



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS**



JULIANE RAFAELE ALVES BARROS

**FEIJÃO-CAUPI: PARÂMETROS PRODUTIVOS,
BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E
PROSPECÇÃO DE GENES, FRENTE AO AUMENTO DA
TEMPERATURA E DO DEFICIT HÍDRICO**

JULIANE RAFAELE ALVES BARROS

**FEIJÃO-CAUPI: PARÂMETROS PRODUTIVOS,
BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E
PROSPECÇÃO DE GENES, FRENTE AO AUMENTO DA
TEMPERATURA E DO DEFICIT HÍDRICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Dr. Nataniel Franklin de Melo

Coorientador: Dra. Francislene Angelotti

Feira de Santana – BA
2021

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Marcelle Almeida da Silva
(Universidade Federal do Vale do São Francisco -UNIVASF Petrolina)



Dr. Welson Lima Simões
(Embrapa Semiárido – Petrolina)



Profa. Dra. Bárbara França Dantas
(Embrapa Semiárido – Petrolina)



Prof. Dr. Luiz Cláudio Costa Silva
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)



Prof. Dr. Nataniel Franklin de Melo
(Embrapa Semiárido – Petrolina)
Orientador e Presidente da Banca

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEFS

Barros, Juliane Rafaela Alves
B278f Feijão-caupi: parâmetros produtivos, biométricos, fisiológicos, bioquímicos e prospecção de genes, frente ao aumento da temperatura e do déficit hídrico / Juliane Rafaela Alves Barros. - 2021.
200f. : il.

Orientador: Nataniel Franklin de Melo
Coorientadora: Francislene Angelotti

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2021.

1. *Vigna unguiculata* L. 2. Enzimas antioxidantes. 3. Estresse abiótico. 4. Expressão gênica. 5. Trocas gasosas. 6. Espécies reativas de oxigênio (EROs). 7. Feijão-caupi. I. Melo, Nataniel Franklin de, orient. II. Angelotti, Francislene, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU: 633.33

Agradecimentos

À Deus agradeço por estar sempre comigo e cuidando de tudo, por não me deixar cair nos momentos de angústia, pela minha fé que se permanece inabalável, por me mostrar que sou forte e capaz de alcançar tudo que almejo, pois Ele está comigo.

À minha família, meus pais Ednaldo e Nilma, meus irmãos Thales, Bruna e Bruno, por serem minha base, me apoiando e ajudando a realizar meus sonhos, que se tornam sempre presentes, mesmo em distância, obrigada por tudo que fizeram e fazem, por todo esforço, amor e educação.

Ao meu noivo, Miguel Guimarães, agradeço o companheirismo, por todo apoio nessa jornada, por ser parceiro de trabalho e de vida, obrigada por se tornar presente e principalmente por sempre dizer que tudo vai dar certo.

À Fran Angelotti, por ser mais que uma orientadora, ser também uma amiga. Agradeço por todo ensinamento, companheirismo, por todas as oportunidades, agradeço pelos os elogios e os puxões de orelha (acho que precisamos dos dois para crescer) enfim, obrigada pela confiança.

À Nataniel Franklin, meu orientador, agradeço a oportunidade de desenvolver esse trabalho.

À UEFS e ao RGV, pela oportunidade de fazer parte da casa e aos professores pelos ensinamentos.

À CAPES, pelo incentivo a qualificação profissional.

À FAPESB, pela concessão da bolsa.

À Embrapa Semiárido, por todo apoio em infraestrutura e profissional.

Aos meus amigos e colegas de trabalho/pós-graduação, obrigada por fazerem essa jornada mais prazerosa, agradeço o apoio e por toda ajuda. Obrigada pelas palavras que muito me confortaram, obrigada pela companhia nas viagens até Feira de Santana (que a viação nem sempre ajudava rsrsrs). Meu muito obrigada à Aline Moura, Samara, Gil, Camila, Rodrigo, May, Galego, Jéssica, Tiago, Bárbara, Larisse, Aline, Deise, Roberta Lane.

Por fim, agradeço a todos que, apesar de não terem sido citados, foram lembrados e fizeram parte desta conquista.

Obrigada!!

"É o meu desejo mais sério que alguns de vocês continuem a fazer o trabalho científico e mantenham a ambição e a determinação de fazer uma contribuição permanente para a ciência."

Marie Curie

RESUMO

BARROS, J.R.A. **Feijão-caupi: Parâmetros produtivos, biométricos, fisiológicos, bioquímicos e prospecção de genes, frente ao aumento da temperatura e do deficit hídrico.** 200p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, 2021.

A seleção de cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) tolerantes torna-se de grande importância para garantir uma maior produtividade, frente as mudanças climáticas. Com isso, objetivou-se avaliar como o aumento da temperatura e o deficit hídrico afetam os parâmetros biométricos, produtivos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares de diferentes cultivares de feijão-caupi. Os experimentos foram realizados em câmara de germinação, câmaras de crescimento e casa de vegetação, utilizando diferentes cultivares de feijão-caupi, as quais foram submetidas ao aumento de temperatura e diferentes disponibilidades hídricas. As cultivares respondem de forma distinta a esses estresses, com alterações fisiológicas, bioquímicas, moleculares e variação quanto a produção final. A porcentagem de germinação de sementes de feijão-caupi atinge valores acima de 90%, na faixa de 20-40°C. Entretanto, na temperatura de 40 °C não ocorre a formação de plântulas normais. As cultivares diferem entre si frente ao aumento de temperatura. Por meio da combinação das respostas biométricas, fisiológicas e produtivas a cultivar Itaim apresentou maior tolerância ao aumento de 4,8 °C na temperatura do ar. A fase da floração foi a mais sensível ao aumento de temperatura e ao deficit hídrico, com redução significativa na produção. A temperatura é o elemento climático determinante para a escolha da época de plantio, pois mesmo com disponibilidade hídrica de 100%, o aumento da temperatura reduz a produção. Genes *P5CR* e *TPS6*, pertencentes a diferentes classes de osmoprotetores, foram induzidos no feijão-caupi, cv. Carijó em resposta ao aumento da temperatura e a seca severa.

Palavras-chave: enzimas antioxidantes, EROs, estresse abiótico, expressão gênica, trocas gasosas, *Vigna unguiculata* L.

ABSTRACT

The selection of tolerant cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cultivars is of great importance to ensure greater productivity in the face of climate change. Thus, the objective was to evaluate how the increase in temperature and water deficit affect the biometric, productive, physiological, biochemical, and molecular parameters of different cowpea cultivars. The experiments were carried out in a germination chamber, growth chambers and greenhouse, using different cowpea cultivars, which were subjected to increased temperatures and different water availability. The cultivars respond differently to these stresses, with physiological, biochemical, molecular changes and variation in the final production. The percentage of germination of cowpea seeds reaches values above 90%, in the range of 20-40 ° C. However, at a temperature of 40 ° C, normal seedlings do not occur. The cultivars differ from each other in view of the increase in temperature. Through the combination of biometric, physiological, and productive responses to cultivate Itaim showed greater tolerance to the increase of 4.8 ° C in air temperature. The flowering phase was the most sensitive to temperature increase and water deficit, with a significant reduction in production. Temperature is the determining climatic element for choosing the planting season, because even with 100% water availability, the increase in temperature reduces production. *P5CR* and *TPS6* genes, belonging to different classes of osmoprotectors, were induced in cowpea, cv. Carijó in response to rising temperatures and severe drought.

Keywords: antioxidant enzymes, ROS, abiotic stress, gene expression, gas exchange, *Vigna unguiculata* L.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	12
REVISÃO DE LITERATURA	15
Feijão-Caupi	15
Produção e Importância socioeconômica	20
Clima x Agricultura.....	21
Impactos do aumento da temperatura e do déficit hídrico em plantas	21
Enzimas como mecanismo de defesa aos estresses abióticos	23
Respostas moleculares a altas temperaturas e déficit hídrico	26
Osmoprotetores	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
CAPÍTULO 1	46
RESUMO	46
ABSTRACT	47
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	49
RESULTADO E DISCUSSÃO	50
CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	59
CAPÍTULO 2	63
RESUMO	63
ABSTRACT	64
INTRODUÇÃO	65
MATERIAL E MÉTODOS	66
Determinação do ciclo fenológico.....	67
Parâmetros produtivos e biométricos	67
Análise de parâmetros fisiológicos	67
Atividades de enzimas eliminadoras de EROs.....	68
Análise Estatística	68
RESULTADO	69
Ciclo Fenológico	69
Parâmetros produtivos e biométricos	70
Análise de parâmetros fisiológicos	72
Atividades de enzimas eliminadoras de EROs.....	74

DISCUSSÃO	75
CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS	79
CAPÍTULO 3	83
RESUMO	83
ABSTRACT	84
INTRODUÇÃO	85
MATERIAL E MÉTODOS	86
Parâmetros biométricos e produtivos	87
Determinação da atividade enzimática.....	87
Análise estatística.....	88
RESULTADO E DISCUSSÃO	88
CONCLUSÃO	100
REFERÊNCIAS	101
CAPÍTULO 4	105
RESUMO	105
ABSTRACT	106
INTRODUÇÃO	107
MATERIAL E MÉTODOS	108
RESULTADO E DISCUSSÃO	110
CONCLUSÃO	119
REFERÊNCIAS	120
CAPÍTULO 5	125
RESUMO	125
INTRODUÇÃO	126
MATERIAL E MÉTODO	127
Material vegetal e condições de crescimento	127
Extração de RNA	127
Síntese de cDNA	128
Desenho dos primers	129
Análise da expressão diferencial por RT-qPCR.....	130
RESULTADOS	130
DISCUSSÃO	137
CONCLUSÃO	139
REFERÊNCIAS	140

CONSIDERAÇÕES FINAIS DO PROJETO DE PESQUISA	145
ANEXOS	146

INTRODUÇÃO GERAL

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), é uma leguminosa com grande importância socioeconômica, sendo a principal fonte de proteínas e carboidratos na dieta de grande parte da população mundial, considera-se uma cultura chave na questão da segurança alimentar (CARVALHO et al., 2019). Os maiores produtores de feijão-caupi são a Nigéria, o Niger e o Brasil, que ocupa o terceiro lugar como maior produtor, com 10% em média do total mundial, e engloba na produção os feijões tipo preto, cores e caupi (DERAL, 2020).

No Brasil, de acordo com os dados da Companhia Nacional do Abastecimento -CONAB (2020), a safra 2019/2020 ocupou uma área plantada de 1.307,8 mil hectares, com produção de 712,6 mil toneladas, superior à safra anterior. Seu cultivo é realizado principalmente nas regiões norte e nordeste do país. Contudo, o cultivo do feijão-caupi vem se expandindo para região do centro-oeste. Nos últimos anos, o aumento da produção e a expansão do mercado contribuíram para o cultivo deste grão (VALE et al., 2017).

O Nordeste, apesar de se destacar pela produção de feijão-caupi, ainda apresenta uma baixa produtividade, uma vez que, nesta região, predominam práticas tradicionais de cultivo, com baixo uso de tecnologias (BASTOS, 2017). Além disso, o baixo rendimento também está associado às condições climáticas (SABOYA et al. 2013), seleção de cultivares não tolerantes às condições locais e época de cultivo inadequada (BARROS et al., 2021). No Nordeste, o feijão-caupi é cultivado predominantemente no semiárido, onde prevalecem condições ambientais adversas, com temperaturas elevadas e baixa disponibilidade hídrica (MELO et al., 2018), apresentando temperatura máxima média do ar de 33 °C e precipitação média anual de 464,8 mm (ANGELOTTI et al., 2020; LOPES et al., 2017).

Essas condições ambientais podem se tornar ainda mais adversas, pois projeções realizadas pelo Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC, 2013), apontam para um aumento na temperatura média do planeta de 2,6 (cenário mais otimista) a 4,8 °C (cenário mais pessimista), até 2100. Os especialistas afirmam que este aumento não será uniforme, ocorrendo variações interanuais e regionais, provocando a ocorrência de eventos climáticos extremos, como secas e chuvas intensas (IPCC, 2013). Para o Nordeste, os cenários futuros apontam aumento na estiagem, acarretando maior aridez na região semiárida até final do Século XXI (MARENGO et al., 2011). Essa região será uma das mais afetadas pelas mudanças climáticas globais (IPCC, 2007).

