atinja elevada produtividade, os valores de temperatura do ar devem estar em torno de 30 °C durante o dia e 22 °C durante a noite. Temperaturas inferiores a 18 °C podem afetar negativamente a produtividade do feijão-caupi, uma vez que retardam o florescimento e aumentam o ciclo da cultura. Temperaturas diurnas e noturnas superiores ao limiar da cultura podem causar, além do abortamento das flores, interferências na viabilidade do grão de pólen e na fertilidade do óvulo, com efeito direto no enchimento das vagens, no tamanho e na produtividade dos grãos (Farias *et al.*, 2015; Sita *et al.* 2017).

No semiárido brasileiro, região caracterizada por altas taxas de evaporação e baixos índices pluviométricos, a salinidade é um outro fator abiótico que pode comprometer a máxima expressão do potencial genético das plantas de feijão-caupi (Andrade *et al.*, 2013; Leite *et al.*, 2017). Embora seja uma espécie considerada moderadamente tolerante à salinidade, a presença de sais em excesso no solo ou na água de irrigação podem afetar significativamente seu crescimento e sua produtividade, principalmente quando a condutividade elétrica da água de irrigação excede 3,3 dS m⁻¹, gerando perdas que chegam a alcançar 50 a 70% de toda produção (Ayres; Westcot, 1999; Hassan *et al.*, 2021).

Diante dessa problemática, torna-se imprescindível a realização de estudos que promovam o desenvolvimento e a aplicação de novas tecnologias para o cultivo de feijão-caupi, visando redução das perdas e maior tolerância frente a condições ambientais adversas.

4.2. Salinidade e agricultura irrigada

A salinidade é uma problemática que atinge inúmeras áreas no mundo todo, inclusive no Brasil, e, no contexto das alterações climáticas, vem sendo considerada uma grande ameaça à sustentabilidade, à segurança alimentar e à produção agrícola (Allbed; Kumar, 2013; Corwin; Scudiero, 2019). A salinização do solo e da água ocorre quando há o acúmulo de sais em concentrações elevadas e prejudiciais aos ecossistemas, podendo isso acontecer tanto de forma natural quanto em decorrência das atividades humanas (Yang *et al.*, 2023).

A salinização natural, também chamada de primária, pode ocorrer: em regiões costeiras, onde a água do mar penetra no solo; em áreas com alta evaporação e pouca precipitação; pelo intemperismo dos minerais primários das rochas, pela ascensão capilar de água salina proveniente de lençol freático subterrâneo, pela acumulação de sais provenientes de áreas circunvizinhas e pela deposição de sais oriundos da água das chuvas que, apesar de conter pouca quantidade, podem acabar se depositando e acumulando no solo ao longo do tempo (Hossain, 2019; Gheyi *et al.*, 2022). Já a salinização secundária, causada por ações antrópicas, pode ocorrer devido a práticas indiscriminadas de aplicação de fertilizantes e de irrigação usando água salina, bem como podem ocorrer em virtude da drenagem ineficiente e do manejo inadequado da água e do solo (Liu; Wang, 2021).

A salinidade se destaca como um dos fatores ambientais que mais limita o crescimento e o desenvolvimento das culturas, trazendo prejuízos à produção agrícola (Acosta-Motos *et al.*, 2017). Em regiões semiáridas, como no Nordeste do Brasil, o processo de salinização é ainda mais acentuado devido às características edafoclimáticas inerentes a essas áreas, onde a má distribuição pluviométrica e o elevado potencial de evaporação contribuem para a redução da disponibilidade de água, favorecendo o acúmulo de sais no solo e nos corpos hídricos (Chinnasamy *et al.*, 2015; Walter *et al.*, 2018).

Nessas regiões, a irregularidade das chuvas, a crescente expansão das áreas agrícolas e a escassez de águas superficiais de boa qualidade têm levado os produtores a aumentarem a utilização de águas salobras na irrigação, principalmente as provenientes de poços. Os poços artesianos ainda são uma alternativa pouco explorada na agricultura em função da salinidade da água, a qual é oriunda do intemperismo de minerais presentes em rochas cristalinas, características do semiárido brasileiro (Yan *et al.*, 2021; Ma *et al.*, 2023).

Em geral, as fontes de água salobra no semiárido brasileiro possuem condutividade elétrica entre 1,5 e 6,0 dS m⁻¹, sendo constituídas de baixas concentrações de sulfato e altas

concentrações de cloreto e sódio (Silva Júnior *et al.*, 1999). Portanto, a utilização inadequada dessas águas pode resultar no acúmulo de íons salinos em superfície, afetando negativamente o crescimento, o rendimento e a qualidade das culturas, além de causar alterações nas propriedades físico-químicas do solo (Singh *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2022).

Sendo assim, para que esse recurso hídrico alternativo possa ser utilizado de forma contínua na agricultura, é imprescindível que sejam utilizadas espécies tolerantes à salinidade e que sejam desenvolvidas e adotadas soluções inovadoras que apresentem potencial de mitigar os efeitos negativos dos sais sobre as plantas, para que assim se possa reduzir ao máximo o impacto na produção das culturas. Concomitante a isso, estratégias adequadas de manejo também devem ser implementadas, de forma a reduzir os impactos negativos da salinidade no solo, e assim proporcionar a economia de água doce de boa qualidade nessas regiões (Cavalcante *et al.*, 2021; Lacerda *et al.*, 2021).

4.3. Efeitos do estresse salino sobre as plantas

O estresse salino na agricultura é um problema significativo que afeta a produção de culturas em várias partes do mundo. Esse problema surge quando a concentração de sais no solo e na água de irrigação atingem níveis prejudiciais, causando diversos efeitos negativos para o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Esses impactos estão associados à redução do potencial osmótico da solução do solo, aos distúrbios nutricionais e aos efeitos específicos de íons Na^+ e Cl^- , os quais levam à toxidez nos vegetais (Dias *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2022).

O primeiro fator que se pronuncia em situação de estresse salino é o osmótico, por isso muitos autores consideram que as plantas afetadas pela salinidade são propensas a sofrer estresses simultâneos de seca e salinidade (Wang, T. *et al.*, 2023). O acúmulo de sais na solução do solo reduz o potencial osmótico, ou seja, reduz a energia livre da água, culminando em limitações na absorção de água pelas raízes. Deste modo, as plantas não conseguem repor a quantidade de água perdida para a atmosfera via transpiração e isso as leva ao estresse hídrico, o que afeta todos os processos dependentes de água, como a expansão celular (Liu *et al.*, 2022).

Quando esse impedimento de absorção acontece, é possível observar presença de maior umidade no solo, indicando que o sal introduzido pela irrigação com água salobra reduz o potencial hídrico do solo, resultando em menor capacidade de absorção de água pelas raízes e conseqüente retardo do crescimento das plantas. Yuan *et al.* (2019), trabalhando com irrigação deficitária na cultura do milho utilizando água salina, constataram que o teor de umidade do

solo aumentou gradualmente com o aumento da salinidade da água de irrigação, tendo esse fenômeno sido mais pronunciado à medida que os estádios fenológicos avançavam.

A utilização de águas salinas na irrigação causa graves restrições no equilíbrio nutricional, no crescimento e na produção de diversas culturas, e muito disso se deve aos efeitos dos sais sobre as plantas (Pereira *et al.*, 2017). O desequilíbrio nutricional causado pela salinidade está relacionado, principalmente, com a redução da absorção de nutrientes essenciais à planta, como cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K), devido à competição por sítios de absorção com íons de sódio (Na^+) que se encontram em excesso no ambiente radicular (Acosta-Motos *et al.*, 2017). O acúmulo de Na^+ no interior da célula causa prejuízos à integridade da planta, aumentando a relação Na^+/K^+ e promovendo distúrbios em seu metabolismo (Acosta-Motos *et al.*, 2017).

Além do desequilíbrio nutricional, a salinidade também pode causar fitotoxicidade, podendo a intensidade variar de acordo com os níveis de tolerância das espécies ou cultivares. Esse problema de toxicidade surge quando íons, como sódio e cloreto, oriundos da água de irrigação ou do solo se acumulam excessivamente nos tecidos vegetais, promovendo, inicialmente, desbalanceamento osmótico celular e, posteriormente, toxidez iônica que causa danos ao citoplasma, resultando em sintomas visíveis, principalmente, na bordadura e no ápice das folhas mais velhas onde o acúmulo é maior (Dias *et al.*, 2016; Corwin; Scudiero, 2019).

É importante destacar que os sais absorvidos pelas plantas não controlam diretamente o crescimento, mas influenciam o turgor celular (benéfico ao crescimento quando em concentrações adequadas), a fotossíntese e/ou a atividade de enzimas específicas. Esse acúmulo de sais nas folhas velhas, mencionados anteriormente, acelera sua morte e, assim, há redução na taxa de fotossíntese, o que diminui o fornecimento de carboidratos e/ou hormônios de crescimento para as regiões meristemáticas, inibindo assim o crescimento (Munns, 1992; Acosta-Motos *et al.*, 2017).

A salinidade pode reduzir a atividade fotossintética das folhas de diversas formas, uma vez que afeta fatores estomáticos e não estomáticos. Pela ação do efeito osmótico, como mencionado anteriormente, a condutância estomática pode ser reduzida (Liu *et al.*, 2022). Já características não estomáticas, como a redução da área foliar, destruição de pigmentos (clorofilas), diminuição da atividade de transporte de elétrons do fotossistema II (PSII) e/ou queda da atividade de enzimas fotossintéticas dentro do ciclo de Calvin, podem ocorrer sob estresse salino (Jiao *et al.*, 2017). A análise da fluorescência da clorofila *a*, por exemplo, é uma técnica muito importante e popular usada em estudos de fisiologia vegetal que pode fornecer

informações relevantes sobre o estado do PSII, a atividade fisiológica da maquinaria fotossintética e a transferência de energia durante o processo fotossintético (Acosta-Motos *et al.*, 2017; Guidi *et al.*, 2019).

Associado aos efeitos primários induzidos pelo estresse salino sobre o metabolismo vegetal, ocorrem também danos secundários, como geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs). Dentre alguns exemplos dessas EROs pode-se citar radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroxila (OH^{\cdot}) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), as quais são amplamente relatadas como causadoras de distúrbios metabólicos responsáveis por danos significativos em plantas sob condições ambientais adversas (Nxele *et al.*, 2017).

A produção exacerbada dessas EROs ocorre, principalmente, devido à alteração de processos de transferência de elétrons nas mitocôndrias, nos cloroplastos e nos peroxissomos durante os processos de respiração, fotossíntese e fotorrespiração, resultando em eventos degenerativos de biomoléculas, tais como peroxidação lipídica, oxidação de aminoácidos, mutação de ácidos nucleicos e desnaturação de proteínas. Estes fatos também são responsáveis por inibirem a atividade de enzimas, desestabilizarem as membranas, impedirem a expansão celular, causarem necrose e apoptose das células, interferindo, por conseguinte, nas funções vitais das plantas (Challabathula *et al.*, 2022).

Deste modo, os danos causados pelo estresse salino tendem a reduzir significativamente os rendimentos das culturas, uma vez que comprometem o crescimento e processos vitais como a fotossíntese, e sua magnitude pode variar dependendo das condições climáticas, intensidade da luz, métodos de irrigação, espécies de plantas, estádios fenológicos e condições do solo (Tang *et al.*, 2015; Wang, H. *et al.*, 2023). Nesse sentido, é essencial a realização de estudos que visem encontrar formas e meios de atenuação dos efeitos do estresse salino sobre as culturas de interesse econômico, de modo a viabilizar a utilização de água salobra como um recurso hídrico alternativo.

4.4. Mecanismos de tolerância das plantas à salinidade

As plantas podem apresentar diversos níveis de tolerância e respostas à salinidade e ativar mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares para lidar com o estresse resultante (Acosta-Motos *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2023). Tais mecanismos incluem mudanças na morfologia, anatomia, bioquímica, relações hídricas, fotossíntese, perfil metabólico e distribuição de íons, sendo essas respostas dependentes do estágio de desenvolvimento da

planta, das condições de cultivo, dos fatores edafoclimáticos, das práticas de manejo agrônomo e de irrigação, e do grau de tolerância das espécies (Mishra *et al.*, 2022).

O fechamento estomático, ou seja, a redução da condutância estomática é uma das respostas mais rápidas apresentadas por plantas submetidas ao estresse salino e isso se dá como uma tentativa de reduzir as perdas de água por transpiração, de diminuir o fluxo de íons tóxicos na corrente transpiratória e de minimizar as quantidades de íons tóxicos que são entregues à superfície da raiz e, posteriormente, à planta (Jiao *et al.*, 2017). Essas diminuições na condutância estomática devido à salinidade foram constatadas em várias espécies de plantas (Lotfi *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2023).

No entanto, é importante destacar a importância de se manter as plantas em um nível de estresse que proporcione controle de abertura estomática, a fim de evitar a perda de água, mas também manter a fixação de CO₂ sem que haja diminuição excessiva na produtividade ou no crescimento das plantas. Por isso, a relação entre a abertura estomática e a fotossíntese (eficiência da fotossíntese ou eficiência intrínseca do uso da água – *A/gs*) é um indicador importante de tolerância ao estresse osmótico (Acosta-Motos *et al.*, 2017).

Outro ponto a ser considerado é que com o fechamento dos estômatos e a diminuição da transpiração, as culturas também podem apresentar aumento na temperatura das folhas, uma vez que a transpiração é um mecanismo que permite o resfriamento da superfície foliar. Sob condições de salinidade, à medida que o estresse osmótico aumenta, as taxas de transpiração e o fluxo de calor latente foliar resultante diminuem, levando ao aumento da temperatura da superfície que, dependendo da intensidade, poderá culminar em fotodanos nas folhas e/ou embolia do xilema, levando à desfolha severa e à senescência da planta (Chaves *et al.*, 2016; Morais *et al.*, 2017).

A regulação estomática em resposta ao estresse salino é intermediada por sinais radiculares, induzidos pela produção do hormônio ácido abscísico, fitohormônio reconhecidamente importante no estabelecimento de mecanismos de tolerância de plantas a estresses abióticos. Além da indução do fechamento estomático, outro mecanismo induzido por ácido abscísico é o acúmulo de substâncias osmoticamente ativas em raízes, as quais contribuem para a redução do potencial osmótico, fator esse fundamental ao processo de absorção de água (Taiz *et al.*, 2017; Melo *et al.*, 2019).

Esse mecanismo de resposta à salinidade é o ajuste osmótico, que se configura como sendo o acúmulo e a compartimentação de íons tóxicos e/ou solutos compatíveis biossintetizados com a finalidade de reduzir o potencial hídrico dos tecidos vegetais durante

períodos de estresse salino. No caso da regulação usando íons tóxicos já absorvidos, estes somente poderão ser compartimentalizados no vacúolo das células, uma vez que podem, no citosol, causar danos celulares. Já os solutos compatíveis, também denominados osmólitos compatíveis, podem ser acumulados no vacúolo e no citosol das células sem causar prejuízos ao metabolismo (Taiz *et al.*, 2017).

Além da osmorregulação, os solutos compatíveis possuem função osmoprotetora e são sintetizados com o intuito de preservar a integridade de proteínas, enzimas e membranas, estruturas vitais para a manutenção das atividades metabólicas das plantas. Os compostos orgânicos mais comuns que atuam na regulação osmótica dos vegetais são: carboidratos e derivados (sacarose, sorbitol, manitol, glicerol, arabinitol, pinitol); compostos nitrogenados (proteínas e aminoácidos - betaína, glutamato, aspartato, glicina, prolina, colina, putrescina, ácido 4-gama aminobutírico); e ácidos orgânicos (malato e oxalato) (Acosta-Motos *et al.*, 2017; Lang *et al.*, 2020).

Desses osmólitos orgânicos mencionados, a prolina e a glicina-betaína são os solutos mais bem estudados e considerados mais eficientes. A prolina é considerada o osmólito-chave para regulação osmótica em plantas, atuando tanto como osmorregulador, aumentando a estabilidade das células, quanto como osmoprotetor, agindo como antioxidante na proteção de macromoléculas biológicas durante a desidratação e protegendo essas estruturas contra os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio. Além disso, ela também pode atuar fornecendo carbono, nitrogênio e energia para recuperação após o estresse (Signorelli *et al.*, 2014; Koenigshofer; Loeppert, 2019).

Em geral, a prolina é acumulada em diferentes espécies de plantas em resposta à exposição a estresses ambientais, como a salinidade. Esse acúmulo pode estar relacionado à tolerância, sendo encontrada, na maioria das vezes, em níveis mais elevados em plantas tolerantes do que em plantas sensíveis (Koenigshofer; Loeppert, 2019). Acúmulos de prolina foram observados em plantas de arroz (Li *et al.*, 2019), batata-doce (Zhang *et al.*, 2019), quiabo (Wang, F. *et al.*, 2023) e feijão-caupi (Desoky *et al.*, 2020) submetidas a estresse salino. Desta forma, é de extrema importância investigar a osmorregulação utilizando a prolina e outros solutos compatíveis como marcadores de tolerância, sendo a análise metabolômica uma técnica bastante utilizada para essa finalidade.

Além do ajustamento osmótico, outro mecanismo que regula a tolerância das plantas à salinidade é a compartimentalização de íons tóxicos, a qual impede que íons absorvidos pela planta, como o sódio, causem danos a seus processos e funções essenciais

(Keisham; Mukherjee; Bhatla, 2018). Essa compartimentalização ocorre por meio do sequestro de Na^+ do citosol para o vacúolo, não permitindo com que níveis tóxicos desse íon sejam alcançados na região citosólica. Nesse processo de transporte de Na^+ para o vacúolo, há a participação de carreadores do tipo antiporte Na^+/H^+ , localizados na membrana plasmática e também no tonoplasto (Shabala; Bose; Hedrich, 2014). Esta função é mais expressiva e eficiente em plantas halófitas e tolerantes à salinidade, nas quais há compartimentalização de íons inorgânicos no vacúolo, acompanhada do acúmulo de solutos orgânicos compatíveis no citoplasma, mantendo assim o equilíbrio osmótico entre os compartimentos celulares (Flowers; Munns; Colmer, 2014).

De acordo com Zhang *et al.* (2018) as plantas também conseguem se proteger contra os danos do estresse salino por meio do mecanismo de exclusão iônica, em que as plantas evitam a entrada de íons prejudiciais, como Na^+ , em suas folhas e até mesmo em raízes. Além dessa exclusão de íons tóxicos, vale ressaltar que o excesso desses íons em células e tecidos vegetais também pode ser regulado por meio de glândulas salinas, as quais são encontradas nas folhas (Zhang *et al.*, 2018).

As plantas também possuem mecanismos enzimáticos e não enzimáticos que as protegem e minimizam os efeitos deletérios causados pelo excesso de EROs. Em resposta ao estresse oxidativo secundário, as plantas podem: sintetizar ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), glutatona, poliaminas e carotenoides, que são antioxidantes não enzimáticos; e/ou expressar genes que codificam para enzimas do sistema de defesa antioxidante, que são responsáveis pela remoção de EROs, como a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD), a peroxidase do ascorbato (APX) e a peroxidase do guaiacol (GPX), sendo catalase e peroxidases as principais responsáveis pela eliminação de peróxido de hidrogênio e a superóxido dismutase pela eliminação do radical superóxido (Choudhury *et al.*, 2017; Hasan *et al.*, 2023).

Quando em situação de estresse salino, as plantas tolerantes podem refletir aumentos na síntese desses antioxidantes. Tavares *et al.* (2021), trabalhando com metabolismo germinativo e crescimento de plântulas de feijão-caupi sob estresse salino e osmótico, constataram aumentos na atividade de enzimas como SOD e CAT. Resultados semelhantes foram demonstrados por Li *et al.* (2019), trabalhando com arroz. Esses estudos indicam que a redução nos danos oxidativos e o aumento da tolerância à salinidade são dependentes da eficiência dos sistemas antioxidantes das plantas.

Diante do que foi mencionado, fica evidente a importância de serem desenvolvidas e utilizadas técnicas de manejo que potencializem essas respostas de tolerância à salinidade nas espécies de plantas cultivadas, visando atenuar os efeitos deletérios dos íons salinos nas culturas e promovendo, assim, maior produção de alimentos.

4.5. Bioestimulantes e sua ação mitigadora de estresse salino

Os bioestimulantes são caracterizados como sendo substâncias naturais ou sintéticas, obtidas a partir da mistura de biorreguladores ou destes com outras moléculas (aminoácidos, proteínas, macro e micronutrientes e até mesmo microrganismos), podendo ser administrados diretamente sobre as plantas (parte aérea), via tratamento de sementes ou via solo na região da rizosfera (Calvo *et al.*, 2014; Du Jardin, 2015). A utilização desses produtos tem se tornado cada vez mais comum nos sistemas de produção e a sua inserção tem como principal finalidade alterar os processos fisiológicos das plantas com o intuito de elevar a produtividade (Yakhin *et al.*, 2017).

Essas substâncias, quando aplicadas, podem funcionar como moléculas sinalizadoras, ativando reações metabólicas essenciais para os processos de divisão, expansão e diferenciação celular. Como resultados, têm-se a promoção do crescimento e do desenvolvimento ao longo do ciclo de vida das plantas, desde o processo germinativo até a maturidade (Martins *et al.*, 2016; Dell'aversana *et al.*, 2021). A mais frequente utilização dos bioestimulantes é com aplicação via foliar ou no solo (Silva *et al.*, 2016).

Após a aplicação de um agente bioestimulante, ocorre uma sequência de eventos de percepção, transdução, sinalização e modificação na expressão gênica, metabolismo ou caracteres celulares (e do organismo) (Juárez-Maldonado *et al.*, 2019). Apesar de seus efeitos variarem em função de diversos fatores, como a espécie vegetal utilizada, os bioestimulantes podem ser capazes de, entre outras coisas, melhorar a eficiência do metabolismo da planta, proporcionando incrementos no rendimento; aumentar a resposta antioxidante e melhorar a fotossíntese; aumentar a tolerância e a recuperação contra estresses bióticos e abióticos; facilitar a absorção, assimilação, translocação e uso de nutrientes; melhorar a qualidade dos produtos obtidos e tornar o uso da água pela planta mais eficiente (Calvo *et al.*, 2014; Francischini *et al.*, 2018; Alzahrani; Rady, 2019; Dell'aversana *et al.*, 2021).

No milho, por exemplo, Francischini *et al.* (2018), testando a efetividade de bioestimulantes e fungicidas nos atributos agronômicos e econômicos, evidenciaram que os

produtos foram eficientes em promover incrementos nas variáveis altura de planta, peso das espigas verdes e teor de clorofila. Já Souza Netta *et al.* (2022), utilizando o bioestimulante Stimullum®, verificaram que a utilização do produto não influenciou na germinação, no comprimento da parte aérea, no número de folhas, na largura foliar e nas massas frescas e secas da parte aérea e de raízes de plantas de milho. Todavia, a sua aplicação na dose 200 mL ha⁻¹ demonstrou aumentos significativos sobre o comprimento e a área das folhas, comprimento e matéria fresca da raiz no início do desenvolvimento de milho AS 1820 híbrido (Souza Netta *et al.*, 2022).

Atualmente, os bioestimulantes oriundos de materiais naturais têm recebido grande atenção da comunidade científica e de empresas comerciais (Sharma *et al.*, 2014; Yakhin *et al.*, 2016). Estudo realizado por Desoky *et al.* (2021) revelou que a aplicação de dois extratos vegetais, extrato de grão de milho e extrato de própolis, como bioestimulantes vegetais, ativa vários mecanismos eficazes para aumentar a tolerância em fava cultivada sob estresses abióticos, como seca e salinidade. Roupael *et al.* (2017), trabalhando com bioestimulante de base microbiana e hidrolisado de proteína derivada de plantas, constataram efeitos benéficos, como o aumento no teor de clorofila, na taxa fotossintética, no conteúdo de carboidratos solúveis, na biomassa da parte aérea, na matéria seca dos frutos e no rendimento da abobrinha sob condições de salinidade.

Além disso, diversas pesquisas revelaram que o uso de extratos de algas marinhas como bioestimulante proporcionou incrementos no crescimento e no rendimento de muitas culturas, tanto em condições favoráveis como desfavoráveis (Mutale-Joan *et al.*, 2020; Salcedo *et al.*, 2020). Krid *et al.* (2023), investigando os efeitos de extratos de algas marinhas em plantas de tomateiro sob condições salinas, constataram que extratos líquidos de algas (frescas e secas) contêm compostos bioativos como polifenóis, flavonóides, açúcares solúveis e aminoácidos, que podem ser responsáveis pela tolerância do tomate à salinidade.

Portanto, entende-se que os bioestimulantes se apresentam como um novo insumo alternativo com amplas possibilidades de atenuação de estresses ambientais, sendo necessários estudos que visem contribuir para o esclarecimento dos possíveis efeitos da gama de produtos existentes no mercado com essa funcionalidade sobre as culturas de interesse agrônômico.

4.6. Nanotecnologia e uso de *Carbon Dots* como bioestimulante em plantas

A nanotecnologia é considerada, atualmente, uma das alternativas promissoras para garantir aumentos significativos na produtividade agrícola global e, assim, atender às crescentes demandas alimentares da população (Feregrino-Perez *et al.*, 2018). Ela possui diversas aplicações na agricultura, sendo algumas delas relativas à sua utilização como nanofertilizantes, nanoherbicidas, nanopesticidas e nanobioestimulantes vegetais (Garza-Alonso *et al.*, 2023).

Como mencionado anteriormente, os bioestimulantes são materiais que quando aplicados em pequenas quantidades são capazes de promover o crescimento das plantas e ativar inúmeras rotas metabólicas. As nanopartículas (NPs) e os nanomateriais (NMs) vêm sendo bastante estudados e tratados como uma nova classe de bioestimulantes, pois, em faixas específicas de concentração, geralmente em pequenas concentrações, desencadeiam respostas nas plantas por meio de alterações fisiológicas e bioquímicas, melhorando o crescimento em geral, acumulando nutrientes, aumentando a atividade do sistema antioxidante e proporcionando maior tolerância a fatores ambientais adversos (Juárez-Maldonado *et al.*, 2019).

NPs e NMs são conceituados como materiais de dimensões inferiores a 100 nm, que têm uma alta densidade de cargas superficiais capazes de interações inespecíficas com as cargas superficiais das paredes celulares e membranas das células vegetais. Classes importantes dessas partículas são: os nanomateriais de carbono, como fulerenos, nanotubos de carbono (CNTs), grafeno e *carbon dots* (CDs); as nanopartículas de metais, semi-metais e ametais, como ouro, prata, cobre, silício, óxidos de zinco e de ferro; e os de procedência orgânica, como a quitosana (Judy; Bertsch, 2014; Khan *et al.*, 2019). A utilização dessas nanopartículas no solo ou via pulverização foliar tem mostrado respostas positivas no crescimento de plantas (Zhao *et al.*, 2020).

Uma das abordagens científicas dessas NPs consiste na utilização de *carbon dots* (CDs) para o desenvolvimento de bioestimulantes. Os CDs, também conhecidos como dots de carbono ou nanodots de carbono, são partículas que medem geralmente até 10 nm de diâmetro, compostas essencialmente por elementos como carbono, oxigênio e nitrogênio (Li *et al.*, 2022). São materiais luminescentes que apresentam características como alta solubilidade em água, estabilidade química, baixa toxicidade, biocompatibilidade e elevada capacidade de doação e recepção de elétrons (Zulfiqar *et al.*, 2019; Li, D. *et al.*, 2020), podendo ser absorvidos tanto pelas raízes quanto pelas folhas dos vegetais. Porém, características como tamanho da

molécula, cargas superficiais, formulação e concentração aplicada dos CDs, podem influenciar efetivamente nas respostas das plantas (Zheng *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2020).

Segundo Zuverza-Mena *et al.* (2017), Poschenrieder *et al.* (2013) e Juárez-Maldonado *et al.* (2019), aparentemente, a bioestimulação por CDs ocorre em duas fases: a primeira fase é de natureza físico-química por meio da energia e cargas superficiais dos CDs, que estão associadas às superfícies das paredes e membranas celulares modificando a atividade de receptores, transportadores, como aquaporinas, e outras proteínas, alterando também a translocação de metabólitos e íons dentro das células; a segunda ocorre por meio de processos bioquímicos que respondem à liberação dos elementos químicos dos CDs (como nutrientes). Além disso, moléculas de água ou íons se ligam aos CDs devido à presença de grupos hidrofílicos em sua superfície ($-OH$ e $-COOH$), o que permite que entrem na planta junto com os CDs (Li *et al.*, 2020b).

Quando pulverizadas via foliar, as NPs penetram nos tecidos principalmente através dos estômatos e são transportadas para as partes da planta por meio de vias apoplásticas e simplásticas (Hong *et al.*, 2021). Estudos indicam que os CDs, além de serem absorvidos pelas folhas de maneira mais eficiente devido ao seu tamanho reduzido, são capazes de promover a ativação de reações inerentes ao metabolismo vegetal, estimulando o crescimento, auxiliando na absorção de nutrientes, aumentando a taxa fotossintética e a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos (Maswada *et al.*, 2020).

Kou *et al.* (2021) observaram aumentos no conteúdo de água, aceleração da germinação e maior crescimento do hipocótilo e da radícula em plântulas de tomate, relacionando esses eventos à expressão de genes que codificam aquaporinas, as quais são proteínas que permitem o transporte de água e nutrientes Tan *et al.* (2021), ao aplicarem CDs via foliar (150 mg L^{-1}), constataram aumentos nas condutâncias estomáticas e na taxa fotossintética líquida de plantas de arroz e milho. O fato de os CDs serem bons doadores e receptores de elétrons e estimularem o aumento da atividade da enzima Rubisco, geram respostas positivas na fotossíntese das plantas (Li *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020b).

Uma outra maneira que essas nanopartículas podem estimular o processo fotossintético está relacionada com a capacidade que elas têm de emitir fluorescência em diferentes comprimentos de onda, podendo assim funcionar como conversores de luz UV em luz azul ou vermelha, que podem ser usadas pelas plantas (Sai *et al.*, 2018; Li, D. *et al.*, 2020). Todos esses benefícios acabam promovendo incrementos na produtividade das culturas, como

relataram Kou *et al.* (2021) em alface e tomateiro com a aplicação de CDs em diferentes concentrações.

Embora o uso de CDs no desenvolvimento de plantas esteja em constante estudo, ainda são necessários muitos trabalhos de pesquisa básica e aplicada para atestar seus efeitos em cultivos em diferentes condições. Uma abordagem ainda pouco explorada é a metabolômica, uma metodologia promissora que descreve as mudanças no metabolismo dos organismos. A utilização dessa metodologia pode ser essencial para o fornecimento de informações sobre a modulação de metabólitos e sua relação com o uso de CDs e com a tolerância ao estresse salino (Jiao *et al.*, 2018).

A busca por novas estratégias de manejo que permitam mitigar efeitos de estresses abióticos, como a salinidade, tem levado ao aumento do uso de bioestimulantes em todo o mundo e a utilização de produtos à base de CDs surge como alternativa não somente para elevar a produtividade das culturas, mas como uma possível utilização da água salina na agricultura, reduzindo os efeitos osmóticos e tóxicos dos sais sobre culturas de interesse agrônômico (Zhao *et al.*, 2020).

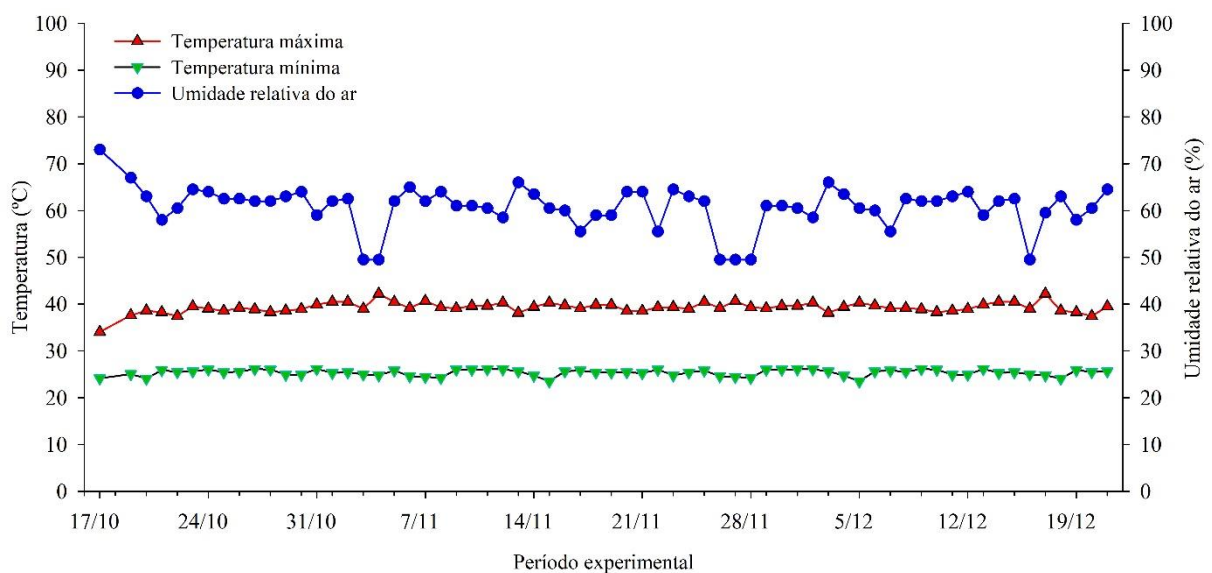
5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Localização experimental

O experimento foi conduzido entre os meses de outubro a dezembro de 2022, em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizada no Campus do Pici, em Fortaleza, Ceará, Brasil, com latitude de 3°44'25"S, longitude de 38°34'32" W e altitude de 12 m do nível do mar. O clima da região, segundo classificação de Köppen, é do tipo Aw', caracterizado como tropical chuvoso, muito quente, com chuvas predominantes nas estações verão e outono (Santos *et al.*, 2019).

Durante o período experimental, por meio da utilização de um termo-higrômetro digital (Pro Hygro Thermo, Garden HighPro), foram monitoradas diariamente as temperaturas máximas e mínimas e a umidade relativa do ar no interior da estufa, as quais variam entre 34,1 a 42,2 °C, 23,5 a 26,2 °C e 49,5 a 73%, respectivamente (Figura 1).

Figura 1 – Médias diárias das temperaturas máximas e mínimas e da umidade relativa do ar durante o período experimental



Fonte: Elaborada pela autora.

Após a finalização do experimento em casa de vegetação, as demais etapas experimentais foram realizadas em parceria com os Laboratórios de Ecofisiologia da Produção Vegetal e de Fisiologia Vegetal, pertencentes, respectivamente, aos Departamentos de

Fitotecnia e de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC, localizados no Campus do Pici, em Fortaleza, Ceará.

