

TOLERÂNCIA E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA EM FEIJÃO-CAUPI SUBMETIDO A ESTRESSE HÍDRICO COM O ATENUADOR NITRATO DE POTÁSSIO NO CRESCIMENTO INICIAL

Auta Paulina da Silva Oliveira ⁽¹⁾; Alberto Soares de Melo ⁽¹⁾; Edilene Daniel de Araújo ⁽²⁾; Duval Chagas da Silva ⁽³⁾ Maria do Socorro Rocha. ⁽⁴⁾

⁽¹⁾Graduação em Biologia; UEPB, R. Baraúnas, 351 CEP 58429-500, Campina Grande, PB. E-mail: autapaulina@outlook.com ^(1;4) UEPB professor, Caixa Postal 01, CEP 64006-220 Campina Grande, PB. E-mail: alberto@uepb.edu.br; DCR-FAPESQ-UEPB marialirium@hotmail.com. ^(2,3) Mestrado em Ciências Agrárias. R. Baraúnas, 351 CEP 58429-500, Campina Grande, PB. E-mail: araujo_peq@hotmail.com; duvalchagas@hotmail.com

Resumo - O cultivo do feijoeiro constitui um dos principais produtos da agricultura familiar brasileira, produzido geralmente em cultivos de sequeiro, possibilitando a ocorrência de deficiência hídrica em algum estágio do desenvolvimento. Tal fato torna-se potencialmente significativo na região Nordeste onde é cultivado na safra da seca. Pela necessidade de se identificar genótipos adaptados ao déficit hídrico, nas sementes podem ser mitigados através da aplicação de eliciadores como o nitrato de potássio (NP). Objetivou-se analisar a tolerância e caracterização bioquímica em feijão-caupi submetido a estresse hídrico com o atenuador nitrato de potássio no crescimento inicial. A pesquisa constou de um fatorial de 3x5, sendo três tratamentos de sementes (pré-embebição em água destilada; pré-embebição em nitrato de potássio e sem pré-embebição) e cinco potenciais osmóticos no substrato (0,0; -0,2; -0,4; -0,6 e -0,8 MPa). Avaliou-se a germinação e o metabolismo bioquímico das plântulas, através do delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e 25 sementes por repetição. Os dados obtidos das avaliações nas plântulas foram submetidos à análise de variância (teste F até 5%), nos casos de significância foi realizada análise de regressão para fator de natureza quantitativa. O aminoácido prolina pode ser considerado um osmorregulador bioquímico de estresse hídrico -0,6 MPa embebido nitrato de potássio (NP) com atenuador 10⁻⁵ mM. A manutenção do crescimento das plântulas de feijão caupi submetidas ao déficit hídrico relaciona-se com o aumento da capacidade antioxidativa das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, sendo incrementada com a embebição das sementes em nitrato de potássio na cultivar BRS Paulistinha.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* (L.) Walp., estresse, atividades enzimáticas.

INTRODUÇÃO

O Feijão caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., Trata-se de uma leguminosa fundamental para a alimentação, é fonte de proteína vegetal, principalmente das populações rurais da região norte e nordeste do Brasil. Sendo o seu cultivo de grande valor econômico e sua cultura com sensibilidade ao frio e ampla adaptação a estiagem, tem grande representatividade na cultura brasileira e nordestina. (BEZERRA et al., 2003; COLMAN et al., 2014).

Situações ambientais diversas, como temperaturas extremas, umidade, alta radiação luminosa e deficiência de nutrientes, podem ocasionar estresse múltiplo nas plantas (YORDANOV et al., 2000). Na região semiárida brasileira, o regime de chuvas, concentrado num período de 3 a 4 meses por ano, é marcado por forte irregularidade interanual. As temperaturas médias variam de 23°C a 27°C e a insolação anual chega a 2.800 horas. Isto determina altas taxas de evapotranspiração, configurando estresse hídrico em quase toda a região (MATALLO JÚNIOR, 2000). Durante um estresse hídrico, a redução na disponibilidade de água para processos associados ao transporte, conduz a mudanças na concentração de muitos metabólitos, seguidas por distúrbios nos hidratos de carbono e no metabolismo de aminoácidos (OSBERT et al., 1995).