Dentro deste cenário, as plantas estressadas pela seca e calor revelam várias mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares que afetam negativamente seu

desenvolvimento, crescimento e produtividade (TOSCANO, et al., 2016), sendo esses os estresses abióticos que mais limitam a produção agrícola (DJANAGUIRAMAN et al. 2018). No contexto das mudanças climáticas, esses fatores abióticos se tornaram particularmente importantes, devido ao aumento na frequência dos eventos extremos, como ondas de calor e períodos de seca (IPCC, 2014).

Uma das primeiras respostas fisiológicas da planta é uma redução no índice de clorofila, taxa fotossintética e transpiração (PERDOMO et al., 2015; TAIZ et al. 2017). Essa redução prejudica o ajuste osmótico, fazendo com que a planta reduza sua capacidade de tolerar a seca, causando prejuízos e, muitas vezes, o colapso da produção agrícola (BLUM, 2017). Outra resposta das plantas a esses estresses, inclui um aumento no acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem causar danos às células e, dependendo do tempo e da intensidade de exposição, podem causar a morte das plantas (TOSCANO et al. 2016; YI et al. 2016). Contudo, as plantas desenvolveram mecanismos fisiológicos e bioquímicos de defesa, a fim de eliminar o acúmulo destas substâncias.

Os mecanismos fisiológicos, se caracterizam como a primeira linha de defesa das plantas, que se inicia a partir do fechamento estomático, reduzindo a produção de EROs, uma vez que, os processos metabólicos dependentes do oxigênio, aumentam à produção de EROs em mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos, respectivamente (BARBOSA et al., 2014).

Os mecanismos bioquímicos são a segunda linha de defesa, e destaca-se pela remoção das espécies reativas de oxigênio, através das enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX), bem como o guaiacol peroxidase (GPx) (DEUNER et al., 2008; BARBOSA et al., 2014). Outra ferramenta de proteção contra o estresse térmico e hídrico inclui o acúmulo de osmoprotetores, como a prolina e a trealose, comuns em plantas sob déficit hídrico e altas temperaturas, desempenhando papel importante na manutenção das organizações celulares, atividade fotossintética e desintoxicação de espécies reativas de oxigênio, agindo como sinais metabólicos nas condições de estresse (AHMAD et al., 2020).

Genótipos tolerantes ao aumento da temperatura e ao déficit hídrico produzem maior quantidade destas enzimas antioxidantes, como observado para o *Phaseolus vulgaris* L. (BORELLA et al., 2017), *Vigna radiata* L. (MANSOOR; NAQVI, 2013). No Semiárido brasileiro os estudos com o feijão-caupi se restringem a parâmetros de crescimento e desenvolvimento das plantas submetidas a estresses abióticos de forma isolada, não elucidando a resposta de rotas metabólicas e o desenvolvimento de estratégias moleculares envolvidas no processo de tolerância das cultivares, frente às alterações do clima. De maneira que, na

literatura, não existem trabalhos que relatem o efeito da interação do aumento de temperatura x deficit hídrico em genótipos de feijão-caupi, avaliando respostas a nível fisiológico, bioquímico e molecular. Desta forma, a busca por melhores genótipos, mais adaptados, se torna crucial para enfrentar os desafios futuros.

Com isso, objetivou-se com esta pesquisa avaliar como o aumento da temperatura e do deficit hídrico afetam os parâmetros biométricos, produtivos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares de diferentes cultivares de feijão-caupi.

REVISÃO DE LITERATURA

Feijão-Caupi

É uma planta Dicotyledonea, da ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, secção Catyang, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. A subespécie *unguiculata* é subdividida em quatro subgrupos *unguiculata*, *sesquipedalis*, *biflora* e *textilis* (MARÉCHAL et al., 1978; PADULOSI e NG, 1997).

O Centro-Oeste do continente Africano é tido como o centro de origem do feijão-caupi, tendo na Nigéria a maior diversidade genética dessa espécie. O gênero *Vigna* é amplamente distribuído pelos trópicos, com mais de 80 espécies (NG e MARÉCHAL, 1985).

No Brasil são cultivados os subgrupos *unguiculata*, para produção de grão seco e feijão-verde, e o *sesquipedalis*, conhecido como feijão-de-metro, para produção de vagem. No país, existem várias denominações para o feijão-caupi, que muda de acordo com cada região: feijão macassar ou feijão-de-corda no Nordeste; feijão-de-praia, feijão-da-colônia, feijão-de-estrada, na região Norte; feijão-miúdo, na região Sul; e feijão-fradinho nos estados da Bahia, Sergipe e Rio de Janeiro (TEIXEIRA et al., 1988; FREIRE FILHO et al., 2011).

O feijão-caupi é uma espécie autógama, herbácea e anual (SINGH et al., 2002), considerada rústica, com ampla capacidade de adaptação e de alto potencial produtivo, características que lhe tornam uma cultura de grande valor (VALE et al., 2017). A cultura apresenta seu ciclo fenológico dividido em duas fases: fase vegetativa e fase reprodutiva (OLIVEIRA et al., 2018) (Tabela 1) e (Figura 1).

Tabela 1: Descrição do desenvolvimento fenológico de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp).

V0	Germinação	} Fase Vegetativa
V1	Emergência	
V2	Folhas primárias	
V3	Primeira folha composta aberta	
V4	Terceira folha trifoliada aberta	
R5	Pré-floração	} Fase Reprodutiva
R6	Floração	
R7	Formação de vagens	
R8	Enchimento das vagens	
R9	Maturação	

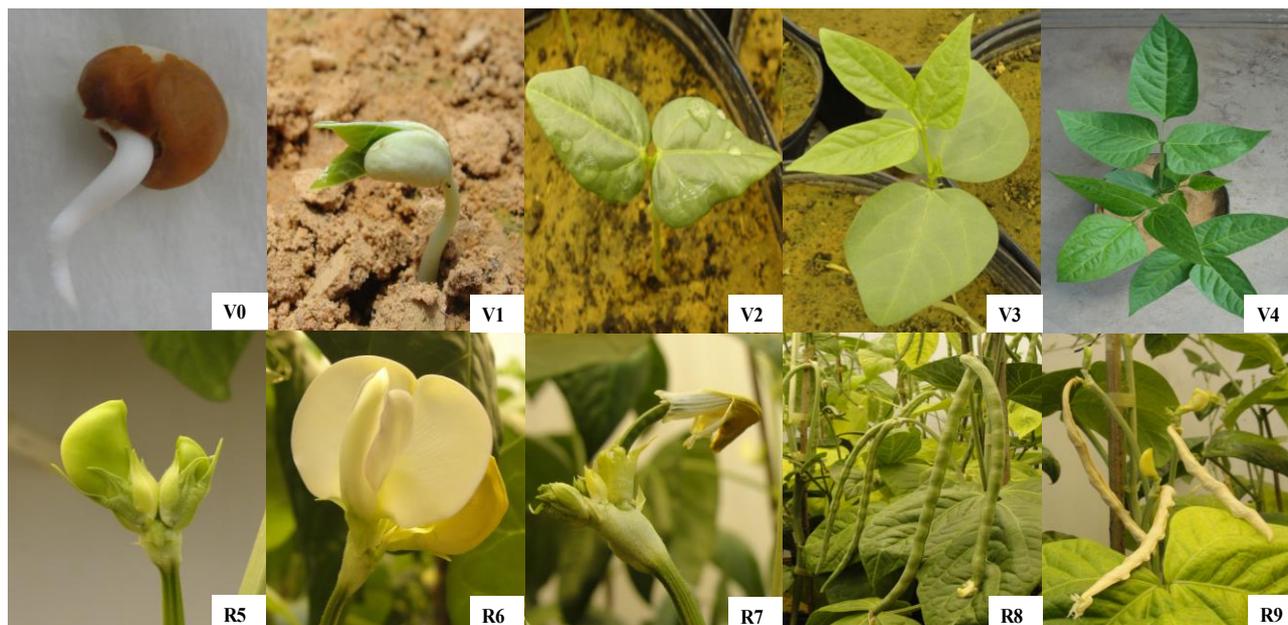


Foto: Barros, J.R.A

Figura 1: Ciclo fenológico do feijão-caupi: **V0**- Germinação; **V1** - Emergência; **V2**- Folhas primárias; **V3** - Primeira folha composta aberta; **V4** - Terceira folha trifoliada aberta; **R5** - Pré-floração; **R6** - Floração; **R7** - Formação de vagens; **R8** - Enchimento das vagens; **R9** – Maturação.

Cada fase tem um tempo de duração diferente, que irá depender da cultivar, uma vez que cada genótipo apresenta um ciclo de crescimento distinto (FREIRE FILHO et al., 2011) (Tabela 2). Apesar do feijão-caupi se desenvolver em uma ampla faixa de temperatura e pouca disponibilidade hídrica, a intensidade e duração desses fatores abióticos afetam o crescimento e desenvolvimento nos diferentes estádios fenológicos da planta (BASTOS et al., 2017; VALE et al., 2017; SEHGAL et al., 2018). De acordo com Vale et al. (2017), o feijão-caupi se desenvolve em uma faixa ampla de temperatura, entre 18 e 37°C, sendo que faixa ideal de temperatura para a germinação da cultura de 23 a 32,5°C (SANTOS, 2011). Temperaturas ao redor de 35°C, provoca o abortamento de flores, diminuindo o rendimento final de sementes (KUMAR et al., 2016). A quantidade de água necessária para o feijão-caupi pode variar de 300 a 450 mm, que deve ser adequadamente distribuído para atender aos requisitos de cada estágio fenológico (FREIRE FILHO et al., 2011).

O ciclo do feijão-caupi, pode ser classificado em: ciclo curto (quando a maturidade é atingida até 60 dias após o plantio); ciclo médio (quando a maturidade é atingida entre 60 e 90 dias após o plantio); e ciclo tardio (quando a maturidade é atingida após 90 dias do plantio) (PAIVA et al., 1972). Porém, Freire Filho et al. (2011) propuseram as seguintes alterações: ciclo super precoce (quando a maturidade é atingida até 60 dias após o plantio); ciclo precoce (quando a maturidade é atingida entre 61 e 70 dias após o plantio); ciclo médio (quando a

maturidade é atingida entre 71 e 90 dias após o plantio) e, por fim, ciclo tardio (quando a maturidade é atingida a partir de 91 dias após o plantio) (Tabela 2).

A arquitetura do feijão-caupi é o resultado da interação de vários caracteres: hábito de crescimento (Tabela 2); comprimentos do hipocótilo, epicótilo, entrenós, ramo principal e secundário e pedúnculo; disposição dos ramos laterais em relação ao ramo principal, disposição dos pedúnculos em relação à copa da planta; e consistência dos ramos (VALE et al., 2017). O número de nós do ramo principal tem importância na eficiência reprodutiva do feijão-caupi (UMAHARAN et al., 1997). Os genótipos eretos apresentam o crescimento determinado (Tabela 2), sendo o comprimento do ramo principal menor e a maturação uniforme, promovendo apenas uma colheita, porém com maior rendimento por área. Os programas de melhoramento genético que visam à obtenção de cultivares com maior produtividade de grãos devem considerar o comprimento e o número de nós do ramo principal como critérios de seleção, pois esses dois caracteres interagem na arquitetura da planta, proporcionando maior produção de grãos por planta ou maior produtividade (MATOS FILHO et al., 2009).

Tabela 2. Características de diferentes cultivares de feijão-caupi.