5.2. Material vegetal utilizado

Para este experimento, foram utilizadas sementes de feijão-caupi da cultivar Pingo de Ouro 1-2, fornecidas pelo Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da UFC, localizado em Fortaleza, Ceará. Essa cultivar foi escolhida devido à sua ampla adaptabilidade e utilização na região Nordeste. As sementes foram selecionadas com base na uniformidade de tamanho e na integridade do tegumento e, depois, tratadas com o fungicida Vitavax Thiram 200 SC.

5.3. Análise de solo e adubação

O solo classificado como Neossolo Flúvico utilizado neste estudo foi coletado na profundidade de 0-20 cm em área não cultivada da Fazenda Experimental Vale do Curu, pertencente a UFC e localizada em Pentecoste-CE. Após a coleta, a amostra foi encaminhada ao Laboratório de Solos/Água, do Departamento de Solos da UFC em parceria com a Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos – FUNCEME, para determinação dos principais atributos químicos e físicos (Tabela 1).

Tabela 1 – Atributos químicos e físicos do solo (profundidade 0-20 cm) usado no experimento

Atributos químicos											
C	MO	P Ass.	K	Mg	Ca	Na	H+Al	SB	T	V	PST
(g kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹) (cmol _c dm ⁻³) (%) ...				
3,3	5,7	57	0,2	1,2	2,7	0,2	0,7	4,3	4,9	87	4
Atributos químicos						Atributos físicos					
pH	CE	Fe	Cu	Zn	Mn	Granulometria (g kg ⁻¹)				Classificação textural	
H ₂ O	(dS m ⁻¹) (mg kg ⁻¹)			Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	Areia franca		
7	0,3	57,1	0,6	1,8	33,2	448	416	96	40		

Fonte: Laboratório de Solos/Água, UFC-FUNCEME. Abreviações: C – Carbono; MO – Matéria orgânica; P Ass. – Fósforo disponível; K – Potássio; Mg – Magnésio; Ca – Cálcio; H + Al – Acidez potencial a pH 7,0; SB - Soma de bases trocáveis; T – Capacidade de troca de cátion do solo a pH 7,0; V – Porcentagem de saturação por bases; PST – Porcentagem de sódio trocável; pH – Potencial hidrogeniônico; CE – Condutividade elétrica; Fe – Ferro; Cu – Cobre; Zn – Zinco; Mn – Manganês. P, K⁺, Na⁺, Cu, Fe, Zn e Mn: Mehlich 1; MO: Walkley-Black; Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺: KCl 1 mol/L; H+Al: (CH₃COO)₂Ca.H₂O 0,5 mol/L pH 7,1-7,2

A adubação química foi realizada com base no resultado da análise do solo e na recomendação disponível para a cultura (Melo *et al.*, 2018), aplicando-se 0,68 g vaso⁻¹ de cloreto de potássio e 0,75 g vaso⁻¹ de superfosfato simples, sendo a aplicação parcelada em 50% no plantio e 50% em cobertura (pré-floração). Foi aplicado 0,5 g vaso⁻¹ de ureia 15 dias após a emergência das plântulas.

5.4. Condução do experimento

Vasos de polietileno com capacidade para 18 L foram preenchidos com uma camada de 2 cm de brita número 1 no fundo, para facilitar a drenagem da água de irrigação, e o restante foi completado com 15 kg do solo, cuja densidade era 1,46 g cm⁻³.

Após isso, foram semeadas 3 sementes por vaso em uma profundidade de cerca de 3 cm e, sete dias após a semeadura (DAS), foi realizado o desbaste manual, deixando apenas uma planta de feijão-caupi em cada vaso. No decorrer do período de cultivo, foram efetuados os tratos culturais necessários para a adequada condução da cultura, tais como tutoramento e eliminação de plantas invasoras.

5.5. Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em um arranjo fatorial 2 × 6, sendo referentes a duas condutividades elétricas da água de irrigação (CEa: 0,35 e 4,0 dS m⁻¹) e seis concentrações do nanobioestimulante à base de *carbon dots* (Arbolina) aplicadas via foliar (0; 80; 160; 240; 320 e 400 mg L⁻¹), com quatro repetições, totalizando 48 unidades experimentais. Cada parcela foi constituída por dois vasos geminados (uma planta por vaso), totalizando 96 vasos. A condutividade elétrica da água de irrigação (CEa) foi fixada em 4,0 dS m⁻¹, levando em consideração a tolerância moderada da cultura à salinidade e a experimentos anteriores do grupo de pesquisa com a cultura. As concentrações do bioestimulante foram determinadas com base nas recomendações do fabricante, após testes preliminares do produto em leguminosas, nomeadamente feijão (*Phaseolus vulgaris*) e soja (*Glycine max*).

É importante mencionar que uma das plantas foi utilizada para as análises fisiológicas, biométricas e bioquímicas (destrutivas) que aconteceram aos 45 DAS. Já a outra

planta (outro vaso), foi conduzida até o final do ciclo, sendo utilizada para as análises produtivas (65 DAS).

5.6. Água de irrigação

A água de irrigação do tratamento de menor condutividade elétrica ($0,35 \text{ dS m}^{-1}$) foi proveniente do sistema de abastecimento público do município de Fortaleza, Ceará. Já o tratamento de maior condutividade elétrica ($4,0 \text{ dS m}^{-1}$) foi preparado a cada semana, em reservatórios com capacidade para 100 L, dissolvendo NaCl, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ na água de abastecimento, na proporção equivalente a 7:2:1, respectivamente. Esses sais foram escolhidos por representarem os sais primários encontrados nas águas salobras da região Nordeste, predominantemente nesta proporção (Medeiros *et al.*, 2003).

A CEa foi aferida por meio de leituras diárias, com o auxílio de um condutivímetro portátil para garantir a manutenção e o controle dos níveis de salinidade de cada tratamento ao longo de todo o ciclo de cultivo. A concentração dos sais foi calculada conforme Richards (1954) pela Equação (1):

$$C_s \approx CE \times 10 \quad (1)$$

Em que: C_s = Concentração de sais (mmolc L^{-1}); CE = condutividade elétrica pré-estabelecida.

Todos os vasos foram irrigados diariamente com água de baixa salinidade ($0,35 \text{ dS m}^{-1}$) até a imposição do estresse salino, que foi realizada no estágio fenológico V3 (12 DAS), momento em que a primeira folha trifoliada se encontrava com os folíolos separados e completamente expandidos. A partir desse momento, os vasos dos tratamentos com alta salinidade passaram a ser irrigados com água de $4,0 \text{ dS m}^{-1}$, mantendo turno de rega diário. O volume de água foi aplicado com base no balanço hídrico obtido de acordo com a metodologia do lisímetro de drenagem (Bernardo *et al.*, 2019), deixando o solo à capacidade de campo e aplicando-se, uma vez por semana, uma fração de lixiviação de 0,15 superior à demanda da cultura, com o objetivo de evitar o acúmulo excessivo de sais no solo (Ayers; Westcot, 1999).

A irrigação foi realizada de forma localizada, para evitar o contato com as folhas das plantas, e o volume de água foi determinado pela Equação (2):

$$VI = \frac{(Va - Vd)}{1 - FL} \quad (2)$$

Em que: VI = volume de água utilizado no evento de irrigação (mL); Va e Vd = volume de água aplicado e drenado no evento de irrigação anterior, respectivamente; e, LF = fração de lixiviação.

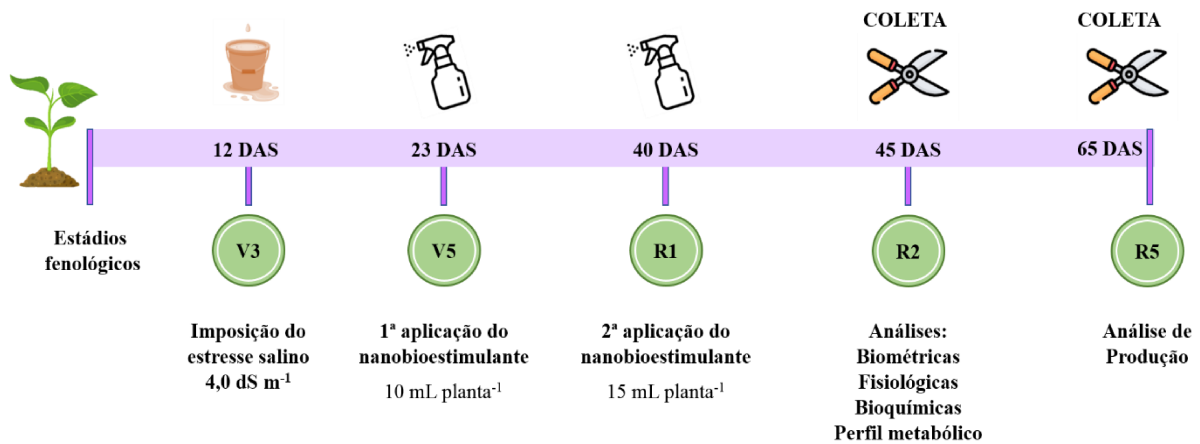
5.7. Bioestimulante Arbolina

A Arbolina utilizada no experimento foi obtida a partir do produto Arbolin Biogenesis, desenvolvido pela empresa brasileira Krilltech, onde é comercializado em sua fórmula concentrada com 400 g L⁻¹ de Arbolina (nanopartícula de cabono). A arbolina é uma partícula que apresenta formato esferoidal, com tamanho de 3,1 nm, composição elementar representada por 61% de C, 21,3% de N, 11,4% de O e 6,3% de H, composição de superfície com 67,4% de C, 21% de O e 11,6% de N e região máxima de emissão de luz de 440 a 530 nm.

Deste modo, para o preparo das soluções e obtenção das concentrações de aplicação (0, 80, 160, 240, 320 e 400 mg L⁻¹) foi necessária a etapa de diluição, fixando-se a calda para um volume de 70 mL para cada tratamento com Arbolina, ou seja, cada planta recebeu, via pulverização foliar, 10 mL da solução com Arbolina, variando a concentração de acordo com os tratamentos. Para os tratamentos sem Arbolina (0 mg L⁻¹), foi pulverizado 10 mL de água destilada em cada uma das plantas.

A aplicação das soluções com as concentrações do nanobioestimulante foi realizada duas vezes, de acordo com os tratamentos, e compreendeu os estádios fenológicos V5 (23 DAS) e R1 (40 DAS) do feijão-caupi, os quais representam, respectivamente, o momento em que a terceira folha trifoliolada se encontrava com os folíolos separados e completamente expandidos e o momento em que a planta se encontrava em pré-floração, com o surgimento dos primórdios do primeiro botão floral no ramo principal. Para a segunda aplicação, devido ao estágio de desenvolvimento da cultura, houve a necessidade de aumentar o volume da solução com nanobioestimulante para 15 mL planta⁻¹ (Figura 2).

Figura 2 – Esquema experimental incluindo estádios fenológicos, imposição do estresse salino, aplicação dos tratamentos com nanobioestimulante e variáveis analisadas em plantas de feijão-caupi cv. Pingo de Ouro 1-2



Fonte: Elaborada pela autora. DAS – dias após a semeadura

5.8. Variáveis analisadas

Aos 45 DAS, quando as plantas atingiram o estágio fenológico R2, foi selecionada uma planta de cada parcela para determinação das análises biométricas, fisiológicas, bioquímicas e metabolômicas. Para essas duas últimas análises, foram coletadas as duas folhas mais jovens completamente expandidas a partir do ápice, sendo congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a -80 °C para posterior utilização.

Para a realização das análises bioquímicas e metabolômicas, foi necessária a maceração dos tecidos foliares em almofariz (previamente congelado em nitrogênio líquido) até obtenção de um pó fino, sendo este armazenado em microtubos de 2 mL devidamente identificados para posterior utilização. Os microtubos também foram previamente congelados em nitrogênio líquido. As amostras foram armazenadas em ultrafreezer a -80 °C até a etapa de pesagem.

Folhas pertencentes ao material vegetal restante, no estado fresco, foram utilizadas para a determinação do potencial hídrico, de extravasamento de eletrólitos e de pigmentos fotossintéticos (metodologias descritas a seguir).

5.8.1. Variáveis biométricas

Aos 45 DAS (R2) foi realizada a determinação das variáveis biométricas, sendo realizadas medições de comprimento da haste principal (CHP) e do diâmetro do caule (DC) das

plantas de cada tratamento, utilizando-se uma trena graduada e um paquímetro digital, respectivamente. A medição de CHP foi realizada a partir do colo da planta até a última inserção foliar, já o DC foi mensurado na altura de 3 cm do colo da planta. Na ocasião, também foi contabilizado o número de folhas (NF), obtido pela contagem direta dos trifólios.

Também aos 45 DAS foram realizadas a coleta dos órgãos vegetativos para obtenção da área foliar (AF), medição de comprimento radicular (CR) e massa seca das folhas (MSF), do caule (MSC) e das raízes (MSR). A área foliar foi determinada por meio de um medidor de superfície (LI – 3100, Área Meter, Li-Cor., Inc., Lincoln, 87 Nebraska, USA). Para determinação de MSF, MSC e MSR, os órgãos vegetais coletados foram colocados separadamente em sacos de papel devidamente identificados e encaminhados à estufa com circulação forçada de ar, a 65 °C até atingir massa constante (aproximadamente por um período de 72 horas). Em seguida, os materiais vegetais foram pesados em balança de precisão para determinação de sua massa seca em gramas por planta e, posteriormente, obtida a massa seca total (MST).

5.8.2. Variáveis fisiológicas

5.8.2.1. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

Aos 45 DAS (R2) foram realizadas medições da taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E), temperatura foliar (T_f) e concentração interna de CO_2 (C_i), no terceiro trifólio completamente expandido a partir do ápice, no horário entre 8h00min e 12h00min, utilizando-se um analisador de gases no infravermelho (IRGA, LI-6400XT, LI-COR Biosciences Inc., Lincoln, Nebraska, USA), sob radiação saturante ($1200 \mu mol m^{-2} s^{-1}$), concentração de CO_2 controlada (400 ppm) e sob condições ambiente de temperatura. De posse desses dados, foi possível obter a razão C_i/C_a , a eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i) e a eficiência instantânea do uso da água (A/E).

Na ocasião de determinação das trocas gasosas, também foram determinados parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila a , por meio de um fluorômetro acoplado ao IRGA (LI-40). Para essa determinação, as folhas amostrais (terceiro trifólio completamente expandido a partir do ápice) foram aclimatadas ao escuro com papel alumínio por um período de 30 minutos e após isso foram realizadas as análises, obtendo-se a fluorescência mínima (F_o), fluorescência máxima (F_m), fluorescência máxima variável (F_v) e máxima eficiência quântica

do PSII (F_v/F_m). Após isso, os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em folhas adaptadas à luz foram medidos, tais como: fluorescência mínima estimada de folhas adaptadas à luz ($F_o' = F_o/(F_v/F_m + F_o/F_m')$) (Oxborough; Baker, 1997), fluorescência máxima de folhas adaptadas à luz (F_m'), taxa aparente de transporte de elétrons ($ETR = \Phi_{PSII} \times RFA \times 0,5 \times 0,84$) (Genty *et al.*, 1989), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}) (Genty *et al.*, 1989), coeficiente de extinção fotoquímico ($qL = (F_m' - F) \times F_o' / (F_m' - F_o') \times F$) (Kramer *et al.*, 2004), rendimento quântico da dissipação de energia regulada do PSII ($\Phi_{NPQ} = (F/F_m') - (F/F_m)$) e rendimento quântico da dissipação de energia não regulada do PSII ($\Phi_{NO} = F/F_m$). Os parâmetros de Φ_{NPQ} , Φ_{PSII} e Φ_{NO} foram calculados seguindo Genty *et al.* (1989), Kramer *et al.* (2004) e Hendrickson *et al.* (2004), no qual $\Phi_{NPQ} + \Phi_{PSII} + \Phi_{NO} = 1$.

5.8.2.2. Status hídrico da planta (Ψ_{wf})

Aos 45 DAS (R2), foi obtido o potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}) utilizando uma bomba de pressão do tipo Scholander (Scholander *et al.*, 1964) e as medições foram realizadas no período da ante-manhã (5:00h, antes do sol nascer), pois é nesse momento que a planta se encontra em equilíbrio com o solo. Esta avaliação foi realizada em apenas uma folha de cada planta, sendo que as folhas utilizadas para a medição estavam completamente expandidas, maduras e localizadas no terço médio de uma das plantas que compõem a parcela experimental. O potencial de cada folha foi avaliado imediatamente após o seu destacamento da planta.

5.8.2.3. Pigmentos fotossintéticos

A quantificação dos pigmentos fotossintéticos foi realizada conforme metodologia de Wellburn (1994), em que foram retirados 3 discos foliares (aproximadamente 0,05 g) de folhas completamente expandidas localizadas no terço médio da planta de feijão-caupi, depois colocados em frascos de vidro revestidos com papel alumínio contendo 2,0 mL da solução de extração (dimetilsulfóxido - DMSO saturado com $CaCO_3$). Os tubos foram mantidos em condição de escuro por 48 h e, em seguida, incubados em banho-maria a 65 °C, por um período de 30 minutos. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro a 665, 649 e 480 nm. Por fim, os discos foliares foram lavados para retirar o excesso de solução de extração, e, após secagem em estufa à temperatura de 60 °C, por 48 h, foi determinada a massa seca em

balança de precisão. Os conteúdos de clorofila *a*, *b* e total e de carotenoides foram estimados pelas Equações (3), (4), (5) e (6), respectivamente:

$$\text{Chl } a = (12,47 \times A_{665}) - (3,62 \times A_{649}) \quad (3)$$

$$\text{Chl } b = (25,06 \times A_{649}) - (6,50 \times A_{665}) \quad (4)$$

$$\text{Chl total} = (7,15 \times A_{665}) + (18,71 \times A_{649}) \quad (5)$$

$$\text{Crt} = \frac{(1000 \times A_{480} - 1,29 \times C_a - 53,78 \times C_b)}{220} \quad (6)$$

Em que: A representa a absorvância em um respectivo comprimento de onda, sendo os valores obtidos expressos em mg g⁻¹ de matéria seca (MS).

5.8.3. Variáveis bioquímicas

5.8.3.1. Determinação dos teores de sódio (Na⁺) e potássio (K⁺)

Para a extração de sódio e potássio pesou-se 10 mg do pó liofilizado de folhas e de raízes e adicionou-se 1,0 mL de água deionizada, em microtubos. Estes últimos foram mantidos à temperatura de 75 °C, durante 1 h, com agitações a cada 10 min. Após esse período, os homogenatos foram centrifugados a 3.000 x g por 15 min, à temperatura ambiente. Ao final do processo, os sobrenadantes foram coletados e armazenados a 20 °C até sua utilização, sendo o precipitado descartado.

Os teores de Na⁺ e K⁺ foram determinados com o auxílio de um fotômetro de chama [Micronal, modelo B462 (São Paulo, Brasil)] (Malavolta *et al.*, 1989), utilizando os extratos devidamente diluídos. Os resultados foram expressos em mmol g⁻¹ MS. De posse desses dados, também foi calculada a razão Na⁺/K⁺ tanto em folhas quanto em raízes.

5.8.3.2. Proteínas solúveis

Para a obtenção dos extratos para determinação de proteínas solúveis e enzimas antioxidantes foram maceradas amostras frescas das folhas das plantas em nitrogênio líquido e depois o material proveniente foi armazenado em microtubos a -80 °C. Os extratos foram obtidos a partir da homogeneização de 1 g do macerado das folhas das plantas de feijão-caupi

em 5,0 mL de fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0) com EDTA (sal dissódico dihidratado) a 0,1 mM, durante 4 minutos. O homogeneizado foi filtrado, agitado e posteriormente centrifugado a 12.000 x g durante 15 minutos. Todos os procedimentos foram conduzidos a 4 °C e o sobrenadante foi armazenado em microtubos, mantidos a -80 °C até o momento das análises.

A determinação das proteínas solúveis totais foi realizada de acordo com metodologia descrita por Bradford (1976), utilizando-se o reagente Coomassie. Este reagente foi preparado dissolvendo-se 100 mg de “Coomassie Brilliant Blue G-250” (Sigma Chemical Company) em 50 mL de etanol a 95%, acrescido de 100 mL de ácido fosfórico a 85%. O volume final da solução foi completado para 1 L com água deionizada e após isso foram realizadas duas filtrações. O reagente ficou armazenado em frasco escuro à temperatura ambiente.

Aos tubos de ensaio foram adicionados 100 µL do extrato, convenientemente diluído, e 1 mL do “reagente de Bradford” e após isso os tubos foram agitados. A mistura resultante foi deixada em repouso por 15 minutos, no escuro, para então ser submetida à leitura em espectrofotômetro com absorvância à 595 nm. Como padrão, foi utilizada solução de albumina de soro bovina. A concentração de proteína solúvel foi expressa em mg g⁻¹ MF, sendo cada extrato dosado em triplicata.

5.8.3.3. *Prolina livre*

O extrato para determinação de prolina livre foi preparado a partir da pesagem de 10 mg de macerados dos tecidos foliares frescos em microtubos, e adicionado 1,0 mL de água deionizada. Os microtubos foram mantidos à temperatura ambiente, durante 1 h, com agitações constantes. Após esse tempo, os extratos foram centrifugados a 3.000 x g por 15 min, à temperatura ambiente. Após isso, o sobrenadante foi coletado e armazenado a -20°C até sua utilização, sendo o precipitado descartado.

O teor de prolina livre nas amostras foi determinado conforme metodologia proposta por Bates *et al.* (1973). Foram adicionados a tubos de ensaio com tampa rosqueável 500 µL do extrato, devidamente diluído, 1,0 mL da mistura de ninhidrina ácida:ácido acético glacial (proporção 1:1, preparada no momento do uso) e, em seguida, os tubos foram fechados hermeticamente e agitados vigorosamente em agitador. Encerrado o período de incubação em banho-maria durante 1 hora, a 100 °C, a reação foi interrompida resfriando os tubos em banho de gelo. Após esse procedimento, foi adicionado 1,0 mL de tolueno e os tubos agitados vigorosamente em agitador. Com uma pipeta de Pasteur, foi aspirada a fase menos densa

(cromóforo) para obtenção da leitura em espectrofotômetro à 520 nm, tendo como “branco” um tubo de ensaio contendo tolueno. De posse das leituras espectrofotométricas da amostra, foram realizados os cálculos da concentração, tendo como referência a equação obtida a partir de curva padrão de solução de prolina. Por fim, a concentração de prolina livre foi expressa em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF.

5.8.3.4. Danos de membranas

O nível de dano sobre as membranas celulares das folhas em decorrência do estresse salino foi determinado pelo extravasamento de eletrólitos. A metodologia utilizada foi a descrita por Singh *et al.* (2007), sendo retirados discos foliares (cerca de 100 mg) e colocados em tubos de ensaio contendo 10 mL de água deionizada e mantidos em repouso à temperatura ambiente por 2 horas. Após esse período, utilizando um condutivímetro, foi determinada a condutividade elétrica inicial (CE1). Em seguida, os tubos contendo as amostras foram aquecidos a 95 °C, por 30 minutos, em banho-maria para obtenção da condutividade elétrica final (CE2). O extravasamento de eletrólitos (EE) foi estimado pela Equação (7):

$$EE (\%) = \frac{CE1}{CE2} \times 100 \quad (7)$$

5.8.3.5. Peroxidação lipídica

A peroxidação dos lipídios foi estimada pela quantificação dos teores de malondialdeído (MDA), produto final da peroxidação lipídica, conforme descrito por Buege e Aust (1978). Para as análises foram utilizados 300 mg de tecidos foliares das plantas de feijão-caupi, os quais foram macerados em nitrogênio líquido até formar um pó fino. Na sequência, foi adicionado 2 mL de ácido tricloroacético (TCA 5%), a 4 °C. O homogeneizado foi centrifugado a $12.000 \times g$, por 20 minutos, a 4 °C, e o sobrenadante obtido foi coletado e imediatamente usado na análise. Em tubos de ensaio, foram adicionados volumes iguais de extrato e de uma solução de ácido tiobarbitúrico a 0,5% (m/v), preparada em TCA a 20% (m/v), e levado ao banho-maria por 30 minutos, a 95 °C. Decorrido esse tempo, a reação foi paralisada em banho de gelo e os tubos foram centrifugados a $3000 \times g$, por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e as leituras foram realizadas nos comprimentos de onda 532 nm (específica) e 600 nm (não-específica). O conteúdo de malondialdeído foi estimado pela subtração das leituras

específicas e não-específicas, utilizando coeficiente de extinção molar do MDA ($\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol MDA g}^{-1} \text{ MF}$.

5.8.3.6. Mecanismos antioxidativos de defesa

Para todas as análises enzimáticas, os extratos utilizados foram os mesmos descritos para proteínas (ver item 5.8.3.2), sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro.

5.8.3.6.1. Atividade da Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A CAT teve sua atividade medida de acordo com o método de Havir e McHale (1987). O ensaio consistiu em adicionar 150 μL do extrato enzimático diluído a um meio de reação constituído de 1290 μL de tampão fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), contendo EDTA a 0,1 mM e 60 μL de H_2O_2 a 0,5 M. A atividade foi determinada monitorando-se a degradação de H_2O_2 a 240 nm (pico de absorção do H_2O_2) durante o período de 1 minuto e dose contínua em intervalos de 1 segundo em temperatura ambiente. A diferença em absorbância (ΔA_{240}) foi dividida pelo coeficiente molar de extinção ($36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e a atividade enzimática expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ Prot}$.

5.8.3.6.2. Atividade da Superóxido Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da SOD foi determinada pela medição de sua habilidade de inibir a redução fotoquímica do cloreto de tetrazoliumnitroblue, conforme descrito por Beauchamp e Fridovich (1971). O ensaio consistiu na adição de 0,05 mL de extrato enzimático, em 1,5 mL da mistura de reação, contendo tampão fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,8) com EDTA a 100 mM, metionina a 13 mM, azul de p-nitrotetrazólio (NBT) a 75 μM e riboflavina a 2 μM . A reação foi conduzida a 25 °C, em uma câmara de reação revestida internamente com papel alumínio e iluminada com duas lâmpadas fluorescentes de 20 W, por 15 minutos (Giannopolitis; Reis, 1977).

A atividade enzimática foi estimada pela leitura de absorbância em 560 nm, devido à produção de azul de formazana, resultante da fotorredução do NBT. Os resultados foram expressos em UA $\text{g}^{-1} \text{ MS}$, sendo uma UA (unidade de atividade enzimática) definida como a

quantidade de enzima necessária para causar inibição de 50% na taxa de fotorredução do NBT, no período de 15 minutos.

5.8.3.6.3. Atividade da Peroxidase do Ascorbato (APX, EC 1.11.11.1)

A APX foi determinada de acordo com Nakano e Asada (1981). Para um volume final de 1,5 mL, foram adicionados 300 µL do extrato enzimático, devidamente diluído, a uma mistura de reação constituída de 50 µL de H₂O₂ a 30 mM e 50 µL de ascorbato a 15 mM, em 1100 µL de tampão fosfato de potássio a 50 mM (pH 6,0), com EDTA a 0,05 mM. A oxidação do ascorbato foi monitorada pela leitura em absorvância de 290 nm, no momento da adição do H₂O₂ e 1 minuto após. A diferença na absorvância (ΔA_{290}) foi dividida pelo coeficiente de extinção molar do ascorbato ($2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e a atividade enzimática foi expressa como $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ Prot}$, levando em consideração que 2 mols do ascorbato são necessários para a redução de 1 mol de H₂O₂ (Mckersie; Leshem, 1994).

5.8.4. *Análise de Produção*

A partir do início da fase de maturação até os 65 DAS, foram realizadas coletas semanais das vagens para a obtenção de dados referentes ao número de vagens produzidas (NVP), tamanho médio das vagens (TMV), peso das vagens (PV), número de grãos por vagem (NGV), peso total dos grãos (PTG) e peso de 100 grãos (P100G).

5.8.5. *Análise metabolômica*

A análise do perfil metabólico foi realizada em folhas das plantas de feijão-caupi em ambas as condições estudadas: presença ou ausência de estresse salino e concentrações do nanobioestimulante de carbono. Para a definição das concentrações a ser avaliadas, utilizou-se como critério os controles negativos para nanobioestimulante (0 mg L⁻¹ na ausência e na presença do estresse salino) e a concentração que mais se destacou em cada uma das condições de irrigação, principalmente levando em consideração o resultado obtido nas variáveis relacionadas ao melhor desempenho fotossintético, crescimento e produção.

A extração foi realizada a partir de amostras frescas de folhas maceradas em nitrogênio líquido. Foram pesados 50 mg de cada uma das amostras, adicionado 700 µL metanol

(100%) e agitado em vortex por 10 s. Em cada amostra foram adicionados 30 μL de ribitol (0,2 mg/mL) como padrão interno, sendo novamente agitados por 10 s. Após isso, as amostras foram incubadas em Termomix a 70 °C por 15 min, com agitação a 450 rpm. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 12.000 x g, a 4 °C por 10 min. Depois da centrifugação, os sobrenadantes foram transferidos para novos microtubo de 2 mL, nos quais foram adicionados 375 μL de clorofórmio gelado (CHCl_3) e 750 μL de H_2O Milli-Q, com posterior agitação em vortex por 15 s. Para formação do sistema bifásico, os microtubos foram submetidos novamente à centrifugação a 2.200 x g, a 4 °C, por 15 min. Passado esse período, foi coletada alíquota de 150 μL da fase superior (fase polar) e colocada em tubos de eppendorfs 1,5 mL. A alíquota da fase polar foi seca em SpeedVac durante a noite e armazenada a -80 °C.

Os metabólitos presentes na fração polar seca no SpeedVac foram derivatizados a partir da adição de 20 μL de solução de cloridrato de metoxiamina (10 mg/ 0,5 mL de piridina). A mistura foi agitada em banho seco ajustado para 37 °C, por 2 h a 550 rpm, antes de adicionar 35 μL de N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida (MSTFA). Após a adição de MSTFA, a mistura foi novamente agitada em banho seco ajustado para 37 °C, por 30 min a 550 rpm. Foi transferido 55 μL da amostra derivatizada para o vial para a detecção e a quantificação relativa dos metabólitos, que foram realizadas utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado à espectrômetro de massas (GCMS, modelo QP-PLUS 2010, Shimadzu, Tóquio, Japão).

A separação e detecção dos metabólitos foram realizadas conforme Roessner *et al.* (2001) com modificações, em que 1,0 μL da amostra derivatizada foi injetada no modo split (1:5), usando hélio como gás de arraste a um fluxo de 1,2 mL min^{-1} . A coluna capilar RTX-5MS (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm) foi utilizada para separação dos metabólitos, sendo configurada à temperatura inicial de 80 °C por 2 min, seguida de aumento a uma taxa de 10 °C min^{-1} até alcançar a temperatura final de 310 °C, que foi mantida por 8 min. As temperaturas de injeção, da interface e da fonte de íons foram de 230, 250 e 200 °C, respectivamente. O espectrômetro de massas operou a 70 eV (ionização por impacto de elétrons - EI), com intervalo de detecção de fragmentos de massa de 40-700 (m/z), iniciando após o tempo de 3 min.

Cada cromatograma e espectro de massa foram avaliados utilizando o programa Xcalibur™ 2.1 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). A identificação dos compostos baseou-se nos seus tempos de retenção e fragmentação do espectro de massa em comparação com os espectros de massa padrão na biblioteca interna de metabolitos e na base de dados do metaboloma de Golm. O valor relativo de cada metabólito foi determinado pela

divisão de suas respectivas áreas de pico pela área de pico do padrão interno (ribitol, Sigma-Aldrich) e, após, dividido pela massa fresca da amostra.

5.8.6. Análise estatística

Para a análise dos dados morfofisiológicos, bioquímicos e produtivos, procedeu-se com a verificação da normalidade dos dados, por meio do teste de Shapiro-Wilk e, depois, os dados das variáveis analisadas foram submetidos à análise de variância, avaliando-se a significância dos tratamentos pelo teste F ($p \leq 0,05$). Quando significativas, as médias da CEa foram comparadas pelo teste de Tukey, enquanto as concentrações do nanobioestimulante foram avaliadas por meio de regressão polinomial ($p \leq 0,05$). Para análise estatística e representação gráfica foram utilizados o pacote estatístico R v.4.0.2 (R Core Team, 2020) e Sigmaplot (versão 11.0), respectivamente.

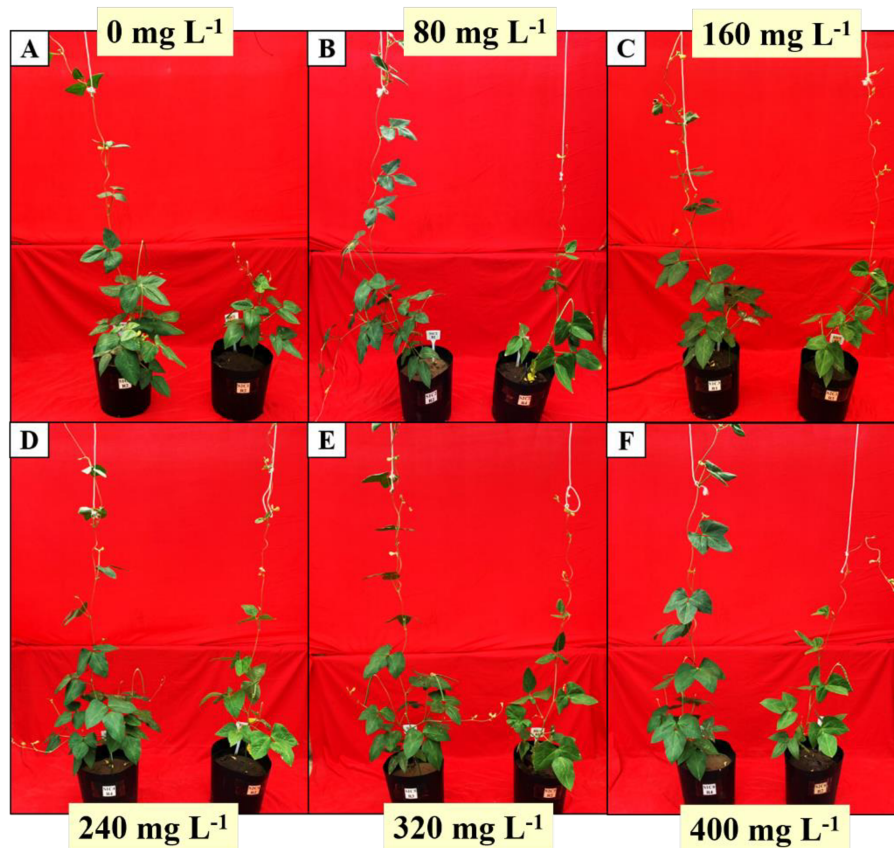
No que se refere à análise do perfil metabólico das folhas, os valores de abundância relativa dos metabólitos foram processados no software MetaboAnalyst 6.0. Os dados foram padronizados ($\mu = 0$; $\sigma^2 = 1$) antes de serem submetidos à ANOVA unidirecional e ao teste de Tukey ($p < 0,05$). Além disso, os dados metabolômicos transformados foram submetidos à análise quimiométrica [PLS-DA (Discriminant Analysis of Partial Least Squares)] e análise de cluster (agrupamento hierárquico). O agrupamento hierárquico foi como um mapa de calor (distância Euclidiana, algoritmo de agrupamento Ward).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Crescimento das plantas de feijão-caupi

Independentemente da aplicação do nanobioestimulante, a salinidade da água de irrigação promoveu reduções expressivas no crescimento do feijão-caupi em comparação com as plantas cultivadas em condições não salinas, entretanto, a limitação do crescimento foi mais acentuada em plantas sob estresse salino que não receberam nanobioestimulante (Figura 3).