O estresse provoca modificações na composição das células das plantas superiores, levando em muitos casos à produção e acúmulo de substâncias osmoticamente ativas. Este processo, conhecido como osmorregulação, é um componente de grande importância no processo de tolerância à seca em várias espécies, (SUBBARAO et al., 2000). Uma das características marcante de mudança nas proporções dos aminoácidos e frequente aumento na concentração de prolina se dão por distúrbios no metabolismo das proteínas (LARCHER, 2000), e pela manutenção, provável, no potencial hídrico da folha, que em contrapartida aumenta o teor deste aminoácido, no sentido de se ajustar osmoticamente e defender as plantas da desidratação (COSTA, 1999).

O acúmulo de outros compostos orgânicos, encontrados no citoplasma, como os açúcares solúveis (SUBBARAO et al., 2000). Exemplo, deste, está em plantas sensíveis à seca, como o espinafre (*Spinacea oleracea*), que aumenta a síntese de sacarose durante o estresse hídrico (INGRAM e BARTELS, 1996).

Alterações na atividade de enzimas a APX, catalase e a SOD, também ocorrem devido ao ajuste osmótico em tais condições, e que as respostas destas enzimas na regulação, podem diferir entre as espécies, cultivares, tecidos analisados, duração e intensidade do estresse, em diversas plantas (DEBOUBA et al., 2006).

Acréscimos nos níveis da atividade proteolítica, em resposta à seca, são consistentes com a ideia de que a diminuição da proteína é resultado da degradação de proteínas (HEING, 2004). A presente pesquisa visou avaliar através de algumas características bioquímicas (prolina, carboidratos, proteína e enzimas: APX, catalase, SOD) a tolerância à estresse hídrico de genótipos de feijão-caupi sob atenuador nitrato de potássio, no crescimento inicial.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante os meses de janeiro a maio de 2016, no Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas (ECOLAB), localizado no Complexo Integrado de Pesquisa Três Marias, pertencente à Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, Campina Grande – PB.

O estudo foi realizado em esquema fatorial 3 x 5, composto por 3 condições na pré-semeadura (SE = sem embebição; AN= embebição em NP – nitrato de potássio (10^{-5} M) e AD = embebição em água purificada), ambos os tratamentos com embebição ocorreram durante o período de 8 horas e 5 potenciais hídricos, induzidos por polietilenoglicol 6000, durante a germinação e o crescimento inicial (-1,0; -0,8; -0,6; -0,4 e 0 MPa- água purificada), que fatorialmente combinados resultaram em 45 tratamentos.

Inicialmente foi realizada uma triagem das sementes com o objetivo de eliminar aquelas que continham danos físicos, biológicos e/ou má formação. Após a triagem, as sementes foram pesadas e transferidas para rolo giratório, construído de tubo de PVC, juntamente com fungicida (Captan®) na dosagem de 0,22 g 100 g⁻¹ de sementes, mantendo-o sob rotação durante 5 minutos e, em seguida, as sementes permaneceram em repouso por 24 horas. Passado esse tempo, as sementes foram divididas em três lotes, sendo dois deles envolvidos em papel toalha na forma de rolos (BRASIL, 2009) para posterior embebição em solução de nitrato de potássio (10^{-5} M) em água purificada (AD) por um período de 8 horas.

Após o período de embebição, todas as sementes foram distribuídas em vasos com 20 cm largura por 5 de profundidade , 25 sementes, contendo substrato orgânica (turfas), previamente umedecidas com água purificada e soluções osmóticas de polietilenoglicol 6000 (-0,8; -0,6; -0,4 e -0,2 MPa) na proporção de 50 ml de água deionizada no solo. Em seguida, pesadas em balança analítica, obtendo a massa do conjunto vaso + substrato + sementes, a qual foi utilizada como base para a reposição hídrica diária. Por fim, os vasos foram alocadas em câmara de germinação, tipo B.O.D, regulada a 27 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas (BRASIL, 2009), onde permaneceram

durante 14 dias. O consumo hídrico foi monitorado diariamente por meio da pesagem dos vasos contendo as sementes, e a reposição de água foi efetuada até atingir a massa inicial do conjunto vaso + substrato+ sementes.