Cultivares	Características	Hábito de crescimento	Porte	Dias do plantio à floração	Ciclo total
BRS Acauã	cultivar tipo “canapu”, recomendada para áreas irrigadas e de sequeiros	crescimento indeterminado	semi-ramandar	a floração se inicia em média com 39 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 60-65 dias
BRS Carijó	cultivar do grupo fraldinha, recomendada para áreas irrigadas e de sequeiros.	semi-determinado	ereto	a floração se inicia em média com 36 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 60-65 dias
BRS Guariba	recomendada para o cultivo em sequeiro, apresenta resistência ao acamamento, facilitando a colheita mecânica	indeterminado	ereto	a floração se inicia em média com 41 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 65-70 dias
BRS Gurguéia	recomendada para áreas irrigadas e de sequeiros	indeterminado	enramador	a floração se inicia em média com 43 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 75 dias
BRS Itaim	grãos fradinhos, bem formados e com excelente apelo visual recomendada para áreas irrigadas e de sequeiros	determinado	ereto	a floração se inicia em média com 35 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 60-65 dias
BRS Juruá	recomendada para áreas irrigadas e de sequeiros	indeterminado	semi-prostrado	a floração se inicia em média com 43 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 75-80 dias
BRS Pajeú	recomendada para áreas irrigadas e de sequeiros, padrão de preferência de uma grande faixa de consumidores	indeterminado	semi-prostrado	a floração se inicia em média com 39 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 70-75 dias

BRS Potengi	recomendada para cultivo em regime de sequeiro e irrigado	indeterminado	semiereto	a floração se inicia em média com 39 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 70-75 dias
BRS Pujante	recomendada para cultivo em regime de sequeiro e irrigado, indicada para consórcio com fruteiras irrigadas	indeterminado	semi-ramador	a floração se inicia em média com 48 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 70 dias
BRS Rouxinol	recomendada para cultivo em regime de sequeiro e irrigado	indeterminado	semiereto	a floração se inicia em média com 45-55 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 65-70 dias
BRS Tapahium	recomendada para cultivo em condições irrigadas e de sequeiro, devido a sua precocidade é altamente indicada para consórcio com fruteiras	semi-determinado	ereto	a floração se inicia em média com 36 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 54 dias
BRS Tumucumaque	cultivar melhorada recomendada para cultivo em condições irrigadas e de sequeiro, resistente ao acamamento, facilitando a colheita	indeterminado	semiereto	a floração se inicia em média com 43 dias após o plantio	ciclo médio em torno de 65-70 dias

*As cultivares presentes na tabela 2, foram as mesmas utilizadas nos experimentos deste projeto tese.

As cultivares, apesar de serem da mesma espécie, possuem características distintas que devem ser levadas em consideração no momento da escolha, uma vez que, irão refletir na produção final da cultura (BARROS et al., 2021).

Produção e Importância socioeconômica

Os maiores produtores de feijão-caupi são a Nigéria e o Níger, as duas nações respondem por 69% do total mundial do feijão caupi seco, ocupando o primeiro e segundo lugar, respectivamente (DERAL, 2020). No Brasil, que ocupa a terceira posição como maior produtor mundial, de acordo com dados da Companhia Nacional do Abastecimento CONAB (2020), a safra 2019/2020 ocupou uma área de 1.307,8mil hectares, com produção estimada em 712,6 mil toneladas.

A produção de feijão-caupi concentra-se nas regiões Nordeste e Norte e está se expandindo para a região Centro-Oeste, principalmente para o estado de Mato Grosso. Apesar de o Brasil ocupar a terceira posição mundial na produção de feijão-caupi, esta apresenta baixa produtividade média, principalmente na Região Nordeste. Segundo Matos Filho et al. (2009), as causas da baixa produtividade no Nordeste estão associadas a problemas climáticos como: escassez e irregularidade das chuvas; a problemas de fertilidade do solo, condições de cultivo não satisfatórias, ao baixo nível tecnológico empregado em seu cultivo, uma vez que grande parte da produção está ligada a pequenos e médios produtores, que geralmente utilizam cultivares tradicionais, sementes de baixa qualidade e limitado uso de tecnologia.

No Nordeste, a produção concentra-se no semiárido, que apresenta irregularidade das chuvas e altas temperaturas. Nesta região a produção foi de 180.436 t, a produtividade média de 253 Kg/há, com 714.183 há de área plantada (IBGE, 2017).

Esta cultura possui grande importância socioeconômica por ser a fonte de proteína mais acessível a parcela carente da população. Além de ser um dos principais componentes da dieta alimentar, contribui com a geração de emprego e renda, tanto na zona rural, quanto na zona urbana (LIMA et al., 2007). A grande diversidade na utilização dessa espécie, aliada ao seu alto potencial produtivo, tem proporcionado o aumento de pesquisas, nos últimos anos, as quais têm contribuído para melhorar a sua produtividade e rentabilidade, que, em conjunto com outros fatores, vêm despertando o interesse de médios e grandes produtores pela cultura (XAVIER et al., 2005). O feijão-caupi destaca-se por apresentar maior capacidade de adaptação quando comparado a outras culturas, possui alto potencial produtivo e excelente valor nutritivo, características que o tornam atraente a programas de melhoramento (VALE et al., 2017; SINGH

et al., 2002), e relevante para a segurança alimentar, principalmente frente às mudanças climáticas globais (CARVALHO et al., 2019).

Clima x Agricultura

Estudos sobre a interação entre o clima e a produção agrícola são de grande importância e, devido às mudanças climáticas, esta interação vem gerando preocupação a nível mundial. Isso ocorre, pois, apesar dos avanços tecnológicos existentes, ainda há impactos negativos do clima sobre a produtividade, sendo bastante complexa a relação entre os elementos climáticos e a produção agrícola (SENTELHAS e MONTEIRO, 2009). A redução da produtividade e de áreas favoráveis à produção agrícola, além do aumento da incidência de pragas e doenças, caracterizam algumas das consequências das alterações climáticas na agricultura (CHALLINOR et al., 2014).

As mudanças climáticas referem-se a qualquer alteração do clima ao longo do tempo, seja devido à variabilidade natural, ou como resultado da atividade humana. De acordo com o relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC), houve um aumento na concentração dos gases do efeito estufa desde 1750, devido à queima excessiva de combustíveis fósseis, o mal uso da terra, por meio de desmatamentos e queimadas, entre outros. O aquecimento causado por esses gases aumenta a probabilidade de alterações nos padrões de precipitação com impactos graves sobre a biodiversidade, os recursos hídricos, os recursos da terra, a agricultura, entre outros aspectos (IPCC, 2014).

Segundo o relatório do IPCC (2007), no Brasil, a região semiárida será uma das mais afetadas pelas mudanças climáticas globais, devido ao menor índice de desenvolvimento social e econômico, com grande parte da população desenvolvendo atividades agrícolas, com baixo grau de tecnificação e elevada dependência da disponibilidade de recursos naturais. Os cenários futuros apontam aumento na estiagem, acarretando maior aridez na região semiárida até final do Século XXI (MARENGO et al., 2011). A elevação na temperatura do ar tende a aumentar a deficiência hídrica no semiárido, afetando consideravelmente o consumo humano e animal de água, bem como as atividades dependentes de chuva.

Impactos do aumento da temperatura e do deficit hídrico em plantas

Os elementos climáticos, como temperatura, pluviosidade, umidade e radiação solar, são fatores que influenciam na produtividade agrícola, e podem afetar o desenvolvimento e o crescimento das plantas em diversas fases do ciclo da cultura (ALVES et al., 2010). Assim, as

mudanças no regime térmico e hídrico poderão causar impacto no metabolismo das plantas, resultando em variações no padrão de crescimento e desenvolvimento e consequente, na produção. Isto porque, o crescimento das plantas resulta de uma complexa cadeia de eventos, que estão relacionados à produção fotossintética, consumo de fotoassimilados e eficiência de utilização da água e nutrientes (BUENO et al., 2012; PRADO et al., 2007; RIBEIRO e MACHADO, 2007).

A temperatura e deficit hídrico são fatores limitantes para a produção agrícola, uma vez que, exercem influência direta sobre as culturas, desde a germinação das sementes até a produção final, pois estão relacionados diretamente com os processos fisiológicos (SINSAWAT et al., 2004; FLEXAS et al., 2004) que podem reduzir a fotossíntese, fonte primária dos carboidratos utilizados no crescimento e na manutenção da planta (RIBEIRO e MACHADO, 2007).

A redução na fotossíntese se dá pela diminuição na condutância estomática, devido ao fechamento dos estômatos, que pode ser induzido pelo ácido abscísico (ABA) considerado um hormônio do estresse. Quando a planta se encontra desidratada, ocorre um aumento nos níveis do ABA, que por sua vez, induz a expressão de múltiplos genes envolvidos na defesa contra os efeitos dos estresses abióticos e após ultrapassar certos níveis, o ABA provoca o fechamento estomático para evitar a perda de água. (BARTELS e SOUER, 2003; HIRT, 2003).

Contudo, essa redução acarretará na diminuição da transpiração e concentração interna de CO₂ limitando a quantidade de gás carbônico requerida para a fotossíntese (OLIVEIRA et al., 2005), causando prejuízos e, muitas vezes, o colapso da produção agrícola em caso de secas severas (MENDES et al., 2007; SANTOS et al., 2009; PEIXOTO, 2011). Além disso, a redução da fotossíntese também pode prejudicar o ajuste osmótico (BLUM, 2017).

Quando há uma limitação na concentração de CO₂, fatores relacionados ao metabolismo do carbono e à atividade bioquímica são afetados (DAMOUR et al., 2008), como a atividade da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). Nas plantas C₃, como o feijão-caupi, a Rubisco possui duas atividades enzimáticas, podendo atuar como carboxilase, quando fixa CO₂ ou oxigenase quando fixa O₂. Desta forma, o CO₂ e o O₂ competem pelo sítio catalítico da enzima. Portanto, quando há uma redução nos níveis de [CO₂] e a concentração de oxigênio aumenta, atividade oxigenativa da Rubisco é favorecida, iniciando-se o processo de fotorespiração. Isso ocorre geralmente quando há um aumento na temperatura e situações de deficiência hídrica, pois os estômatos fecham limitando a entrada CO₂ (TAIZ et al., 2017). Tolerar os efeitos negativos dos estresses abióticos no crescimento e na produtividade das

plantas exigirá, entre outros, a capacidade de avaliar a maneira como esses estresses afetam a fotossíntese e interpretar as respostas das plantas corretamente (URBAN et al., 2017).

Expor as plantas a estresses abióticos, além de alterações fisiológicas, o aumento de temperatura e déficit hídrico, também podem causar alterações bioquímicas, como o aumento da produção das espécies reativas de oxigênio (EROs). Como defesa, as células das plantas e suas organelas, como cloroplastos, mitocôndrias, vacúolo, citosol, parede celular e peroxissomos empregam um sistema de defesa antioxidante (BARBOSA et al., 2014).

Além disso, em decorrência de seca severa, a planta perde a habilidade de manter o equilíbrio entre a captação e perda de água, já que os níveis de água tanto no solo quanto nas células são baixos. Como mecanismo de tolerância, as plantas devem evitar a dessecação celular, seja impedindo o efluxo ou promovendo o influxo de água. O primeiro caso ocorre devido ao espessamento da parede celular e o segundo é resultado do acúmulo de solutos na célula, que reduz o potencial osmótico (Ψ_s), no processo de ajustamento osmótico (ZHANG et al., 1999). Esses solutos são denominados solutos compatíveis, osmólitos compatíveis ou osmoprotetores e podem ser acumulados em grandes quantidades, não interferindo no metabolismo celular, além de apresentarem outras funções protetoras (YANCEY et al., 1982).

Aminoácidos como prolina, compostos quaternários, glicinabetaína e poliaminas, e uma variedade de açúcares e álcoois de açúcar, como manitol, trealose, galactinol e rafinose, estão entre os principais solutos compatíveis acumulados durante o estresse (MAHAJAN e TUTEJA, 2005).

A avaliação das alterações morfológicas e fisiológicas em função do déficit hídrico e aumento de temperatura podem indicar mecanismos de tolerância aos estresses. Por isso, os programas de melhoramento genético para condições de estresse têm seu foco direcionado para características como maior eficiência no uso da água, maior atividade do sistema antioxidativo e alta capacidade de ajustamento osmótico (CAVATTE et al., 2011).