Figura 3 – Plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, submetidas ou não ao estresse salino em cada uma das concentrações do nanobioestimulante, aos 45 dias após sementeira: 0 mg L⁻¹ (A), 80 mg L⁻¹ (B), 160 mg L⁻¹ (C), 240 mg L⁻¹ (D), 320 mg L⁻¹ (E) e 400 mg L⁻¹ (F), estando as plantas não estressadas à esquerda e as plantas submetidas à salinidade à direita

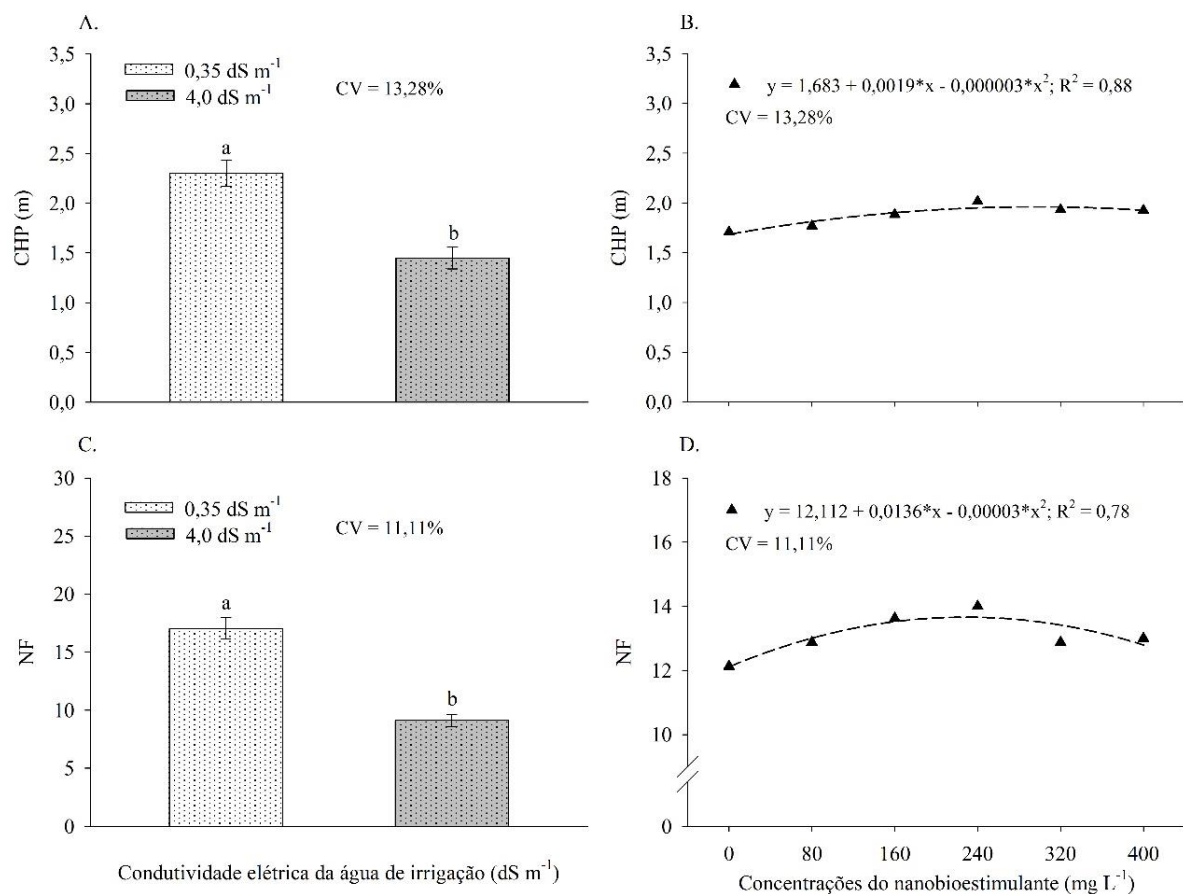


Fonte: Elaborada pela autora

As plantas submetidas à condutividade elétrica da água de 4,0 dS m⁻¹ (estresse salino) apresentaram reduções de 36,89% no comprimento da haste principal (Figura 4A) e de

46,45% no número de folhas (Figura 4C) quando comparadas às plantas expostas à menor condutividade elétrica ($0,35 \text{ dS m}^{-1}$ – sem estresse). Por outro lado, observou-se que, com o aumento das concentrações do nanobioestimulante, houve incrementos nessas variáveis, com a concentração 317 mg L^{-1} promovendo maior ganho em CHP (Figura 4B) e a 227 mg L^{-1} promovendo o máximo ganho em NF (Figura 4D), sendo 17,87 e 12,73% superiores às médias obtidas com a concentração 0 mg L^{-1} (sem nanobioestimulante), respectivamente.

Figura 4 – Comprimento da haste principal (A e B) e número de folhas (C e D) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente. Barras verticais indicam erro padrão

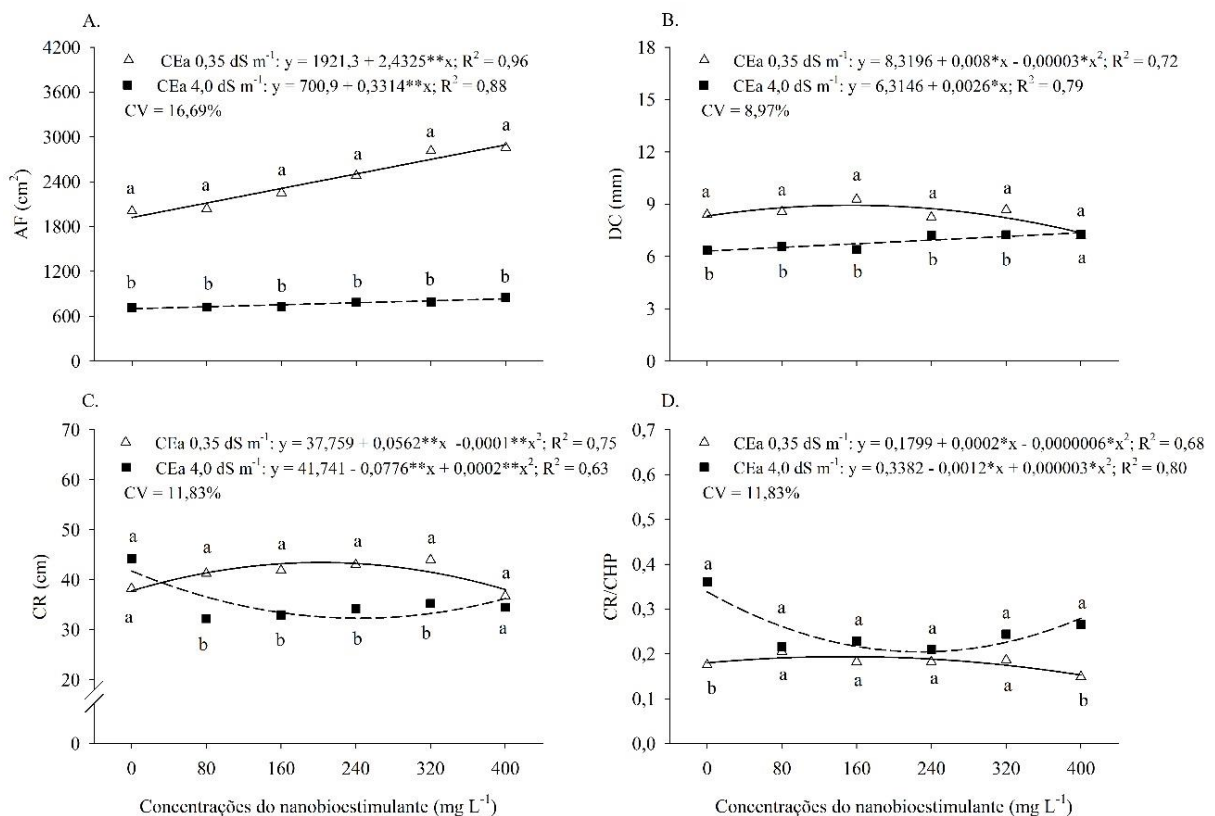
Assim como observado na presente pesquisa com o feijão-caupi, o uso de bioestimulantes à base de nanopartículas de carbono (CDs) tem mostrado efeitos positivos sobre o crescimento e o desenvolvimento de inúmeras culturas agrícolas (Joshi *et al.*, 2020). Estudos indicam que os CDs, além de serem absorvidos pelas folhas de maneira mais eficiente devido ao seu tamanho reduzido, são capazes de promover a ativação de reações inerentes ao

metabolismo vegetal, aumentando a taxa fotossintética e auxiliando na absorção de água e nutrientes, e com isso culminar em maior estímulo ao crescimento das plantas (Maswada *et al.*, 2020).

Sob alta salinidade, é comum que ocorram essas reduções no crescimento e na emissão de folhas das plantas e essas respostas podem estar associadas à limitação hídrica gerada pelo excesso de sais presentes na água de irrigação, tendo consequência direta no crescimento devido à influência da água sobre alongamento e divisão celular, bem como estar relacionadas aos distúrbios nutricionais e aos efeitos específicos de íons, como sódio e cloreto, sobre o metabolismo vegetal (Wang *et al.*, 2022).

Assim como ocorreu para CHP e NF, reduções na área foliar (AF) das plantas de feijão-caupi sob salinidade foram constatadas (Figura 5A).

Figura 5 – Área foliar (A), diâmetro do caule (B), comprimento radicular (C) e razão CR/CHP (D) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
 *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

A menor expansão foliar (Figura 5A) pode ser atribuída tanto às limitações inerentes ao crescimento, como mencionadas anteriormente, como também a uma resposta aclimatativa da cultivar ao estresse imposto, uma vez que reduzindo superfícies transpirantes pode-se evitar perda de água dos tecidos para atmosfera (Silva Júnior *et al.*, 2021). Essa modificação morfológica é muito importante para a manutenção do elevado potencial hídrico na planta, no entanto, pode resultar em sérias implicações sobre a produção de biomassa vegetal, uma vez que, reduzindo a superfície fotossintetizante (folha), ocorre a redução da capacidade de produção de fotoassimilados pelo processo fotossintético (Mishra *et al.*, 2022).

Contudo, é possível observar que, a aplicação do nanobioestimulante promoveu incrementos lineares na área foliar tanto das plantas sem estresse quanto das plantas estressadas, resultando em aumentos de 50,64 e 18,91%, respectivamente, ao se comparar a concentração de 400 mg L⁻¹ com a de 0 mg L⁻¹ (Figura 5A). Deste modo, observa-se que o estresse salino limitou de forma mais intensa a resposta da planta à aplicação do nanobioestimulante.

Quanto ao diâmetro do caule (DC), as plantas de feijão-caupi irrigadas com água salina apresentaram DC inferiores aos das plantas submetidas ao tratamento sem estresse em todas as concentrações do nanobioestimulante, exceto na de 400 mg L⁻¹, em que a diferença não se mostrou significativa (Figura 5B). Quando as plantas foram irrigadas com água de 0,35 dS m⁻¹, a concentração de 133 mg L⁻¹ foi a que possibilitou maior diâmetro do caule (8,85 mm), sendo 6,41% superior ao DC das plantas sem nanobioestimulante (0 mg L⁻¹). Nas plantas irrigadas com água de 4,0 dS m⁻¹, o diâmetro do caule cresceu linearmente (0,003 mm dia⁻¹) com a elevação das concentrações do nanobioestimulante, resultando em superioridade de 16,47% ao comparar a dose 400 mg L⁻¹ com a 0 mg L⁻¹.

Diante desses resultados, constatou-se que o nanobioestimulante incrementou a área foliar e o diâmetro do caule tanto das plantas de feijão-caupi não estressadas quanto das que estavam sob estresse salino. Esse papel de destaque no crescimento dos vegetais pode estar relacionado à capacidade que as nanopartículas de carbono têm de melhorar a regulação osmótica, potencializar a fotossíntese, aumentar o conteúdo de água nos tecidos e a absorção de nutrientes (Zheng *et al.*, 2017; Kou *et al.*, 2021; Tan *et al.*, 2021).

Por outro lado, ao analisar os dados de AF e DC, fica evidente o impacto da elevação da CEa no crescimento das plantas de feijão-caupi. De forma similar, prejuízos nos caracteres morfológicos dessa cultura sob estresse salino também foram constatados por Tavares *et al.* (2021). Essa redução é decorrente de uma série de alterações bioquímicas e fisiológicas (maior proporção de íons sódio e cloreto, relações hídricas comprometidas, redução

da abertura estomática e da fotossíntese) que podem ocorrer quando plantas glicófitas estão sujeitas a fatores de estresse ambiental, como salinidade (Semida *et al.*, 2019; Kamran *et al.*, 2020).

Observa-se na Figura 5C que o crescimento radicular das plantas não estressadas foi superior ao das plantas sob estresse, excetuando-se as concentrações 0 e 400 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, as quais não mostraram diferença significativa. Ao comparar as concentrações do nanobioestimulante dentro de cada CEa, é possível perceber que, na CEa 0,35 dS m⁻¹, o aumento das concentrações do produto promoveu incrementos no CR, com valor máximo (45,7 cm) sendo obtido quando as plantas foram submetidas à concentração de 281 mg L⁻¹, superando as sem nanobioestimulante (0 mg L⁻¹) em 20,91%. Em contrapartida, sob CEa de 4,0 dS m⁻¹, as plantas apresentaram reduções em seu CR em todas as concentrações do nanobioestimulante, com a concentração 194 mg L⁻¹ levando ao menor crescimento e redução de 18,03% em relação à 0 mg L⁻¹ (Figura 5C). Sendo assim, a aplicação do nanobioestimulante não se mostrou suficiente para minimizar os danos causados pelo estresse salino no crescimento radicular das plantas de feijão-caupi.

Ao analisar o crescimento radicular em relação ao crescimento da haste principal por meio da razão CR/CHP (Figura 5D), observou-se que, quando comparadas às plantas não estressadas, as plantas sob estresse salino investiram em maior desenvolvimento radicular em detrimento da parte aérea nas concentrações de 0 e 400 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, sendo constatados aumentos de 87,99 e 106,35%, respectivamente. Ou seja, na ausência do nanobioestimulante e em sua presença na concentração de 400 mg L⁻¹ houve uma menor sensibilidade do crescimento das raízes ao estresse salino.

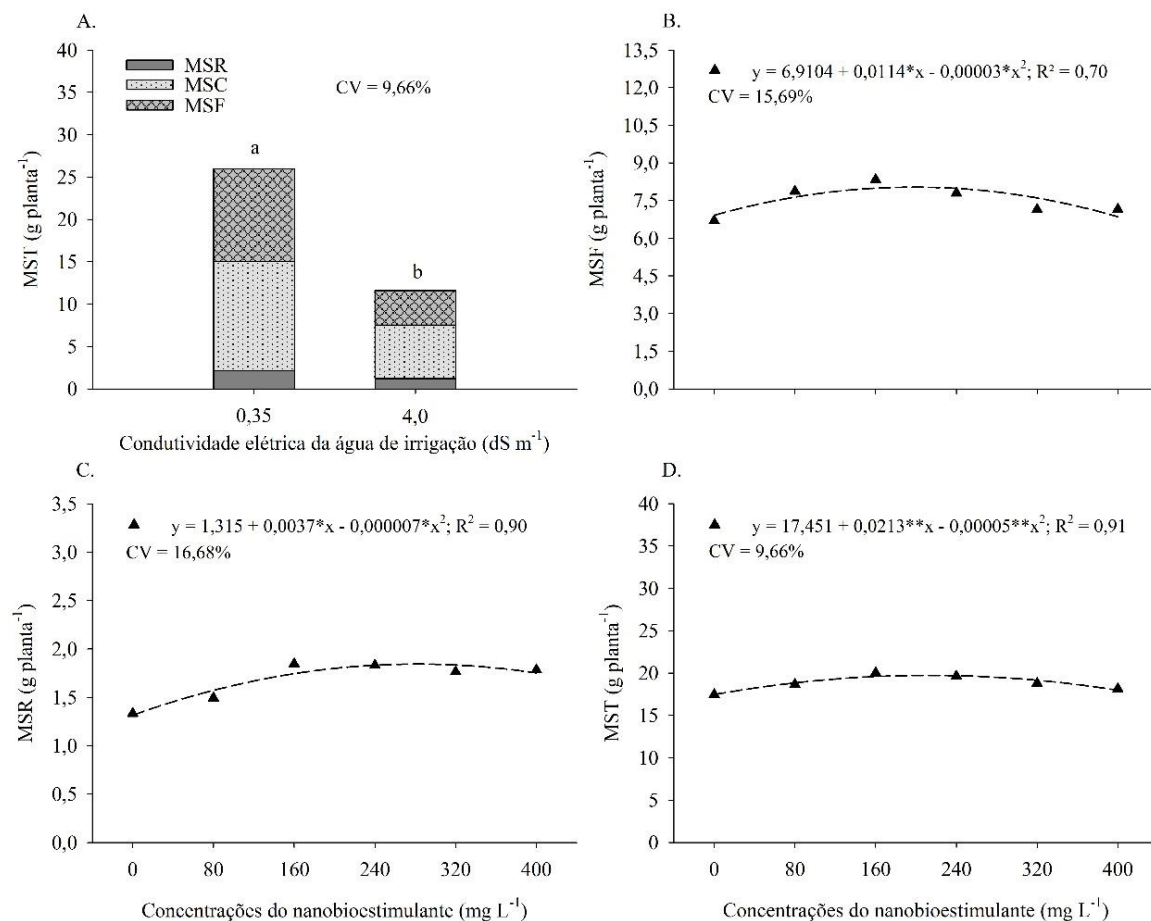
Ao comparar as concentrações do nanobioestimulante dentro de cada CEa, observou-se que as plantas irrigadas com água de 0,35 dS m⁻¹ apresentaram maior razão CR/CHP quando foram submetidas à concentração de 167 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, superando as plantas expostas à concentração de 0 mg L⁻¹ em 9,26%. Já nas plantas irrigadas com água de 4,0 dS m⁻¹, as concentrações do nanobioestimulante promoveram reduções na razão CR/CHP, com o menor aumento sendo obtido na concentração 200 mg L⁻¹, média 35,48% inferior à concentração de 0 mg L⁻¹.

Em condições de estresse salino, essa resposta de redução do comprimento radicular é bastante prejudicial e promove limitações que interferem na tolerância da planta ao estresse, tendo em vista que os vegetais utilizam desse maior investimento radicular para

umentar o aprofundamento e melhorar exploração da zona radicular em busca de água (Hessini *et al.*, 2019).

Na Figura 6A observa-se valores da massa seca total subdivididos de acordo com a alocação de biomassa nos órgãos das plantas de feijão-caupi e é possível perceber que as plantas irrigadas com água salina ($4,0 \text{ dS m}^{-1}$) apresentaram menor acúmulo de biomassa tanto em folhas (62,90%), quanto em caules (50,94%) e raízes (43,92%), resultando, conseqüentemente, na redução de 55,39% no acúmulo de massa seca total em relação às plantas não estressadas. Com estes resultados, é possível sugerir que o efeito negativo do sal foi mais pronunciado na massa seca da parte aérea (MSF + MSC) do que na massa seca da raiz (MSR).

Figura 6 – Massa seca total (A e D), massa seca das folhas (B) e massa seca das raízes (C) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

A inibição do crescimento das plantas em ambientes com salinidade pode ser atribuída ao déficit hídrico causado pelo excesso de sais solúveis na zona radicular, o qual causa decréscimo na turgescência e resulta na diminuição da expansão celular, reduzindo a taxa de crescimento das plantas (Liu *et al.*, 2022). Essa redução pode ainda ser explicada por limitações fotossintéticas, resultantes do fechamento estomático, e, concomitante, menor assimilação de CO₂ (Jiao *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2022). Além disso, pode estar associada ao gasto energético envolvido em processos de manutenção celular (não resultam em incremento de massa seca), como na síntese de solutos orgânicos, nos processos de compartimentalização e na regulação do transporte de íons (Santos *et al.*, 2018).

Com o aumento das concentrações do nanobioestimulante, observou-se incrementos nas variáveis de massas secas foliar (MSF), radicular (MSR) e total (MST), com a concentração de 190 mg L⁻¹ promovendo o máximo ganho em MSF (Figura 5B), a de 264 mg L⁻¹ promovendo o máximo ganho em MSR (Figura 6C) e a de 213 mg L⁻¹ promovendo o máximo ganho em MST (Figura 6D), sendo 15,67, 37,18 e 13,00% superiores às médias obtidas com a concentração de 0 mg L⁻¹, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Yang *et al.* (2022) ao estudarem como os *carbon dots* modulam o metabolismo em mudas de milho. Eles evidenciaram acréscimos de 29,2% e 37,5% no peso seco da parte aérea e das raízes, respectivamente, quando as plantas foram tratadas com as nanopartículas de carbono e sugeriram que esse aumento foi impulsionado pelo aumento significativo na taxa líquida de fotossíntese.

Trabalhos recentes, como o de Joshi *et al.* (2020) com a cultura do arroz, indicam que esse ganho em massa das plantas tratadas com nanopartículas de carbono pode estar relacionado também com a capacidade que os CDs têm de aumentar os pelos radiculares e a densidade das raízes, bem como à ação desses nanomateriais sobre a regulação das aquaporinas (proteínas integrais que permitem a passagem de moléculas de água pela membrana celular). No presente experimento, o aumento dos pelos radiculares e das raízes secundárias e terciárias podem ter sido essenciais para aumentar a absorção de água e, assim, melhorar o ganho de biomassa e o crescimento da planta como um todo.

6.2. Status hídrico, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e teor de pigmentos em folhas de feijão-caupi

O estresse salino imposto pela água de irrigação afetou negativamente os caracteres fisiológicos do feijão-caupi (Tabela 2). As plantas submetidas à água salina de 4,0 dS m⁻¹, quando comparadas às plantas sem estresse (0,35 dS m⁻¹), apresentaram reduções de 73,68% no potencial hídrico foliar (P_{wf}), 72,73% na condutância estomática (g_s), 71,68% na fotossíntese líquida (A), 77,78% na eficiência instantânea de carboxilação (EiC), 34,28% na eficiência instantânea do uso da água (EUA), 11,11% no teor de clorofila b (Chl b), 29,94% no teor de clorofila total (Chl total) e 16,67% no teor de carotenoides (Crt).

Tabela 2 – Condutividade elétrica da água de irrigação sobre os caracteres fisiológicos de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, aos 45 dias após semeadura

Variáveis	CEa (dS m ⁻¹)	
	0,35	4,0
P_{wf} (MPa)	-0,57 ± 0,06 b	-0,99 ± 0,14 a
g_s (mol m ⁻² s ⁻¹)	0,33 ± 0,04 a	0,09 ± 0,01 b
A (μmol m ⁻² s ⁻¹)	22,74 ± 1,83 a	6,44 ± 0,98 b
EiC (μmol m ⁻² s ⁻¹) (μmol mol ⁻¹) ⁻¹	0,09 ± 0,01 a	0,02 ± 0,01 b
EUA (μmol m ⁻² s ⁻¹) (mmol m ⁻² s ⁻¹) ⁻¹	3,46 ± 0,55 a	2,62 ± 0,45 b
Chl b (mg g ⁻¹)	0,36 ± 0,04 a	0,32 ± 0,04 b
Chl total (mg g ⁻¹)	1,67 ± 0,16 a	1,17 ± 0,10 b
Crt (mg g ⁻¹)	0,18 ± 2,33 a	0,15 ± 1,10 b

Fonte: Elaborada pela autora. P_{wf} – potencial hídrico foliar; g_s condutância estomática; A – fotossíntese líquida; EiC – eficiência instantânea de carboxilação; EUA – eficiência instantânea do uso da água; Chl b – clorofila b ; Chl total – clorofila total; Crt – carotenoides. Os valores representam a média de quatro repetições ± desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Quando as plantas são submetidas ao estresse salino, o potencial hídrico foliar tende a diminuir, uma vez que o acúmulo de sais na rizosfera reduz o potencial hídrico do solo e dificulta a absorção de água pelas raízes (Fatemi *et al.*, 2019). Essa limitação hídrica acaba levando à desidratação celular e, conseqüentemente, à restrição do crescimento em virtude da

diminuição do metabolismo da planta e da turgescência celular, pressão positiva responsável pela alongação e divisão das células (Desoky *et al.*, 2020). Como visto no presente experimento, a queda do potencial hídrico foliar, evidenciada nas plantas sob salinidade, pode ter contribuído para reduções nas variáveis biométricas (comprimento da haste principal, número de folhas, área foliar, diâmetro do caule, comprimento radicular e acúmulo de biomassa). Pesquisa realizada por Silva *et al.* (2024) com a cultura do feijão-caupi corroboram esses resultados.

Como constatado na Tabela 2, as trocas gasosas foram severamente afetadas pelo estresse salino e essa resposta muito se deve à redução causada na condutância estomática. O fechamento dos estômatos é uma das respostas mais rápidas apresentadas por plantas submetidas ao estresse salino e isso se dá como uma tentativa de reduzir as perdas de água por transpiração, de diminuir o fluxo de íons tóxicos na corrente transpiratória e de minimizar as quantidades de íons tóxicos que são entregues à superfície da raiz e, posteriormente, à planta (Jiao *et al.*, 2017; Nóbrega *et al.*, 2022). Assim como neste experimento, diminuições na condutância estomática devido ao aumento da condutividade elétrica da água de irrigação foram constatadas em plantas de *Glycine max* L. (Sousa *et al.*, 2018) e *Phaseolus lunatus* L. (Pereira Filho *et al.*, 2020).

Contudo, essa indução do fechamento estomático promove limitações na fotossíntese e na produtividade das culturas, uma vez que restringe o influxo de CO₂ e sua posterior assimilação (Brito *et al.*, 2018). Deste modo, as reduções proporcionais em g_s e A causadas pela salinidade (Tabela 2) indicam que a diminuição da taxa fotossintética pode estar relacionada a efeitos estomáticos, o que refletiu em produção de biomassa reduzida. Reduções na fotossíntese de plantas submetidas à salinidade também foram observadas por Dias *et al.* (2018a) e Freire *et al.* (2021), em plantas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) e fava (*Phaseolus lunatus* L.), respectivamente.

Assim como verificado para a taxa fotossintética, a eficiência instantânea de carboxilação (EiC) também foi influenciada negativamente pela CEa de 4,0 dS m⁻¹ (Tabela 2). As reduções nessa variável podem ser tanto decorrentes do efeito osmótico causado pelo excesso de sais na água de irrigação, que limita a fotossíntese, como estar relacionadas a restrições metabólicas no ciclo de Calvin, em que o carbono recebido pode não estar sendo de fato utilizado e fixado na etapa de carboxilação nas células do mesófilo (Sousa *et al.*, 2016; Dias *et al.*, 2018b). Veloso *et al.* (2021), estudando o estresse salino na fisiologia e produção de plantas de pimentão (*Capsicum annuum* L.), verificaram decréscimos na EiC com o aumento da salinidade da água de irrigação.

A quantidade de carbono fixada por unidade de água perdida, expressa pela eficiência instantânea no uso da água (EUA), também diminuiu nas plantas sob estresse (Tabela 2). Essa diminuição pode estar relacionada à redução de g_s , A e E , que, por sua vez, podem estar atreladas à menor absorção de água pelas raízes (Soares *et al.*, 2018). Ramos *et al.* (2021), ao avaliarem as trocas gasosas e o crescimento do maracujazeiro-azedo cultivado sob irrigação com águas salinas, observaram que o aumento na salinidade da água a partir da CEa de 0,6 dS m⁻¹ reduziu a EUA. Resultados similares foram obtidos por Lima *et al.* (2020) ao avaliarem as trocas gasosas, o crescimento e a produção do quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* L.) em função da irrigação com águas salinas.

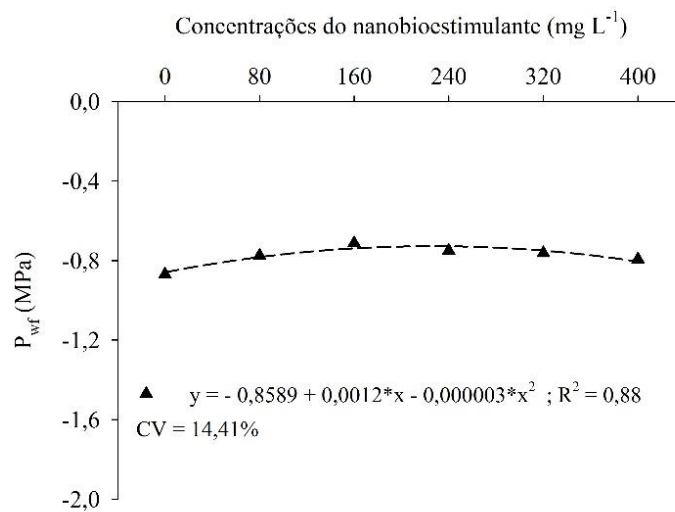
Outros componentes relacionados ao processo fotossintético também podem ser afetados pelo estresse salino, como é o caso dos pigmentos (Tabela 2). Sob condições de estresse, como alta salinidade, as plantas produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) que, em quantidades elevadas na célula, podem causar oxidação e consequente destruição de pigmentos fotossintéticos, como clorofilas e carotenoides (El-Esawi *et al.*, 2019). Essa pode ser uma possível explicação do amarelecimento constatado nas folhas das plantas que estavam sob estresse salino.

Os carotenoides, pigmentos acessórios envolvidos na absorção e na transferência de energia radiante, atuam como protetores da clorofila no que tange à foto-oxidação. Quando plantas são submetidas à salinidade, o estresse causado pode induzir a degradação de β -caroteno e a redução na formação de zeaxantina, acarretando, assim, na diminuição do teor de carotenoides (Silva *et al.*, 2016). Possivelmente, a degradação ou inibição da síntese desses pigmentos implicou na redução do teor de clorofilas nas plantas sob estresse salino. Silva *et al.* (2020) relatam que a elevação do nível de salinidade das lâminas de irrigação proporcionou reduções no teor de carotenoides presentes nas folhas de alface (*Lactuca sativa* L.).

O teor de sais no tecido foliar em concentrações acima da tolerada pelas plantas pode ocasionar a inibição da biossíntese de clorofilas, bem como a sua degradação, reduzindo assim a eficiência de absorção da energia luminosa (Veloso *et al.*, 2021; Qin *et al.*, 2024). Tais fatores podem ter contribuído para o comprometimento do processo fotossintético visualizado nas plantas irrigadas com água salina. Abdelaal *et al.* (2020), estudando indutores de tolerância ao estresse salino na cultura do pimentão (*Capsicum annuum* L.), também observaram reduções significativas no conteúdo de clorofila quando as plantas foram expostas a esse estresse abiótico.

A Figura 7 apresenta os resultados do potencial hídrico foliar (P_{wf}) em resposta às concentrações do nanobioestimulante. Pode-se observar que houve incrementos no potencial hídrico foliar com o aumento das concentrações do nanobioestimulante e, conseqüentemente, melhoras no status hídrico das plantas, sendo a concentração de 200 mg L⁻¹ a que promoveu maior ganho (13,97%) em relação à concentração de 0 mg L⁻¹ (Figura 7).

Figura 7 – Potencial hídrico foliar de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após sementeira



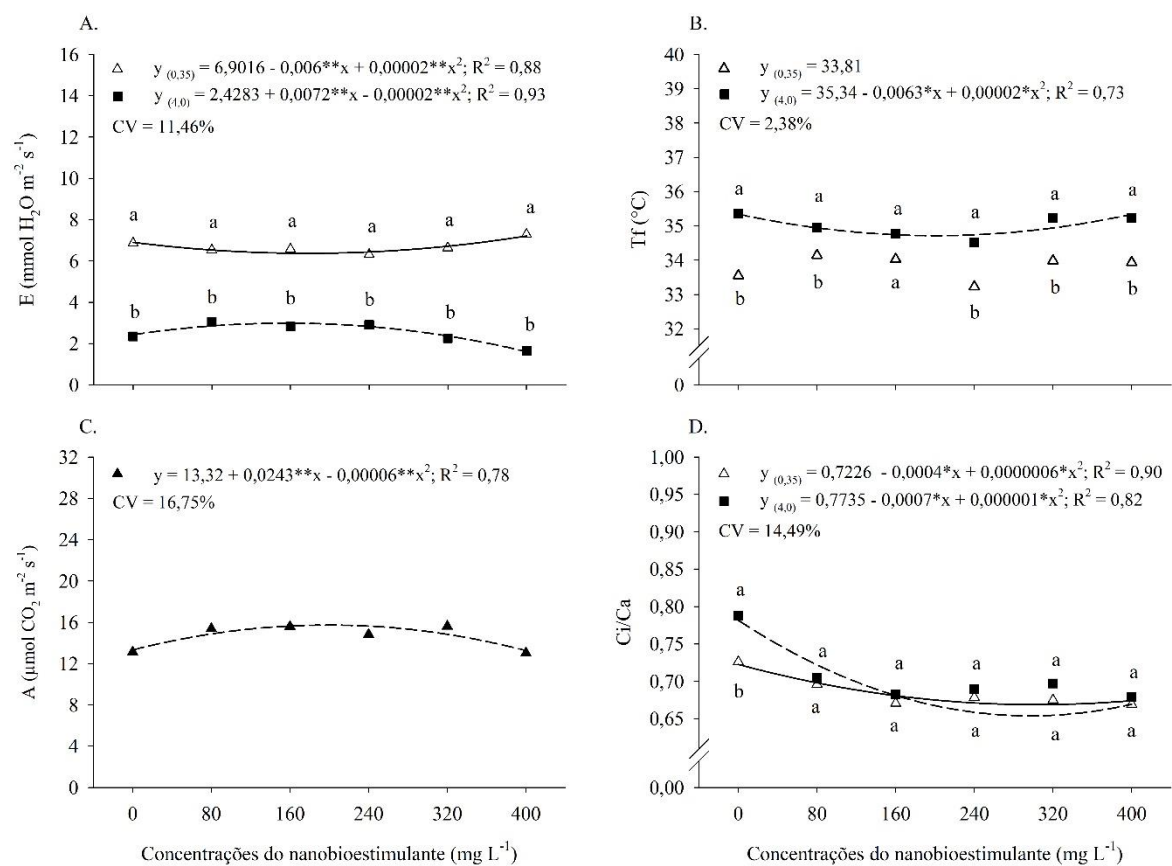
Fonte: Elaborada pela autora. *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

A medição do potencial hídrico foliar sugere o grau de hidratação das células e tem sido utilizado como forte indicativo do status hídrico das plantas, podendo explicar o fluxo da água no sistema solo-planta-atmosfera (Furlan *et al.*, 2021). Neste caso, as nanopartículas de carbono aplicadas nas plantas via nanobioestimulante podem contribuir positivamente na regulação da expressão das aquaporinas, na possível criação de novos poros/canais para a permeação da água e no aumento da densidade de raízes, melhorando o crescimento geral da planta (Hong *et al.*, 2021). Joshi *et al.* (2020), investigando os efeitos da aplicação de nanopartículas de carbono na cultura do arroz, verificaram que as plantas tratadas apresentaram maior conteúdo de água nas folhas, superando o controle em 6 a 8%, podendo essa ser uma das razões que contribuiriam para o maior crescimento das plantas.