A determinação da quantidade de polietilenoglicol (PEG 6000) necessária para cada solução osmótica foi realizada utilizando-se da equação proposta por Michel e Kaufmann (1973), com a qual se obteve os seguintes valores: 88,715 g de água para o potencial negativo de -0,8 MPa, 53,505 g ; -0,6 MPa e 35,872 g ; -0,4 MPa, 35,668g e -0,2 MPa, 23,714. A diluição foi realizada em 200 mL de água purificada (25 °C) sendo, em seguida, acrescido de 100 mL do mesmo solvente. Por fim, a solução foi mantida em frascos de vidro vedados, temperatura ambiente, com o intuito de minimizar a perda de água e, conseqüentemente, a alteração no potencial, até o momento da utilização.

Foram avaliados os teores de atividade da ascorbato peroxidase APX (EC 1.11.1.1), proteínas solúveis totais, carboidratos solúveis totais, e prolina, em todos os tratamentos propostos. Para a atividade de APX (EC 1.11.1.1), a enzima foi extraída de acordo com o método de Wissemann & Lee (1980), com pequenas modificações. No sistema de reação foi utilizado o método descrito por Matsuno e Uritani (1972) com pequenas modificações: a absorbância foi medida a 470nm. A velocidade da reação foi expressa em UAE g⁻¹ min⁻¹ (UAE - unidade de atividade da enzima). As proteínas totais solúveis foram quantificadas de acordo com o método de Bradford (1976), usando como solução padrão Albumina Sérica Bovina – BSA (Sigma). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 595nm e os resultados expressos em mg g⁻¹ MF (massa fresca).

Os carboidratos totais foram determinados pelo método proposto por Yemn e Wills (1954), usando antrona. Como padrão foi utilizada a glicose e os resultados foram expressos em porcentagem de açúcares solúveis totais e a leitura foi realizada a 620nm. A prolina foi determinada, utilizando-se o método de Bates et al. (1973), adaptado por Torello e Rice (1986). As absorbâncias obtidas (520nm) foram comparadas com a curva padrão de prolina (Merck) e os resultados obtidos foram expressos em µmol µg⁻¹ MF. A atividade da catalase (CAT) e SOD foi quantificada conforme Sudhakar et al. (2001).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo a parcela experimental composta por 25 sementes (BRASIL, 2009). Os dados das variáveis respostas foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($\alpha \leq 0,05$) os modelos de regressão, para o fator quantitativo, foram ajustados de acordo com o coeficiente de determinação até 5% de

significância. Para as análises e confecção dos gráficos utilizou-se os Assistat 7.0 (2009), Excel e Table Curve 2D.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O genótipo de feijão-caupi “BRS Paulistinha” avaliado apresenta eficiente mecanismo de tolerância à estresse hídrico quando é embebido com Nitrato de potássio. Verifica-se, pelo teste de regressão polinomial (Figuras 1 A), que para a variável de açúcares totais, o genótipo de ciclo intermediário BRS-Paulistinha apresentou maior incremento nos teores, ocorrendo diferença significativa.

Para a atividade Catalase e APX, ocorreu maior atividade significativa neste genótipo quando foram embebidos com Nitrato de Potássio no potencial hídrico de -0,6 MPa. A maior atividade de CAT ocorreu no potencial hídrico ao -0,4 MPa com e sem embebições, com um acréscimo de SE 37,50%, AD 35,14% e NP 12,50% diferenciando-se com maior pontos de atividade enzimática de 32,69, 37,56 e 32,69 $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$.