Enzimas como mecanismo de defesa aos estresses abióticos

As plantas estão expostas a uma variedade de estresses abióticos que alteram seu metabolismo e desenvolvimento, com respostas a nível molecular e celular (Flowers et al., 2000; Zhu, 2002). Estas respostas compreendem tanto as variações nos parâmetros fisiológicos (condutância estomática, taxa de transpiração e fotossíntese) (FREIRE et al., 2014), biométricos (altura, número de folhas, diâmetro, área foliar) (AQUINO et al., 2007) e bioquímicos (solutos osmorreguladores, enzimas antioxidantes) (BARBOSA et al., 2014; MONTEIRO et al., 2014), quanto a nível molecular (expressão gênica).

Em situação de estresse as plantas aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) no metabolismo celular. As EROs são um produto comum do metabolismo de plantas, porém, estas moléculas são produzidas de forma exagerada em situações adversas (DEMIDCHIK, 2015). A atuação nociva se inicia apenas quando a produção de espécies reativas ultrapassa a capacidade de metabolização do sistema antioxidativo presente nas células. Assim, atualmente, as EROs foram consideradas como parte funcional do sistema de sinalização de plantas (MITTLER, 2011).

As EROs são formadas pela redução parcial do oxigênio molecular (O_2), com dois átomos de oxigênio, o O_2 é reduzido por quatro elétrons transportados ao longo da cadeia respiratória, gerando duas moléculas de água. Todavia, uma pequena parcela dos elétrons escapa da cadeia respiratória, resultando em uma redução parcial do oxigênio molecular, levando à produção de espécies reativas de oxigênio (SOARES e MACHADO, 2007).

Entre as principais EROs que causam danos celulares, destacam-se o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila (OH^{\bullet}) e as formas não-radicaís (moleculares) peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete (1O_2) (BRAY et al., 2000, PASTORI e FOYER, 2002, GILL e TUTEJA, 2010).

A acumulação de EROs pode ser altamente tóxica a célula. Em condições normais, a produção de espécies reativas é pequena em células de plantas, cerca de $240 \mu M s^{-1} O_2^{\bullet-}$, porém em situações de estresse, como o déficit hídrico, a produção pode triplicar, chegando a $720 \mu M s^{-1} O_2^{\bullet-}$ (MITTLER, 2002). E essas espécies reativas de oxigênio podem reagir com a maioria das moléculas orgânicas, resultando em estresse oxidativo.

Em situações de déficit hídrico a acumulação de EROs e o consequente estresse oxidativo podem reduzir a capacidade de germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas (BAILLY, 2004). Portanto, a eficiência do sistema de metabolização de espécies reativas de oxigênio faz parte dos mecanismos de tolerância de sementes ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial.

Em resposta ao acúmulo de EROs, as plantas acionam mecanismos de defesa, que podem ser enzimáticos ou não-enzimáticos e juntos compõe o sistema antioxidativo. A capacidade de desempenhar o mecanismo de defesa antioxidativa é fundamental para as plantas prevenirem os danos causados pelo estresse oxidativo extremo (SAHER et al., 2004; DEWIR et al., 2006). Segundo Mittler (2002), o superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a peroxidase do ascorbato (APX) e a guaiacol peroxidase (GPx) são as enzimas presentes nas principais rotas de metabolização de espécies reativas de oxigênio em plantas.

As SODs são consideradas enzimas chave dentro do sistema antioxidante de defesa vegetal, pois regulam a concentração celular tanto do superóxido quanto do peróxido de hidrogênio (VAN BREUSEGUEM et al., 2001). Estas proteínas pertencem ao grupo metaloenzimas que protegem a célula dos radicais superóxidos, catalizando a dismutação de dois radicais $O_2^{\bullet-}$, gerando H_2O_2 e O_2 . Essas enzimas participam da modulação do nível de H_2O_2 em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos (MITTLER, 2002; BHATTACHARJEE, 2010). Uma vez que dismutam o $O_2^{\bullet-}$, agem indiretamente na redução do risco de formação do OH^{\bullet} a partir do $O_2^{\bullet-}$ (DUBEY, 2011; DINAKAR et al., 2012). As SODs são classificadas de acordo com seus cofatores metálicos: cobre e zinco (Cu/ZnSOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD) (GILL e TUJETA, 2010). Em geral, as plantas contêm uma Mn-SOD localizada na matriz mitocondrial e uma Cu/Zn-SOD citosólica, com Fe-SOD e/ou Cu/ZnSOD, presentes no estroma do cloroplasto. O número de isoenzimas de cada tipo de SOD varia muito de planta para planta, assim como a abundância relativa de cada enzima (BOWLER et al., 1992).

A CAT é uma das principais enzimas responsáveis pela eliminação do H_2O_2 gerado durante a fotorrespiração e a β -oxidação dos ácidos graxos (BARBOSA et al., 2014), além de converter duas moléculas de H_2O_2 em H_2O e oxigênio molecular e está presente nos peroxissomas e glioxissomas (HELDT e HELDT, 2005; DUBEY, 2011). As plantas possuem várias isoformas de CAT, as quais podem converter diretamente o H_2O_2 ou oxidar substratos, tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico (BREUSEGEM et al., 2001). A catalase e o ciclo do ascorbato-glutationa são importantes na eliminação do H_2O_2 e, apesar de suas propriedades e requisitos serem diferentes, podem funcionar efetivamente em paralelo. Como a CAT opera sem agente redutor, ela fornece às plantas uma forma energeticamente eficiente para remoção do H_2O_2 (SHARMA et al., 2012). A atividade da CAT nas mitocôndrias e peroxissomos é efetiva, principalmente, em concentrações relativamente altas de H_2O_2 (mM), por isso são consideradas indispensáveis para a desintoxicação de EROs, especialmente em condições de estresse severo, quando os níveis de H_2O_2 estão maiores (DUBEY, 2011).

A APX (enzima ascorbato peroxidase) é uma enzima importante no processo de eliminação de H_2O_2 no citosol e nos cloroplastos (CARVALHO et al., 2014) sendo considerada a segunda linha de frente de detoxificação de EROs, em conjunto com a CAT (MITTLER et al., 2004). Essa enzima utiliza ascorbato como seu doador de elétrons para reduzir H_2O_2 à água, fazendo parte do ciclo ascorbato-glutationa.

As isoenzimas de APX são distribuídas em pelo menos quatro compartimentos celulares distintos: mitocôndria (miAPX), citosol (cAPX), peroxissomo/glioxissomo (mAPX) e nos

cloroplastos (chlAPX). No entanto, nos cloroplastos, a APX ocorre em duas isoformas: a forma da membrana tilacóide (tAPX) e a forma solúvel no estroma (sAPX). A APX da membrana dos tilacóides e a estromal estão envolvidas na eliminação do H_2O_2 produzido pela fotossíntese e a mAPX e a miAPX eliminam o H_2O_2 pela fotorrespiração e pela respiração, respectivamente. A função fisiológica da cAPX é de proteção das plantas sob várias condições de estresse (SHIGEOKA et al., 2002).

A APX e a CAT são enzimas importantes dentre os componentes de detoxificação do H_2O_2 (BHATT e TRIPATHI, 2011). A ação da CAT e das peroxidases destaca a diferença básica entre as duas principais rotas metabólicas do H_2O_2 nas células. A remoção de H_2O_2 por peroxidases requer uma pequena molécula redutora (ou proteínas como o citocromo c ou tioredoxina) para agir como um co-fator de regeneração e não leva à evolução de O_2 , porque a água é o produto da reação (MHAMDI et al., 2012).

As peroxidases geralmente reagem com compostos contendo grupos hidroxila ligados a anéis aromáticos e atuam na lignificação, suberização e em outros pontos do metabolismo da parede celular vegetal. O guaiacol peroxidase (o-metoxi fenol) é comumente usado como substrato para a medição da atividade peroxidásica (HIRAGA et al., 2001).

A enzima guaiacol peroxidase (GPX) oxida uma molécula de guaiacol para cada molécula de H_2O_2 que é reduzida. A reação global ocorre com a utilização de quatro moléculas de guaiacol que se tetramerizam, levando a redução de quatro moléculas de H_2O_2 , com formação de água, oxigênio molecular e um composto formado pelas 4 moléculas de guaiacol.

A caracterização do estresse abiótico tem se tornado um tema importante na seleção de materiais resistentes às condições agroclimáticas adversas (BELKO et al., 2013). Para feijão-caupi, um dos principais componentes da dieta alimentar nas regiões Nordeste e Norte do Brasil, a seleção de cultivares adaptadas ao aumento da temperatura e ao déficit hídrico poderá contribuir para mitigar os efeitos deletérios à planta, garantindo a sustentabilidade do cultivo. Além disso, o estudo dos mecanismos associados à percepção, resposta e adaptação a estresses abióticos é de importância primordial para o melhoramento, engenharia genética e criação de cultivares elite (PANDEY, 2015).

Respostas moleculares a altas temperaturas e déficit hídrico

Os programas de melhoramento genético vêm investindo na busca de genes capazes de adicionar características de tolerância a estresses ambientais para que novas cultivares possam ser desenvolvidas. Muitos estudos têm identificado uma complexa rede de respostas gênicas envolvidas, desde a percepção e reconhecimento do sinal do estresse, até a ativação dos genes

induzidos pelo estresse (MENEZES-BENAVENTE et al., 2004; CHEN et al., 2007; PENG et al., 2007; TODAKA et al., 2012).

Os crescentes estudos de análise de expressão gênica, em diversas espécies sob condições específicas, vêm propiciando o acúmulo de informações que permitem o melhor entendimento de processos celulares e fisiológicos. Técnicas como a construção de bibliotecas de cDNA, micro ou macroarranjos de DNA, SAGE (*Serial Analysis of Gene Expression*) (VELCULESCU et al., 1995) e o RNA-Seq (WANG et al., 2009), constituem fonte primária para análises da regulação transcricional dos genomas.

Esses métodos, porém, requerem uma etapa adicional de refinamento e validação para a confirmação dos resultados, e dentre os mais utilizados, a qPCR (*Polymerase Chain Reaction* - quantitativa em tempo real) se destaca pela simplicidade, alta sensibilidade, praticidade e exatidão (UDVARDI et al., 2008).

As células vegetais são estimuladas pelo estresse e sinalizam respostas via hormônios vegetais, mensageiros secundários, transdutores de sinal e reguladores de transcrição, que irão coordenar o crescimento e desenvolvimento das plantas em meio ao estresse (DANQUAH et al., 2014). Esses estímulos ativam os genes que codificam proteínas e enzimas diretamente envolvidas no metabolismo do estresse, contribuindo para resposta de aclimação a um dado estímulo (CASARETTO et al., 2016).

Essas proteínas induzem uma cascata de sinalização que se traduzem em respostas bioquímicas e fisiológicas como o fechamento estomático, redução do crescimento celular e da atividade fotossintética e a respiração. Assim, quando uma planta é submetida a estresse, tende a promover, prioritariamente, à síntese de proteínas relacionadas às respostas ao estresse (YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2007).

Os genes induzidos durante o déficit hídrico podem atuar na proteção das células contra a deficiência de água, por meio da produção de importantes proteínas metabólicas, do ajuste do potencial osmótico, assegurando assim, a manutenção do turgor na célula e regulação de genes alvos (TODAKA et al., 2012). Essas proteínas metabólicas estão relacionadas à síntese de glutamina, que age no metabolismo do nitrogênio catalisando, por meio do uso de moléculas de ATP, a condensação de amônio e glutamato em glutamina, além de possuir a função na regulação das concentrações de prolina, um osmoprotetor, que possui função no ajuste da pressão osmótica celular, na detoxificação de EROs, preservação da integridade de membranas e estabilização de enzimas e proteínas (DAR et al., 2016).