Na Figura 8A, observa-se que as plantas de feijão-caupi irrigadas com água salina apresentaram transpiração (E) inferior às das plantas submetidas ao tratamento sem estresse em

todas as concentrações do nanobioestimulante. Esse comportamento de redução da transpiração foi observado em diversas culturas cultivadas sob salinidade e pode estar diretamente relacionado com a redução da condutância estomática e com a quantidade de água absorvida pelas raízes, a qual é limitada pela redução do potencial osmótico da solução do solo (Lima *et al.*, 2020; Freire *et al.*, 2021; Nóbrega *et al.*, 2022).

Figura 8 – Transpiração (A), temperatura foliar (B), fotossíntese líquida (C) e razão Ci/Ca (D) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

Ainda na Figura 8A, observou-se que a aplicação do nanobioestimulante na concentração 150 mg L^{-1} possibilitou menor taxa transpiratória ($6,45 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) nas plantas não estressadas, reduzindo sua perda de água na forma de vapor em 6,52% quando comparadas às plantas expostas à 0 mg L^{-1} . Já nas plantas irrigadas com água salina, a taxa transpiratória atingiu valor máximo ($3,08 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) quando as plantas foram expostas com à concentração de 180 mg L^{-1} do nanobioestimulante, superando em 26,69% as plantas

submetidas à 0 mg L⁻¹ (Figura 8A). Esse aumento da taxa transpiratória pode não ser resultado de menor resistência estomática, já que a condutância estomática não se mostrou influenciada pela aplicação do nanobioestimulante (Hong *et al.*, 2021).

As reduções da condutância estomática e da transpiração observadas nas plantas sob estresse salino podem ter tido papéis decisivos no aumento da temperatura foliar (Figura 8B), uma vez que a perda de calor latente pelas plantas ocorre principalmente por meio do resfriamento resultante da transpiração das folhas (Figueiredo *et al.*, 2019). Resultados similares de aumento de temperatura foliar em função da elevação da CEa também foram encontrados por Freire *et al.* (2021) na cultura da fava (*Phaseolus lunatus* L.).

Nas plantas sob estresse salino, a concentração de 158 mg L⁻¹ do nanobioestimulante foi a que proporcionou menor temperatura foliar (34,8 °C), sendo 1,40% inferior às plantas expostas à concentração de 0 mg L⁻¹. Já para as plantas irrigadas com água de 0,35 dS m⁻¹, os dados não se ajustaram a equações lineares ou quadráticas, apresentando, portanto, temperatura foliar média de 33,8 °C (Figura 8B). Apesar do estresse salino ter proporcionado aumento na temperatura das folhas, como mencionado anteriormente, o uso do nanobioestimulante atenuou em até 1 °C essa temperatura por meio do estímulo à absorção de água e, conseqüentemente, resfriamento resultante da transpiração (Hong *et al.*, 2021).

O aumento das concentrações do nanobioestimulante de carbono promoveu incrementos na fotossíntese líquida das plantas de feijão-caupi, com a concentração de 272 mg L⁻¹ proporcionando máxima taxa fotossintética (15,78 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), elevando essa variável em 18,47% ao comparar com a média obtida na concentração 0 mg L⁻¹ (Figura 8C). No que se refere à razão Ci/Ca (Figura 8D), em ambas as condutividades elétricas da água de irrigação foi possível observar que houve redução da razão Ci/Ca à medida em que se aumentou as concentrações do nanobioestimulante, tendo as médias não apresentando diferença significativa entre si, ou seja, a aplicação do nanobioestimulante pode ter contribuído para uma assimilação mais eficiente de CO₂ pela Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO).

A atividade da enzima RuBisCO afeta diretamente a taxa fotossintética e o acúmulo de carboidratos e estudos têm mostrado que os CDs podem atuar como agentes intensificadores da atividade dessa enzima, aumentando a assimilação de carbono. Wang *et al.* (2018) descobriram que mudas de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.) tratadas com CDs apresentaram atividade de Rubisco 30,9% maior do que àquelas do grupo controle. Além disso, em novo estudo, eles perceberam que os CDs podem ser degradados para formar análogos de hormônios

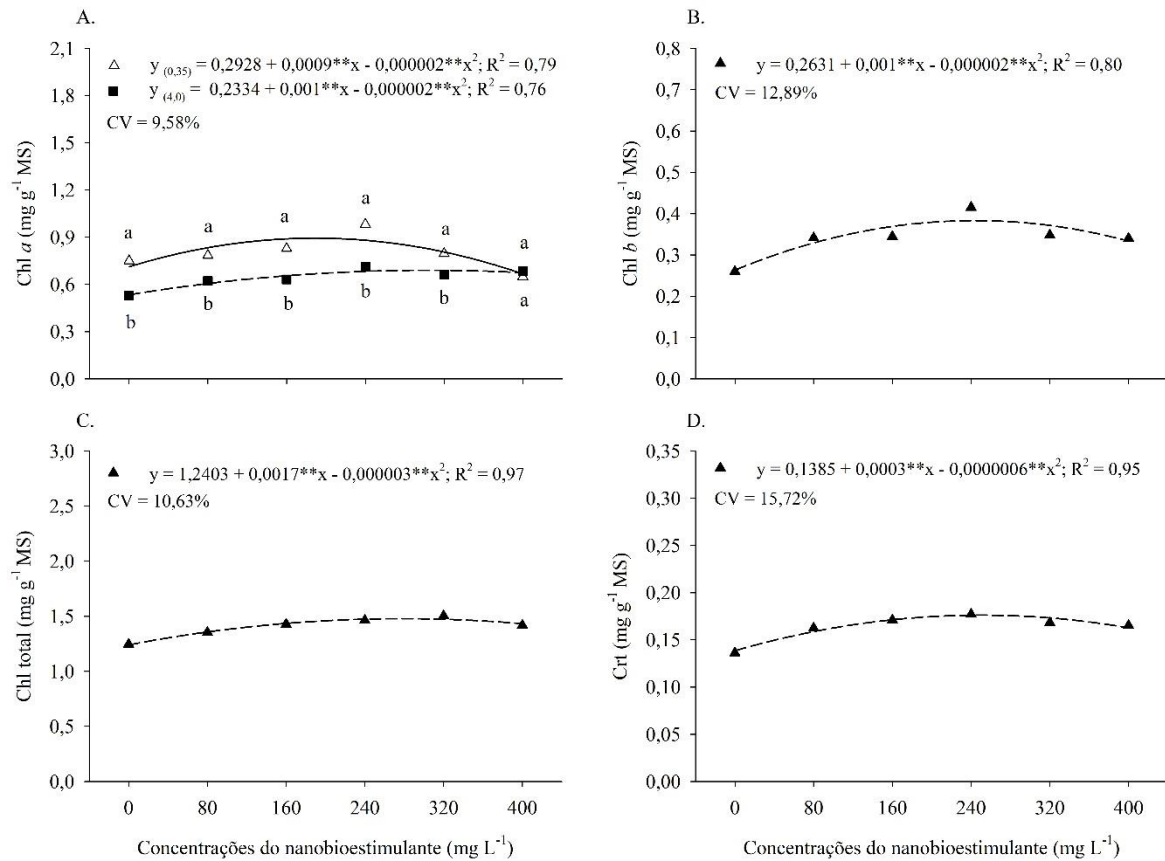
vegetais, que contribuem para o crescimento das plantas, e CO₂, que pode ser convertido em carboidratos pelo do ciclo de Calvin na fotossíntese (Li, H. *et al.*, 2019).

A aplicação de CDs também pode afetar a fotossíntese de outras formas. Estudos realizados por Chandra *et al.* (2014) mostraram a capacidade dos *carbon dots* em promover a fotossíntese modulando o processo de transferência de elétrons, acelerando a conversão da energia luminosa em energia eletroquímica. Em seu estudo, eles descobriram que os CDs funcionalizados com amina se conjugavam fortemente sobre a superfície do cloroplasto e transferiam elétrons em direção à organela com a ajuda da luz ou dos fótons absorvidos, acelerando diretamente toda a via de transferência de elétrons da cadeia na etapa fotoquímica da fotossíntese. Isso porque os CDs apresentam forte absorção na região da luz ultravioleta (UV) e emitem luz azul e vermelha na água, que correspondem exatamente ao espectro de absorção das clorofilas presentes nos cloroplastos (Li *et al.*, 2018).

Ainda na Figura 8D, observou-se também que as plantas sob estresse salino e sem aplicação do nanobioestimulante apresentaram maior acúmulo de CO₂ na câmara subestomática, sendo 7,04% superior às plantas controle (não estressadas e na concentração 0 mg L⁻¹). Este resultado sugere que fatores não estomáticos podem estar atuando na redução da atividade fotossintética dessas plantas. Um exemplo disso pode ser a baixa atividade da enzima RuBisCO, que pode ocorrer pela limitação de substratos (ATP e NADPH) provenientes da fase fotoquímica da fotossíntese, levando à redução da carboxilação do CO₂ e aumento da sua concentração interna (Sá *et al.*, 2017; Ramos *et al.*, 2021). Nóbrega *et al.* (2022), avaliando a ecofisiologia de *Mesosphaerum suaveolens* (L.) sob estresse salino e doses de ácido salicílico, também verificaram aumentos em C_i com a elevação da condutividade elétrica da água de irrigação.

O teor de clorofila *a* das plantas de feijão-caupi irrigadas com água salina apresentou-se inferior aos das plantas submetidas ao tratamento sem estresse em todas as concentrações do nanobioestimulante, exceto a de 400 mg L⁻¹, em que a diferença não se mostrou significativa (Figura 9A). Essa diminuição do teor de clorofila *a* das plantas sob estresse salino evidencia menor capacidade de coleta de luz do ambiente (refletindo na fotossíntese) e pode estar relacionada, além do que já foi discutido anteriormente, com a inibição da síntese de novas moléculas de clorofilas devido a danos nos tilacoides, ocasionados pelo acúmulo de íons de Na⁺ e Cl⁻ (Oliveira *et al.*, 2018).

Figura 9 – Teores de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) em plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

No entanto, observa-se na Figura 9 que, independentemente da CEa, o aumento nas concentrações do nanobioestimulante proporcionou incrementos nos teores de clorofila *a*. As plantas irrigadas com água de $0,35 \text{ dS m}^{-1}$ atingiram máximo teor de clorofila *a* ($0,89 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) quando submetidas à concentração de 190 mg L^{-1} do nanobioestimulante, superando em 25,34% as plantas expostas à 0 mg L^{-1} . Nas plantas irrigadas com água de $4,0 \text{ dS m}^{-1}$, o teor de clorofila *a* atingiu valor máximo ($0,66 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) quando as plantas foram expostas com à concentração de 250 mg L^{-1} do nanobioestimulante, superando em 23,39% as plantas expostas à 0 mg L^{-1} (Figura 9A). Baz *et al.* (2020), estudando os efeitos de nanopartículas de carbono sobre a germinação e o crescimento pós-germinação da alface sob estresse salino, verificaram que o tratamento com essas nanopartículas promoveu aumento no teor de clorofila.

Com o aumento das concentrações do nanobioestimulante, observou-se incrementos de 47,51, 19,42 e 27,08% nos teores de clorofila *b*, clorofila total e carotenoides,

respectivamente. A concentração 250 mg L⁻¹ promoveu o máximo ganho em Chl *b* (Figura 9B), a de 283 mg L⁻¹ promoveu o máximo ganho em Chl total (Figura 9C) e a de 250 mg L⁻¹ promoveu o máximo ganho em Crt (Figura 9D). Zhang *et al.* (2018) constataram incrementos do conteúdo desses pigmentos com o aumento das concentrações de CDs em feijão-mungo (*Vigna radiata* L.) e isso se deve a melhorias fisiológicas, bioquímicas e nutricionais proporcionadas por essas nanopartículas.

O estresse salino imposto pela água de irrigação afetou negativamente os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* do feijão-caupi (Tabela 3). As plantas quando submetidas à condutividade elétrica da água de 4,0 dS m⁻¹ (estresse salino) apresentaram reduções de 40,63% na eficiência quântica efetiva do PSII (ϕ PSII), 26,32% no *quenching* fotoquímico (qP) e 38,81% na taxa de transporte de elétrons (ETR), quando comparadas às plantas expostas à menor condutividade elétrica da água de irrigação (0,35 dS m⁻¹ – sem estresse). Por outro lado, as plantas sob estresse salino apresentaram aumento de 19,70% no *quenching* não-fotoquímico (qN), indicando a ativação de processos não fotoquímicos de emissão da fluorescência da clorofila (Azevedo Neto *et al.*, 2011).

Tabela 3 – Condutividade elétrica da água de irrigação sobre os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, aos 45 dias após semeadura

CEa (dS m ⁻¹)	ϕ PSII	qP	qN	ETR
0,35	0,32 ± 0,03 a	0,57 ± 0,05 a	0,66 ± 0,08 b	208,12 ± 24,52 a
4,0	0,19 ± 0,03 b	0,42 ± 0,07 b	0,79 ± 0,05 a	127,35 ± 20,79 b

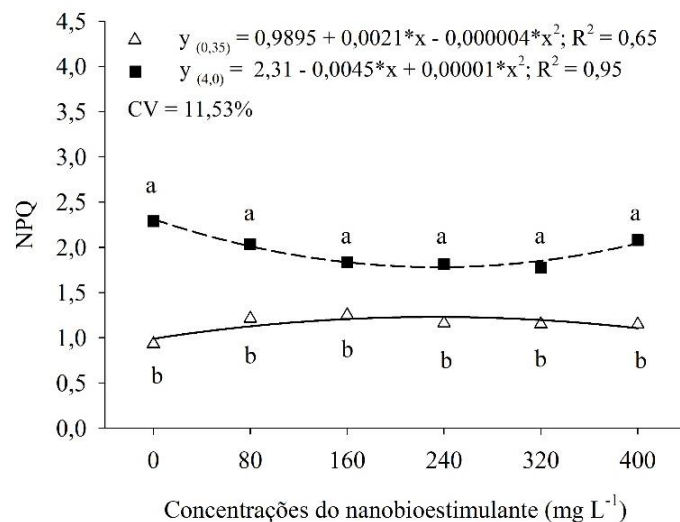
Fonte: Elaborada pela autora. ϕ PSII – eficiência quântica efetiva do PSII; qP – quenching fotoquímico; qN – quenching não-fotoquímico; ETR – taxa de transporte de elétrons. Os valores representam a média de quatro repetições ± desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

A redução da atividade do PSII vista a partir dos resultados de ϕ PSII, qP e ETR, na Tabela 3, pode ter sido causada por uma tentativa de fotoproteção devido à restrição de CO₂, ocasionada pela resistência estomática (Zörb *et al.*, 2019). Nesses casos de limitações nas reações bioquímicas de assimilação de CO₂, para que não haja a produção excessiva de energia e o aparato fotossintético seja danificado, as plantas promovem a inativação temporária dos seus centros de reação do PSII e isso acaba gerando reduções na transferência de energia para a fotoquímica (Guidi *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2019). Atrelado a isso, as plantas acionam mecanismos alternativos de extinção não fotoquímica para auxiliar na dissipação do excesso de

energia absorvida, como é o caso do qN e do NPQ, sendo este último o processo mais rápido de dissipação térmica da energia luminosa absorvida no complexo antena do PSII (Guidi *et al.*, 2018; Akhter *et al.*, 2021).

Pela interação entre os fatores observou-se que as plantas expostas ao estresse salino apresentaram coeficiente de extinção não-fotoquímica de Stern-Volmer (NPQ) superiores às aquelas submetidas ao tratamento sem estresse em todas as concentrações do nanobioestimulante (Figura 10), maior capacidade de eliminar o excesso de energia via dissipação térmica (Azevedo Neto *et al.*, 2011).

Figura 10 – Coeficiente de extinção não-fotoquímico de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após sementeira



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

De modo geral, ao avaliar as respostas das plantas dentro de cada uma das CEa, observou-se as plantas irrigadas com água de $0,35 \text{ dS m}^{-1}$ (não estressadas) apresentaram maior NPQ quando foram submetidas à concentração de 263 mg L^{-1} do nanobioestimulante, superando as plantas expostas à concentração de 0 mg L^{-1} em 27,85%. Já para as plantas irrigadas com água de $4,0 \text{ dS m}^{-1}$, o menor aumento dessa variável foi obtido na concentração de 225 mg L^{-1} com média 21,92% inferior à concentração de 0 mg L^{-1} (Figura 10).

Como mencionado anteriormente, a limitação da difusão de CO_2 em células do mesófilo foliar acaba aumentando potencialmente as chances de danos fotoquímicos devido à

absorção de energia excessiva no PSII combinada à menor disponibilidade de CO₂ (Zörb *et al.*, 2019). Para reduzir as chances de ocorrência desses danos e proteger a maquinaria fotossintética, as plantas sob estresse salino aumentaram a dissipação do excesso de energia luminosa na forma de calor.

Diante dos resultados, observou-se que o estresse salino implicou em reduções sobre a eficiência de absorção de luz do PSII, a transferência de energia de excitação do centro de reação e a taxa de transporte de elétrons. Com isso, pode-se sugerir que o decréscimo da fotossíntese foi em parte explicado pelo declínio das funções do PSII e pela limitação do influxo de CO₂ devido à menor condutância estomática. As respostas das plantas ao estresse salino dependem da atividade do PSII e de mudanças bioquímicas em torno desse fotossistema, como a ativação do ciclo da xantofila para dissipar a energia térmica excessiva (Kalaji *et al.*, 2018), acúmulo de osmoprotetores como prolina para estabilizar o PSII e acúmulo de antioxidantes (Bose *et al.*, 2017; Ogbaga *et al.*, 2018).

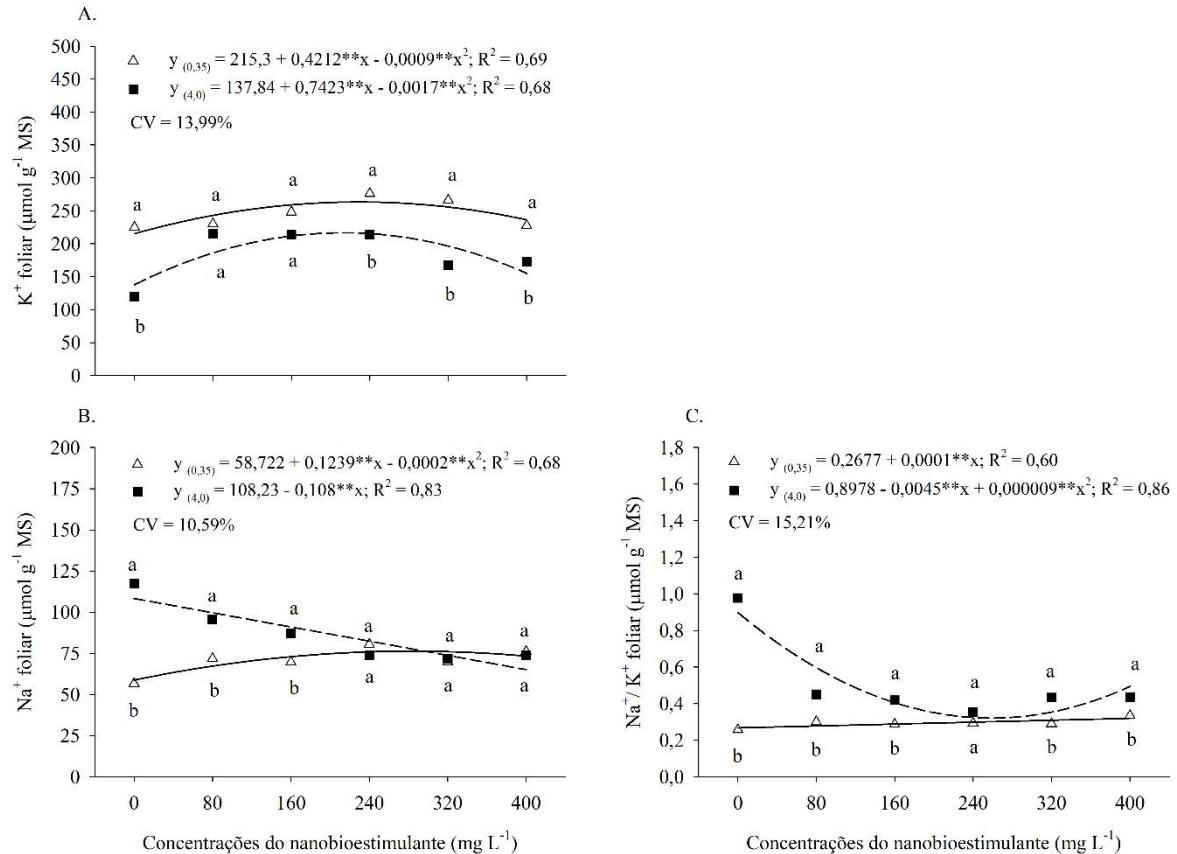
Quando as plantas estão em condições de estresse, as alterações na fluorescência ocorrem antes das alterações nos indicadores biológicos, como por exemplo, no teor de clorofila. Por isso, é considerada uma ferramenta fundamental na identificação de estresses antes da ocorrência de sintomas visíveis e no estudo da fisiologia fotossintética das plantas (Wang *et al.*, 2023).

6.3. Análises bioquímicas

6.3.1. Homeostase iônica de folhas e raízes de feijão-caupi

As plantas expostas ao estresse salino apresentaram teores foliares de K⁺ inferiores às submetidas ao tratamento sem estresse em todas as concentrações do nanobioestimulante, com exceção das de 80 e 160 mg L⁻¹, em que não houve diferença significativa (Figura 11A). Nas duas CEa, as concentrações do nanobioestimulante promoveram incrementos nos teores foliares de K⁺, quando se compara com a concentração 0 mg L⁻¹. As plantas não estressadas atingiram máximo teor de K⁺ foliar (264,58 μmol g⁻¹ MS) na concentração de 234 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, sendo 22,89% superior às plantas sem nanobioestimulante. Nas plantas irrigadas com água salina, o teor de K⁺ foliar foi maior (218,87 μmol g⁻¹ MS) na concentração de 218 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, superando em 58,79% as plantas do tratamento sem nanobioestimulante (Figura 11A).

Figura 11 – Teores foliares de K^+ (A), Na^+ (B) e razão Na^+/K^+ (C) em plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após sementeira



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

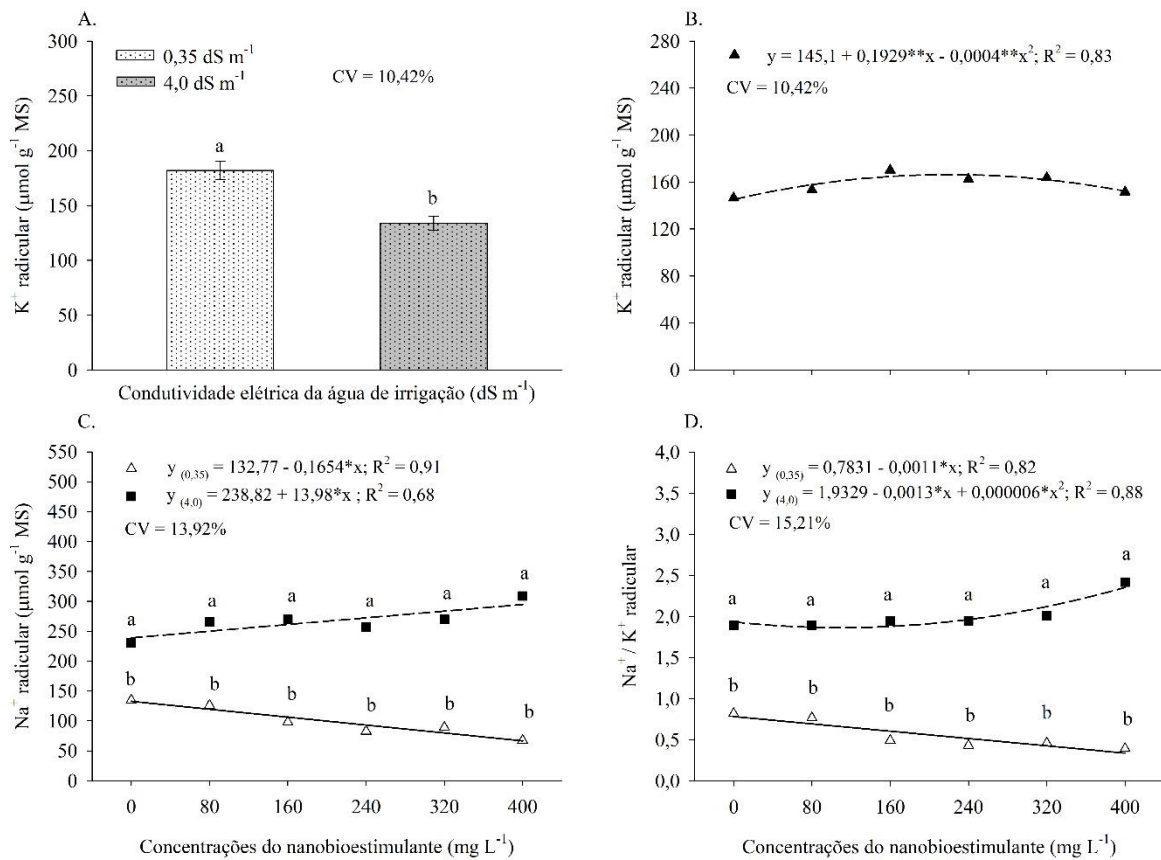
Ao comparar os teores de Na^+ nas duas CEa (Figura 11B), observou-se que as plantas irrigadas com água salina apresentaram maiores teores foliares desse íon nas concentrações 0, 80 e 160 $mg L^{-1}$ do nanobioestimulante. Para as plantas sem estresse (0,35 $dS m^{-1}$) observou-se aumento nos teores foliares de Na^+ à medida em que houve aumento da concentração do nanobioestimulante, atingindo máximo valor (77,91 $\mu mol g^{-1} MS$) quando submetidas à concentração de 310 $mg L^{-1}$ do nanobioestimulante, superior às plantas sem nanobioestimulante em 32,68%. Já para as plantas estressadas (4,0 $dS m^{-1}$), o teor foliar de Na^+ reduziu com o incremento das concentrações do nanobioestimulante, atingindo menor valor (65,03 $\mu mol g^{-1} MS$) na concentração 400 $mg L^{-1}$ do nanobioestimulante, sendo 39,91% inferior às plantas sem nanobioestimulante (Figura 11B).

Como resultado da relação entre os íons (Figura 11C), o estresse salino promoveu um aumento na razão Na^+/K^+ dos tecidos foliares, principalmente no tratamento sem

nanobioestimulante, que apresentou aumento em torno de 235,38% quando comparado ao controle (sem estresse e sem nanobioestimulante). Porém esse acúmulo reduziu com o aumento das concentrações do nanobioestimulante e foi menos proeminente nas plantas submetidas à concentração 250 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, com redução de 62,65% em relação às plantas sem nanobioestimulante. Já as plantas irrigadas com água de 0,35 dS m⁻¹ apresentaram incrementos na razão Na⁺/K⁺ à medida em que se aumentou a concentração do nanobioestimulante, atingindo máximo valor (0,31) quando submetidas à concentração de 400 mg L⁻¹, superando as plantas sem aplicação de nanobioestimulante em 14,94%.

No que se refere aos efeitos isolados para os teores radiculares de K⁺, as plantas submetidas ao estresse salino apresentaram reduções de 26,46%, quando comparadas às plantas sem estresse (Figura 12A). Observou-se que, com o aumento das concentrações do nanobioestimulante, houve incrementos nos teores radiculares de K⁺ e a concentração de 241 mg L⁻¹ foi a que proporcionou o máximo ganho nessa variável, com média de 168,36 μmol g⁻¹ MS e superioridade de 15,97% em relação à concentração 0 mg L⁻¹ (Figura 12B).

Figura 12 – Teores radiculares de K^+ (A e B), Na^+ (C) e razão Na^+/K^+ (D) em plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente. Barras verticais indicam erro padrão

Para os teores radiculares de Na^+ (Figura 12C), observou-se que, em todas as concentrações do nanobioestimulante, as plantas expostas ao estresse salino apresentaram maior teor desse íon nos tecidos radiculares em detrimento das plantas submetidas ao tratamento sem estresse. Quando não estressadas, as plantas apresentaram queda linear no teor de Na^+ à medida em que se aumentou a concentração do nanobioestimulante, com redução de 49,83% ao comparar a concentração de 400 mg L⁻¹ com a de 0 mg L⁻¹. Já sob estresse, ocorreu o contrário, havendo incrementos lineares no teor desse íon com a elevação da concentração do nanobioestimulante, aumentando essa variável em 23,42% ao comparar a concentração de 400 mg L⁻¹ com a de 0 mg L⁻¹.

Ao relacionar os teores radiculares de Na^+ e K^+ (Figura 12D), observou-se pela razão entre as duas variáveis que, apesar de ser constatado maior acúmulo de sódio em relação ao potássio nas plantas do tratamento sob estresse salino (4,0 dS m⁻¹), as plantas apresentaram

aumentos nessa variável principalmente na concentração de 400 mg L⁻¹. Já as plantas irrigadas com água de 0,35 dS m⁻¹, apresentaram decréscimos lineares na relação Na⁺/K⁺ radicular à medida em que se aumentou a concentração do nanobioestimulante, reduzindo essa variável em 56,19% ao comparar a maior e a menor concentração aplicada.

De forma geral, o nanobioestimulante possibilitou aumento nos teores de K⁺ em plantas estressadas. Quanto ao teor de Na⁺, houve aumentos nos tecidos radiculares e reduções nos tecidos foliares com a aplicação do nanobioestimulante. Esses resultados sugerem uma possível capacidade do nanobioestimulante em induzir uma translocação de Na⁺ mais controlada para as folhas ou uma boa exclusão desses íons dos tecidos foliares, acumulando-os nas raízes, o que pode promover maior tolerância ao sal e favorecer o crescimento das plantas (Hessini *et al.*, 2019).

É importante destacar que o decréscimo nos teores de K⁺ em plantas sob estresse salino aconteceu, possivelmente, pelo fato de ter sua absorção afetada pela alta concentração de Na⁺ na solução do solo. Isso ocorre devido às similaridades físico-químicas desses dois íons, que fazem com que os transportadores de K⁺ possam ser utilizados para absorção de Na⁺ quando este se encontra em maior concentração no meio de crescimento, o que pode resultar em deficiência de K⁺, que é um nutriente crucial para o equilíbrio catiônico-ânion, a osmorregulação, o movimento da água, a transferência de energia e muitos outros processos (Hasanuzzaman *et al.*, 2018; Prado, 2020).

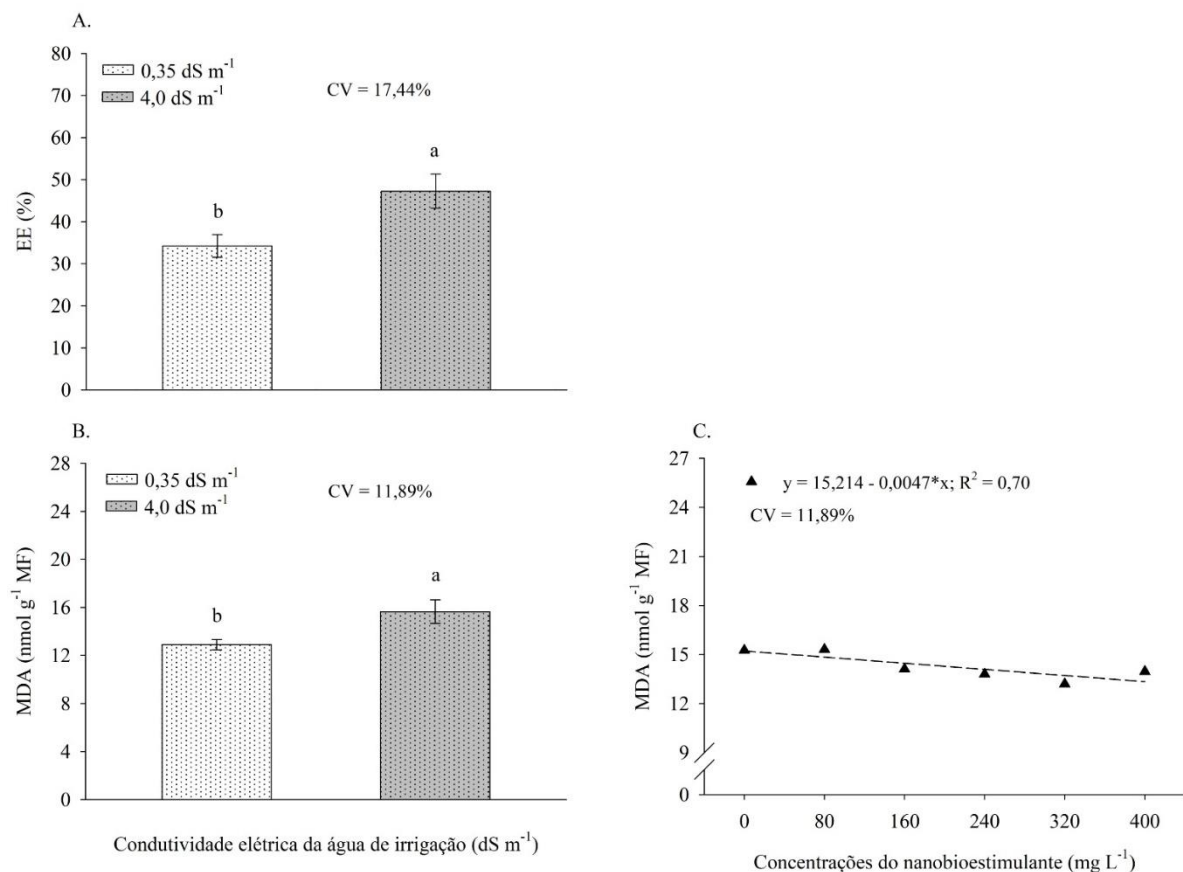
Os efeitos dos íons causados pelo estresse salino são decorrentes dessa elevada absorção de Na⁺ e também de Cl⁻, que em altas concentrações, alteram a homeostase iônica das células do mesofilo, causando sérias implicações sobre a fotossíntese, a atividade enzimática, o teor de clorofilas e carotenoides e o transporte de elétrons nos cloroplastos (Silva *et al.*, 2023). Deste modo, o acúmulo de Na⁺ pode ter sido determinante na redução do crescimento e da produção do feijão-caupi sob estresse. Reduções nos teores de K⁺ e aumentos de Na⁺ nas folhas e nas raízes foram também encontrados em plantas de abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) submetidas à salinidade (Fernandes *et al.*, 2022).