O estresse hídrico induziu maior variação na atividade de Ascorbato Peroxidase - APX, no genótipo BRS Paulistinha, SE “30%”, AD “34,48%” e NP “43,14%”, (Figura 1B). A atividade de ascorbato peroxidase aumentou sob condições de estresse hídrico com PEG 6000, quando foi embebido com nitrato de potássio ocorreu uma diminuição 11,11% no potencial hídrico -0,8 MPa (Figura 1B).

A enzima ascorbato peroxidase -APX apresentou um aumento da sua atividade enzimática com a imposição do estresse hídrico com PEG 6000. Sob estas condições de estresse, as plantas tendem a aumentar a atividade de APX e, às vezes, é a primeira enzima a ter a atividade alterada, independente do substrato utilizado ou do estresse aplicado (SIEGEL, 1993). A variação na atividade de APX pode ser uma adaptação do tecido vegetal a esta condição (GASPAR et al., 1985).

Quanto as variáveis da enzima superóxido dismutase- SOD, verifica-se que o Nitrato de potássio e sua interação com a condições de potencial hídrico no genótipo BRS Paulistinha, promoveu um aumento nas plântulas sem embebição (SE) 23,20% e uma diminuição nas plântulas com embebições (AD) 43,50% e com NP 37,38%. Na Figura 2 B, as proteínas solúveis no potencial hídrico de -0,6 MPa ocorreram um aumento de SE (33,33%), AD (40,97%) já quando embebido com nitrato de potássio foi de 27,01%.

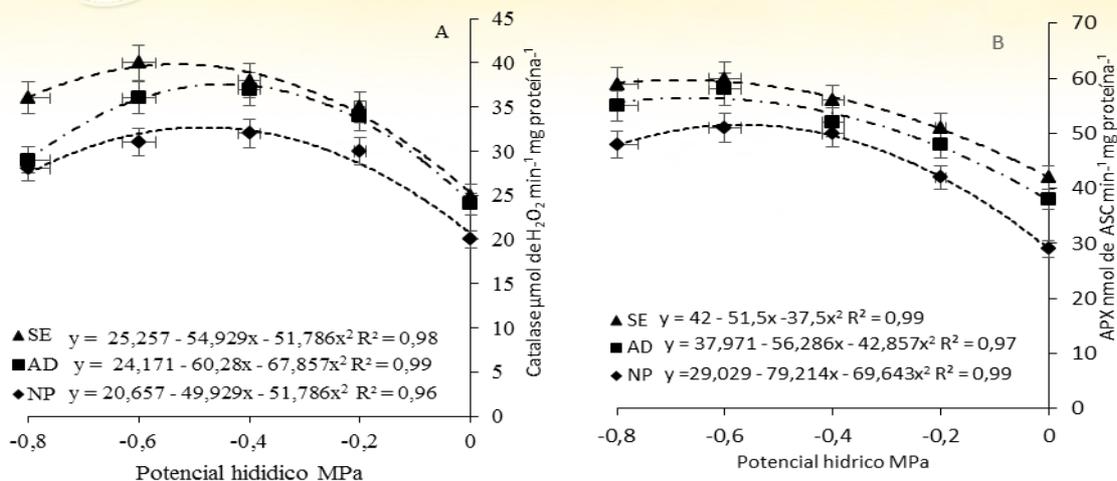


Figura 1. Atividade de Catalase-CAT (A), Ascorbato Peroxidase-APX (B), da cultivar de feijão-caupi: BRS Paulistinha, acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2016. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e NP – nitrato de potássio.