A síntese da prolina é controlada pelo gene *P5CS2*, quando a planta está sob estresse, o acúmulo de prolina é aumentada nos cloroplastos e é controlada principalmente pelo gene *P5CS1* (SZÉKELY et al., 2008). Além da prolina, a trealose também é um osmoprotetor, que protege as células expostas a temperaturas, capaz de estabilizar proteínas e membranas biológicas, ainda que submetida a variadas condições de estresse (HASANUZZAMAN et al., 2010). Esses osmoprotetores, são substâncias hidrofílicas orgânicas de baixo peso molecular, que auxiliam na manutenção da turgidez celular e preserva a integridade de enzimas, proteínas, macromoléculas e membranas (SILVA et al., 2009; MAJUNDER et al., 2010; ASHRAF et al., 2011).

A identificação de genes específicos tem sido realizada principalmente por análises de transcriptoma em diferentes espécies de plantas submetidas a tratamentos de estresse como calor, frio e seca (MIR et al., 2012). Essas análises revelam genes envolvidos na regulação e aclimatação de plantas para os vários estresses abióticos, sugerindo potenciais alvos relacionados à tolerância ao estresse para o melhoramento (KUMAR et al., 2015; SUZUKI et al., 2016). Essa identificação genética é essencial a bioinformática, um ramo multidisciplinar das ciências, que une áreas da informática, biologia, estatística, química e física. Com a bioinformática é possível ‘desvendar’ os genomas de plantas de interesse socioeconômico, como feijão-caupi, a partir da análise de suas sequências com ferramentas e programas específicos. Com esta ferramenta, é possível comparar genes de organismos relacionados, traçar perfis de expressão de genes e vias de interesse, fazer predições da estrutura e função de proteínas. As informações conseguidas através da bioinformática são essenciais na prospecção de culturas com características específicas de resistência e/ou tolerância aos estresses abióticos (NOGUEIRA, 2012).

Osmoprotetores

As plantas, quando expostas a diferentes estresses ambientais, respondem através da síntese e acúmulo de solutos compatíveis, que atuam como osmoprotetores, a fim de neutralizar os efeitos deletérios, podendo conferir tolerância a diversas espécies. Os osmoprotetores são compatíveis com a função celular e servem para estabilizar as proteínas e estruturas celulares e/ou manter a turgescência das células por meio de um equilíbrio da pressão osmótica, sem comprometer processos celulares (AHMAD et al., 2020).

Quanto a classificação, os osmoprotetores podem ser classificados em quatro principais classes: os açúcares, os polióis, os aminoácidos e as aminas quaternárias (GALINSKI, 1995). O acúmulo desses solutos previne a perda de água e mantém a pressão de turgor da célula em

níveis essenciais para o crescimento. Dentre os solutos compatíveis mais comuns em plantas, destacam-se sacarose, prolina, glutamato, glutamina e trealose.

A prolina pode ser sintetizada no glutamato, a partir do ácido glutâmico via pirrolina-5-carboxilato intermediário (P5C) no citoplasma ou cloroplasto (TROVATO et al., 2008; SHARMA, 2010). As principais enzimas nesta reação são pirrolina-5-carboxilato sintetase (P5CS) e pirrolina-5-carboxilato redutase (P5CR) (SEKHAR et al., 2007).

Trabalho realizado por Signorelli et al. (2014) mostraram que a prolina atua como um detoxificador de EROs, mais especificamente de OH em plantas submetidas à estresse, onde pelo menos 2 OH são consumidas por molécula de prolina, diminuindo os danos provocados pela OH, uma vez que esse radical é o mais reativo dentre as EROs. Inúmeros estudos demonstram a prolina como molécula chave para a compreensão das respostas a estresses abióticos (DAR et al., 2016), pois ela é sintetizada e acumulada em várias espécies submetidas à estresses.

As células vegetais têm potencial para acumular prolina rapidamente e degradá-la rapidamente quando necessário (TROVATO et al., 2008). Durante a biossíntese de prolina, o produto de conversão P5C pode causar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e indução de apoptose, quando quantidades indevidas são acumuladas (HELLMANN et al., 2000; SZÉKELY et al., 2008). Portanto, as plantas precisam degradá-lo rapidamente assim que o estresse for aliviado. O catabolismo da prolina ocorre na mitocôndria por meio da ação incessante da prolina desidrogenase (PDH) ou prolina oxidase (POX), produzindo P5C a partir da prolina e P5C desidrogenase (P5CDH), que converte P5C em glutamato (SZABADOS e SAVOURE, 2009).

Segundo Manivannan et al. (2007) o acúmulo de prolina é considerado como um importante parâmetro de seleção de plantas resistentes aos estresses. De fato, evidências do envolvimento direto da prolina durante o estresse osmótico foram fornecidas por abordagens sobre transgênicos, conforme relatam Meneses et al. (2006), na manipulação da biossíntese de prolina em tabaco, arroz e *Arabidopsis*. Maggio et al. (2002) defendem que, a prolina pode atuar como molécula sinalizadora e reguladora, capaz de ativar respostas múltiplas que são componentes do processo de aclimação.

Outro composto que desempenha funções protetoras em condições de estresse é a trealose. A mesma ocorre numa grande variedade de organismos, desde bactérias a animais invertebrados, onde serve como uma fonte de energia ou “stress protetor”. Além destes, foi

verificado que algumas plantas, principalmente as tolerantes a dessecação, também possuem a capacidade de sintetizar trealose (MULLER et al., 1999; WINGLER, 2002).

A trealose é um dissacarídeo não redutor formado por dois resíduos de D-glicose que são ligados por átomos de carbono alfa reduzidos. Na primeira etapa de formação da trealose ocorre a condensação da uridina 5'- α -D-glicopiranosil pirofosfato (UDP glicose) e glicose-6-fosfato pela ação da trealose-6-fosfato sintase (tps1). Essa enzima transfere o resíduo glicosil do UDP para a glicose-6-fosfato formando a trealose-6-fosfato. Na segunda etapa, a trealose-6-fosfato é defosforilada por uma fosfatase específica (trealose-6-fosfato-fosfatase/tps2) para produzir a trealose (SAMPEDRO e URIBE, 2004). Acredita-se que a principal função da trealose pode não ser atuar como reserva de energia e carbono, mas proteger contra estresses como desidratação (FRANÇA et al., 2007), dessecação (LIU, et al., 2005), congelamento, estresse térmico (HOTTINGER et al., 1987), estresse osmótico (HOUSA, et al., 1998), produtos químicos como metanol e peróxido de hidrogênio (BENAROUDJ, et al., 2001), NaCl (MAHMUD et al., 2009) e cobre (ATTFIELD, 1987). Também foi observado que a trealose protege indiretamente a enzima superóxido dismutase (SOD) e/ou elimina diretamente as EROs em plantas (LUO et al., 2008).

O papel protetor da trealose pode ser melhor entendido considerando o caso da dessecação. Em geral, as membranas biológicas quando são desidratadas, perdem sua integridade estrutural e funcional. Contudo, se a desidratação é realizada em presença de trealose estes danos não ocorrem, provavelmente porque a trealose interage com fosfolípidos formando pontes de hidrogênio com seus grupos OH e os grupos fosfatos (LIU, et al., 2005). As moléculas de trealose possuem características que às possibilitam substituir o reservatório de água em torno de macromoléculas, prevenindo assim efeitos prejudiciais durante estresses por altas temperaturas e/ou secagem. Uma das características que conferem o papel “protetor” deste composto à estresses abióticos é a alta temperatura de transição vítrea, o que conduz à formação de vidros estáveis durante a secagem. Assim, este estado vítreo pode segurar biomoléculas de uma forma que lhes permite voltar a sua estrutura nativa e, por conseguinte, ser totalmente funcional após uma reidratação (FRANÇA et al., 2007).

Considerando que a expressão de um gene está condicionada a fatores transcricionais e pós-transcricionais que dependem do grau de desenvolvimento e diferenciação celular, bem como da resposta a estímulos externos (ALBERTS et al., 2010), uma abordagem adequada para identificação desses genes candidatos seria a análise da expressão gênica diferencial. Nesse contexto, genes cuja expressão é significativamente alterada durante períodos de estresses,

presumivelmente desempenham uma ação importante para a sobrevivência do organismo em condições adversas. Nesse sentido, há a necessidade de estudos voltados para expressão gênica, avaliando respostas das plantas de feijão-caupi submetidas à combinação de estresses abióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, F.; SINGH, A.; KAMAL, A. Osmoprotective Role of Sugar in Mitigating Abiotic Stress in Plants. In: ROYCHOUDHURY, A.; TRIPATHI, A. K. Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress: Biochemical and Molecular Perspectives, 2020, 53-70 p.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. Biologia molecular da célula. Título original: Molecular biology of the cell. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, 1268 p.

ALVES, F. Q. G.; SILVA, F. C.; COSTA, I. J. S.; DAVID, A. M. S. S.; SIMÕES, D. A. Qualidade fisiológica de híbridos de milho submetidos a diferentes temperaturas. Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010.

ANGELOTTI, F.; BARBOSA, L. G.; BARROS, J. R. A.; SANTOS, C. A. F. Cowpea (*Vigna unguiculata*) development under different temperatures and carbon dioxide concentrations. Revista Pesquisa Agropecuária Tropical, v.50, n.1, p.1-7, 2020.

AQUINO, A. J. S.; LACERDA, C. F.; GOMES-FILHO, E. Crescimento, partição de matéria seca e retenção de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ em dois genótipos de sorgo irrigados com águas salinas. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.31, p.961-971, 2007.

ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; AL-QURAINY, F.; FOOLAD, M. R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. Advances in Agronomy, San Diego, v.111, p.249-296, 2011.

ATTFIELD, P. V. Trehalose accumulates in *Saccharomyces cerevisiae* during exposure to agents that induce heat shock response. FEBS Letters, v. 225, n. 1, p. 259-263, 1987.

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research, v. 14, n. 2, p. 93-107, 2004.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C. CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. Ciência Rural, v.44, n.3, p. 453-460, 2014.

BARTELS, D.; SOUER, E. Molecular responses of higher plants to dehydration. In: HIRT, H.;

- SHINOZAKI, K (eds) Plant responses to abiotic stress. Springer-Verlag, Berlin, 2003, 9–38 p.
- BARROS, J. R. A.; GUIMARÃES, M. J. M.; SILVA, R. M.; RÊGO, M. T. C.; MELO, N. F.; CHAVES, A. R. M.; ANGELOTTI, F. Selection of cowpea cultivars for high temperature tolerance: physiological, biochemical and yield aspects. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, v.27, n.1, p.1-10, 2021.
- BASTOS, E. A. (Ed.). Cultivo de feijão-caupi. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2017. Versão eletrônica.
- BELKO, N.; ZAMAN-ALLAH, M.; DIOP, N.N.; CISSE, N.; ZOMBRE, G.; EHLERS J. D.; VADEZ, V. Restriction of transpiration rate under high vapor pressure deficit and non-limiting water conditions is important for terminal drought tolerance in cowpea. *Plant Biology*, v. 15, n. 2, p. 304–316, 2013.
- BENARDOUJ, N.; LEE, D. H.; GOLDBERG, A. L. Trehalose accumulation during cellular stress protects cells and cellular proteins from damage by oxygen radicals. *The Journal of Biological Chemistry*, v.276, n.26, p.24261-24267, 2001.
- BEWLEYBEWLEY, J.D., BRADFORD, J.D.; HILHORST, K.; NONOGAKI, H. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*. New York: Springer, 2013.
- BHATT, I.; TRIPATHI, B.N. Plant peroxiredoxins: catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. *Biotechnology Advances*, v.29, p.850-859, 2011.
- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. Science Publishers, 2010, 1-30 p.
- BORELLA, J.; FONTOURA, U dos S. da.; LARRÉ, C.F.; BACARIN, M. A. Differential response to water stress in two tropical common bean cultivars. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.12, n.3, p.316-324, 2017.
- BOWLER, C. MONTAGU, M. V.; INZE, D. Superoxide dismutase and Stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.43, p. 83-11, 1992.
- BLUM, A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant Cell Environ.* v.40, p. 4–10, 2017.

- BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Scienc*, v.2, p. 48-54, 2000.
- BREUSEGEM, F.V. VRANOVÁ, E.; DAT, J. F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science*, v.161, p. 405-414, 2001.
- BUENO, A. C. R.; PRUDENTE, D. A.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Daily temperature amplitude affects the vegetative growth and carbon metabolism of orange trees in a rootstock dependent manner. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 31, p. 309-312, 2012.
- CARVALHO, M.; CARVALHO, M.; CASTRO, I.; PEREIRA, J. M.; CORREIA, C.; CORTINES, M. E.; MATOS, M.; ROSA, E.; CARNIDE, V.; LINO NETO, T. Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, v.241, n.1, p. 1-13, 2019.
- CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; MORAIS, L. E.; SILVA, P. E. M.; SOUZA, L. T.; DA MATTA, F. M. A fisiologia dos estresses abióticos. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (Ed.). *Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos*. Visconde do Rio Branco: Suprema. 2011. 250 p
- CASARETTO, J. A.; EL-KEREAMY, A.; ZENG, B.; STIEGELMEYER, S. M.; CHEN, X.; BI, Y. M.; ROTHSTEIN, S. J. Expression of OsMYB55 in maize activates stress-responsive genes and enhances heat and drought tolerance. *BMC Genomics*, v. 17, p. 1–15, 2016.
- CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. In: SHANKER, A. *Abiotic and biotic stress in plants-recent advances and future perspectives*. London: InTechOpen, 2016, 463 p.
- CHALLINOR, A. J.; WATSON, J.; LOBELL, D. B.; HOWDEN, S. M.; SMITH, D. R.; CHHETRI, N. A Meta-Analysis of Crop Yield under Climate Change and Adaptation. *Nature Climate Change*, v. 4, n.4, p. 287–291, 2014.
- CHEN, M.; WANG, Q. Y.; CHENG, X. G.; XU, Z. S.; LI, L. C.; YE, X. G.; MA, Y.Z. GmDREB2, a soybean DRE-binding transcription factor, conferred drought and high-salt tolerance in transgenic plants. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.353, p.299-305, 2007.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de

grãos. v.7 – Safra 2019/2020, n. 12 – Décimo segundo levantamento, p. 1-68, 2020.

DANQUAH, A.; ZELICOURT A de; COLCOMBET, J.; HIRT, H. The role of ABA and MAPK signaling pathways in plant abiotic stress responses. *Biotechnology Advances* v. 32, p. 40–52, 2014.

DAR, M. I.; INFAN, M.; NAUSHIN, F.; REHMAN, F. Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In: IQBAL, N.; RAHAT, N.; KHAN, A. N. (Ed.). *OSMOLYTES AND PLANTS ACCLIMATION TO CHANGING ENVIRONMENT: EMERGING OMICS TECHNOLOGIES*. New Delhi: Springer, 2016, 155-166 p.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, v. 109, p. 212–228, 2015.

DERAL. Departamento de Economia Rural. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-08/boletim_semanal_14_deral_07_agosto_2020f_0.pdf. Acesso em 12 de abril de 2021.

DEUNER, S.; ALVES, J. D.; FRIES, D. D.; ZANANDREA, I.; LIMA, A. A.; HENRIQUE, P. de C. Peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico influenciando a atividade de enzimas antioxidantes de mudas de cafeeiro. *Revista Ceres*, v. 55, p. 135-140, 2008.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. *Plant Science*, v.182, p.29-41, 2012.

DJANAGUIRAMAN, M.; PERUMAL, I.A.; CIAMPITTI, S.K.; GUPTA E P.V.V. PRASAD. Quantifying pearl millet response to high temperature stress: Thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Plant, Cell and Environment*, v. 41, n. 1, p. 993-1007, 2018.

DUBEY, R. S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S.D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. Science Publishers, v.9, p.178-203, 2011.

EFTEKHARI, A.; BAGHIZADEH, A.; YAGHOobi, M. M.; ABDOLSHAHI, R. Differences in the drought stress response of DREB2 and CAT1 genes and evaluation of related physiological parameters in some bread wheat cultivars. *Biotechnol. Equip*, v.31, p.709–716,

2017.

EMYANITOFF, R. G.; WRIGHT, B. E. Effect of intracellular carbohydrates on heat resistance of *Dictyostellium discoideum* spores. *Journal of Bacteriology*, v.140, p.1008-1012, 1979.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; CIFRE, J.; ESCALONA, J. M.; GALMÉS, J.; GULIÁS, J.; LEFI, E.; MARTÍNEZ-CANELLAS, S. F.; MORENO, M. T.; RIBAS-CARBÓ, M.; RIERA, D.; SAMPOL, B.; MEDRANO, H. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology*, v.144, p. 273-283, 2004.

FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BAROOWA, B.; BHARADWAJ, N.; ALGHAMDI, S. S.; SIDDIQUE, K. H. M. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, v. 203, p. 81–102, 2017.

FLOWERS, T. J.; KOYAMA, M. L.; FLOWERS, S. A.; SUDHAKAR, C.; SINGH, K. P.; YEO, A. R. T. QTL: their place in engineering tolerance of rice to salinity. *Journal of Experimental Botany*, v.51, p.99-106, 2000.

FRANÇA, M. B. M.; PANEK, A. D.; ELEUTHERIO, E. C. A. Oxidative stress and its effects during dehydration. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.146, p.621-631, 2007.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. de M.; DAMASCENO-SILVA, K. J.; NOGUEIRA, M. do S. da R.; RODRIGUES, E. V. Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011, 84 p.

GALINSKI, E.A. Osmoadaptation in bacteria. *Advances in Microbial Physiology*, v.37, p. 272–328, 1995.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.48, p.909-930, 2010.

HATFIELD, J. L.; BOOTE, K. J.; KIMBALL, B. A.; ZISKA, L. H.; IZAURRALDE, R. C.; ORT, D.; THOMSON, A. M.; WOLFE, D. Climate impacts on agriculture: implications for crop production. *Agronomy Journal*, v.103, p.351–370, 2011.

HELDT, H.W.; HELDT, F. Mitochondria are the power station of the cell. In: HELDT, H.W. *Plant biochemistry*. San Diego: Academic, 2005, 135-164 p.

HELLMANN, H.; FUNK, D.; RENTSCH, D.; FROMMER, W. B. Hypersensitivity of an Arabidopsis sugar signaling mutant towards exogenous proline application. *Plant Physiology* v.123, p.779-790, 2000.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. *Plant Cell Physiology*, v. 42, p. 462-468, 2001.

HIRT, T. Introduction. In: HIRT, H.; SHINOZAKI, K (org.). *Plant responses to abiotic stress: Topics in Current Genetics*, v.4, p. 151-185, 2003.

HOTTINGER, T.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. Rapid changes of heat and desiccation tolerance correlated with change of trehalose content in *Saccharomyces cerevisiae* cells subjected to temperature shifts. *FEBS Letters*, v.220, p.113-115, 1987.

HOUNSA, C. G.; BRANDT, E. V.; THEVELEIN, J.; HOHMANN, S.; PRIOR, B. A. Role of trehalose in survival of *Saccharomyces cerevisiae* under osmotic stress. *Microbiology*, v.144, p.671-680, 1998.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Produção Agrícola Municipal. Disponível em: < <https://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 11/03/2020.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. *The Physical Science Basis. Summary for Policymakers. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. IPCC, Geneva, 2007.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE: *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Edenhofer, O., R. PichsMadruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, 2014.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. *Climate Change 2013: the physical science basis*. Cambridge: University Press, 2013, 1535 p.

KARUPPANAPANDIAN, T.; WANG, H.; PRABAKARAN, N.; JEYALAKSHMI, K.; KWON, M.; MANOHARON, K.; KIM, W. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced leaf

senescence in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and senescence inhibition by co-treatment with silver nanoparticles. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 49, n. 2, p. 168–177, 2011.

KAUR, R.; BAINS, T. S.; BINDUMADHAVA, H.; NAYYAR, H. Responses of mungbean (*Vigna radiata* L.) genotypes to heat stress Effects on reproductive biology, leaf function and yield traits. *Scientia Horticulturae*, v.197, p. 527-541, 2015.

KUMAR, D.; DATTA, R.; HAZRA, S.; SULTANA, A.; MUKHOPADHYAY, R.; CHATTOPADHYAY, S. Transcriptomic profiling of *Arabidopsis thaliana* mutant pad2.1 in response to combined cold and osmotic stress. *PLoS One*, v.10, 2015.

KUMAR, J.; KANT, R.; KUMAR, S.; BASU, P. S.; SARKER, A.; SINGH, N. P. Heat tolerance in lentil under field conditions. *Legume Genomics Genet*, v.7, p.1–11, 2016.

LIMA, C. J. G. S.; OLIVEIRA, F. A.; MEDEIROS, J. F.; OLIVEIRA, M. K. T.; JUNIOR, A. B. A. Resposta do feijão-caupi a salinidade da água de irrigação. *Revista Verde Agroecologia Desenvolvimento Sustentável*, v.2, n.2, p.79-86, 2007.

LIU, J.; YINGMEI, Z.; HUANG, D.; SONG, G. Cadmium induced MTs synthesis via oxidative stress in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v.280, p.139-145, 2005.

LOPES, I.; GUIMARÃES, M. J. M.; MELO, J. M. M.; RAMOS, C. M. C. Balanço hídrico em função de regimes pluviométricos na região de Petrolina-PE. *Irriga*, v. 22, n.3, p. 443-457, 2017.

LUO, Y.; LI, W-M.; WANG, W.; Trehalose: protector of antioxidant enzymes or reactive oxygen species scavenger under heat stress? *Environmental and Experimental Botany*, v.63, p. 378-384, 2008.

MAGGIO, A.; MIYAZAKI, S.; VERONESE, P.; FUJITA, T.; IBEAS, J. I; DAMSZ, B.; NARASIMHAN, M. L; HASEGAWA, P. M.; JOLY, R. J.; BRESSAN, R. A. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *The Plant Journal*, Heslington, v. 36, n. 6, p. 699-712, 2002.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 444, p. 139-58, 2005.

MAHMUD, S. A.; NAGAHISA, K.; HIRASAWA, T.; YOSHIKAWA, K.; ASHITANI, K.;

SHIMIZU, H. Effect of trehalose accumulation on response to saline stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, v. 26, p. 17-30, 2009.

MAJUMDER, A. L.; SENGUPTA, S.; GOSWANI, L. Osmolyte regulation in abiotic stress. In: PAREEK, A.; SOPORY, S. K.; BOHNERT, H. J.; GOVINDJEE (eds.). *Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation*. Springer, Dordrecht, cap. 16, p. 350-367, 2010.

MANIVANNAN, P.; JALEEL, A. C.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; LAKSHMANAN, G. M. A.; PANNEERSELVAM, R. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 141-149, 2007.

MANSOOR, S.; NAQVI, F. N. Effect of heat stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mung bean (*Vigna radiata* L) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, v. 12, n. 21, p. 3196-3203, 2013.

MARÉCHAL, R.; MASCHERPA, J. M.; STAINIER, F. Étude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces de genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques, traitées par l'analyse informatique. *Boissiera*, v. 28, p. 1-273, 1978.

MARENCO, J. A.; ALVES, L.M.; BESERRA, E.D.; LACERDA, F.F. Variabilidade e mudanças climáticas no semiárido brasileiro. In: *Recursos Hídricos em Regiões Áridas e Semiáridas*. Campina Grande – PB: Instituto Nacional do Semiárido – INSA, 2011.

MARTINEZ, C. A.; OLIVEIRA, E. A. D.; MELLO, T. R. P.; MARIN, A. L. A. Respostas das plantas ao incremento atmosférico de dióxido de carbono e da temperatura. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 8, n. 6, p. 635-650, 2015.