6.3.2. Danos de membranas e peroxidação lipídica em folhas de feijão-caupi

O estresse salino causou efeitos adversos na membrana celular das plantas de feijão-caupi, aumentando a porcentagem de extravasamento de eletrólitos em 37,92%, quando comparadas às plantas não estressadas (Figuras 13A). Esse aumento pode ser decorrente da

ação de espécies reativas de oxigênio (EROs), que causam danos na membrana plasmática, e/ou de efeitos prejudiciais na permeabilidade seletiva, ocasionados pela incorporação de sódio em vez de cálcio na estrutura da membrana celular, o que reduz sua seletividade e permite o efluxo de íons (Abdelaal *et al.*, 2020). Esse resultado é semelhante aos obtidos por Cruz *et al.* (2019) e Fernandes *et al.* (2022) em plantas de milho pipoca (*Zea mays* everta) e abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) sob salinidade, respectivamente.

Figura 13 – Extravasamento de eletrólitos (A) e teores de MDA (B e C) em folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente. Barras verticais indicam erro padrão

A peroxidação lipídica (estimada pelo conteúdo de MDA) em plantas de feijão-caupi irrigadas com água salina aumentou 21,32% em comparação com plantas controle (Figura 13B). Valores elevados de peroxidação lipídica significam uma alta taxa de lipoperoxidação, que podem culminar em efeitos deletérios para as células vegetais. Isso porque as EROs, quando em excesso, atuam oxidando ácidos graxos de membrana, resultando no comprometimento da

estabilidade da membrana celular, do sistema fotossintético e da biossíntese da clorofila (Shan *et al.*, 2024).

Vale ressaltar que tanto EROs quanto MDA são produtos inevitáveis do crescimento e metabolismo normal das plantas (Salem *et al.*, 2021). No entanto, sob estresse abiótico ocorre acúmulo excessivo desses agentes oxidantes (EROs) nas plantas, levando à peroxidação lipídica e à produção de MDA (Samanta *et al.*, 2024). El-Esawi *et al.* (2018a), estudando a variação genética e a mitigação do estresse salino na cevada (*Hordeum vulgare* L.), também constataram aumentos nos níveis de MDA nas folhas de plantas estressadas.

Ao avaliar o efeito isolado do nanobioestimulante, verificou-se redução na peroxidação lipídica em 12,36%, ao se comparar a concentração 400 mg L⁻¹ com a 0 mg L⁻¹ (Figura 13C). Esse resultado pode ser atribuído ao papel fundamental das nanopartículas de carbono na mitigação dos danos causados pelas EROs através da ativação do metabolismo antioxidativo que será descrito a seguir, mas também pode ser resultado de propriedades dos CDs em eliminar radicais por meio da aceitação de elétrons em sua superfície (Ali *et al.*, 2022; Singh *et al.*, 2023; Ozfidan-Konakci *et al.*, 2024). Essa capacidade de converter radicais livres em formas estáveis está relacionada com a presença de grupos carboxila e amino na superfície da nanopartícula que podem atuar tanto como aceptores como também doadores de elétrons, a depender da situação (Li *et al.*, 2020b; Ozfidan-Konakci *et al.*, 2024).

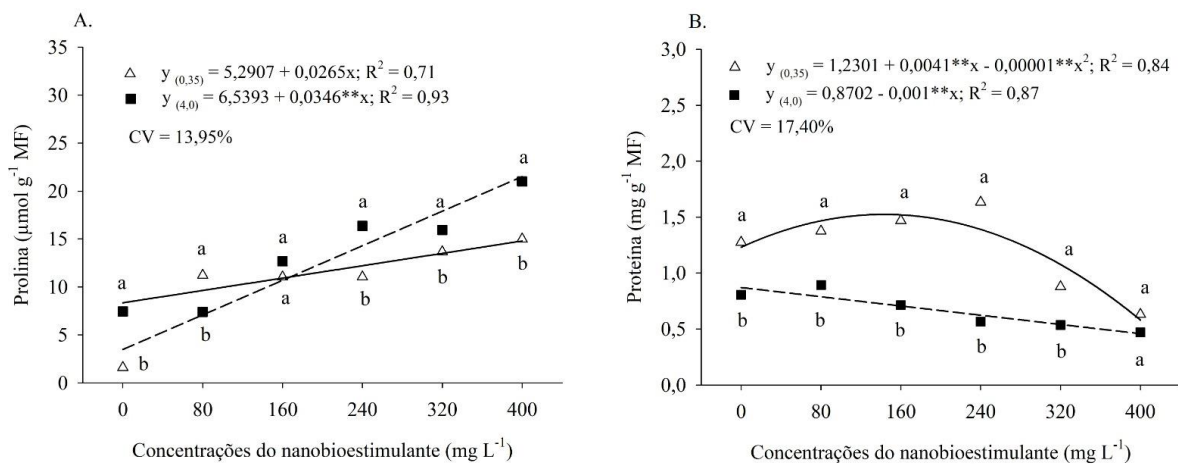
6.3.3. Ajustamento osmótico e metabolismo antioxidativo em folhas de feijão-caupi

Para combater os efeitos inibitórios do estresse salino e manter a homeostase e o equilíbrio hídrico celular, as plantas ativam os seus mecanismos de autodefesa através da formação de osmólitos compatíveis (proteínas solúveis, açúcares e aminoácidos, como prolina) e da regulação positiva de antioxidantes enzimáticos eliminadores de EROs (El-Esawi *et al.*, 2019).

A interação entre os fatores indicou que tanto as plantas sob estresse salino quanto as não estressadas apresentaram incrementos lineares nos teores de prolina livre à medida em que houve aumento das concentrações do nanobioestimulante (Figura 14A). Ao avaliar as respostas das plantas dentro de cada uma das CEa, observou-se que as plantas irrigadas com água de 0,35 dS m⁻¹ apresentaram maior teor desse osmólito na concentração 400 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, superando as plantas expostas à concentração de 0 mg L⁻¹ em 200,35%. Para as plantas irrigadas com água de 4,0 dS m⁻¹, o maior aumento dessa variável foi obtido na

concentração de 400 mg L⁻¹ com média 211,64% superior à concentração de 0 mg L⁻¹. De modo geral, ao comparar as duas CEa, observou-se que na CEa 4,0 dS m⁻¹ houve maior acúmulo de prolina quando as plantas foram submetidas às concentrações 240, 320 e 400 mg L⁻¹ (Figura 14A). Este incremento representa um mecanismo importante para minimizar o impacto deletério do estresse salino e melhorar o crescimento das plantas (Abdelaal *et al.*, 2020).

Figura 14 – Teores de prolina livre (A) e proteínas solúveis (B) em folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após sementeira



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

O teor de proteínas solúveis das plantas de feijão-caupi irrigadas com água salina apresentou-se inferior aos das plantas submetidas ao tratamento sem estresse em todas as concentrações do nanobioestimulante, exceto a de 400 mg L⁻¹, em que a diferença não se mostrou significativa (Figura 14B). As plantas irrigadas com água de 0,35 dS m⁻¹ atingiram máximo teor de proteínas (1,65 mg g⁻¹ MF) quando submetidas à concentração de 205 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, superando em 34,16% as plantas expostas à 0 mg L⁻¹. Nas plantas irrigadas com água de 4,0 dS m⁻¹, o teor de proteínas decresceu linearmente com a elevação das concentrações do nanobioestimulante, resultando em queda de 45,97% ao comparar a dose de 400 mg L⁻¹ com a de 0 mg L⁻¹.

Quando submetidas a estresse abiótico, como seca e estresse salino, as plantas desenvolvem mecanismos de tolerância, como ajuste osmótico. Esses mecanismos permitem que as plantas mantenham seu desenvolvimento mesmo sob condições de estresse (Santos *et al.*, 2018). Foi possível perceber que, na condição de estresse, o ajuste osmótico foi regulado, principalmente, pelo maior acúmulo do aminoácido prolina, enquanto os teores de proteínas

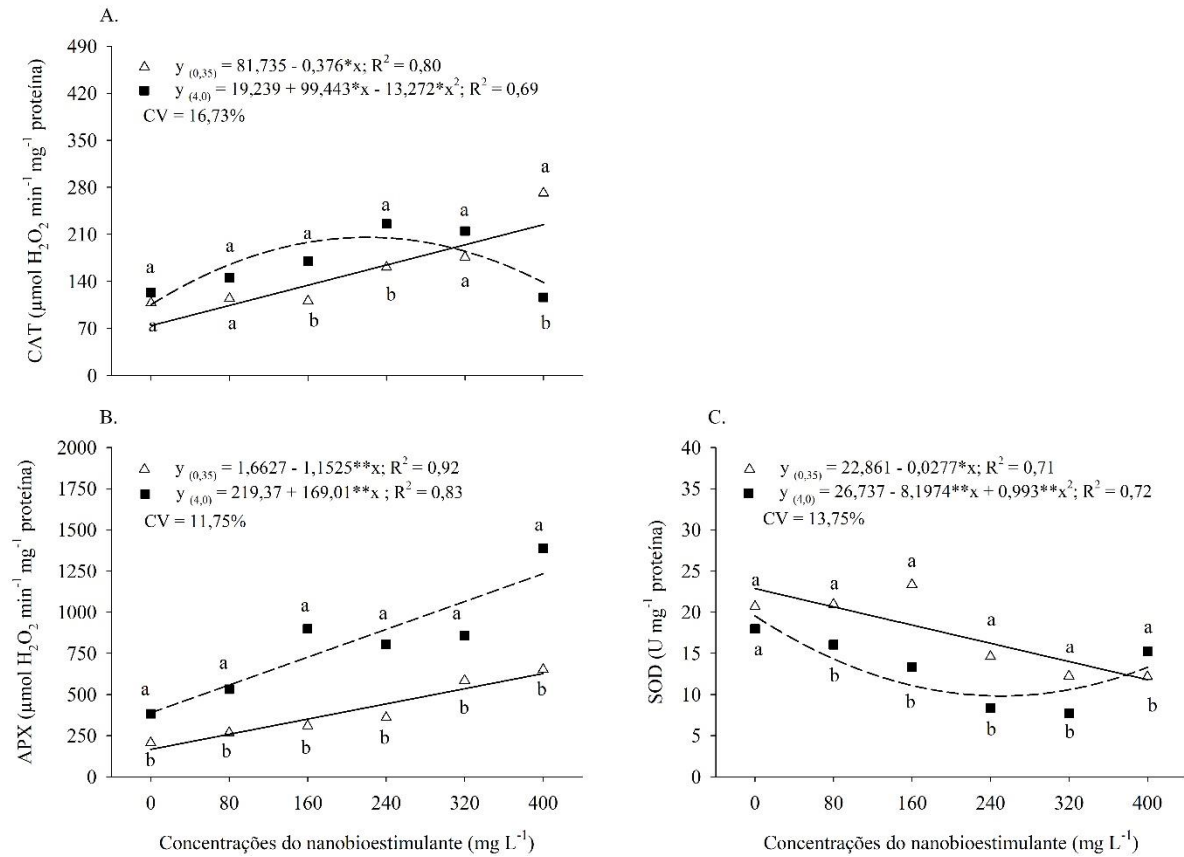
solúveis foram reduzidos com as concentrações do nanobioestimulante. Resultados similares foram encontrados por El-Esawi *et al.* (2018b), investigando os efeitos do *Bacillus firmus* SW5 no desempenho da soja (*Glycine max* L.) sob salinidade, em que verificaram aumentos significativos no teor de prolina e reduções no teor de proteínas solúveis nas folhas com a imposição do estresse. Em contraste, El-Esawi *et al.* (2018c), trabalhando com milho (*Zea mays* L.), observaram que a alta salinidade induziu a biossíntese tanto de prolina quanto de proteínas solúveis totais e esse aumento do teor de proteína solúvel foi atribuído à indução da síntese de proteínas relacionadas ao estresse.

O ajustamento osmótico produz um potencial hídrico foliar mais negativo, ajudando a manter o movimento de água para as folhas e, conseqüentemente, favorecendo a turgescência das células (Abdelaal *et al.*, 2020). A prolina é muito importante nesse processo, pois, além de ser um aminoácido que modula a osmorregulação e mantém o equilíbrio hídrico nas células, também age como osmoprotetor, eliminando EROs, protegendo contra a desnaturação enzimática e melhorando a fotossíntese e a fixação de nitrogênio em condições salinas (Saleh *et al.*, 2015).

Os resultados mostraram que a aplicação do nanobioestimulante possibilitou maior acúmulo de prolina. Singh *et al.* (2023) apontam que a possível explicação para isso esteja no fato de nanopartículas de carbono atuarem como sinalizadoras na ativação de genes que regulam a biossíntese da prolina, aumentando o conteúdo desse osmoprotetor e mitigando os efeitos das EROs. No entanto, esse resultado ainda precisa ser validado de forma mais precisa por novos estudos.

A atividade da enzima catalase (CAT) nas folhas das plantas estressadas foi superior às das plantas não estressadas quando foram expostas às concentrações 160 e 240 mg L⁻¹ do nanobioestimulante (Figura 15A). Ao comparar as concentrações do nanobioestimulante dentro de cada CEa, foi possível observar que as plantas irrigadas com água de 4,0 dS m⁻¹ apresentaram incrementos na atividade dessa enzima, atingindo o ponto máximo na concentração 217 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, superando em 93,77% as plantas expostas à 0 mg L⁻¹. Já nas plantas não estressadas (0,35 dS m⁻¹), essa atividade cresceu linearmente com a elevação das concentrações do nanobioestimulante, aumentando a atividade em 184,01% ao comparar a dose de 400 mg L⁻¹ com a de 0 mg L⁻¹ (Figura 15A).

Figura 15 – Atividade das enzimas catalase (A), peroxidase do ascorbato (B) e superóxido dismutase (C) em folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da condutividade elétrica da água de irrigação e da concentração do nanobioestimulante, aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

As plantas expostas ao tratamento com maior salinidade da água apresentaram atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) superior às submetidas à menor salinidade (Figura 15B). Ao comparar as concentrações do nanobioestimulante dentro de cada CEa, é possível observar que as plantas irrigadas com água de 4,0 dS m⁻¹ apresentaram incrementos lineares na atividade dessa enzima, atingindo maior valor na concentração de 400 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, superando em 204,72% as plantas expostas à 0 mg L⁻¹. De igual modo, as plantas não estressadas (0,35 dS m⁻¹) também apresentaram incrementos lineares na atividade dessa enzima, atingindo maior valor quando submetidas à concentração de 400 mg L⁻¹ do nanobioestimulante, superando em 277,26% as plantas expostas à 0 mg L⁻¹ (Figura 15B).

No que se refere à enzima superóxido dismutase (SOD) e comparando as duas CEa, constatou-se que houve maior atividade enzimática nas folhas de plantas não estressadas, principalmente quando expostas às concentrações 80, 160, 240 e 320 mg L⁻¹ do

nanobioestimulante (Figura 15C). Nas plantas irrigadas com água de $0,35 \text{ dS m}^{-1}$, a atividade da SOD decresceu linearmente com a elevação das concentrações do nanobioestimulante, reduzindo a atividade em 48,47% ao comparar as concentrações 400 mg L^{-1} e 0 mg L^{-1} . Já para as plantas irrigadas com água de $4,0 \text{ dS m}^{-1}$, essa atividade decresceu 38,54% atingindo ponto mínimo na concentração 194 mg L^{-1} (Figura 15C).

Para eliminar espécies reativas de oxigênio e aliviar a toxicidade celular, as plantas também ativam seus antioxidantes enzimáticos (Shan *et al.*, 2024). Assim como no presente experimento, Shana *et al.* (2024), estudando os efeitos do ácido salicílico no crescimento, fisiologia e expressão gênica de plantas de arroz sob estresse salino, verificaram aumentos na atividade das enzimas antioxidantes quando as plantas foram expostas à salinidade. Resultados semelhantes também foram demonstrados por Li *et al.* (2019), trabalhando com arroz. Esses estudos indicam que a redução nos danos oxidativos e o aumento da tolerância à salinidade são dependentes também da eficiência dos sistemas antioxidantes das plantas.

De forma geral, a CAT e a APX mostraram aumento gradual em sua atividade com o aumento da concentração do nanobioestimulante nas plantas sob estresse salino. Estes resultados indicam que o nanobioestimulante pode atuar potencializando a atividade dessas enzimas antioxidantes e, conseqüentemente, reduzir o acúmulo de MDA (peroxidação lipídica) nas folhas de feijão-caupi (El-Esawi *et al.*, 2018c). Li *et al.* (2022), investigando o efeito de nanotubos de carbono no sistema antioxidante de mudas de uva sob estresse salino, constataram que a aplicação de $90 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ de nanopartículas de carbono (MWCNTs) aumentaram as atividades da CAT, APX e, diferentemente do que foi constatado no presente trabalho, houve também aumento da atividade da SOD. Alguns autores conseguiram estabelecer uma conclusão científica de que níveis baixos ou aplicação dependente da dose de NPs poderiam ativar o sistema desintoxicante de EROs, aumentando os genes de sinalização (Ali *et al.*, 2022).

6.4. Aspectos produtivos das plantas de feijão-caupi

O estresse salino imposto através da água de irrigação afetou negativamente os componentes do rendimento do feijão-caupi (Tabela 4). As plantas submetidas à condutividade elétrica da água de $4,0 \text{ dS m}^{-1}$ apresentaram reduções de 60,21% no NVP, 59,92% no PMV, 13,73% no NGV, 57,25% no PTG e 23,13% no P100G quando comparadas às plantas expostas à menor condutividade elétrica ($0,35 \text{ dS m}^{-1}$ – sem estresse).

Tabela 4 – Condutividade elétrica da água de irrigação sobre os caracteres produtivos de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, aos 65 dias após semeadura

CEa (dS m ⁻¹)	NVP (und)	PMV (g)	NGV (und)	PTG (g)	P100G (g)
0,35	6,71 ± 0,97 a	19,36 ± 2,31 a	14,06 ± 1,89 a	16,56 ± 2,33 a	18,07 ± 1,52 a
4,0	2,67 ± 0,55 b	7,76 ± 1,28 b	12,13 ± 1,43 b	7,08 ± 1,10 b	13,89 ± 0,87 b

Fonte: Elaborada pela autora. NVP – Número de vagens por planta; PMV – Peso médio de vagens; NGV – Número de grãos por vagem; PTG – Peso total de grãos; P100g – Peso de cem grãos. Os valores representam a média de quatro repetições ± desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Segundo Freire e Nascimento (2018), a salinidade em concentrações elevadas interfere na capacidade das plantas em absorver água pelas raízes, resultando em uma diminuição na disponibilidade hídrica para processos fisiológicos vitais, como a condutância estomática, fotossíntese e transpiração. A redução de tais processos afeta diretamente a produção de açúcares, que são essenciais para o desenvolvimento das plantas, interferindo assim, no acúmulo de biomassa e nos aspectos produtivos (Fonseca *et al.*, 2022).

Tais afirmações corroboram os resultados apresentados nesta pesquisa, uma vez que as plantas de feijão-caupi irrigadas com água salina de 4,0 dS m⁻¹ apresentaram redução dos caracteres produtivos em detrimento das que foram irrigadas com o tratamento controle (0,35 dS m⁻¹). Além disso, os resultados apresentados na Tabela 4 podem ser explicados pelo acúmulo excessivo de sódio, inibindo o crescimento e a produção devido à toxicidade iônica, desequilíbrios nutricionais ou ambos, simultaneamente, causando sérias implicações sobre a fotossíntese, a atividade enzimática, o teor de pigmentos e o transporte de elétrons nos cloroplastos (Fernandes *et al.*, 2022).

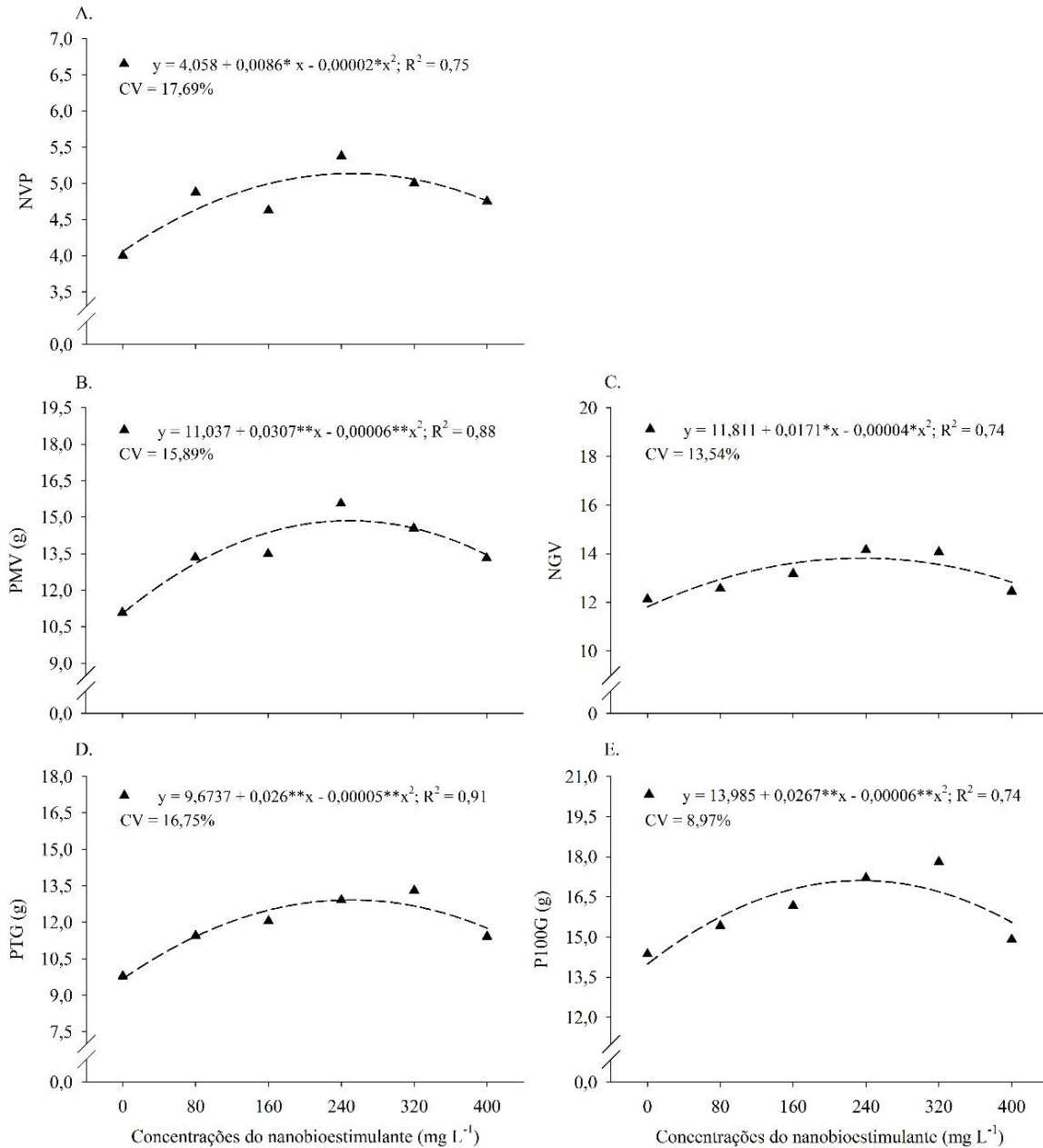
Outro fator que pode ter agravado ainda mais os resultados produtivos do feijão-caupi é a temperatura, pois ela desempenha papel fundamental na floração e na formação das vagens. No ambiente experimental, foram constatadas altas temperaturas durante todo o ciclo da cultura (Figura 1) e isso pode ter causado abortamento floral, redução do número de vagens produzidas e, conseqüentemente, menor produção de grãos. Essa hipótese pode ser validada através dos resultados da Tabela 4, que mostra que a produção de vagens foi relativamente baixa, mesmo sob condições controle (0,35 dS m⁻¹), tendo em vista que a produção média de vagens varia entre 8 e 14 vagens planta⁻¹ (Nascimento *et al.*, 2004). Isso indica que não somente a salinidade teve impacto nos aspectos produtivos, mas também a temperatura.

Segundo Araújo (2017), altas temperaturas afetam drasticamente a floração, a polinização e o desenvolvimento das vagens do feijoeiro, uma vez que nessas condições ocorre

uma maior porcentagem de abortamento floral, resultando em uma diminuição no número de vagens por planta. Em complemento, segundo Suárez *et al.* (2020) temperaturas excessivamente altas podem afetar negativamente todas as etapas reprodutivas, interferindo no desenvolvimento das vagens e causando uma redução em peso médio.

Com o aumento das concentrações do nanobioestimulante, observou-se incrementos nos caracteres produtivos, com a concentração de 215 mg L⁻¹ promovendo o máximo ganho em número de vagens por planta (Figura 16A), a de 256 mg L⁻¹ promovendo o máximo peso médio das vagens (Figura 16B), a de 214 mg L⁻¹ promovendo o maior número de grãos por vagem (Figura 16C), a de 260 mg L⁻¹ promovendo o maior peso total dos grãos (Figura 16D) e a de 223 mg L⁻¹ promovendo o maior peso de 100 grãos (Figura 16E), sendo 22,78, 35,58, 15,47, 34,94 e 21,24% superiores às médias obtidas com a concentração de 0 mg L⁻¹, respectivamente.

Figura 16 – Número de vagens por planta (A), peso médio das vagens (B), número de grãos por vagem (C), peso total dos grãos (D) e peso de 100 grãos (E) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), cv. Pingo de Ouro 1-2, em função da concentração do nanobioestimulante, aos 65 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. *, ** – Significativo para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente

Joshi *et al.* (2020), estudando os efeitos de nanopartículas de carbono no crescimento, anatomia, rendimento e composição de grãos de arroz, verificaram incrementos nas variáveis produtivas da cultura. Seus estudos revelaram que as nanopartículas de carbono melhoraram consideravelmente o crescimento das plantas, estimulando características de biomassa e rendimento de grãos. As principais razões que justificam esse aumento nas variáveis

de produção com o uso do nanobioestimulante podem estar relacionadas com a influência positiva que os *carbon dots* (CDs) têm sobre a absorção de água e nutrientes, o aumento no número de raízes, a eficiência fotossintética e a melhoria na condutância estomática (Tan *et al.*, 2021; Kou *et al.*, 2021).

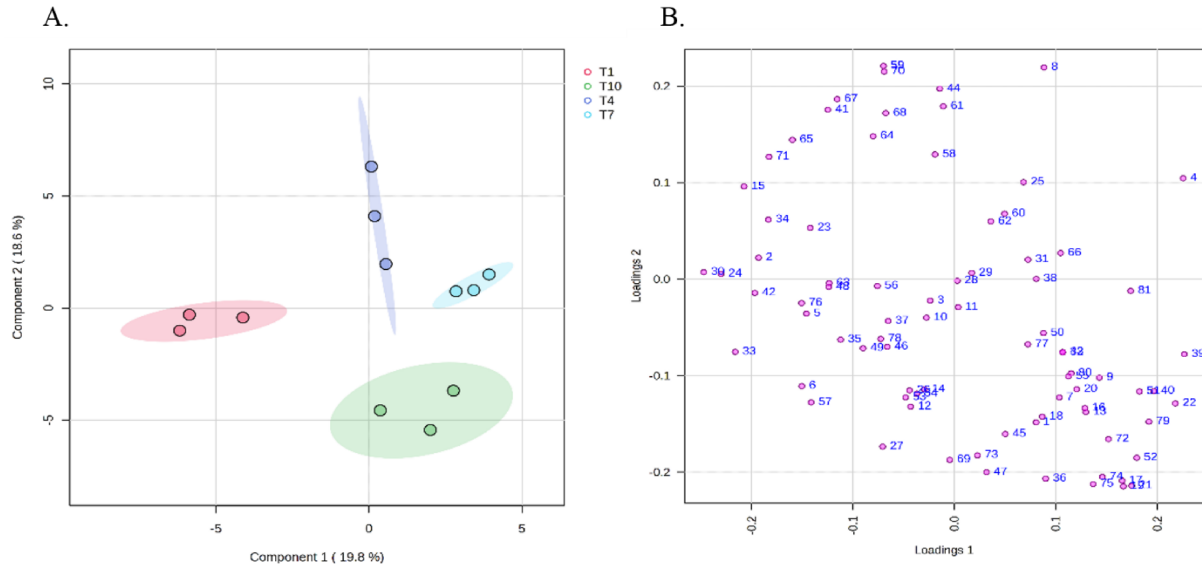
6.5. Respostas metabólicas em folhas de feijão-caupi

A análise do perfil metabólico identificou 81 tempos de retenção em todas as amostras avaliadas dos tratamentos T1 (sem estresse e sem nanobioestimulante), T4 (sem estresse e com 240 mg L⁻¹ do nanobioestimulante), T7 (com estresse e sem nanobioestimulante) e T10 (com estresse e 240 mg L⁻¹ do nanobioestimulante). Como mencionado anteriormente, essas concentrações foram selecionadas levando em consideração o resultado obtido nas variáveis relacionadas ao melhor desempenho fotossintético, crescimento e produção.

Esses 81 tempos de retenção selecionados corresponderam a 69 metabólitos foliares: 19 ácidos orgânicos; 19 açúcares; 7 açúcares álcoois; 11 aminoácidos; 3 derivados de aminoácidos; 3 derivados de açúcares; 2 compostos inorgânicos; 2 compostos orgânicos; 2 poliaminas; 2 precursores fenólicos; 1 composto nitrogenado (Apêndice A).

A análise discriminante de mínimos quadrados (PLS-DA) mostrou que o padrão regulatório desses metabólitos diferiu entre si em função da presença ou ausência do estresse salino e da aplicação, ou não, do nanobioestimulante (Figura 17). Essa distinção ficou evidente pela clara separação dos agrupamentos observados na PLS-DA (Figura 17A). Esses agrupamentos, por sua vez, tiveram 38,4% da variação total dos seus dados explicados pelos dois primeiros componentes, sendo o primeiro componente responsável por diferenciar e agrupar as plantas de acordo com a presença e a ausência de estresse salino, e o segundo de acordo com condições de aplicação ou não do nanobioestimulante.

Figura 17 – Análise discriminante de mínimos quadrados (PLS-DA) do perfil metabólico foliar de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) cv. Pingo de Ouro 1-2 sob condições controle (T1), controle + nanobioestimulante (T4), estresse salino (T7), estresse salino + nanobioestimulante (T10), aos 45 dias após semeadura. (A) Gráfico de pontuações e (B) gráfico de carregamento



Fonte: Elaborada pela autora. Classe de metabólitos: **Ácidos orgânicos** – Ácido pirúvico (2), Ácido Láctico (3), Ácido glicólico (4), Ácido 4-aminobutírico (5), Ácido benzoico (11), Ácido succínico (18), Ácido glicérico (20), Ácido málico (24), Ácido maleâmico (25), GABA (27), Ácido 2-oxoglutárico (30), Ácido kojic (31), Ácido glutâmico (33), Ácido cítrico (42), Ácido dehidroascórbico (43), Ácido galactônico (45), Ácido ascórbico (52), Ácido palmítico (53, 54), Ácido N-acetilneurâmico (71); **Açúcares** – Xylulose (23), Ribose (34), Arabinose (35), Galactose (36), Rannose (37), Glucose-1-fosfato (39), Glucose (46), Eritrose (48), Manose (49), Aloose (56), Lactose (60), Maltose (62), Melizitose (63), Maltotriose (65, 68, 73), Trealose (66), Sacarose (74,75), Kestose (76), Maltose (77), Melibiose (78), Rafinose (81); **Açúcares álcoois** – Glicerol (14), Treitol (29), Arabitol (32), Manitol (50), Galactitol (51), Inositol (55), Galactinol (64, 70, 79, 89), Lactitol (67, 69); **Aminoácidos** – Alanine (6), Lisina (8), Valina (9), Cisteína (12), Leucina (13), Isoleucina (16), Prolina (17), Glicina (19), Serina (21), Treonina (22), Tirosina (40); **Compostos inorgânicos** – Hidroxilamina (7), Fosfato (15); **Compostos orgânicos** – Propilenoglicol (1), Betamansilglicerato (58); **Poliaminas** – Putrescina (38), N-acetilputrescina (47); **Derivados de aminoácidos** – Oxoprolina (26), Uridina 5-difosfo-N-acetilglucosamina (61), n-acetil-d-hexosamina (57); **Derivados de açúcares** – Ácido treônico (28), 1,5-anidroglicitol (59), 1-metilgalactose (72); **Precusores fenólicos** – Ácido shiquímico (41), Ácido quínico (44); **Compostos nitrogenados** – Urea (10). Todos os dados foram padronizados para análise quimiométrica (PLS-DA) por MetaboAnalyst 6.0

Essas modulações diferenciais decorrem da necessidade homeostática que as plantas possuem em se aclimatar ao seu meio, pois, por serem organismos sésseis, as pressões adaptativas/aclimatativas se tornam ainda mais significativas e importantes a esses organismos. Khatri e Rathore (2022), estudando as alterações induzidas por estresse salino nas respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), constataram a importância do acúmulo de biomoléculas, como aminoácidos, na regulação do ajuste osmótico e na prevenção de danos oxidativos como uma das formas de tolerância da planta ao estresse.