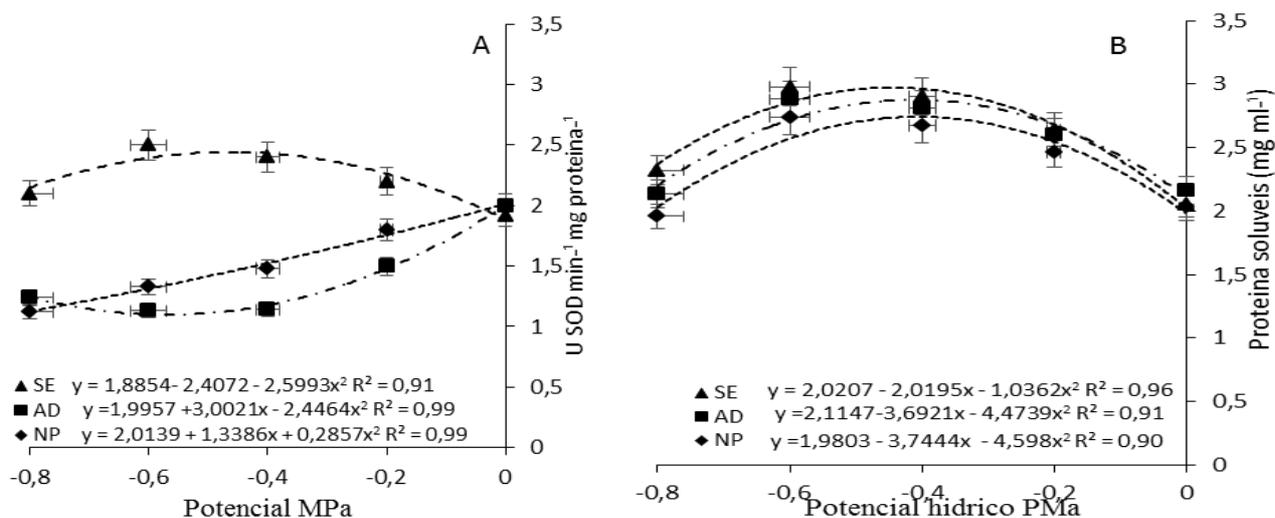


Figura 2. Superóxido dismutase SOD-(A), Teores Proteínas solúveis (B), da cultivar de feijão-caupi: BRS Paulistinha, acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2016. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e NP – nitrato de potássio.

No carboidrato ocorreu uma variação quando as sementes foram embebidas com nitrato de potássio-NP na concentração de 10^{-5} mM. Na Figura 3 A, estão ilustrados os valores até potencial hídrico de -0,4 MPa, sem embebição SE (20%) e NP (16,67%) já com AD (15%) ocorreu decréscimo a partir do 0 MPa. O aumento observado neste genótipo pode ser atribuído à indução do ajustamento osmótico causado, provavelmente, pelo declínio na atividade hidrolítica da sacarose sintetase, associada ou não, com a degradação do amido, pelo aumento das atividades da amilase invertase ácida (KELLER et al., 1993).

Em virtude do efeito estresse com potencial hídrico o amido é degradado nos tecidos que o acumulam; a redução na quantidade de amido é uma consequência da atividade da amilase, sendo acompanhada por um aumento da quantidade de açúcares solúveis redutores.

Na maioria das plantas, a sacarose é o principal açúcar exportado dos locais de síntese (folhas) para as regiões de consumo (caule, gemas vegetativas, raízes e órgãos reprodutivos) onde será utilizada para o crescimento e/ou armazenamento. As hexoses liberadas a partir da hidrólise de sacarose podem ser utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos e também fornecendo açúcares redutores para o processo de ajustamento osmótico (CHAVES FILHO e STACCIARINI-SERAPHIN, 2001). O aumento no teor de carboidratos solúveis totais foi observado também por Irigoyen et al. (1992) em folhas de alfafa (*Medicago sativa*) como resposta ao estresse hídrico.

Quanto a prolina no potencial hídrico -0,4 MPa, ocorreu um acréscimo: SE 77%, AD 69,09% e com NP 76,67%. Observou-se decréscimos bastante relevante no genótipo BRS Paulistinha, sob estresse hídrico com o atenuador nitrato de potássio (Figura 3 B). Estes resultados estão de acordo com Castro et al. (2007), os quais encontraram aumento de 220,53% de prolina sob estresse hídrico (09 dias) em folhas de Teca (*Tectona grandis L.f*) e com o trabalho de Lazcano-Ferrat e Lovat (1999), que obtiveram aumento nos teores deste soluto em feijão *Phaseolus vulgaris*.