MATOS FILHO, C. H. A.; GOMES, R. L. F.; ROCHA, M. M.; FREIRE FILHO, R. R.; LOPES, A. C. A. Potencial produtivo de progênies de feijão-caupi com arquitetura ereta de planta. *Ciência Rural*, v.39, n.2, p.348-354, 2009.

MELO JUNIOR, J. L. A.; MELO, L. D. F. de A.; ARAUJO NETO, J. C.; FERREIRA, V. M. Germination and morphology of seeds and seedlings of *Colubrina glandulosa* Perkins after

- overcoming dormancy. *Australian Journal of Crop Science*, v.12, n.1, p. 639-647, 2018.
- MENDES, R. M. S.; TÁVORA, F. J. A. F.; PINHO, J. L. N.; PITOMBEIRA, J. B. Relações fonte-dreno em feijão-de-corda submetido à deficiência hídrica. *Ciência Agronômica*, v.38, p.95-103, 2007.
- MENEZES-BENAVENTE L.; TEIXEIRA F. K.; KAMEI C. L. A.; MARGIS-PINHEIRO M. Salt stress induces altered expression of genes encoding antioxidant enzymes in seedlings of a Brazilian indica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*, v.166, p. 323-331, 2004.
- MHAMDI, A.; NOCTOR, G.; BAKER, A. Plant catalases: Peroxisomal redox guardians. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v.525, p.181-194, 2012.
- MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; SUZUKI, N.; MILLER, G.; TOGNETTI, V. B.; VANDEPOELE, K.; GOLLERY, M.; SHULAEV, V.; VAN BREUSEGEM, F. EROS signaling: the new wave? *Trends in Plant Science*, v. 16, n. 6, p. 300–309, 2011.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, v.7, n. 9, p. 405-410, 2002.
- MONTEIRO, J. G.; CRUZ, R. J. F.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 49, n. 1, p.18-25, 2014.
- MULLER, J.; WIEMKEN, A.; AESCHBACHER, R. Trehalose metabolism in sugar sensing and plant development. *Plant Science*, v.147, p.37-47, 1999.
- NASCIMENTO, S. P. do. Efeito do déficit hídrico em feijão-caupi para identificação de genótipos com tolerância à seca. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2009, 109 p.
- NG, N. Q.; MARÉCHAL, R. Cowpea taxonomy, origin germ plasm. In: SINCH, S. R.; RACHIE, K. O., eds. *Cowpea research, production and utilization*. Chichester, John Wiley, 1985, 11-21 p.
- OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em Feijão. *Engenharia Agrícola*, v.25, p. 86-95, 2005.

OLIVEIRA, A. K. M.; SOUZA, J. S.; CARVALHO, J. M. B.; SOUZA, S.A. Germinação de sementes de pau-de-espeto (*Casearia gossypiosperma*) em diferentes temperaturas. Revista Floresta, v. 45, n. 1, p. 97-106, 2015.

OLIVEIRA, M. G. C.; OLIVEIRA, L. F. C.; WENDLAND, A.; GUIMARÃES, C. M.; QUINTELA, E. D.; BARBOSA, F. R.; CARVALHO, M.C.S.; LOBO JUNIOR M.; SILVEIRA, P. M. Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos. Brasília: Embrapa Arroz e Feijão, 2018, 59 p.

PADULOSI, S.; NG, N. Q. Origin, taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In. SING, B. B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIEL, K. E.; JACKAI, L. E. N. (Ed.) Advances in cowpea research. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture; Tsukuba: Japan International Research Center for Agricultural Sciences, 1997, 1-11 p.

PAIVA, J. B.; PITOMBEIRA, J. B.; BEZERRA, F.; ALMEIDA, F. C. G.; MACIEL, R. F. P. OLIVEIRA, H. G. de; QUEIROZ, G. M. de; PINHO, J. L. N. de; PAULA, A. F. de; BENEVIDES, E.C. Relatório técnico. Feijão de corda. Fortaleza: UFC-CCA, 1972, 14 p. PANDEY, G.K. (Ed.). Elucidation of abiotic stress signaling in plants: Functional Genomics Perspectives. Springer, 2015.

PEIXOTO, C. P. Curso de Fisiologia Vegetal. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2011, 177 p.

PENG, Y.; LIN, W.; CAI, W.; ARORA, R. Overexpression of a *Panax ginseng* tonoplast aquaporin alters salt tolerance, drought tolerance and cold acclimation ability in transgenic *Arabidopsis* plants. *Planta*, v.226, p.729-740, 2007.

PERDOMO, J. A.; CONESA, M. À.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBÓ, M; GALMÉS, J. Effects of long-term individual and combined water and temperature stress on the growth of rice, wheat and maize: relationship with morphological and physiological acclimation. *Physiology Plant*, v.155, n.2, p. 149-165, 2015.

PRADO, A. K. S.; MACHADO, E. C.; MEDINA, C. L.; MACHADO, D. F. S. P.; MAZZAFERA, P. Florescimento e frutificação em laranjeiras 'Valência' com diferentes cargas de frutos e submetidas ou não à irrigação. *Bragantia*, v. 66, p. 173-182, 2007.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E. C. Some aspects of citrus ecophysiology in subtropical

climates: re-visiting photosynthesis under natural conditions. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v.19, p. 393-411, 2007.

SABOYA, R. C. C.; BORGES, P. R. S.; SABOYA, L. M. F.; MONTEIRO, A. E. A. SOUZA, F. P. dos R.; SANTOS, A. F. Response of cowpea to inoculation with nitrogen-fixing strains in Gurupi-Tocantins State. *Journal of Biotechnology and Biodiversit*, v. 4, n. 1, p.40-48, 2013.

SAHER, S.; PIQUERAS, A.; HELLIN, E.; OLMOS, E. Hyperhydricity in micropropagated carnation shoots: the role of oxidative stress. *Physiologia Plantarum*, v.120, p.152-161, 2004.

SAMPEDRO, J. G.; URIBE, S. Trehalose-enzyme interactions result in structure stabilization and activity inhibition. The role of viscosity. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v. 256/257, p. 319-327, 2004.

SANTOS, M. G.; RIBEIRO, R.V., MACHADO, E. C.; PIMENTEL, C. Photosynthetic parameters and leaf water potential of five common beans genotypes under mild water deficit. *Biologic Plantarum*, v. 53, n. 2, p. 229-236, 2009.

SANTOS, C. A. F. Melhoramento do Feijão-Caupi para Temperaturas Moderadas e Elevadas no Vale do São Francisco. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v.6, p. 1151-1162, 2011.

SEEG. Análise das emissões brasileiras de gases de efeito estufa e suas implicações para as metas do Brasil (1970-2018): setor agropecuário/ Instituto de Manejo e Certificação Florestal e Agrícola (IMAFLOA) – São Paulo: Observatório do Clima, 2019.

SEHGAL, A.; SITA, K.; SIDDIQUE, K.H.M.; KUMAR, R.; BHOGIREDDY, S.; VARSHNEY, R.K.; RAO, B.H.; NAIR, R.M.; PRASAD, P.V.V.; NAYYAR, H. Drought or/and Heat-Stress Effects on Seed Filling in Food Crops: Impacts on Functional Biochemistry, Seed Yields, and Nutritional Quality. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 1705, 2018.

SEKHAR, P. N.; AMRUTHA, R. N.; SANGAM, S.; VERMA DP, KISHOR PB. Biochemical characterization, homology modelling and docking studies of ornithine delta aminotransferase-an important enzyme in proline biosynthesis of plants. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, v.26, p.709–719, 2007.

SENTELHAS, P. C.; MONTEIRO, J. E. B de A. Agrometeorologia dos cultivos: o fator meteorológico na produção agrícola. Brasília, DF: INMET, 2009, 530 p.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, v.2012, p.1-26, 2012.

SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulação e função das isoenzimas de ascorbato peroxidase. *Journal Experimental Botany*, v. 53, p. 1305 – 1319, 2002.

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*, v.118, n.1, p37-47, 2014.

SILVA, A. C da.; COSTA SANTOS D da, JUNIOR, D. L. T.; SILVA, P. B da.; SANTOS, R. C dos.; SIVIERO, A. Cowpea: a strategic legume species for Food security and health, in *Legume Seed Nutraceutical Research*. Intech Open, London, 2018.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansô submetido à salinidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, n. 5, p. 437-445, 2009.

SINGH, B. B.; MATSUI, T.; Cowpea varieties for drought tolerance. In: FATOKUN, C. A.; TARAWALI, S. A.; SINGH, B. B.; KORMAWA, P. W.; TAMÓ, M. (Eds.) *Challenges and Opportunities for Enhancing Sustainable Cowpea Production*. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture, 2002, 287-300 p.

SINSAWAT, V.; LEIPNER, J.; STAMP, P.; FRACHEBOUD, Y. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L.) grown at control or high temperature *Environ. Journal of Experimental Botany*, v.52, p.123-129, 2004.

SOARES A. M. dos S, MACHADO O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química espécies reativas de oxigênio. *Ciências Agrárias e biológicas*, v.1, n.1, p.9, 2007.

SUZUKI, N.; BASIL, E.; HAMILTON, J. S.; INUPAKUTIKA, M. A.; ZANDALINAS, S. I.; TRIPATHY, D.; YUTING, L.; DION, E.; FUKUI, G.; KUMAZAKI, A.; NAKANO, R.; RIVERO, R. M.; VERBECK, G. F.; AZAD, R. K.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. ABA is required for plant acclimation to a combination of salt and heat stress. *PLoS One*, v. 11, 2016.

SZABADOS, L.; SAVOURE, A. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci* 15:89–97, 2009.

SZÉKELY, G.; ÁBRAHÁM, E.; CSÉPLŐ, A.; RIGÓ, G.; ZSIGMOND, L.; CSISZÁR, J.; AYAYDIN F. Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *Plant Journal*, v.53, p.11-28, 2008.

TAIZ, L.; MOLLER, E. Z. I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed. 2017.

TEIXEIRA, S. M.; MAY, P. H.; SANTANA, A. C. Produção e importância econômica do caupi no Brasil. In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E. E., org. *O caupi no Brasil*. (Goiânia: EMBRAPA-CNPAF/Ibadan: IITA, 1988, 101-136 p.

TODAKA, D.; NAKASHIMA, K.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Toward understanding transcriptional regulatory networks in abiotic stress responses and tolerance in Rice. *The Rice Journal*, v.5, n.6, p.15, 2012.

TOSCANO, S.; FARIERI, E.; FERRANTE, A.; ROMANO, D. Physiological and biochemical responses in two ornamental shrubs to drought stress. *Frontiers in Plant Science*, v.7, p.1–12, 2016.

TROVATO, M.; MATTIOLI, R., COSTANTINO, P. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. *Rendiconti Lincei*, v.19, p.325–346, 2008.

UDVARDI, M. K.; CZECHOWSKI, T.; SCHEIBLE, W-R. Eleven Golden Rules of Quantitative RT-PCR. *The Plant Cell*, Rockville, v. 20, p. 1736-1737, 2008.

UMAHARAN, P.; ARIYANAYAGAM, R. P.; HAQUE, S.Q. Genetic analysis of yield and its components in vegetable cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Euphytica*, v.96, n.2, p.207-213, 1997.

URBAN, L.; AARROUF, J.; BIDEL, L. P. R. Assessing the effects of water deficit on photosynthesis using parameters derived from measurements of leaf gas exchange and of chlorophyll *a* fluorescence. *Frontiers in Plant Science*, v.8, n.1, 2017.

VALE, JC. do., BERTINI, C., BORÉM, A. 2017. *Feijão-caupi: do plantio à colheita*. Viçosa: Editora UFV. 267 p.

VELCULESCU, V. E.; ZHANG, L.; VOGELSTEIN, B.; KINZLER, K. W. Serial analysis of gene expression. *Science*, Washington, D.C., v. 270, p. 484-487, 1995.

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, v. 10, p. 57-63, 2009.

WINGLER, A. The function of trehalose biosynthesis in plants. *Phytochemistry*, v.60, p.437-440, 2002.