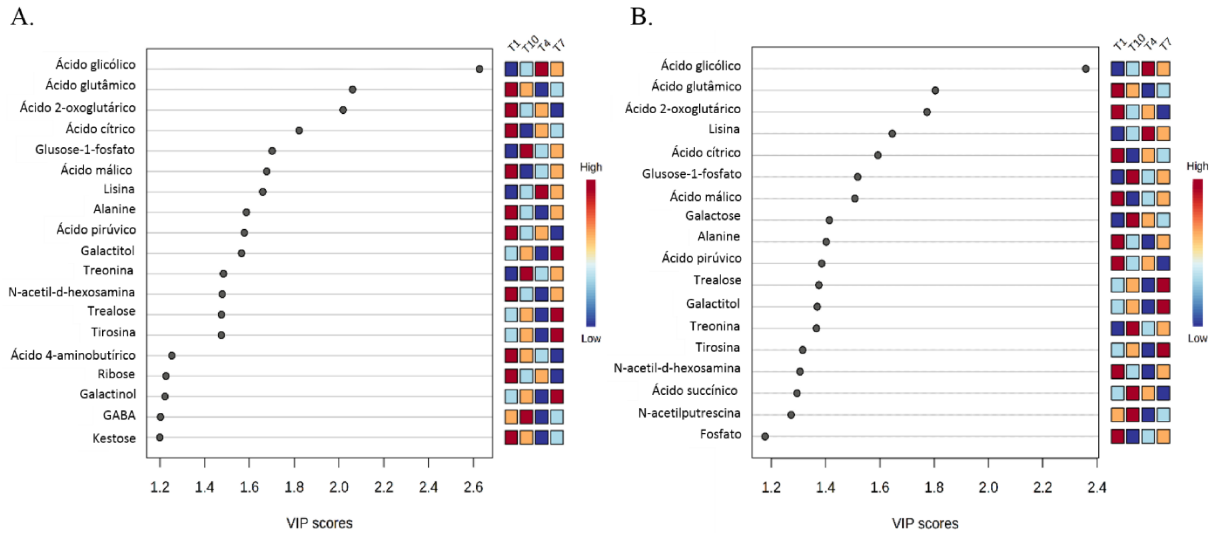
É importante destacar que essas respostas de aclimação das plantas ao meio onde estão inseridas é garantido por regulações positivas ou negativas sejam de genes, fatores de

transcrição, proteínas ou até mesmo metabólitos (Arif *et al.*, 2020), o que pode explicar o efeito positivo sobre alguns metabólitos foliares observados nas plantas de feijão-caupi sob estresse salino (Figura 17B).

Nesse sentido, a partir desses *insights*, o uso tecnologias que melhorem o desempenho das plantas, por meio da melhor regulação do perfil metabólico, é considerado fundamental. Assim, o uso de bioestimulantes despontam como uma ferramenta promissora. Segundo Rouphael e Colla (2020) a aplicação de bioestimulantes sejam em plantas, sementes ou substratos de cultivo, pode alterar significativamente processos fisiológicos essenciais relacionados à regulação do estresse. O que provavelmente explicou o fato do nanobioestimulante aqui testado ter tido um impacto positivo em alguns metabólitos nas plantas não estressadas (Figura 17B).

Embora muitos metabólitos tenham sido afetados positivamente pelo ambiente salino e pelo uso do nanobioestimulante, apenas alguns deles foram significativos para distinguir os diferentes grupos avaliados. Notavelmente, ácido glicólico, ácido glutâmico, ácido 2-oxoglutárico, ácido cítrico, glucose-1-fosfato, ácido málico, lisina, alanina, ácido pirúvico, trealose, galactitol, treonina, tirosina e n-acetyl-d-hexosamine foram relevantes para a segregação de plantas sob estresse salino e de plantas tratadas com nanobioestimulante (Figura 18). Desses metabólitos, os ácidos glicólico, glutâmico e 2-oxoglutárico se destacaram os de maiores pesos nessa separação (VIP scores > 1,2).

Figura 18 – VIP score de metabólitos de maior peso (VIP >1,2) na explicação da variação observada no Componente 1 (A) e no Componente 2 (B) pela análise de PLS – DA, envolvendo plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) cv. Pingo de Ouro 1-2 sob condições controle (T1), controle + nanobioestimulante (T4), estresse salino (T7), estresse salino + nanobioestimulante (T10), aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. Todos os dados padronizados para análise VIP score por MetaboAnalyst 6.0

O ácido glicólico é um dos principais substratos da fotorrespiração e é formado como intermediário na conversão de ribulose 1,5-bifosfato em glicina, aminoácido importante na síntese de açúcares, proteínas e clorofila e que atua como osmoprotetor na tolerância a estresses abióticos e na fixação biológica de nitrogênio em plantas leguminosas (Kang *et al.*, 2022). A sua síntese foi mais pronunciada no tratamento controle + nanobioestimulante (T4) e no estresse salino (T7).

O ácido glutâmico ou glutamato, por sua vez, é um aminoácido que desempenha um papel importante no metabolismo das proteínas. Ele está envolvido em muitas reações químicas importantes, como a síntese de ácido γ -aminobutírico (GABA), arginina, prolina e glutamina, e em diversos processos fisiológicos, de defesa, de sinalização e de reprodução das plantas (Bie *et al.*, 2023; Nair e Dharne, 2023). É considerado um alicerce da glutatona, que desempenha papel importante na tolerância das plantas ao estresse ambiental (Luo *et al.*, 2023). A indução de sua síntese foi mais pronunciada no tratamento controle (T1) e no estresse salino + nanobioestimulante (T10).

O ácido 2-oxoglutárico (2-OG), um intermediário do ciclo de Krebs, é uma molécula sinalizadora em muitos organismos e ocupa uma posição estrategicamente importante que é a de fornecer o esqueleto de carbono necessário para que o amônio seja assimilado em aminoácidos. O 2-OG pode, portanto, ser o elo entre o metabolismo do carbono e a assimilação do nitrogênio, e constitui um ponto de verificação para o equilíbrio adequado do metabolismo

do carbono/nitrogênio (Chen *et al.*, 2006). A indução de sua síntese foi mais pronunciada nos tratamentos controle (T1) e controle + nanobioestimulante (T4).

Além dos três compostos descritos acima, ao observar a Figura 18, nota-se que as classes de metabólitos que apresentaram maior representatividade e abundância nos tratamentos sob estresse (com e sem nanobioestimulante) foram os açúcares (glucose 1 fosfato e trealose), os açúcares álcoois (galactitol) e os aminoácidos (treonina e tirosina). Deste modo, esses metabólitos podem ser potenciais indicadores-chave de tolerância a serem explorados. Conforme Chang *et al.* (2019), o conjunto dos aminoácidos livres totais e dos açúcares solúveis representam quantitativamente os solutos orgânicos mais importantes no ajustamento osmótico ou contribuição para a manutenção do estado hídrico em níveis aceitáveis durante o estresse salino. Além do fator quantitativo, esses solutos se acumulam preferencialmente no citosol e organelas, fazendo o contraponto na homeostase osmótica com os íons salinos que se acumulam preferencialmente nos vacúolos.

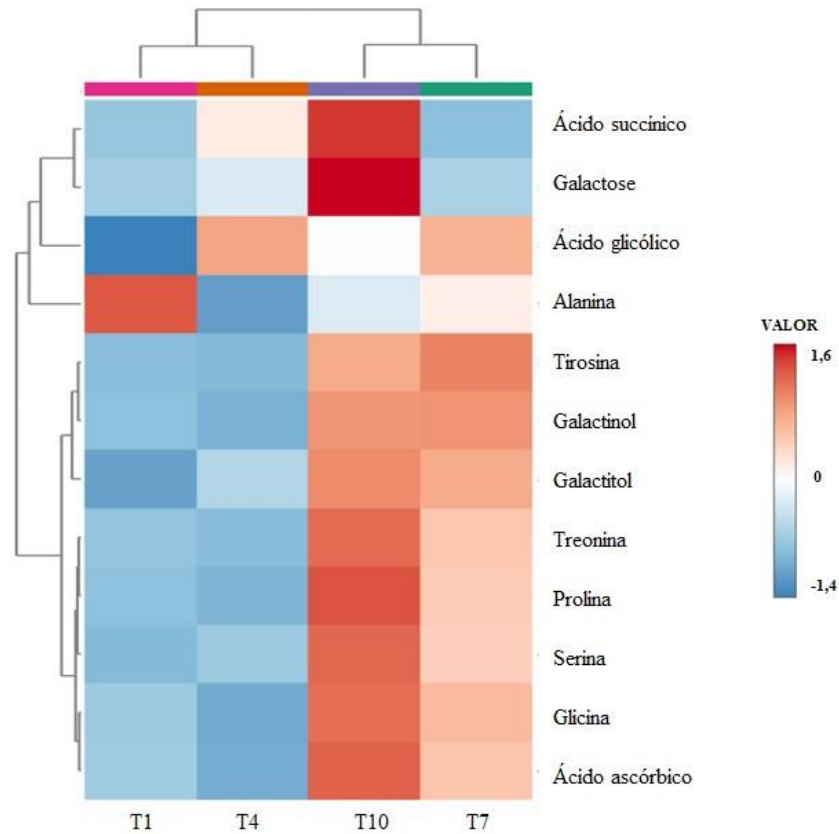
Além dos já citados, alguns metabólitos específicos desempenharam papéis distintos na diferenciação entre os grupos. Por exemplo, o ácido 4-aminobutírico, ribose, galactinol, ácido γ -aminobutírico (GABA) e kestose estiveram mais associados ao estresse salino (Figura 18A). No caso do GABA, por exemplo, estudos relatam sua relação com a tolerância das plantas a diversos estresses abióticos, como salinidade, devido ao fato de sua síntese estar intimamente associada à redução do fluxo de Na^+ da raiz para as folhas, aumento do conteúdo de aminoácidos e fortalecimento do metabolismo antioxidante (Wu *et al.*, 2020).

Por outro lado, galactose, ácido succínico, N-acetilputrescina e fosfato estiveram mais associados à aplicação do nanobioestimulante (Figura 18B). Essa observação destaca a diversidade e a especificidade das redes metabólicas em resposta aos vários estímulos ambientais aos quais as plantas podem estar sujeitas. Um estudo conduzido por Viana *et al.* (2023), ao investigar o efeito do estresse salino no arroz, enfatizou que metabólitos como glicopironosídeo, lisina, ornitina, ácido 2-aminoisobutírico, glutamina, arabitól e ácido 2-glutárico foram osmólitos importantes do estresse salino.

Dos metabólitos encontrados, doze demonstraram regulações significativas, tanto positivas quanto negativas (Apêndice A). Padrões semelhantes foram observados para aminoácidos como prolina, serina e glicina, sendo todos positivamente regulados em resposta ao estresse salino (Figura 19; Apêndice A).

Figura 19 – Heatmap com valores padronizados de metabólitos em folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) cv. Pingo

de Ouro 1-2 sob condições controle (T1), controle + nanobioestimulante (T4), estresse salino (T7), estresse salino + nanobioestimulante (T10), aos 45 dias após semeadura



Fonte: Elaborada pela autora. O mapa de calor mostra uma quantidade relativa alta (escala vermelha) ou baixa (escala azul) de cada metabólito. Lista de metabólitos significativos ($p < 0,05$) agrupados de acordo com a classe de metabólitos: **Ácido orgânico** - Ácido glicólico (4), Ácido succínico (18), Ácido ascórbico (52); **Aminoácidos** - Alanina (6), Prolina (17), Glicina (19), Serina (21), Treonina (22); **Tirosina** (40); **Açúcar** - Galactose (36); **Açúcares álcoois** - Galactitol (51); Galactinol (79); Cada quadrado representa a média de três réplicas biológicas, e a estatística da diferença foi obtida pelo teste F ($p < 0,05$) e teste de Tukey ($p < 0,05$)

Essa modulação é uma resposta importante que contribui significativamente para o equilíbrio osmótico, bem como para regulação da síntese ou degradação proteica (Jha *et al.*, 2019; Hildebrandt, 2018). Assim, em breve, tecnologias que possam melhorar a regulação positiva desses aminoácidos podem ser cruciais para melhorar a aclimatação das plantas ao estresse. Os resultados aqui encontrados mostram que a aplicação do nanobioestimulante testado pode ser fundamental para aprimorar tal capacidade aclimatativa, pois ao promover a potencialização da regulação positiva de metabólitos como a serina (Apêndice A), ele poderá se consolidar como uma ferramenta promissora para fortalecer a tolerância das plantas ao

estresse salino. Ji *et al.* (2023), trabalhando com estresse hídrico e a aplicação foliar de *carbon dots* na soja (*Glycine max* L.), verificaram a contribuição dessas nanopartículas na indução da biossíntese de aminoácidos e na eliminação de espécies reativas de oxigênio.

Além disso, o ácido ascórbico é outro metabólito que apresenta regulação positiva em decorrência do ambiente salino (Figura 19; Apêndice A). Esse metabólito têm a capacidade de melhorar eficientemente a aclimação das plantas ao agente estressor. Além de ser conhecido por proteger organelas e células contra as EROs, esse importante antioxidante está associado a várias vias biossintéticas, como o ciclo da xantofila, que protege contra os efeitos negativos do excesso de energia da excitação nas antenas PSII (Chen *et al.*, 2021), o que pode ser relacionado com o resultado de aumento do NPQ relatado nos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* apresentados no presente trabalho. E assim como para a serina, a aplicação do nanobioestimulante promoveu o incremento desses metabólitos quando em ambiente salino, o que mostra a potencialidade dessa nanotecnologia na aclimação do feijão-caupi ao estresse salino.

Entretanto, a aplicação do nanobioestimulante resultou em efeito negativo na regulação de um metabólito específico: o aminoácido alanina, que apresentou diminuição em seu conteúdo nos tecidos foliares em razão da aplicação (Apêndice A). Tal efeito, a depender da magnitude, pode limitar a aclimação das plantas ao estresse salino, pois tal metabólito atua como osmoprotetor e auxilia na manutenção da homeostase celular em condições salinas, além de estar ligado ao metabolismo de espécies reativas de oxigênio (ROS), atuando na redução dos danos oxidativos (Wu *et al.*, 2020).

Os metabólitos tirosina, treonina, galactinol e galactitol foram agrupados devido às suas regulações positivas em resposta ao estresse salino (Figura 19; Apêndice A). A tirosina, por exemplo, é um aminoácido aromático de grande importância na rede fisiológica vegetal, pois possui diversas funções, desde agente antioxidante à indutor de compostos de defesa do metabolismo secundário e precursor de outros aminoácidos aromáticos (Alfosea-Simón *et al.*, 2020). As observações das regulações positivas desses metabólitos podem indicar uma provável reprogramação do metabolismo, na tentativa de melhorar a aclimação das plantas ao ambiente salino (Mellidou *et al.*, 2021). Entretanto, a aplicação do nanobioestimulante reduziu a magnitude da modulação positiva observada para o galactitol (Apêndice A).

Por fim, ácido succínico, galactose e ácido glicólico apresentaram padrões de modulação similares, sendo positivamente regulados apenas pela aplicação do nanobioestimulante tanto no controle como na condição de estresse, no entanto, nesta última a

regulação foi mais pronunciada (Figura 19; Apêndice A). O ácido succínico tem o potencial de indução do acúmulo de outros ácidos orgânicos, além de estar envolvido na regulação positiva da expressão de enzimas, como malato desidrogenase e a fosfoenolpiruvato carboxilase, que são essenciais ao crescimento das plantas sob condições de estresse (Jin *et al.*, 2021).

A galactose, por outro lado, tem sido associada à regulação do equilíbrio iônico e do pH em plantas sob estresse, indicando seu papel na manutenção da homeostase celular durante condições estressantes (Li *et al.*, 2021). Além disso, ela pode estar associada à desfosforilação da galactose-6-fosfato e subsequente excreção das células como um mecanismo de desintoxicação em resposta ao estresse salino (Upreti *et al.*, 2006).

Já o ácido glicólico é um metabólito que não está diretamente envolvido ao mecanismo de adaptação ao estresse. Todavia, o ácido glicólico é um metabólito chave na bioquímica vegetal, uma vez que está envolvido em processos como na via do glicolato, que é importante ao metabolismo fotorrespiratório do carbono (Bruin *et al.*, 1970; Frederick *et al.*, 1973).

7. CONCLUSÕES

Em condições não estressantes ($0,35 \text{ dS m}^{-1}$), concentrações entre 240 e 320 mg L^{-1} do nanobioestimulante à base de *carbon dots* proporcionam maior estímulo ao crescimento, às trocas gasosas, melhorias nos aspectos bioquímicos e produtivos das plantas de feijão-caupi.

Em condições estressantes ($4,0 \text{ dS m}^{-1}$), não foi possível definir a faixa de concentração que proporciona a mitigação dos efeitos deletérios causados pela salinidade, principalmente em razão da falta de influência significativa do nanobioestimulante em caracteres importantes, como fotossíntese e produção.

A irrigação com água salina ($4,0 \text{ dS m}^{-1}$) diminui o potencial hídrico da planta, limita o funcionamento do aparato fotossintético, reduz as trocas gasosas e os teores de pigmentos, altera a homeostase iônica e promove danos nas membranas celulares das plantas de feijão-caupi, culminando na redução do crescimento e da produção da cultura.

A análise do perfil metabólico das folhas de feijão-caupi mostra que metabólitos, como prolina, serina, glicina, treonina, ácido ascórbico, tirosina, galactitol, galactinol, ácido succínico e galactose, foram mais acumulados em condições de salinidade e sob aplicação do nanobioestimulante, necessitando de estudos mais detalhados para atestar suas potencialidades e seus papéis na tolerância da cultura do feijão-caupi ao estresse salino.

REFERÊNCIAS

- ABDELAAL, K. A.; EL-MAGHRABY, L. M.; ELANSARY, H.; HAFEZ, Y. M.; IBRAHIM, E. I.; EL-BANNA, M.; EL-ESAWI, M.; ELKELISH, A. Treatment of sweet pepper with stress tolerance-inducing compounds alleviates salinity stress oxidative damage by mediating the physio-biochemical activities and antioxidant systems. **Agronomy**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 26, 2020.
- ACOSTA-MOTOS, J. R.; ORTUÑO, M. F.; BERNAL-VICENTE, A.; DIAZ-VIVANCOS, P.; SANCHEZ-BLANCO, M. J.; HERNANDEZ, J. A. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. **Agronomy**, [s.l.], v. 7, n. 18, p. 1-38, 2017.
- AKHTER, M. S.; NOREEN, S.; MAHMOOD, S.; ASHRAF, M.; ALSAHLI, A. A.; AHMAD, P. Influence of salinity stress on PSII in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes, probed by chlorophyll-a fluorescence. **Journal of King Saud University-Science**, [s.l.], v. 33, n. 1, p. 101239, 2021.
- ALFOSEA-SIMÓN, M.; SIMÓN-GRAO, S.; ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; CÁMARA-ZAPATA, J. M.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ-NICOLÁS, J. J.; LIDÓN, V.; RODRÍGUEZ-ORTEGA, W. M.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. Application of Biostimulants Containing Amino Acids to Tomatoes Could Favor Sustainable Cultivation: implications for tyrosine, lysine, and methionine. **Sustainability**, [s.l.], v. 12, n. 22, p. 9729, 2020.
- ALI, B.; SALEEM, M. H.; ALI, S.; SHAHID, M.; SAGIR, M.; TAHIR, M. B.; QURESHI, K. A.; JAREMKO, M.; SELIM, S.; HUSSAIN, A.; RIZWAN, M.; ISHAK, W.; REHMAN, M. Z. U. Mitigation of salinity stress in barley genotypes with variable salt tolerance by application of zinc oxide nanoparticles. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 13, n. 1, p. 973782, 2022.
- ALLBED, A.; KUMAR, L. Soil salinity mapping and monitoring in arid and semi-arid regions using remote sensing technology: a review. **Advances in Remote Sensing**, [s.l.], v. 2, n. 4, p. 1-13, 2013.
- ALZHRANI, Y.; RADY, M. M. Compared to antioxidants and polyamines, the role of maize grain-derived organic biostimulants in improving cadmium tolerance in wheat plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 182, n. 5, p. 109378, 2019.
- ANDRADE, J. R.; MAIA JÚNIOR, S. O.; BARBOSA, J. W. S.; ALENCAR, A. E. V.; JOVINO, R. S.; NASCIMENTO, R. Chlorophyll fluorescence as a tool to select salinity-tolerant cowpea genotypes. **Comunicata Scientiae**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 319-324, 2019.
- ANDRADE, J. R.; MAIA JÚNIOR, S. O.; SILVA, P. F.; BARBOSA, J. W. S.; NASCIMENTO, R.; SOUSA, J. S. Crescimento inicial de genótipos de feijão caupi submetidos à diferentes níveis de água salina. **Agropecuária Científica no Semiárido**, [s.l.], v. 9, n. 4, p. 36-40, 2013.
- ARAÚJO, G. M. **Risco térmico por altas temperaturas para a cultura do feijoeiro**. Trabalho de Conclusão de Curso (Universidade Federal da Fronteira Sul), Cerro Largo – RS, 2017. 47p.

ARIF, Y.; SINGH, P.; SIDDIQUI, H.; BAJGUZ, A.; HAYAT, S. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: an omic approach towards salt stress tolerance. **Plant Physiology And Biochemistry**, [s.l.], v. 156, n. November 2020, p. 64-77, 2020.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. 2 ed. Campina Grande: UFPB, 1999. 153 p.

AZEVEDO NETO, A. D.; PEREIRA, P. P. A.; COSTA, D. P.; SANTOS, A. C. C. Fluorescência da clorofila como uma ferramenta possível para seleção de tolerância à salinidade em girassol. **Revista Ciência Agronômica**, [s.l.], v. 42, n. 4, p. 893-897, 2011.

BASTOS, E. A.; ANDRADE JÚNIOR, A. S.; NOGUEIRA, C. C. P. **Cultivo de feijão caupi**. Brasília: Embrapa, 2017. 9 p.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, [s.l.], v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BAZ, H.; CREECH, M.; CHEN, J.; GONG, H.; BRADFORD, K.; HUO, H. Water-soluble carbon nanoparticles improve seed germination and post-germination growth of lettuce under salinity stress. **Agronomy**, [s.l.], v. 10, n. 8, p. 1192, 2020.

BEAUCHAMP, C.; FRICOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and na assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BERNARDO, S.; MANTOVANI, E. C. SILVA, D. D.; SOARES, A. A. **Manual de Irrigação**. 9. ed. Viçosa: UFV, 2019. 545 p.

BEZERRA, L. T.; SANTOS, A. R. C. S.; FARIAS, A. S.; SOUTO, P. C.; FERREIRA, V. M.; ARAÚJO NETO, J. C.; NASCIMENTO, H. H. C. Emergência e crescimento inicial de plântulas de *Libidibia ferrea* (Mart. exTul.) em diferentes níveis de salinidade na água de irrigação. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, [s.l.], v. 3, n. 3, p. 1126-1140, 2020.

BIE, T. H.; VOS, R. C. H.; EEKELEN, H. D. L. M.; MILLENAAR, F. F.; WIEL, C. K. M.; ALLEFS, J. J. H. M.; BALVERS, M. G. J.; WITKAMP, R. F.; JONGSMA, M. A. Screening for GABA and glutamic acid in tomato and potato genotypes and effects of domestic cooking. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l.], v. 122, n. September 2023, p. 105416, 2023.

BOSE, J.; MUNNS, R.; SHABALA, S.; GILLIHAM, M.; POGSON, B.; TYERMAN, S. D. Chloroplast function and ion regulation in plants growing on saline soils: lessons from halophytes. **Journal of Experimental Botany**, [s.l.], v. 68, n. 12, p. 3129-3143, 2017.

BOUKAR, O.; BELKO, N.; CHAMARTHI, S.; TOGOLA, A.; BATIENO, J.; OWUSU, E.; HARUNA, M.; DIALLO, S.; UMAR, M. L.; OLUFAJO, O.; FATOKUN, C. Cowpea (*Vigna unguiculata*): Genetics, genomics and breeding. **Plant Breeding**, [s.l.], v. 138, n. 4, p. 415-424, 2019.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram

- quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v. 72, n. 1, p. 246-254, 1976.
- BRITO, M. E.; SOARES, L. A.; SOARES FILHO, W. S.; FERNANDES, P. D.; SILVA, E. C.; SÁ, F. V.; SILVA, L. A. Emergence and morphophysiology of *Sunki mandarin* and other citrus genotypes seedlings under saline stress. **Spanish Journal of Agricultural Research**, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 0801, 2018.
- BRUIN, W. J.; NELSON, E.; TOLBERT, N. E. Glycolate pathway in green algae. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 46, n. 3, p. 386-391, 1970.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, [s.l.], v. 52, n. 1, p. 302-310, 1978.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, [s.l.], v. 383, n. 1, p. 3-41, 2014.
- CAVALCANTE, E. S.; LACERDA, C. F.; COSTA, R. N. T.; GHEYI, H. R.; PINHO, L. L.; BEZERRA, F. M. S.; OLIVEIRA, A. C.; CANJÁ, J. F. Supplemental irrigation using brackish water on maize in tropical semi-arid regions of Brazil: yield and economical analysis. **Scientia Agricola**, [s.l.], v. 78, n. suppl.1, p. 1-9, 2021.
- CHALLABATHULA, D.; ANALIN, B.; MOHANAN, A.; BAKKA, K. Differential modulation of photosynthesis, ROS and antioxidant enzyme activities in stress-sensitive and-tolerant rice cultivars during salinity and drought upon restriction of COX and AOX pathways of mitochondrial oxidative electron transport. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 268, n. January 2022, p. 153583, 2022.
- CHANDRA, S.; PRADHAN, S.; MITRA, S.; PATRA, P.; BHATTACHARYA, A.; PRAMANIK, P.; GOSWAMI, A. High throughput electron transfer from carbon dots to chloroplast: a rationale of enhanced photosynthesis. **Nanoscale**, [s.l.], v. 6, n. 7, p. 3647-3655, 2014.
- CHANG, J.; CHEONG, B. E.; NATERA, S.; ROESSNER, U. Morphological and metabolic responses to salt stress of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars which differ in salinity tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 144, n. November 2019, p. 427-435, 2019.
- CHAVES, M. M.; COSTA, J. M.; ZARROUK, O.; PINHEIRO, C.; LOPES, C. M.; PEREIRA, J. S. Controlling stomatal aperture in semi-arid regions—The dilemma of saving water or being cool?. **Plant Science**, [s.l.], v. 251, n. 1, p. 54-64, 2016.
- CHEN, H.; LAURENT, S.; BÉDU, S.; ZIARELLI, F.; CHEN, H. L.; CHENG, Y.; ZHANG, C. C.; PENG, L. Studying the signaling role of 2-oxoglutaric acid using analogs that mimic the ketone and ketal forms of 2-oxoglutaric acid. **Chemistry & Biology**, [s.l.], v. 13, n. 8, p. 849-856, 2006.
- CHEN, X.; ZHOU, Y.; CONG, Y.; ZHU, P.; XING, J.; CUI, J.; XU, W.; SHI, Q.; DIAO, M.; LIU, H.-Y. Ascorbic Acid-Induced Photosynthetic Adaptability of Processing Tomatoes to Salt Stress Probed by Fast OJIP Fluorescence Rise. **Frontiers In Plant Science**, [s.l.], v. 12, n. August 2021, p. 594400, 2021.

- CHINNASAMY, P.; MISRA, G.; SHAH, T.; MAHESHWARI, B.; PRATHAPAR, S. Evaluating the effectiveness of water infrastructures for increasing groundwater recharge and agricultural production – A case study of Gujarat, India. **Agricultural Water Management**, [s.l.], v. 158, n. 1, p. 179-188, 2015.
- CHOUDHURY, F. K.; RIVERO, R. M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, [s.l.], v. 90, n. 5, p. 856-867, 2017.
- COFFIGNIEZ, F.; BRIFFAZ, A. Modelling of the nutritional behaviour of cowpea seeds during soaking, germination and cooking process. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 401, n. February 2023, p. 134177, 2023.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2021/22. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra/monitoramento-agricola>>. Acesso em: 01 de outubro de 2023.
- CORWIN, D. L.; SCUDIERO, E. Review of soil salinity assessment for agriculture across multiple scales using proximal and/or remote sensors. **Advances in Agronomy**, [s.l.], v. 158, n. 1, p. 1-130, 2019.
- CRUZ, R. M. S.; JESUS, R. A.; SOUZA, M. P. F.; CAGNINI, C.; SABEC, G. Z.; SAVOLDI, T. L.; SOUZA, S. G. H. Crescimento inicial e resposta estomática de milho pipoca (*Zea mays* everta) sob estresse salino. **Colloquium Agrariae**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 15-26, 2019.
- DELL' AVERSANA, E.; CIRILLO, V.; VAN OOSTEN, M. J.; DI STASIO, E.; SAIANO, K.; WOODROW, P.; CIARMIELLO, L. F.; MAGGIO, A.; CARILLO, P. *Ascophyllum nodosum* based extracts counteract salinity stress in tomato by remodeling leaf nitrogen metabolism. **Plants**, [s.l.], v. 10, n. 6, p. 1044, 2021.
- DESOKY, E. S. M.; EL-MAGHRABY, L. M.; AWAD, A. E.; ABDO, A. I.; RADY, M. M.; SEMIDA, W. M. Fennel and ammi seed extracts modulate antioxidant defence system and alleviate salinity stress in cowpea (*Vigna unguiculata*). **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 272, n. October 2020, p. 109576, 2020.
- DESOKY, E. S. M.; ELRYS, A. S.; MANSOUR, E.; EID, R. S.; SELEM, E.; RADY, M. M.; ALI, E. F.; MERSAL, G. A. M.; SEMIDA, W. M. Application of biostimulants promotes growth and productivity by fortifying the antioxidant machinery and suppressing oxidative stress in faba bean under various abiotic stresses. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 288, n. October 2021, p. 110340, 2021.
- DIAS, A. S.; LIMA, G. S.; GHEYI, H. R.; NOBRE, R. G.; FERNANDES, P. D.; SILVA, F. A. Trocas gasosas e eficiência fotoquímica do gergelim sob estresse salino e adubação com nitrato-amônio. **Irriga**, [s.l.], v. 23, n. 2, p. 220-234, 2018a.
- DIAS, A. S.; LIMA, G. S.; SÁ, F. V. S.; GHEYI, H. R.; SOARES, L. A. A.; FERNANDES, P. D. Gas exchanges and photochemical efficiency of West Indian cherry cultivated with

saline water and potassium fertilization. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 22, n. 9, p. 628-633, 2018b.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F.; SOUZA, E. R.; FERREIRA, J. F. S.; SOUSA NETO, O. N.; QUEIROZ, Í. S. R. Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; GOMES FILHO, E. **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional em Ciência e Tecnologia em Salinidade (INCTSal), 2016. p. 151-162.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 196, n. 1, p. 3-14, 2015.

EL-ESAWI, M. A.; ALARAIHDH, I. A.; ALSAHLI, A. A.; ALAMRI, S. A.; ALI, H. M.; ALAYAFI, A. A. *Bacillus firmus* (SW5) augments salt tolerance in soybean (*Glycine max* L.) by modulating root system architecture, antioxidant defense systems and stress-responsive genes expression. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 132, n. November 2018, p. 375-384, 2018b.

EL-ESAWI, M. A.; Alaraidh, I. A.; Alsahli, A. A.; Ali, H. M.; Alayafi, A. A.; Witczak, J.; Ahmad, M. Genetic variation and alleviation of salinity stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Molecules**, [s.l.], v. 23, n. 10, p. 2488, 2018a.

EL-ESAWI, M. A.; ALARAIHDH, I. A.; ALSAHLI, A. A.; ALZAHIRANI, S. M.; ALI, H. M.; ALAYAFI, A. A.; AHMAD, M. *Serratia liquefaciens* KM4 improves salt stress tolerance in maize by regulating redox potential, ion homeostasis, leaf gas exchange and stress-related gene expression. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 19, n. 11, p. 3310, 2018c.

EL-ESAWI, M. A.; AL-GHAMDI, A. A.; ALI, H. M.; ALAYAFI, A. A. *Azospirillum lipoferum* FK1 confers improved salt tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) by modulating osmolytes, antioxidant machinery and stress-related genes expression. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 159, n. March 2019, p. 55-65, 2019.

EMBRAPA SOLOS. **Manual de métodos de análise de solos**. (2ed.). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011.

FAOSTAT. FAO statistical databases. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Crop and livestock product - Production quantities of cowpeas, dry by country**, 2021. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 01 de outubro de 2023.

FARIAS, V. D.; COSTA, D. L.; SOUZA, P. J.; TAKAKI, A.; LIMA, M. J. Temperaturas basais e necessidade térmica para o ciclo de desenvolvimento do feijão-caupi. **Enciclopédia Biosfera**, [s.l.], v. 11, n. 21, p. 1781-1792, 2015.

FATEMI, F.; HASHEMI-PETROUDI, S. H.; NEMATZADEH, G.; ASKARI, H.; ABDOLLAHI, M. R. Exploiting differential gene expression to discover ionic and osmotic-associated transcripts in the halophyte grass *Aeluropus litoralis*. **Biological Procedures Online**, [s.l.], v. 21, n. 14, p. 1-16, 2019.

FERNANDES, C. S.; SÁ, F. V. S.; FERREIRA NETO, M.; DIAS, N. S.; REGES, L. B. L.; GHEYI, H. R.; PAIVA, E. P.; SILVA, A. A.; MELO, A. S. Ionic homeostasis, biochemical components and yield of *Italian zucchini* under nitrogen forms and salt stress. **Brazilian Journal of Biology**, [s.l.], v. 82, n. 1, p. 233567, 2022.

FIGUEIREDO, F. R. A.; GONÇALVES, A. C. M.; RIBEIRO, J. E. S.; SILVA, T. I.; NÓBREGA, J. S.; DIAS, T. J.; ALBUQUERQUE, M. B. Trocas gasosas em pinha (*Annona squamosa* L.) submetida a estresse salino e adubação nitrogenada. **Australian Journal of Crop Science**, [s.l.], v. 13, n. 12, p. 1959-1966, 2019.

FLOWERS, T. J.; MUNNS, R.; COLMER, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany**, [s.l.], v. 115, n. 3, p. 419-431, 2015.

FONSECA, L. S. C.; PAULA, A. L. V.; SILVA, P. B. Desenvolvimento inicial de plântulas de brócolis (*Brassica oleracea* L.) e pepino (*Cucumis sativus*) sobre diferentes potenciais de salinidade. **Brazilian Journal of Development**, [s.l.], v. 8, n. 5, p. 38131-38142, 2022.

FRANCISCHINI, R.; SILVA, A. G.; TESSMANN, D. J. Eficiência de bioestimulantes e fungicida nos caracteres agrônômicos e econômicos na cultura do milho verde. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, [s.l.], v. 17, n. 2, p. 274-286, 2018.

FREDERICK, S. E.; GRUBER, P. J.; TOLBERT, N. E. The Occurrence of Glycolate Dehydrogenase and Glycolate Oxidase in Green Plants. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 52, n. 4, p. 318-323, 1973.

FREIRE, J. L. O.; NASCIMENTO, G. S. Produção de mudas de maracujazeiros amarelo e roxo irrigadas com águas salinas e uso de urina de vaca. **Revista de Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 41, n. 4, p. 981-988, 2018.

FREIRE, M. H. C.; SOUSA, G. G.; CEITA, E. D. A. R.; BARBOSA, A. S.; GOES, G. F.; LACERDA, C. F. Gas exchange of fava bean varieties under salinity conditions of irrigation water. **Agrarian**, [s.l.], v. 14, n. 51, p. 61-70, 2021.