A síntese de osmólitos, incluindo prolina, é amplamente usada por plantas para estabilizar as membranas e manter a conformação de proteínas sob baixo potencial de água (EFEOĞLU et al., 2008). A síntese e acúmulo de osmólitos variam entre espécies vegetais, assim como em diferentes cultivares da mesma espécie. A prolina é também conhecida por estar envolvida em reduzir danos nos tilacóides das membranas, agindo como um eliminador de radicais livres, como oxigênio singleto (REDDY et al., 2004).

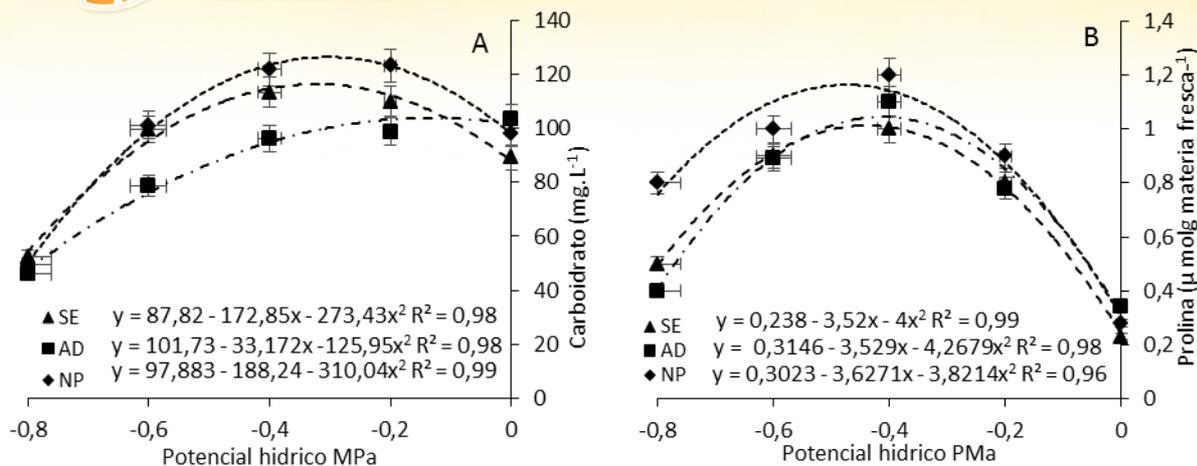


Figura 3. Carboidratos (A) e Prolina totais (B) da cultivar de feijão-caupi: BRS Paulistinha, acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2016. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e NP – nitrato de potássio.

CONCLUSÕES

O aminoácido prolina pode ser considerado um osmorregulador bioquímico de estresse hídrico -0,6 MPa embebido em nitrato de potássio NP com atenuador 10^{-5} mM. Foi possível analisar que a manutenção do crescimento das plântulas de feijão caupi submetidas ao déficit hídrico está diretamente relacionada com o aumento da capacidade antioxidativa das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase.

A atividade antioxidante é incrementada nas plântulas de feijão com a embebição das sementes em nitrato de potássio, especialmente na cultivar BRS Paulistinha. Sendo analisado que o carboidrato e proteínas solúveis aumentaram quando submetidos a embebição com nitrato de potássio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHRAF, M.; AKRAM, N. A.; ARTECA, R. N.; FOOLAD, M. R. **The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance.** *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 29, n. 3, p. 162-190, 2010.

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

BRADFORD, M.M. **A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** Analytical Biochemistry, v.722, p.248-254, 1976.

BEZERRA, F. M. L.; ARARIPE, M. A.E.; TEÓFILO, E.M.; CORDEIRO, L.G.; SANTOS, J. J. A dos. **Feijão caupi e déficit hídrico em suas fases fenológicas.** Fortaleza- CE. Revista Ciência Agrônômica. Vol. 34, nº1, 2003.

COLMAN, B.A.; NUNES, C.M; MASSON, G. L. de; BARBOSA, R.H; NUNES, A.S da. **Indução de tolerância ao estresse hídrico na germinação de sementes de feijão-caupi.** Bom Jesus. Comunicata Scientiae, v.5, n.4, p.449-455, Out./Dez. 2014.

FERNANDES, C. F. de.; JÚNIOR, J.R.V. SILVA, D.S.G. da.; REIS, N.D.; JÚNIOR, H.A. **Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos.** Porto Velho. Embrapa Rondonia, 2009.

LISAR, S. Y. S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. **Water stress in plants: causes, effects and responses.** In RAHMAN, I. M. M, Water Stress, Rijeka: INTECH, p. 1-14, 2012.

MACAR T. K.; TURAN, O.; EKMEKÇD, Y. **Effects of Water Deficit Induced by PEG and NaCl on Chickpea (Cicer arietinum L.) Cultivars and Lines at Early Seedling Stages.** Journal of Science. V. 22, n.1, p. 5-14, 2009.

MONTEIRO, J.G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. **Growth and proline content in pigeon pea seedlings subjected to osmotic stress and to exogenous putrescine.** PesquisaAgropecuáriaBrasileira. V. 49, n. 1, p. 18-25, 2014.

VERBRUGGEN, N. HERMANS, C. **Proline accumulation in plants: a review.** Amino Acids. V. 35, p. 753–759, 2008.

CASTRO, D. DA S.; SANTOS, A, O. DOS SANTOS, LOBATO, A. K. DA S.; GOUVEA, D. S.; NETO, C. F.O; CUNHA, R. L. M.; COSTA, R. C. L. **Concentrações de Prolina e Carboidratos Solúveis Totais em Folhas de Teca (Tectona grandis) Submetida ao Estresse Hídrico.** Revista Brasileira de Biociências, v.5, supl. 2, p. 921-923, jul. 2007.

CHAVES, M.M. **Effects of water deficits on carbon assimilation.** Journal of Experimental Botany, v.42, n.234, p.1-16, 1991.

CHAVES FILHO, J.T.; Stacciarini-Seraphin, E. **Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (Solanum lycocarpum St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico.** Revista Brasileira de Botânica, v.24, p.199-204, 2001.

COSTA, R.C.L. **Assimilação de Nitrogênio e Ajustamento Osmótico em Plantas Noduladas de Feijão-de-corda [Vigna unguiculata (L.) Walp] Submetidas ao Estresse Hídrico.** Tese de doutorado. UFC/DBBM, março. 1999.

DEBOUBA, M.; GOUIA, H.; SUZUKI, A.; GHORBEL, M.H. **NaCl stress effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato “Lycopersicon esculentum” seedlings.** Journal of Plant Physiology, v.163, p.1247–1258, 2006.

- EFGOĞLU, B.; EKMEKÇI, Y.; ÇIÇEK, N. **Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery.** South African Journal of Botany, doi. 10.1016/j.sajb.2008.06.005., 2008.
- GASPAR, T.; PENEL, C.; CASTILLO, F.J.; GREPPIN, H.A. A. **two step control of basic and acid peroxidase and its significance for growth and development.** Physiologia Plantarum, v.64, p.418-423, 1985.
- HIENG B.; KRISTINA U.; JELKA S.V; MARJETKA K. **Different classes of proteases are involved in the response to drought of Phaseolus vulgaris L. cultivars differing in sensitivity.** Journal of Plant Physiology, v.161, p.519–530, 2004.
- INGRAN, J., BARTELS, D. **The molecular basis of dehydration tolerance in plants.** Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, v.47, p.377-403, 1996.
- IRIGOYEN, J.J.; EMERICH, D.W.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. **Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (Medicago sativa) plants.** Physiologia Plantarum v.84, p.55-60, 1992.
- KELLER F.; LUDLOW MM. **Carbohydrates metabolism in drought-stressed leaves of pigeonpea (Cajanus cajan L.).** Journal of Experimental Botany, v.44, p.1351–1359, 1993.
- KIGEL, J.; DATON, A. **Effects of different durations of water with-holding on regrowth potential and nonstructural carbohydrate content in Rhodes grass.** Australian Journal Plant Physiology, v.9, p.113-120, 1982.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.** São Carlos: RiMa, 2000. 531p
- LAZCANO-FERRAT, I.; LOVATT, C. J. **Relationship between relative water content, nitrogen pools, and growth of Phaseolus vulgaris L. and P. acutifolius A. Gray during water deficit.** Crop Science, v.39, p.467-475, 1999.
- MARANVILLE, J.E.; PAULSEN, G.M. **Alteration of carbohydrate composition of corn (Zea mays L.) seedlings during moisture stress.** Agronomy Journal, v.62, p.605-608, 1970.
- MATSUNO, H; URITANI, I. **Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot.** Plant and Cell Physiology, Tokio, v.13, p.1091-1101, 1972.
- MATALLO JÚNIOR, H. **A desertificação no Brasil.** In: OLIVEIRA, T. S. de et al. (Eds.) Agricultura, sustentabilidade e o semiárido. Fortaleza: UFC, p. 89-113, 2000.
- MORGAN, J.M. **Osmoregulation and water stress in higher plants.** Annual Review of Plant Physiology, v.35, p.299-319, 1984.
- OSBERT, J.S., GEOFFREY, B., WHITEHEAD, D.S., BUCHAN, D. **Physiological response to water stress and water logging in Nothofagus species.** Tree Physiology, v.15, p.629–638, 1995.
- PREMACHANDRA, G.S.; SANEOKA, H.; FUGITA, K.; OGATA, S. **Osmotic adjustment and stomatal response to water deficits in maize.** Journal of Experimental Botany, v.43, n.256, p.1451-1456. 1992.