FURLAN, D. A.; SOUSA, E. F.; MENDONÇA, J. C.; SOUZA, C. L. M.; GOTTARDO, R. D.; LIMA, R. A. S. Potencial hídrico foliar e desenvolvimento vegetativo do cafeeiro conilon sob diferentes lâminas de irrigação na região de Campos dos Goytacazes-RJ. **Irriga**, [s.l.], v. 26, n. 1, p. 13-28, 2021.

GARZA-ALONSO, C. A.; CADENAS-PLIEGO, G.; JUÁREZ-MALDONADO, A.; GONZÁLEZ-FUENTES, J. A.; TORTELLA, G.; BENAVIDES-MENDOZA, A. Fe₂O₃ nanoparticles can replace Fe-EDTA fertilizer and boost the productivity and quality of *Raphanus sativus* in a soilless system. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 321, n. November 2023, p. 112261, 2023.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M.; BAKER, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochim Biophys Acta**, [s.l.], v. 990, n. 1, p. 87-92, 1989.

GHEYI, H. R.; LACERDA, C. F.; FREIRE, M. B. G. S.; COSTA, R. N. T.; SOUZA, E. R. de; SILVA, A. O. da; FRACETTO, G. G. M.; CAVALCANTE, L. F. Management and reclamation of salt-affected soils: General assessment and experiences in the Brazilian semiarid region. **Revista Ciência Agrônômica**, [s.l.], v. 53, n. 1, p. 20217917, 2022.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 59, n. 2, p. 309-14, 1977.

GONÇALVES, A.; GOUFO, P.; BARROS, A.; DOMÍNGUEZ-PERLES, R.; TRINDADE, H.; ROSA, E. A.; FERREIRA, L.; RODRIGUES, M. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), a renewed multipurpose crop for a more sustainable agri-food system: nutritional advantages and constraints. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 96, n. 9, p. 2941-2951, 2016.

GUIDI, L.; LO PICCOLO, E.; LANDI, M. Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species?. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 10, n. February 2019, p. 438548, 2019.

HASAN, M. M.; ALABDALLAH, N. M.; SALIH, A. M.; AL-SHAMMARI, A. S.; ALZHRANI, S. S.; AL LAWATI, A. H.; JAHAN, M. S.; RAHMAN, M. A.; FANG, X. W. Modification of starch content and its management strategies in plants in response to drought and salinity: current status and future prospects. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, [s.l.], v. 23, n. 1, p. 92-105, 2023.

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. H. M. B.; NAHAR, K.; HOSSAIN, M. S.; AL MAHMUD, J.; HOSSEN, M. S.; MASUD, A. A. C.; MOUMITA; FUJITA, M. Potassium: a vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. **Agronomy**, [s.l.], v. 8, n. 3, p. 1-29, 2018.

HASSAN, A.; FASIHA AMJAD, S.; HAMZAH SALEEM, M.; YASMIN, H.; IMRAN, M.; RIAZ, M.; ALI, Q.; AHMAD JOYIA, F.; MOBEEN; AHMED, S.; ALI, S.; ABDULLAH ALSAHLI, A.; NASSER ALYEMENI, M. Foliar application of ascorbic acid enhances salinity stress tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) through modulation of morpho-physio-biochemical attributes, ions uptake, osmo-protectants and stress response genes expression. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 28, n. 8, p. 4276-4290, 2021.

HAVIR, E.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalases in tobacco leaves. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HENDRICKSON, L.; FURBANK, R. T.; CHOW, W. S. A simple alternative approach to assessing the fate of absorbed light energy using chlorophyll fluorescence. **Photosynthesis Research**, [s.l.], v. 82, n. 1, p. 73-81, 2004.

HERNITER, I. A.; MUÑOZ-AMATRIAIN, M.; CLOSE, T. J. Genetic, textual, and archeological evidence of the historical global spread of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). **Legume Science**, [s.l.], v. 2, n. 4, p. e57, 2020.

HESSINI, K.; ISSAOUI, K.; FERCHICHI, S.; ABDELLEY, C.; SIDDIQUE, K. H. M.; CRUZ, C. Interactive effects of salinity and nitrogen forms on plant growth, photosynthesis and

osmotic adjustment in maize. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 139, n. June 2019, p. 171-178, 2019.

HILDEBRANDT, T. M. Synthesis versus degradation: directions of amino acid metabolism during arabidopsis abiotic stress response. **Plant Molecular Biology**, [s.l.], v. 98, n. 1-2, p. 121-135, 2018.

HODGE, J. E.; HOFREITER, B. T. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: WHISTLER, J. E.; WOLFROM, M. L. **Methods in carbohydrate chemistry**. New York: Academic, 1962. p. 380-394.

HONG, J.; WANG, C.; WAGNER, D. C.; GARDEA-TORRESDEY, J. L.; HE, F.; RICO, C. M. Foliar application of nanoparticles: mechanisms of absorption, transfer, and multiple impacts. **Environmental Science: Nano**, [s.l.], v. 8, n. 5, p. 1196-1210, 2021.

HOSSAIN, M. S. Present scenario of global salt affected soils, its management and importance of salinity research. **International Research Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 1, n. 1, p. 1-3, 2019.

HU, P.; AN, J.; FAULKNER, M. M.; WU, H.; LI, Z.; TIAN, X.; GIRALDO, J. P. Nanoparticle Charge and Size Control Foliar Delivery Efficiency to Plant Cells and Organelles. **ACS Nano**, [s.l.], v. 14, n. 7, p. 7970-7986, 2020.

HUSSAIN, S.; HUSSAIN, S.; QADIR, T.; KHALIQ, A.; ASHRAF, U.; PARVEEN, A.; SAQIB, M.; RAFIC, M. Drought stress in plants: An overview on implications, tolerance mechanisms and agronomic mitigation strategies. **Plant Science Today**, [s.l.], v. 6, n. 4, p. 389-402, 2019.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agrícola municipal. **Área plantada ou destinada à colheita, área colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção das lavouras temporárias e permanentes**, 2022. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>>. Acesso em: 01 de outubro de 2023.

JHA, R. K.; PATEL, J.; MISHRA, A.; JHA, B. Introgression of halophytic salt stress-responsive genes for developing stress tolerance in crop plants. In: HASANUZZAMAN, M.; SHABALA, S.; FUJITA, M. (ed.). **Halophytes and Climate Change**: adaptive mechanisms and potential uses. Wallingford: CABI, 2019. p. 275-286.

JI, Y.; YUE, L.; CAO, X.; CHEN, F.; LI, J.; ZHANG, J.; WANG, C.; WANG, Z.; XING, B. Carbon dots promoted soybean photosynthesis and amino acid biosynthesis under drought stress: Reactive oxygen species scavenging and nitrogen metabolism. **Science of the Total Environment**, [s.l.], v. 856, n. January 2023, p. 159125, 2023.

JIAO, L.; WANG, L.; ZHOU, Q.; HUANG, X. Stomatal and non-stomatal factors regulated the photosynthesis of soybean seedlings in the present of exogenous bisphenol A. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 145, n. 1, p. 150-160, 2017.

JIAO, Y.; BAI, Z.; XU, J.; ZHAO, M.; KHAN, Y.; HU, Y.; SHI, L. Metabolomics and its physiological regulation process reveal the salt-tolerant mechanism in Glycine soja seedling roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 126, n. May 2018, p. 187-196, 2018.

JIN, F.; HU, Q.; ZHAO, Y.; LIN, X.; ZHANG, J.; ZHANG, J. Enhancing quinoa growth under severe saline-alkali stress by phosphate solubilizing microorganism *Penicillium funiculosum* P1. **Plos One**, [s.l.], v. 17, n. 9, p. 0273459, 2022.

JOSHI, A.; SHARMA, L.; KAUR, S.; DHARAMVIR, K.; NAYYAR, H.; VERMA, G. Plant nanobionic effect of multi-walled carbon nanotubes on growth, anatomy, yield and grain composition of rice. **BioNanoScience**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 430-445, 2020.

JUÁREZ-MALDONADO, A.; ORTEGA-ORTÍZ, H.; MORALES-DÍAZ, A. B.; GONZÁLEZ-MORALES, S.; MORELOS-MORENO, Á.; CABRERA-DE LA FUENTE, M.; SANDOVAL-RANGEL, A.; CADENAS-PLIEGO, G.; BENAVIDES-MENDOZA, A. Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 20, n. 162, p. 1-19, 2019.

JUDY, J. D.; BERTSCH, P. M. Bioavailability, toxicity, and fate of manufactured nanomaterials in terrestrial ecosystems. **Advances in Agronomy**, [s.l.], v. 123, n. 1, p. 1-64, 2014.

KALAJI, H. M.; RASTOGI, A.; ŽIVČÁK, M.; BRESTIC, M.; DASZKOWSKA-GOLEC, A.; SITKO, K.; ALSHARAF, K. Y.; LOTFI, R.; STYPIŃSKI, P.; SAMBORSKA, I. A.; CETNER, M. D. Prompt chlorophyll fluorescence as a tool for crop phenotyping: an example of barley landraces exposed to various abiotic stress factors. **Photosynthetica**, [s.l.], v. 56, n. 3, p. 953-961, 2018.

KAMRAN, M.; PARVEEN, A.; AHMAR, S.; MALIK, Z.; HUSSAIN, S.; CHATTHA, M. S.; SALEEM, M. H.; ADIL, M.; HEIDARI, P.; CHEN, J. T. An overview of hazardous impacts of soil salinity in crops, tolerance mechanisms, and amelioration through selenium supplementation. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 148, 2019.

KANG, N. K.; KIM, M.; BAEK, K.; CHANG, Y. K.; ORT, D. R.; JIN, Y. S. Photoautotrophic organic acid production: glycolic acid production by microalgal cultivation. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 433, n. April 2022, p. 133636, 2022.

KARUWAL, R. L.; SINAY, H.; SANGUR, K.; PURWANINGRAHAYU, R. D.; YUSNAWAN, E.; NUGRAHA, Y. Identification of metabolite profiles of local cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp) from Southwest Maluku, Indonesia. **Journal of Agriculture and Food Research**, [s.l.], v. 14, n. December 2023, p. 100788, 2023.

KEISHAM, M.; MUKHERJEE, S.; BHATLA, S. C. Mechanisms of sodium transport in plants—progresses and challenges. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 19, n. 3, p. 647, 2018.

KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, [s.l.], v. 12, n. 7, p. 908-931, 2019.

KHARE, S.; SINGH, N. B.; SINGH, A.; HUSSAIN, I.; NIHARIKA, K.; YADAV, V.; BANO, C.; YADAV, R. K.; AMIST, N. Plant secondary metabolites synthesis and their

regulations under biotic and abiotic constraints. **Journal of Plant Biology**, [s.l.], v. 63, n. 3, p. 203-216, 2020.

KHATRI, K.; RATHORE, M. S. Salt and osmotic stress-induced changes in physio-chemical responses, PSII photochemistry and chlorophyll a fluorescence in peanut. **Plant Stress**, [s.l.], v. 3, n. January 2022, p. 100063, 2022.

KOENIGSHOFER, H.; LOEPPERT, H. G. The up-regulation of proline synthesis in the meristematic tissues of wheat seedlings upon short-term exposure to osmotic stress. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 237, n. 1, p. 21-29, 2019.

KOU, E.; YAO, Y.; YANG, X.; SONG, S.; LI, W.; KANG, Y.; QU, S.; DONG, R.; PAN, X.; LI, D.; ZHANG, H.; LEI, B. Regulation Mechanisms of Carbon Dots in the Development of Lettuce and Tomato. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, [s.l.], v. 9, n. 2, p. 944-953, 2021.

KRAMER, D. M.; AVENSON, T. J.; EDWARDS, G. E. Dynamic flexibility in the light reactions of photosynthesis governed by both electron and proton transfer reactions. **Trends in Plant Science**, [s.l.], v. 9, n. 7, p. 349-357, 2004.

KRID, A.; EL HALLABI, M.; ENNOURY, A.; NHHALA, N.; ABERKANI, K.; NHIRI, M.; ZERROUK, M. H. The potential of seaweed extracts as a biostimulant for improving salt stress tolerance of *Solanum lycopersicum* L. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 161, n. 1, p. 305-316, 2023.

LACERDA, C. F.; GHEYI, H. R.; MEDEIROS, J. F.; COSTA, R. N. T.; SOUSA, G. G.; LIMA, G. S. Strategies for the use of brackish water for crop production in Northeastern Brazil. In: TALEISNIK, E.; LAVADO, R. S. **Saline and alkaline soils in Latin America: natural resources, management and productive alternatives**. 1 ed. Springer International Publishing, p. 71-99, 2021.

LANG, D.; YU, X.; JIA, X.; LI, Z.; ZHANG, X. Methyl jasmonate improves metabolism and growth of NaCl-stressed *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 266, n. May 2020, p. 109287, 2020.

LEITE, J. V. Q.; FERNANDES, P. D.; OLIVEIRA, W. J.; SOUZA, E. R.; SANTOS, D. P.; SANTOS, C. S. Efeito do estresse salino e da composição iônica da água de irrigação sobre variáveis morfofisiológicas do feijão caupi. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, [s.l.], v. 11, n. 6, p. 1825-1833, 2017.

LI, D.; LI, W.; ZHANG, H.; ZHANG, X.; ZHUANG, J.; LIU, Y.; HU, C.; LEI, B. Far-red carbon dots as efficient light-harvesting agents for enhanced photosynthesis. **ACS Applied Materials and Interfaces**, [s.l.], v. 12, n. 18, p. 21009-21019, 2020.

LI, H.; HUANG, J.; LIU, Y.; LU, F.; ZHONG, J.; WANG, Y.; LI, S.; LIFSHITZ, Y.; LEE, S. T.; KANG, Z. Enhanced RuBisCO activity and promoted dicotyledons growth with degradable carbon dots. **Nano Research**, [s.l.], v. 12, n. April 2019, p. 1585-1593, 2019.

LI, H.; KANG, Z.; LIU, Y.; LEE, S. T. Carbon nanodots: Synthesis, properties and applications. **Journal of Materials Chemistry**, [s.l.], v. 22, n. 46, p. 24230-24253, 2012.

LI, H.; TANG, X.; YANG, X.; ZHANG, H. Comprehensive transcriptome and metabolome profiling reveal metabolic mechanisms of *Nitraria sibirica* Pall. to salt stress. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 11, n. 1, p. 12878, 2021.

LI, J.; CHEN, J.; HE, P.; CHEN, D.; DAI, X.; JIN, Q.; SU, X. The optimal irrigation water salinity and salt component for high-yield and good-quality of tomato in Ningxia. **Agricultural Water Management**, [s.l.], v. 274, n. December 2022, p. 107940, 2022.

LI, W.; WU, S.; ZHANG, H.; ZHANG, X.; ZHUANG, J.; HU, C.; LIU, Y.; LEI, B.; MA, L.; WANG, X. Enhanced Biological Photosynthetic Efficiency Using Light-Harvesting Engineering with Dual-Emissive Carbon Dots. **Advanced Functional Materials**, [s.l.], v. 28, n. 44, p. 1804004, 2018.

LI, Y.; GAO, J.; XU, X.; WU, Y.; ZHUANG, J.; ZHANG, X.; ZHANG, H.; LEI, B.; ZHENG, M.; LIU, Y.; HU, C. Carbon dots as a protective agent alleviating abiotic stress on rice (*Oryza sativa* L.) through promoting nutrition assimilation and the defense system. **ACS Applied Materials & Interfaces**, [s.l.], v. 12, n. 30, p. 33575-33585, 2020a.

LI, Y.; LIU, M.; YANG, X.; ZHANG, Y.; HUI, H.; ZHANG, D.; SHU, J. Multi-walled carbon nanotubes enhanced the antioxidative system and alleviated salt stress in grape seedlings. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 293, n. February 2022, p. 110698, 2022.

LI, Y.; XU, X.; WU, Y.; ZHUANG, J.; ZHANG, X.; ZHANG, H.; LEI, B.; HU, C.; LIU, Y. A review on the effects of carbon dots in plant systems. **Materials Chemistry Frontiers**, [s.l.], v. 4, n. 2, p. 437-448, 2020b.

LI, Z.; FU, X.; TIAN, Y.; XU, J.; GAO, J.; WANG, B.; HAN, H.; WANG, L.; ZHANG, F.; ZHU, Y.; HUANG, Y.; ENG, R.; YAO, Q. Overexpression of a trypanothione synthetase gene from *Trypanosoma cruzi*, TcTrys, confers enhanced tolerance to multiple abiotic stresses in rice. **Gene**, [s.l.], v. 710, n. 1, p. 279-290, 2019.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C.; KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{Fd} of leaves with the PAM fluorometer. **Photosynthetica**, [s.l.], v. 43, n. September 2005, p. 379-393, 2005.

LIMA, G. S.; ANDRADE, E. M. G.; KETOUNOU, T. R.; LIMA, V. L. A.; GHEYI, H. R.; SILVA, S. S.; SOARES, L. A. A. Photosynthesis, photochemical efficiency and growth of West Indian cherry cultivated with saline waters and nitrogen fertilization. **Bioscience Journal**, [s.l.], v. 35, n. 1, p. 67-78, 2019.

LIMA, G. S.; SOUZA, C. M. A.; NOBRE, R. G.; SOARES, L. A. A.; GHEYI, H. R.; CAVALCANTE, L. F.; FERNANDES, P. D.; GUEDES, M. A. Gas exchanges, growth and production of okra cultivated with saline water and silicon fertilization. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 41, n. 5, p. 1937-1950, 2020.

LINHARES, P. C. A.; SILVA, J. N.; FIGUEREDO, J. P.; IRINEU, T. H. S.; ANDRADE, R. Acúmulo de massa seca em feijão-caupi sob adubação orgânica. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s.l.], v. 11, n. 5, p. 133-137, 2016.

LIU, B.; LIANG, J.; TANG, G.; WANG, X.; LIU, F.; ZHAO, D. Drought stress affects on growth, water use efficiency, gas exchange and chlorophyll fluorescence of Juglans rootstocks. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 250, n. May 2019, p. 230-235, 2019.

LIU, L.; WANG, B. Protection of halophytes and their uses for cultivation of saline-alkali soil in China. **Biology**, [s.l.], v. 10, n. 5, p. 353-364, 2021.

LIU, L.; WANG, T.; WANG, L.; WU, X.; ZUO, Q.; SHI, J.; SHENG, J.; JIANG, P.; CHEN, Q.; BEN-GAL, A. Plant water deficit index-based irrigation under conditions of salinity. **Agricultural Water Management**, [s.l.], v. 269, n. July 2022, p. 107669, p. 1-13, 2022.

LOTFI, R.; GHASSEMI-GOLEZANI, K.; PESSARAKLI, M. Salicylic acid regulates photosynthetic electron transfer and stomatal conductance of mung bean (*Vigna radiata* L.) under salinity stress. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 26, n. July 2020, p. 101635, 2020.

LUCENA, R. L.; CABRAL JÚNIOR, J. B.; STEINKE, E. T. Comportamento hidroclimatológico do estado do Rio Grande do Norte e do município de Caicó. **Revista Brasileira de Meteorologia**, [s.l.], v. 33, n. 3, p. 485-496, 2018.

LUO, H.; DUAN, M.; XING, P.; ZHANG, Y.; QI, J.; KONG, L.; TANG, X. Effects of L-glutamic acid application on yield, grain quality, photosynthetic pigments, 2-acetyl-1-pyrroline, and antioxidant system of aromatic rice. **Field Crops Research**, [s.l.], v. 303, n. November 2023, p. 109134, 2023.

MA, J.; LI, Z.; JIANG, W.; LIU, J. Effects of Different Salinity Levels in Drip Irrigation with Brackish Water on Soil Water-Salt Transport and Yield of Protected Tomato (*Solanum lycopersicum*). **Agronomy**, [s.l.], v. 13, n. 9, p. 2442, 2023.

MALAVOLTA, E., VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba, 1989. 201p.

MARTINS, A. G.; RAMPIM, L.; ROSSET, J. S.; PRIOR, M.; COPPO, J. C. Aplicação de bioestimulante em sementes de milho cultivado em solos de diferentes texturas. **Scientia Agraria Paranaensis**, [s.l.], v. 15, n. 4, p. 440-445, 2016.

MASWADA, H. F.; MAZROU, Y. S. A.; ELZAAWELY, A. A.; ALAM-ELDEIN, S. M. Nanomaterials. Effective tools for field and horticultural crops to cope with drought stress: A review. **Spanish Journal of Agricultural Research**, [s.l.], v. 18, n. 2, p. 1-15, 2020.

MCKERSIE, B. D.; LESHEM, Y. Y. **Stress and Stress Coping in Cultivated Plants**. Londres: Kluwer Academic Publishes, 1994.

MEDEIROS, J. F.; LISBOA, R. A.; OLIVEIRA, M.; SILVA JÚNIOR, M. J.; ALVES, L. P. Caracterização das águas subterrâneas usadas para irrigação na área produtora de melão da Chapada do Apodi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 7, n. 3, p. 469-472, 2003.

MELLIDOU, I.; AINALIDOU, A.; PAPADOPOULOU, A.; LEONTIDOU, K.; GENITSARIS, S.; KARAGIANNIS, E.; POEL, B.; KARAMANOLI, K. Comparative Transcriptomics and Metabolomics Reveal an Intricate Priming Mechanism Involved in PGPR-Mediated Salt Tolerance in Tomato. **Frontiers In Plant Science**, [s.l.], v. 12, n. August 2021, p. 713984, 2021.

MELO, F. B.; CARDOSO, M. J.; BASTOS, E. A.; RIBEIRO, V. Q. **Recomendação de adubação e calagem para o feijão-caupi na região Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2018. 8p. (Comunicado Técnico 249).

MELO, H. C.; RODRIGUES, F. J.; QUEIRÓS, S. F.; PORTES, T. A. A aplicação exógena foliar de ácido abscísico desencadeia mecanismos de tolerância à deficiência hídrica em seringueira. **Ciência Florestal**, [s.l.], v. 29, n. 1, p. 40-49, 2019.

MISHRA, S.; SAHU, G.; SHAW, B. P. Insight into the cellular and physiological regulatory modulations of Class-I TCP9 to enhance drought and salinity stress tolerance in cowpea. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 174, n. 1, p. 1-15, 2022.

MONQUEIRO, A. S. A.; LIMA, S. F.; CAMILO, L. J.; KANEKO, J. A.; ANDRADE, M. G. O.; CONTARDI, L. M.; BERNARDO, V. F.; ABREU, M. S. Diagnóstico nutricional foliar de feijão utilizando o método das faixas de suficiência em Montividiu, Goiás. **Research, Society and Development**, [s.l.], v. 10, n. 5, p. 1-8, 2021.

MORAIS, R. R. de; ROSSI, L. M. B.; HIGA, R. C. V. Trocas gasosas de plantas jovens de taxi-branco submetidas à variação de temperatura foliar e suspensão da irrigação. **Ciência Florestal**, [s.l.], v. 27, n. 1, p. 97-104, 2017.

MUKHTAR, S.; HIRSCH, A. M.; KHAN, N.; MALIK, K. A.; HUMM, E. A.; PELLEGRINI, M.; SHI, B.; BRISCOE, L.; HUNTEMANN, M.; CLUM, A.; FOSTER, B.; FOSTER, B.; ROUX, S.; PALANIAPPAN, K.; VARGHESE, N.; MUKHERJEE, S.; REDDY, T. B. K.; DAUM, C.; COPELAND, A.; IVANOVA, N. N.; KYRPIDES, N. C.; SHAPIRO, N.; ELOE-FADROSH, E. A.; MAYMON, M.; MIRZA, M. S.; MEHNAZ, S. Impact of soil salinity on the cowpea nodule-microbiome and the isolation of halotolerant PGPR strains to promote plant growth under salinity stress. **Phytobiomes Journal**, [s.l.], v. 4, n. 4, p. 364-374, 2020.

MUNNS, R. A leaf elongation assay detects an unknown growth inhibitor in xylem sap from wheat and barley. **Functional Plant Biology**, [s.l.], v. 19, n. 2, p. 127-135, 1992.

MUÑOZ-AMATRIAÍN, M.; MIREBRAHIM, H.; XU, P.; WANAMAKER, S. I.; LUO, M.; ALHAKAMI, H.; ALPERT, M.; ATOKPLE, I.; BATIENO, B. J.; BOUKAR, O.; BOUZDAG, S.; CISSE, N.; DRABO, I.; EHLERS, J. D.; FARMER, A.; FATOKUN, C.; GU, Y. Q.; GUO, Y.; HUYNH, B.; JACKSON, S. A.; KUSI, F.; LAWLEY, C. T.; LUCAS, M. R.; MA, Y.; TIMKO, M. P.; WU, J.; YOU, F.; BARKLEY, N. A.; ROBERTS, P. A.; LONARDI, S.; CLOSE, T. J. Genome resources for climate-resilient cowpea, an essential crop for food security. **The Plant Journal**, [s.l.], v. 89, n. 5, p. 1042-1054, 2017.

MURANAKA, S.; SHONO, M.; MYODA, T.; TAKEUCHI, J.; FRANCO, J.; NAKAZAWA, Y.; BOUKAR, O.; TAKAGI, H. Genetic diversity of physical, nutritional and functional

properties of cowpea grain and relationships among the traits. **Plant Genetic Resources**, [s.l.], v. 14, n. 1, p. 67-76, 2016.

MUTALE-JOAN, C.; REDOUANE, B.; NAJIB, E.; YASSINE, K.; LYAMLOULI, K.; LAILA, S.; ZEROUAL, Y.; HICHAM, E. A. Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 2820, 2020.

NAIR, P. G.; DHARNE, M. S. Effective valorization of blackstrap molasses to poly gamma glutamic acid (γ -PGA) using L-glutamic acid independent feeding approach and its significance as drought mitigator in wheat plant. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 202, n. October 2023, p. 116985, 2023.

NAKANO, Y.; ASADA, K., Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, **Plant & Cell Physiology**, [s.l.], v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NASCIMENTO, J. T.; PEDROSA, M. B.; TAVARES SOBRINHO, J. Efeito da variação de níveis de água disponível no solo sobre o crescimento e produção de feijão caupi, vagens e grãos verdes. **Horticultura Brasileira**, [s.l.], v. 22, n. 2, p. 174-177, 2004.

NÓBREGA, J. S.; FIGUEIREDO, F. R. A.; SILVA, T. I.; FÁTIMA, R. T.; FERREIRA, J. T. A.; RIBEIRO, J. E. S.; BRUNO, R. L. A. Ecophysiology of *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze (Lamiaceae) under saline stress and salicylic acid. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 52, n. 9, p. 20210389, 2022.

NXELE, X.; KLEIN, A.; NDIMBA, B. K. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 108, n. 1, p. 261-266, 2017.

OGBAGA, C. C.; STEPIEN, P.; ATHAR, H. U. R.; ASHRAF, M. Engineering Rubisco activase from thermophilic cyanobacteria into high-temperature sensitive plants. **Critical reviews in biotechnology**, [s.l.], v. 38, n. 4, p. 559-572, 2018.

OLIVEIRA, W. J.; SOUZA, E. R.; SANTOS, H. R. B.; FRANÇA, Ê. F.; DUARTE, H. H. F.; MELO, D. V. M. Fluorescência da clorofila como indicador de estresse salino em feijão caupi. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, [s.l.], v. 12, n. 3, p. 2592, 2018.

OMIROU, M.; IOANNIDES, I. M.; FASOULA, D. A. Optimizing resource allocation in a cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) landrace through whole-plant field phenotyping and non-stop selection to sustain increased genetic gain across a decade. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 949, 2019.

OXBOROUGH, K.; BAKER, N. R. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components – calculation of qP and $F_v 0 / F_m 0$ without measuring $F_o 0$ $F_m 0$ F . **Photosynthesis Research**, [s.l.], v. 54, n. 1, p. 135-142, 1997.

OZFIDAN-KONAKCI, C.; YILDIZTUGAY, E.; ARIKAN, B.; ALP-TURGUT, F. N.; BASLAK, C.; YILDIRIM, M. The characterization of plant derived-carbon dots and its

responses on chlorophyll a fluorescence kinetics, radical accumulation in guard cells, cellular redox state and antioxidant system in chromium stressed-*Lactuca sativa*. **Chemosphere**, [s.l.], v. 356, n. May 2024, p. 141937, 2024.

PEREIRA FILHO, J. V.; VIANA, T. V. A.; SOUSA, G. G.; CHAGAS, K. L.; AZEVEDO, B. M.; PEREIRA, C. C. M. S. Physiological responses of lima bean subjected to salt and water stresses. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 23, n. 12, p. 959-965, 2019.

PEREIRA, F. A. L.; MEDEIROS, J. F.; GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; PRESTON, W.; VASCONCELOS, C. B. L. Tolerance of melon cultivars to irrigation water salinity. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 21, n. 12, p. 846-851, 2017.

PEREIRA, T. S.; LIMA, M. D. R.; PAULA, L. S.; LOBATO, A. K. S. Tolerance to water deficit in cowpea populations resulting from breeding program: detection by gas exchange and chlorophyll fluorescence. **Indian Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 21, n. 2, p. 171-178, 2016.

POSCHENRIEDER, C.; CABOT, C.; MARTOS, S.; GALLEGRO, B.; BARCELÓ, J. Do toxic ions induce hormesis in plants?. **Plant Science**, [s.l.], v. 212, n. 1, p. 15-25, 2013.

PRADO, R. M. **Nutrição de Plantas**. 2 ed. São Paulo: Editora Unesp, 2020. 416p.

QAMER, Z.; CHAUDHARY, M. T.; DU, X.; HINZE, L.; AZHAR, M. T. Review of oxidative stress and antioxidative defense mechanisms in *Gossypium hirsutum* L. in response to extreme abiotic conditions. **Journal of Cotton Research**, [s.l.], v. 4, n. 9, p. 1-9, 2021.

QIN, C.; LIAN, H.; ALQAHTANI, F. M.; AHANGER, M. A. Chromium mediated damaging effects on growth, nitrogen metabolism and chlorophyll synthesis in tomato can be alleviated by foliar application of melatonin and jasmonic acid priming. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 323, n. January 2024, p. 112494, 2024.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020.

RAMOS, J. G.; LIMA, G. S.; LIMA, V. L. A.; PAIVA, F. J. S.; NUNES, K. G.; PEREIRA, M. O.; FERNANDES, P. D.; SABOYA, L. M. F. Foliar application of H₂O₂ as salt stress attenuator in 'BRS Rubi do Cerrado' sour passion fruit. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 42, n. 4, p. 2253-2270, 2021.

RIBEIRO, M. R.; RIBEIRO FILO, M. R.; JACOMINE, P. K. T. Origem e classificação de solos afetados por sais. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. da S.; LACERDA, C. F. de; GOMES FILHO, E. (org.). **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. 2 ed. Fortaleza: INCTSal, 2016, p. 9-16.

RICHARDS, L. A. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. Washington: US Department of Agriculture, 1954. 160p. USDA Agricultural Handbook, 60.

ROCHA, M. M.; SILVA, K. J.; MENEZES JUNIOR, J. A. de. **Importância econômica**. In: BASTOS, E. A. (ed.). Cultivo de feijão-caupi. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2017. Versão eletrônica.

ROESSNER, U.; LUEDEMANN, A.; BRUST, D.; FIEHN, O.; LINKE, T.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R. Metabolic profiling allows comprehensive phenotyping of genetically or environmentally modified plant systems. **The Plant Cell**, [s.l.], v. 13, n. 1, p. 11-29, 2001.

ROUPHAEL, Y.; CARDARELLI, M.; BONINI, P.; COLLA, G. Synergistic action of a microbial-based biostimulant and a plant derived-protein hydrolysate enhances lettuce tolerance to alkalinity and salinity. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 8, n. 131, p.1-12, 2017.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Editorial: biostimulants in agriculture. **Frontiers In Plant Science**, [s.l.], v. 11, n. February 2020, p. 511937, 2020.

SÁ, F. V. S.; GHEYI, H. R.; LIMA, G. S.; PAIVA, E. P.; FERNANDES, P. D.; MOREIRA, R. C. L.; FERREIRA NETO, M. Water relations and gas exchanges of West Indian cherry under salt stress and nitrogen and phosphorus doses. **Journal of Agricultural Science**, [s.l.], v. 9, n. 10, p.168-177, 2017.

SAI, L.; LIU, S.; QIAN, X.; YU, Y.; XU, X. Nontoxic fluorescent carbon nanodot serving as a light conversion material in plant for UV light utilization. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 169, n. 1, p. 422-428, 2018.

SALCEDO, M. F.; COLMAN, S. L.; MANSILLA, A. Y.; MARTÍNEZ, M. A.; FIOL, D. F.; ALVAREZ, V. A.; CASALONGUÉ, C. A. Amelioration of tomato plants cultivated in organic-matter impoverished soil by supplementation with *Undaria pinnatifida*. **Algal Research**, [s.l.], v. 46, n. March 2020, p. 101785, 2020.

SALEH, A. A. H; ABU-ELSAOUD, A. M; ELKELISH, A. A; SAHADAD, M. A; ABDELRAZEK, E. M. Role of External Proline on Enhancing Defence Mechanisms of *Vicia Faba* L. Against Ultraviolet Radiation. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, [s.l.], v. 9, n. 8, p. 22-34, 2015.

SAMANTA, S.; SETH, C. S.; ROYCHOUDHURY, A. The molecular paradigm of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) with different phytohormone signaling pathways during drought stress in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 206, n. December 2023, p. 108259-108259, 2023.

SANTOS, A. A.; SILVEIRA, J. A. G.; GUILHERME, E. A.; BONIFACIO, A.; RODRIGUES, A. C.; FIGUEIREDO, M. V. B. Changes induced by co-inoculation in nitrogen-carbon metabolism in cowpea under salinity stress. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s.l.], v. 49, n. 4, p. 685-694, 2018.

SANTOS, E. M.; VIANA, T. V. A.; SOUSA, G. G.; AZEVEDO, B. M.; MORAES, J. G. L. Yield and quality of strawberry fruits fertilized with bovine biofertilizer. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 32, n. 1, p. 16-26, 2019.

SEMIDA, W. M.; EL-MAGEED, T. A. A.; HEMIDA, K.; RADY, M. M. Natural bee honey based biostimulants confer salt tolerance in onion via modulation of the antioxidant defence system. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, [s.l.], v. 94, n. March 2019, p. 632-642, 2019.

SHABALA, S.; BOSE, J.; HEDRICH, R. Salt bladders: do they matter?. **Trends in Plant Science**, [s.l.], v. 19, n. 11, p. 687-691, 2014.