ROY-MACAULEY, H.; ZUILY-FODIL, Y.; KIDRIC, M.; PHAM THI, A. T. & VIEIRA DA SILVA, J. **Effects of drought stress on proteolytic activities in Phaseolus and Vigna leaves from sensitive and resistant plants.** *Physiologia Plantarum.*, v.85, p.90- 96, 1992.

SAS – Statistical Analysis System Institute. **Procedure guide personal compute edition 4.1**, Inst. Cary, NC., USA-LEARNING, 2006.

SIEGEL, B.Z. **Plant peroxidases: an organism perspective.** *Plant Growth Regulation*, v.12, p.303-312, 1993.

SILVA, S.; SOARES, A.M.; OLIVEIRA, L.E.M.; MAGALHÃES, P.C. **Respostas fisiológicas de gramíneas promissoras para revegetação ciliar de reservatórios hidrelétricos, submetidas à deficiência hídrica.** *Ciência e Agrotecnologia*, v.25, n.1, p. 124-133, 2001

SILVEIRA, J. A. G.; COSTA, R. C. L.; VIEGAS, R. A.; OLIVEIRA, J. T. A.; FIGUEIREDO, M. V. B. N. **Compound accumulation and carbohydrate shortage on N₂ fixation in drought stressed and rewatered cowpea plants.** *SPANISH JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH*, v.3, n.1, p.65-75, 2003.

SUDHAKAR, C.; LAKSHMI, A.; GIRIDARAKUMAR, S.. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science 161**: 613-619, 2001.

SUBBARAO, G.V.; CHAUHAN, Y.S.; JOHANSEN, C. **Patterns of osmotic adjustment in pigeonpea — its importance as a mechanism of drought resistance.** *European Journal of Agronomy*, v. 12, p. 239–249, 2000.

TORRELLI, W.A.; RICE, L. A. **Effects of NaCl stress on proline and cation accumulation in salt sensitive tolerance turfgrass.** *Plant and soil*, v.93, p.241-247, 1986.

TURK, K.J. ; HALL, A.E. **Drought adaptation of cowpea. I. influence of drought on seed yield.** *Agronomy Journal*, v.72, p.413-420, 1980.

WISSEMANN, K. W.; LEE, C. Y. **Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production.** *American Journal of Enology and Viticulture*, n.31, p.206-211, 1980.

YEMN, E. W.; WILLS. A. J. **The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone.** *The Biochemical Journal*, v.57, p.508-514, 1954

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. **Plant response to drought, acclimation, and stress tolerance.** *PHOTOSYNTHETICA*,v.38, p.171-186, 2000.