SHAN, L.; XU, Y.; WU, D.; HU, J.; YU, T.; DANG, C.; FANG, Y.; ZHANG, X.; TIAN, Q.; XUE, D. Effects of Salicylic Acid on Growth, Physiology, and Gene Expression in Rice Seedlings Under Salt and Drought Stress. **Plant Stress**, [s.l.], v. 11, n. March 2024, p. 100413, 2024.

SHARMA, H. S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J. R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **Journal of Applied Phycology**, [s.l.], v. 26, n. 1, p. 465-490, 2014.

SIGNORELLI, S.; COITIÑO, E. L.; BORSANI, O.; MONZA, J. Molecular mechanisms for the reaction between •OH radicals and proline: insights on the role as reactive oxygen species scavenger in plant stress. **The Journal of Physical Chemistry B**, [s.l.], v. 118, n. 1, p. 37-47, 2014.

SILVA JÚNIOR, J. V.; BEZERRA, A. A. C.; SILVA, E. M. Crescimento e desenvolvimento de cultivares de feijão-caupi em função da salinidade da água de irrigação. **Irriga**, [s.l.], v. 26, n. 2, p. 343-366, 2021.

SILVA JÚNIOR, L. G. A.; GHEYI, H. R.; MEDEIROS, J. F. Composição química de águas do cristalino do Nordeste Brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 11-17, 1999.

SILVA, A. R. A.; BEZERRA, F. M. L.; LACERDA, C. F.; SOUSA, C. H. C.; CHAGAS, K. L. Pigmentos fotossintéticos e potencial hídrico foliar em plantas jovens de coqueiro sob estresses hídrico e salino. **Revista Agro@ambiente On-line**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 317-325, 2016.

SILVA, C. B.; SILVA, J. C.; BRANDÃO JUNIOR, W. Q.; DAMASCENO, F. A.; BARBOSA JÚNIOR, M. R.; SANTOS, M. A. L. Teor de clorofila, carotenoides e índice SPAD na alface (*Lactuca sativa*) em função de lâminas de irrigação e níveis salinos. **Revista Ciência Agrícola**, [s.l.], v. 18, n. 3, p. 19-22, 2020.

SILVA, C. C.; ARRAIS, Í. G.; ALMEIDA, J. P. N.; DANTAS, L. L. G. R.; SILVA, F. S.; MENDONÇA, V. Extrato da alga *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis na produção de porta enxertos de *Annona glabra* L. **Revista de Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 39, n. 2, p. 234-241, 2016.

SILVA, J. S.; COSTA, R. S.; SILVA, B. A.; MESQUITA, R. O.; SILVA, T. I.; OLIVEIRA, M. M.; LOPES, L. S. Physiological and Biochemical Aspects Involved in Tolerance to Water Deficit in Traditional Cowpea. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, [s.l.], v. 24, n. February 2024, p. 1519-1533, 2024.

SILVA, P. C.; GHEYI, H. R.; EVANGELISTA, H. S.; DEUS, K. D. S.; AZEVEDO NETO, A. D. Hydrogen peroxide (H₂O₂) improves ion homeostasis in coriander plants under salt stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 27, n. 9, p. 729-735, 2023.

SINGH, A.; RAJPUT, V. D.; SHARMA, R.; GHAZARYAN, K.; MINKINA, T. Salinity stress and nanoparticles: Insights into antioxidative enzymatic resistance, signaling, and defense mechanisms. **Environmental Research**, [s.l.], v. 235, n. October 2023, p. 116585, 2023.

SINGH, G.; MAVI, M. S.; CHOUDHARY, O. P.; GUPTA, N.; SINGH, Y. Rice straw biochar application to soil irrigated with saline water in a cotton-wheat system improves crop performance and soil functionality in north-west India. **Journal of Environmental Management**, [s.l.], v. 295, n. October 2021, p. 113277, 2021.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K.; ARORA, K. Arsenic-induced root growth inhibition in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation. **Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 53, n. 1, p. 65-73, 2007.

SITA, K.; SEHGAL, A.; HANUMANTHARAO, B.; NAIR, R. M.; PRASAD, P. V. V.; KUMAR, S.; GAUR, P. M.; FAROOQ, M.; SIDDIQUE, K. H. M.; VARSHNEY, R. K.; NAYYAR, H. Food legumes and rising temperatures: effects, adaptive functional mechanisms specific to reproductive growth stage and strategies to improve heat tolerance. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 1-30, 2017.

SOARES, L. A. A.; FERNANDES, P. D.; LIMA, G. S.; BRITO, M. E. B.; NASCIMENTO, R.; ARRIEL, N. H. C. Physiology and production of naturally-colored cotton under irrigation strategies using salinized water. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 53, n. 6, p. 746-755, 2018.

SONG, L.; DING, R.; DU, T.; KANG, S.; TONG, L.; XUE, F.; WEI, Z. Stomatal conductance parameters of tomatoes are regulated by reducing osmotic potential and pre dawn leaf water potential via increasing ABA under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 206, n. February 2023, p. 105176, 2023.

SOUSA, G. G.; RODRIGUES, V. S.; SOARES, S. C.; DAMASCENO, I. N.; FIUSA, J. N.; SARAIVA, S. E. L. Irrigation with saline water in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in a soil with bovine biofertilizer. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 22, n. 9, p. 604-609, 2018.

SOUSA, J. R. M.; GHEYI, H. R.; BRITO, M. E. B.; XAVIER, D. A.; FURTADO, G. F. Impact of saline conditions and nitrogen fertilization on citrus production and gas exchanges. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 29, n. 2, p. 415-424, 2016.

SOUSA, T. J. F.; ROCHA, M. M.; DAMASCENO-SILVA, K. J.; BERTINI, C. H. C. M.; SILVEIRA, L. M.; SOUSA, R. R. D.; SOUSA, J. L. M. Simultaneous selection for yield, adaptability, and genotypic stability in immature cowpea using REML/BLUP. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 54, n. 1, p. e01234, 2019.

SOUZA NETTA, M. A.; MENEZES FILHO, A. C. P.; BATISTA-VENTURA, H. R. F.; ANDRADE, C. L. L.; VENTURA, M. V. A. Estímulo sobre a germinação e desenvolvimento inicial de milho cultivar AS 1820 com bioestimulante Stimullum®. **Brazilian Journal of Science**, [s.l.], v. 1, n. 11, p. 100-107, 2022.

SUÁREZ, J. C.; POLANÍA, J. A.; CONTRERAS, A. T.; RODRÍGUEZ, L.; MACHADO, L.; ORDOÑEZ, C.; BEEBE, S.; RAO, I. M. Adaptation of common bean lines to high temperature conditions: Genotypic differences in phenological and agronomic performance. **Euphytica**, [s.l.], v. 216, n. 2, p. 28, 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

TAN, T. L.; ZULKIFLI, N. A.; ZAMAN, A. S. K.; JUSOH, M. binti; YAAPAR, M. N.; RASHID, S. A. Impact of photoluminescent carbon quantum dots on photosynthesis efficiency of rice and corn crops. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 162, n.1, p. 737-751, 2021.

TANG, X.; MU, X.; SHAO, H.; Wang, H.; BRESTIC, M. Global plant-responding mechanisms to salt stress: physiological and molecular levels and implications in biotechnology. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s.l.], v. 35, n. 4, p. 425-437, 2015.

TAVARES, D. S.; FERNANDES, T. E. K.; RITA, Y. L.; ROCHA, D. C.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; GOMES, M. P. Germinative metabolism and seedling growth of cowpea (*Vigna unguiculata*) under salt and osmotic stress. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 139, n. 1, p. 399-408, 2021.

UPRETI, P.; MCKAY, L. L.; METZGER, L. Influence of Calcium and Phosphorus, Lactose, and Salt-to-Moisture Ratio on Cheddar Cheese Quality: changes in residual sugars and water-soluble organic acids during ripening. **Journal Of Dairy Science**, [s.l.], v. 89, n. 2, p. 429-443, 2006.

VELOSO, L. L. S.; LIMA, G. S.; SILVA, A. A. R.; SOUZA, L. P.; LACERDA, C. N.; SILVA, I. J.; CHAVES, L. H. G.; FERNANDES, P. D. Attenuation of salt stress on the physiology and production of bell peppers by treatment with salicylic acid. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 42, n. 5, p. 2751-2768, 2021.

VIANA, J. S.; LOPES, L. S.; CARVALHO, H. H.; CAVALCANTE, F. L. P.; OLIVEIRA, A. R. F.; SILVA, S. J.; OLIVEIRA, A. C.; COSTA, R. S.; MESQUITA, R. O.; GOMES-FILHO, E. Differential modulation of metabolites induced by salt stress in rice plants. **South African Journal Of Botany**, [s.l.], v. 162, n. November 2023, p. 245-258, 2023.

WALTER, J.; LUCK, E.; BAURIEGEL, A.; FACKLAM, M.; ZEITZ, J. Seasonal dynamics of soil salinity in peatlands: a geophysical approach. **Geoderma**, [s.l.], v. 310, n. 1, p. 1-11, 2018.

WANG, F.; WAN, C.; WU, W.; ZHANG, Y.; PAN, Y.; CHEN, X.; LI, C.; LI, J.; WANG, Z.; YE, Y.; CHEN, X. Methyl jasmonate (MeJA) enhances salt tolerance of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) plants by regulating ABA signaling, osmotic adjustment substances,

photosynthesis and ROS metabolism. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 319, n. September 2023, p. 112145, 2023.

WANG, H.; FENG, D.; ZHANG, A.; ZHENG, C.; LI, K.; NING, S.; ZHANG, J.; SUN, C. Effects of saline water mulched drip irrigation on cotton yield and soil quality in the North China Plain. **Agricultural Water Management**, [s.l.], v. 262, n. March 2022, p. 107405, 2022.

WANG, H.; ZHANG, M.; SONG, Y.; LI, H.; HUANG, H.; SHAO, M.; LIU, Y.; KANG, Z. Carbon dots promote the growth and photosynthesis of mung bean sprouts. **Carbon**, [s.l.], v. 136, n. September 2018, p. 94-102, 2018.

WANG, H.; ZHENG, C.; NING, S.; CAO, C.; LI, K.; DANG, H.; WU, Y.; ZHANG, J. Impacts of long-term saline water irrigation on soil properties and crop yields under maize-wheat crop rotation. **Agricultural Water Management**, [s.l.], v. 286, n. August 2023, p. 108383, 2023.

WANG, K.; ZHU, J.; XU, X.; LI, T.; WANG, X.; WARNER, T. A.; CHENG, T.; ZHU, Y.; CAO, W.; YAO, X.; ZHANG, Z. Quantitative monitoring of salt stress in rice with solar-induced chlorophyll fluorescence. **European Journal of Agronomy**, [s.l.], v. 150, n. October 2023, p. 126954, 2023.

WANG, T.; XU, Y.; ZUO, Q.; SHI, J.; WU, X.; LIU, L.; SHENG, J.; JIANG, P.; BEN-GAL, A. Evaluating and improving soil water and salinity stress response functions for root water uptake. **Agricultural Water Management**, [s.l.], v. 287, n. September 2023, p. 108451, 2023.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of cotton plant: I - the field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, [s.l.], v. 49, n. 1, p. 81-97, 1950.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 144, n. 1, p. 307-313, 1994.

WU, X.; JIA, Q.; JI, S.; GONG, B.; LI, J.; LÜ, G.; GAO, H. Gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates salt damage in tomato by modulating Na⁺ uptake, the GAD gene, amino acid synthesis and reactive oxygen species metabolism. **Bmc Plant Biology**, [s.l.], v. 20, n. 1, p. 1-21, 2020.

YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. H. Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 7, n. January 2017, p. 2049, 2017.

YAN, S.; GAO, Y.; TIAN, M.; TIAN, Y.; LI, J. Comprehensive evaluation of effects of various carbon-rich amendments on tomato production under continuous saline water irrigation: Overall soil quality, plant nutrient uptake, crop yields and fruit quality. **Agricultural Water Management**, [s.l.], v. 255, n. September 2021, p. 106995, 2021.

YANG, G.; QIAO, X.; ZUO, Q.; SHI, J.; WU, X.; LIU, L.; BEN-GAL, A. Remotely sensed estimation of root-zone salinity in salinized farmland based on soil-crop water relations. **Science of Remote Sensing**, [s.l.], v. 8, n. December 2023, p. 100104, 2023.

YANG, H.; WANG, C.; CHEN, F.; YUE, L.; CAO, X.; LI, J.; ZHAO, X.; WU, F.; WANG, Z.; XING, B. Foliar carbon dot amendment modulates carbohydrate metabolism, rhizospheric properties and drought tolerance in maize seedling. **Science of The Total Environment**, [s.l.], v. 809, n. February 2022, p. 151105, 2022.

YUAN, C.; FENG, S.; HUO, Z.; JI, Q. Effects of deficit irrigation with saline water on soil water-salt distribution and water use efficiency of maize for seed production in arid Northwest China. **Agricultural water management**, [s.l.], v. 212, n.1, p. 424-432, 2019.

ZHANG, H.; GAO, X.; ZHI, Y.; LI, X.; ZHANG, Q.; NIU, J.; WANG, J.; ZHAI, H.; ZHAO, N.; LI, J.; LIU, Q.; HE, S. A non-tandem CCCH-type zinc-finger protein, IbC3H18, functions as a nuclear transcriptional activator and enhances abiotic stress tolerance in sweet potato. **New Phytologist**, [s.l.], v. 223, n. 4, p. 1918-1936, 2019.

ZHANG, J.; WANG, L.; YANG, X.; MENG, F.; LIU, C.; MA, S. Salt glands play an important role in protecting *Suaeda salsa* and *Suaeda corniculata* against moderate and high salinity. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 132, n. 1, p. 38-47, 2018.

ZHANG, M.; HU, L.; WANG, H.; SONG, Y.; LIU, Y.; LI, H.; SHAO, M.; HUANG, H.; & KANG, Z. One-step hydrothermal synthesis of chiral carbon dots and their effects on mung bean plant growth. **Nanoscale**, [s.l.], v. 10, n. 26, p. 12734-12742, 2018.

ZHAO, L.; LU, L.; WANG, A.; ZHANG, H.; HUANG, M.; WU, H.; XING, B.; WANG, Z.; JI, R. Nano-biotechnology in agriculture: use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 68, n. 7, p. 1935-1947, 2020.

ZHENG, Y.; XIE, G.; ZHANG, X.; CHEN, Z.; CAI, Y.; YU, W.; LIU, H.; SHAN, J.; LI, R.; LIU, Y.; LEI, B. Bioimaging Application and Growth-Promoting Behavior of Carbon Dots from Pollen on Hydroponically Cultivated Rome Lettuce. **ACS Omega**, [s.l.], v. 2, n. 7, p. 3958-3965, 2017.

ZÖRB, C.; GEILFUS, C. M.; DIETZ, K. J. Salinity and crop yield. **Plant Biology**, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 31-38, 2019.

ZULFIQAR, F.; NAVARRO, M.; ASHRAF, M.; AKRAM, N. A.; MUNNÉ-BOSCH, S. Nanofertilizer use for sustainable agriculture: Advantages and limitations. **Plant Science**, [s.l.], v. 289, n. December 2019, p. 110270, 2019.

ZUVERZA-MENA, N.; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, D.; DU, W.; HERNANDEZ-VIEZCAS, J. A.; BONILLA-BIRD, N.; LÓPEZ-MORENO, M. L.; KOMAREK, M.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Exposure of engineered nanomaterials to plants: Insights into the physiological and biochemical responses-A review. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 110, n. 1, p. 236-264, 2017.

APÊNDICE A – VALORES NÃO PADRONIZADOS DE CONCENTRAÇÃO RELATIVA DE METABÓLITOS EM FOLHAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata* L.) CV. PINGO DE OURO 1-2

ID	TR	METABÓLITOS	Concentração relativa ^a															
			T1				T4				T7				T10			
ÁCIDOS ORGÂNICOS																		
2	7,09	Ácido pirúvico	1,14	±	0,32		0,84	±	0,21		0,60	±	0,09		0,75	±	0,09	
3	7,33	Ácido láctico	6,19	±	2,36		4,12	±	0,51		6,73	±	2,05		4,94	±	2,05	
4	7,66	Ácido glicólico	0,52	±	0,09	B	1,16	±	0,09	B	1,13	±	0,17	AB	0,92	±	0,17	AB
5	8,13	Ácido 4-aminobutírico	0,25	±	0,29		0,13	±	0,01		0,09	±	0,01		0,14	±	0,01	
11	10,92	Ácido benzoico	0,28	±	0,16		0,09	±	0,02		0,36	±	0,07		0,16	±	0,07	
18	11,90	Ácido succínico	1,40	±	0,64	C	9,82	±	2,38	B	0,76	±	0,15	C	21,49	±	0,15	A
20	12,31	Ácido glicérico	1,11	±	0,86		1,61	±	0,62		3,03	±	1,10		4,11	±	1,10	
24	14,49	Ácido málico	0,49	±	0,25		0,13	±	0,03		0,16	±	0,08		0,08	±	0,08	
25	14,54	Ácido maleâmico	3,86	±	2,25		4,86	±	2,45		4,84	±	2,00		4,39	±	2,00	
27	14,99	GABA	11,59	±	0,55		2,42	±	2,33		8,09	±	5,23		11,65	±	5,23	
30	15,58	Ácido 2-Oxoglutárico	1,24	±	0,64		0,33	±	0,19		0,20	±	0,00		0,21	±	0,00	
31	15,64	Ácido Kojic	0,30	±	0,14		0,28	±	0,12		0,37	±	0,11		0,32	±	0,11	
33	16,09	Ácido glutâmico	3,00	±	1,99		0,07	±	0,07		0,45	±	0,36		0,83	±	0,36	
42	18,42	Ácido cítrico	1,07	±	0,86		0,11	±	0,06		0,10	±	0,03		0,09	±	0,03	
43	18,74	Ácido dehidroascorbico	4,16	±	3,12		3,69	±	0,66		6,39	±	1,14		5,83	±	1,14	
45	19,11	Ácido galactônico	3,36	±	0,98		2,24	±	0,38		4,52	±	0,79		5,58	±	0,79	
52	19,75	Ácido ascórbico	1,21	±	0,08	C	1,54	±	0,29	BC	3,69	±	1,51	AB	5,15	±	1,51	A

53	20,38	Ácido palmítico	17,04	±	6,80		10,71	±	2,12		15,36	±	2,40		16,52	±	2,40	
54	20,44	Ácido palmítico	16,84	±	7,66		10,51	±	1,93		15,41	±	2,28		16,52	±	2,28	
71	25,43	Ácido N-Acetilneuraminico	0,99	±	0,40		0,76	±	0,46		0,46	±	0,22		0,33	±	0,22	
AÇÚCARES																		
76	26,20	Kestose	1,61	±	2,52		0,23	±	0,09		0,24	±	0,01		0,24	±	0,01	
23	14,43	Xylulose	0,20	±	0,10		0,19	±	0,09		0,12	±	0,04		0,16	±	0,04	
34	16,73	Ribose	0,83	±	0,38		0,66	±	0,32		0,46	±	0,08		0,50	±	0,08	
35	16,89	Arabinose	0,91	±	0,23		0,73	±	0,16		0,72	±	0,05		0,87	±	0,05	
36	16,97	Galactose	0,25	±	0,08	C	1,18	±	0,06	B	0,36	±	0,05	C	5,37	±	0,05	A
37	17,36	Ramnose	3,28	±	2,25		2,20	±	0,12		2,95	±	0,49		2,79	±	0,49	
39	17,84	Glucose-1-fosfato	2,02	±	0,38		2,48	±	0,08		2,96	±	0,43		2,99	±	0,43	
46	19,29	Glucose	14,61	±	14,53		7,51	±	3,02		11,88	±	6,54		13,71	±	6,54	
48	19,42	Eritrose	5,16	±	5,70		2,21	±	0,99		2,98	±	0,70		2,28	±	0,70	
49	19,49	Manose	5,29	±	6,87		2,03	±	1,02		3,18	±	2,05		4,47	±	2,05	
56	21,38	Alose	15,56	±	2,67		13,64	±	4,85		14,03	±	1,65		15,35	±	1,65	
60	23,52	Lactose	2,75	±	0,72		2,65	±	1,06		3,47	±	0,64		2,65	±	0,64	
62	23,94	Maltose	0,56	±	0,11		0,51	±	0,19		0,67	±	0,16		0,53	±	0,16	
63	24,05	Melezitose	2,57	±	0,68		1,85	±	0,22		2,12	±	0,52		1,90	±	0,52	
65	24,46	Maltotriose	4,64	±	0,68		4,39	±	1,71		3,18	±	0,91		3,03	±	0,91	
66	24,64	Trealose	9,92	±	2,60		9,31	±	3,29		15,10	±	4,27		10,54	±	4,27	
68	24,81	Maltotriose	2,68	±	0,40		2,80	±	1,29		2,47	±	0,22		2,05	±	0,22	
73	25,63	Maltotriose	9,51	±	5,05		5,36	±	0,72		9,27	±	1,72		12,30	±	1,72	
74	25,77	Sucrose	79,47	±	6,27		72,39	±	0,91		113,66	±	3,35		135,75	±	3,35	
75	25,78	Sucrose	17,18	±	1,71		15,69	±	0,14		23,26	±	1,43		28,98	±	1,43	
77	26,54	Maltose	0,31	±	0,22		0,36	±	0,08		0,60	±	0,50		0,55	±	0,50	
78	26,71	Melibiose	1,44	±	0,51		1,34	±	0,27		1,21	±	0,34		1,51	±	0,34	

81	33,40	Raffinose	4,99	±	3,67		10,59	±	3,90		9,58	±	0,35		12,63	±	0,35	
AÇÚCARES ÁLCOOIS																		
14	11,42	Glicerol	3,56	±	0,70		2,49	±	0,24		3,72	±	0,60		3,65	±	0,60	
29	15,27	Treitól	3,17	±	2,36		2,90	±	0,98		3,45	±	0,37		3,36	±	0,37	
32	15,92	Arabitol	2,55	±	0,33		2,31	±	0,69		3,28	±	0,71		3,23	±	0,71	
50	19,61	Manitol	3,13	±	1,73		2,19	±	0,14		4,77	±	2,01		3,34	±	2,01	
51	19,74	Galactitol	0,69	±	0,05	C	0,57	±	0,06	C	1,39	±	0,16	A	1,13	±	0,16	B
55	21,17	Insitol	21,81	±	3,78		19,69	±	1,74		26,10	±	1,57		24,44	±	1,57	
64	24,05	Galactinol	2,45	±	0,77		2,58	±	0,95		2,01	±	0,35		1,90	±	0,35	
67	24,71	Lactitol	13,70	±	10,72		20,41	±	4,70		2,24	±	0,37		2,65	±	0,37	
69	24,95	Lactitol	17,69	±	0,58		11,98	±	1,96		17,55	±	2,49		18,38	±	2,49	
70	25,22	Galactinol	14,81	±	4,24		19,86	±	6,87		10,83	±	2,80		9,90	±	2,80	
79	28,43	Galactinol	39,44	±	7,46	B	34,48	±	6,00	B	93,81	±	6,76	A	93,26	±	6,76	A
80	29,61	Galactinol	1,54	±	0,43		2,23	±	0,62		3,03	±	0,35		4,10	±	0,35	
AMINOÁCIDOS																		
6	8,24	Alanina	2,24	±	0,38	A	0,35	±	0,35	C	1,36	±	0,19	B	1,04	±	0,19	BC
8	8,88	Lisina	0,46	±	0,18		0,83	±	0,22		0,66	±	0,02		0,52	±	0,02	
9	10,41	Valina	0,70	±	0,46		0,63	±	0,63		1,91	±	1,48		1,77	±	1,48	
12	11,25	Cisteína	5,74	±	0,61		4,29	±	4,27		4,51	±	3,23		6,07	±	3,23	
13	11,34	Leucina	0,21	±	0,17		0,28	±	0,20		0,69	±	0,68		1,14	±	0,68	
16	11,70	Isoleucina	0,39	±	0,27		0,33	±	0,33		0,95	±	0,80		1,14	±	0,80	
17	11,74	Prolina	0,69	±	0,66	B	0,49	±	0,49	B	3,67	±	0,45	A	5,21	±	0,45	A
19	11,90	Glicina	1,09	±	0,30	B	0,51	±	0,40	B	3,59	±	0,47	A	4,62	±	0,47	A
21	12,73	Serina	4,71	±	1,15	C	3,34	±	1,11	C	19,41	±	0,99	B	29,12	±	0,99	A
22	13,13	Treonina	0,17	±	0,08	B	0,58	±	0,20	B	1,56	±	0,36	A	1,73	±	0,36	A
40	17,88	Tirosina	0,57	±	0,13	B	0,56	±	0,15	B	1,17	±	0,11	A	1,08	±	0,11	A

COMPOSTOS INORGÂNICOS																	
7	8,48	Hidroxialamina	0,11	±	0,15		0,00	±	0,00		0,23	±	0,13		0,18	±	0,13
15	11,43	Fosfato	0,26	±	0,07		0,12	±	0,06		0,15	±	0,01		0,04	±	0,01
COMPOSTO NITROGENADO																	
10	10,79	Ureia	0,859	±	1,10		0,39	±	0,38		0,90	±	0,46		0,54	±	0,46
COMPOSTOS ORGÂNICOS																	
1	5,87	Propilenoglivol	0,16	±	0,03		0,11	±	0,00		0,20	±	0,01		0,18	±	0,01
58	21,85	Beta-monoglicerato	2,82	±	0,64		2,81	±	0,76		2,83	±	0,31		2,49	±	0,31
DERIVADOS DE AÇÚCARES																	
28	15,27	Ácido treônico	3,26	±	2,17		3,03	±	0,98		3,29	±	0,68		3,54	±	0,68
59	22,61	1,5-anhydroglucitol	1,74	±	1,21		3,31	±	1,25		0,71	±	0,34		0,56	±	0,34
72	25,56	1-metilgalactose	16,83	±	13,31		8,28	±	3,96		38,01	±	10,46		38,41	±	10,46
DERIVADOS DE AMINÁCIDOS																	
26	14,95	Oxoprolina	2,59	±	2,43		0,55	±	0,54		2,22	±	0,21		2,06	±	0,21
61	23,69	Uridina 5'-difosfo-N-acetilglucosamina	0,83	±	0,15		1,16	±	0,65		0,89	±	0,48		0,65	±	0,48
57	21,53	N-acetil-d-hexosamina	1,53	±	0,17		0,81	±	0,00		1,25	±	0,18		1,16	±	0,18
POLIAMINAS																	
38	17,45	Putrescina	0,72	±	0,79		0,38	±	0,33		1,85	±	1,74		0,61	±	1,74
47	19,30	N-Acetilputrescina	0,52	±	0,16		0,38	±	0,00		0,50	±	0,03		0,64	±	0,03
PRECURSORES FENÓLICOS																	
41	18,22	Ácido shiquímico	22,34	±	11,09		25,80	±	12,10		14,91	±	4,24		11,94	±	4,24
44	18,88	Ácido quínico	2,52	±	3,09		5,33	±	2,03		2,52	±	1,46		1,76	±	1,46

Fonte: Elaborada pela autora. TR – Tempo de retenção; T1 – controle; T4 – controle + nanobioestimulante; T7 – estresse salino; T10 – estresse salino + nanobioestimulante. Valores representam a média de três repetições ± erro padrão. As letras maiúsculas comparam os quatro tratamentos dos grupos, conforme teste de Tukey (p < 0,05). ^a – Razão entre a área do pico do metabólito e a área do pico do ribitol

APÊNDICE B – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS BIOMÉTRICAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio									
		CHP	NF	AF	DC	CR	CR/CHP	MSF	MSC	MSR	MST
CEa	1	8,61*	752,08**	32300898,50**	29,19**	333,38**	0,07**	567,29**	516,7**	10,65**	2481,30**
Nanobioestimulante (NB)	5	0,10*	3,43*	355780,39**	0,63*	33,32*	0,01*	2,91*	0,89 ^{ns}	0,36*	7,06**
Interação (CEa × NB)	5	0,09 ^{ns}	0,88 ^{ns}	210542,46*	2,01**	74,91**	0,01*	2,62 ^{ns}	1,68 ^{ns}	0,17 ^{ns}	4,10 ^{ns}
Resíduo	36	0,06	0,11	70219,96	0,47	20,46	0,0016	1,38	1,79	0,08	3,29
Total	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CV	-	13,28	11,11	16,69	8,97	11,83	18,87	15,69	13,94	16,68	9,66

Fonte: Elaborada pela autora. ^{ns}, *, ** - não significativo, significativo a $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente; CV - Coeficiente de variação; GL - Graus de liberdade; CEa - Condutividade elétrica da água; CHP - Comprimento da haste principal; NF - Número de folhas; AF - Área foliar; DC - Diâmetro do caule; CR - Comprimento radicular; CR/CHP - Razão Comprimento radicular/Comprimento da haste principal; MSF - Massa seca das folhas; MSC - Massa seca do caule; MSR - Massa seca da raiz; MST - Massa seca total

APÊNDICE C – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio											
		P_{wf}	g_s	A	E	Tf	EiC	EUA	Ci/Ca	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl total	Crt
CEa	1	2,08**	0,67**	3191,19**	210,23**	17,15**	0,05**	7,89**	0,005 ^{ns}	0,30**	0,02**	3,04**	0,014**
Nanobioestimulante (NB)	5	0,02*	0,0004 ^{ns}	11,73**	0,14 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,0001 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,007 ^{ns}	0,04**	0,02**	0,10**	0,002*
Interação (CEa × NB)	5	0,03 ^{ns}	0,003 ^{ns}	5,33 ^{ns}	1,43**	0,11*	0,0003 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,001*	0,02**	0,002 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,0004 ^{ns}
Resíduo	36	0,01	0,47	5,97	0,28	0,67	0,0002	0,32	0,01	0,005	0,002	0,02	0,001
Total	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CV	-	14,41	18,21	16,75	11,46	2,38	23,09	18,68	14,49	9,58	12,89	10,63	15,72

Fonte: Elaborada pela autora. ^{ns}, *, ** – não significativo, significativo a $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente; CV - Coeficiente de variação; GL - Graus de liberdade; CEa - Condutividade elétrica da água; P_{wf} - Potencial hídrico foliar; g_s - Condutância estomática; A - Fotossíntese líquida; E - Transpiração; Tf - Temperatura foliar; EiC - Eficiência instantânea de carboxilação; EUA - Eficiência instantânea do uso da água; Ci/Ca - Razão Ci/Ca; Chl *a* - Clorofila *a*; Chl *b* - Clorofila *b*; Chl total - Clorofila total; Crt - Carotenoides

APÊNDICE D – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio					
		Fv/Fm	ϕ PSII	qP	qN	NPQ	ETR
CEa	1	0,0003 ^{ns}	0,21 ^{**}	0,25 ^{**}	0,21 ^{**}	8,24 ^{**}	78276,45 ^{**}
Nanobioestimulante (NB)	5	0,0002 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,004 ^{ns}	0,04 ^{ns}	200,62 ^{ns}
Interação (CEa × NB)	5	0,0004 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,004 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,17 ^{**}	590,59 ^{ns}
Resíduo	36	0,0005	0,001	0,004	0,005	0,03	561,53
Total	47	-	-	-	-	-	-
CV	-	2,35	12,74	12,39	9,75	11,53	14,13

Fonte: Elaborada pela autora. ^{ns}, *, ** – não significativo, significativo a $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente; CV - Coeficiente de variação; GL - Graus de liberdade; CEa - Condutividade elétrica da água; Fv/Fm - Eficiência quântica potencial do PSII; ϕ PSII - Eficiência quântica efetiva do PSII; qP - Quenching fotoquímico; qN - Quenching não-fotoquímico; NPQ - Coeficiente de extinção não-fotoquímica de Stern-Volmer; ETR - Taxa de transporte de elétrons

APÊNDICE E – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio												
		K ⁺ f	K ⁺ r	Na ⁺ f	Na ⁺ r	Na ⁺ /K ⁺ f	Na ⁺ /K ⁺ r	EE	MDA	PROL	PROT	CAT	APX	SOD
CEa	1	458,457**	278,43**	3,55**	3350,82**	0,11**	25,55**	2019,82**	91,28**	10,20 ^{ns}	3,59**	968,60 ^{ns}	1817175,07**	213,57**
Nanobioestimulante (NB)	5	51,49**	6,31**	3,54**	6,08 ^{ns}	0,02**	0,05 ^{ns}	70,97 ^{ns}	5,67*	175,64**	0,48**	10791,06**	742103,36**	129,92**
Interação (CEa × NB)	5	24,59*	3,66 ^{ns}	2,53**	46,60**	0,02**	0,24*	59,53 ^{ns}	3,53 ^{ns}	46,24**	0,21**	13539,82**	122704,50**	37,47**
Resíduo	36	9,01	2,71	0,39	6,50	0,001	0,09	50,43	2,88	2,82	0,03	729,37	18455,91	4,38
Total	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CV	-	13,99	10,42	15,26	13,92	15,03	23,33	17,44	11,89	13,95	17,40	16,73	22,10	13,75

Fonte: Elaborada pela autora. ^{ns}, *, ** – não significativo, significativo a $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente; CV - Coeficiente de variação; GL - Graus de liberdade; CEa - Condutividade elétrica da água; K⁺f - Potássio foliar; K⁺r - Potássio radicular; ; Na⁺f - Sódio foliar; ; Na⁺r – Sódio radicular; Na⁺/K⁺f - Razão sódio e potássio nas folhas; Na⁺/K⁺r - Razão sódio e potássio nas raízes; EE - Extravasamento de eletrólitos; MDA - Teor de malondialdeído; PROL - Prolina livre; PROT - Proteínas solúveis; CAT - Atividade da catalase; APX - Atividade da peroxidase do ascorbato; SOD - Atividade da superóxido dismutase

APÊNDICE F – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS DE PRODUÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA ÁGUA E DA CONCENTRAÇÃO DO NANOBIOESTIMULANTE

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio					
		NVP	TMV	PMV	NGV	PTG	P100G
CEa	1	19,02**	1,67 ^{ns}	1613,94**	44,99**	1077,24**	209,05**
Nanobioestimulante (NB)	5	2,24*	4,45 ^{ns}	17,96**	5,91*	12,62**	14,37**
Interação (CEa × NB)	5	0,87 ^{ns}	1,99 ^{ns}	4,54 ^{ns}	0,76 ^{ns}	6,61 ^{ns}	4,04 ^{ns}
Resíduo	36	0,69	3,43	4,64	3,14	3,92	2,06
Total	47	-	-	-	-	-	-
CV	-	17,69	10,52	15,89	13,54	16,75	8,97

Fonte: Elaborada pela autora. ^{ns}, *, ** – não significativo, significativo a $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente; CV - Coeficiente de variação; GL - Graus de liberdade; CEa - Condutividade elétrica da água; NVP - Número de vagens por planta; TMV - Tamanho médio das vagens; PMV - Peso médio das vagens; NGV - Número de grãos por vagem; PTG - Peso total dos grãos; P100G - Peso de 100 grãos