WHEELER, T. R.; CRAUFURD, P. Q.; ELLIS, R. H.; PORTER, J.R.; PRASAD, P.V. Temperature variability and the yield of annual crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v.82, p.159-167, 2000.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RUMJANEK, N. G.; FREIRE FILHO, F. R. Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.40, p.353-359, 2005.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, v.58, n.2, p.221- 227, 2007.

YAMAMOTO, C. J. T.; LEITE, R. G. F.; MINAMIGUCHI, J. Y.; BRAGA, I.; MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Water-deficit tolerance induction during germination of Jalo Precoce bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.36, n.11, p.2897-2904, 2014.

YANCEY, P. H.; CLARK, M. E.; HAND, S. C.; BOWLUS, R. D.; SOMERO, G. N. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science*, v. 217, p. 1214- 1222, 1982.

YI, X. P.; ZHANG, Y. L.; YAO, H. S.; LUO, H. H.; GOU, L.; CHOW, W. S.; ZHANG, W. F. Rapid recovery of photosynthetic rate following soil water deficit and re-watering in cotton plants (*Gossypium herbaceum* L.) is related to the stability of the photosystems. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v.194, p. 23-34, 2016.

ZHANG, J.; NGUYEN, H. T.; BLUM, A. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany*, n. 50, p. 291–302, 1999.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review Plant Biology*, v. 53, p.247-273, 2002.

CAPÍTULO 1

Temperatura ótima para germinação e desenvolvimento de plântulas de feijão-caupi

Juliane Rafaela Alves Barros¹, Francislene Angelotti², Jéssica de Oliveira Santos³, Bárbara França Dantas², Nataniel Franklin de Melo²

RESUMO

A temperatura é um dos elementos climáticos que mais afeta o processo germinativo e o desenvolvimento de plântulas. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a germinação e o desenvolvimento de plântulas de cultivares de feijão-caupi sob aumento da temperatura. Para tanto, as sementes das cultivares Acauã, Carijó, Guariba, Gurguéia, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Pujante, Rouxinol, Tapahium e Tumucumaque foram mantidas em câmara de germinação nas temperaturas de 20, 25, 30, 35 e 40 °C, com fotoperíodo de 12 horas. No experimento adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 12 x 5, sendo doze cultivares de feijão-caupi e cinco temperaturas. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento e a germinação foi avaliada durante 12 dias. As sementes de feijão-caupi apresentam ótimo desempenho de germinação e desenvolvimento de plântulas a temperaturas na faixa de 30,49 a 35,48 °C. As cultivares apresentaram porcentagem de germinação acima de 91% a 40 °C, porém não houve formação de plântulas normais. A temperatura de 20 °C proporcionou germinação acima de 96%, mas com um período maior para germinar. A faixa de temperatura entre 30 - 35 °C favoreceu o índice de velocidade de germinação, tempo médio e velocidade de germinação das sementes, com temperaturas ótimas variando entre as cultivares. A maior taxa de plântulas normais foi observada em temperaturas entre 25 e 35 °C.

Palavras-Chave: desenvolvimento de plântulas; estresse térmico; *Vigna unguiculata*.

¹ Doutoranda em Recursos genéticos vegetais, UEFS, Feira de Santana-BA; ² Pesquisador(a) Embrapa Semiárido, Petrolina-PE; ³ Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental para o Semiárido, UPE, Petrolina-PE.

Artigo publicado pela revista Colombiana de Ciências Hortícolas 14(2), p. 89-97, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.17584/rcch.2020v14i2.10339>

Optimal temperature for germination and seedling development in cowpea seeds

ABSTRACT

Temperature is one of the climatic elements that affect most the germination process and seedling development. Thus, the objective of this study was to evaluate the germination and seedling development of cowpea cultivars under increasing temperature. For this purpose, the seeds of the cultivars Acauã, Carijó, Guariba, Gurguéia, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Pujante, Rouxinol, Tapahium and Tumucumaque were kept in germination chamber at temperatures of 20, 25, 30, 35 and 40 °C, with photoperiod of 12 hours. Cowpea seeds have optimal germination performance and seedling development at temperatures in the range of 30.49 - 35.48 °C. The cultivars presented germination percentage above 91% under 40 °C, however, no formation of normal seedlings was observed. The temperature of 20°C provided germination above 96%, but with a longer period to germinate. The temperature range between 30 - 35 °C favored the germination speed index, average time and seed germination speed, with optimum temperatures varying between cultivars. The highest rate of normal seedlings was observed at temperatures between 25 and 35 °C.

Keywords: seedling development; thermal stress; *Vigna unguiculata*.

INTRODUÇÃO

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma leguminosa de grande importância, não apenas no Brasil, mas também para outros países, principalmente no continente africano. Nos últimos anos, sua safra apresentou avanços no contexto nacional e internacional, com aumento da produção e expansão do mercado (VALE et al., 2017). Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2019), na safra 2018/2019, o feijão caupi ocupou uma área de 1.327,5 mil hectares no Brasil, com uma produção estimada em 651,8 mil toneladas.

Porém, mesmo com a importância que o feijão-caupi apresenta sua produtividade ainda é considerada baixa no Brasil. Esse baixo rendimento está associado ao manejo inadequado da cultura e às condições climáticas (SABOYA et al., 2013). A temperatura, por exemplo, é um dos elementos climáticos que mais exerce influência sobre as culturas, uma vez que pode afetar diretamente o crescimento e a produtividade das plantas, além de influenciar a germinação de sementes, podendo também, provocar redução no crescimento das plântulas (MARTINEZ et al. 2015).

Estudos realizados pelo Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC, 2013), mostraram que a temperatura média da atmosfera aumentou em torno de 0,85 °C, no período de 1880 a 2012. Adicionalmente, os cenários de mudanças climáticas apontam ainda para um aumento na temperatura média do planeta de 2,6 (cenário mais otimista) a 4,8 °C (cenário mais pessimista), até 2100. Os especialistas afirmam que este aumento não será uniforme, ocorrendo variações interanuais e regionais, provocando a ocorrência de eventos climáticos extremos, como secas e chuvas intensas (IPCC, 2013). Segundo Vale et al. (2017) o desenvolvimento do feijão-caupi ocorre em uma ampla faixa de temperatura, variando entre 18 e 37 °C. No entanto, a legislação brasileira para análise de sementes indica uma temperatura de 25 °C como ideal para a germinação de sementes (BRASIL, 2009). Assim, o aumento previsto da temperatura pode causar problemas para a germinação das sementes.

Djanaguiraman et al. (2018) relatam que as plantas não serão expostas apenas a temperaturas médias mais elevadas, mas também a episódios curtos mais frequentes de altas temperaturas. Segundo os autores, as regiões áridas e semiáridas são mais vulneráveis a mudanças no clima e eventos extremos de temperatura. Desta forma, A germinação vigorosa das sementes e o estabelecimento uniforme de plântulas são altamente desejáveis, especialmente nessas regiões (PARMOON et al., 2015).

A fase inicial da vida das plantas é considerada uma das mais importantes, pois o estabelecimento das plantas dependerá da capacidade das sementes e mudas de resistir a condições ambientais adversas (MELO JUNIOR et al., 2018). Cada espécie possui uma temperatura mínima, máxima e ideal para germinação, e essas temperaturas cardinais caracterizam o limite sobre o qual a germinação de uma espécie específica pode ocorrer (; MESGARAN et al., 2017; FELIX et al., 2018). A temperatura ideal para a germinação máxima das sementes tende a diferir entre as culturas, e é importante identificar a tolerância das sementes a altas temperaturas (MOTSA et al., 2015). Diante disso e do cenário futuro das mudanças climáticas, a seleção de plantas tolerantes ao aumento da temperatura é de grande importância, principalmente durante o processo de germinação, pois contribuirá para o estabelecimento de mudas e a uniformidade da cultura. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a germinação e o desenvolvimento e plântulas de cultivares de feijão-caupi sob aumento da temperatura.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de mudanças climáticas da Embrapa Semiárido, no período de abril a maio de 2018. Os testes de germinação foram realizados em câmaras do tipo B.O.D (Biochemical Oxygen Demand), equipadas com lâmpadas fluorescentes brancas, Philips 20 W. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes, em um esquema fatorial de 12x5, sendo doze cultivares de feijão-caupi (Acauã, Carijó, Guariba, Gurguéia, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Pujante, Rouxinol, Tapahium e Tumucumaque), os quais foram armazenados em câmara fria, o que reduziu as alterações na qualidade das sementes, como dormência, umidade e porcentagem de germinação (Brasil, 2009), e cinco temperaturas (20, 25, 30, 35 e 40 °C), com uma regime de luz de 12/12 h (escuro / claro).

Inicialmente foi realizada uma desinfestação superficial das sementes, utilizando fungicida do grupo químico Alquilenobis (ditiocarbamato) em uma proporção de 4g (fungicida) para 1000 g de sementes. Em seguida as sementes foram dispostas em rolo de papel umedecidos com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. A contagem das sementes germinadas foi realizada diariamente, por um período de 12 dias, tendo como parâmetro a protrusão da radícula igual ou superior a 2mm, após esse período foi realizada a contagem de plântulas normais e anormais (BRASIL, 2009).

Avaliou-se os parâmetros: a porcentagem de germinação (G), tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VG) e índice de velocidade de germinação

(IVG), pelas equações de 1 a 4, respectivamente. Para revisão e instruções sobre como aplicar e calcular esses índices, utilizou-se Santana e Ranal (2000) e Ranal et al. (2009). A porcentagem de germinação (G) foi obtida com a contagem diária das sementes germinadas (Eq. 1). O tempo médio de germinação (TMG) se referiu à soma do número de sementes germinadas multiplicado pelo tempo de incubação em dias e dividido pela soma de sementes germinadas por dia (Eq. 2). A velocidade de germinação (VG) foi calculada com o inverso do tempo médio de germinação com contagem diária (Eq. 3). O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado a partir da soma do número de sementes germinadas por dia dividido pelo respectivo número de dias decorridos da semeadura, correspondente ao número de sementes germinadas ao longo do tempo, expresso em sementes / dia (Eq. 4)

$$\text{Equação 1 } G = \frac{\sum_{i=1}^k ni}{A} * 100$$

$$\text{Equação 2 } TMG = \frac{\sum_{i=1}^k ni.ti}{\sum_{i=1}^k ni}$$

$$\text{Equação 3 } VMG = \frac{\sum_{i=1}^k ni}{\sum_{i=1}^k ni.ti}$$

$$\text{Equação 4 } IVG = \sum_{i=1}^k \frac{Ni}{ti}$$

Onde K foi o último dia de observação, A foi o número total de sementes colocadas para germinar, ni foi o número não acumulado de sementes germinadas, ti foi o número de dias e Ni foi o número acumulado de sementes germinadas.

Foram consideradas plântulas normais aquelas que apresentaram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, com sistema radicular e parte aérea bem desenvolvida, já as plântulas anormais, foram aquelas com qualquer uma de suas estruturas essenciais (parte aérea e sistema radicular) ausentes ou danificadas, de acordo com as regras para análise de sementes (BRASIL, 2009).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott, a 5% de significância utilizando o programa SISVAR Versão 5.6 (FERREIRA, 2011). As médias obtidas para germinação e índice de velocidade de germinação foram comparadas por análise de regressão.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Para todos os parâmetros avaliados: porcentagem de germinação (G%) índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), velocidade média de

germinação (VMG), plântulas normais (PN) e anormais (PA), a análise de variância apresentou valores de F significativos para cultivar, temperatura e para a interação cultivar x temperatura (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância, pelo quadrado médio, referentes aos valores de Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), velocidade média de germinação (VMG) e porcentagem de plântulas normais (PN) e anormais (PA) de diferentes cultivares de feijão-caupi, submetidas ao aumento de temperatura.

Fonte de variação	QM						
	GL	G%	IVG	TMG	VMG	PN	PA
Temperatura(T)	4	76,93**	5013,06**	9,26**	1,71**	39581,67**	36690,60**
Cultivar (C)	11	12,34**	122,65**	0,32**	0,05**	2602,84**	2537,27**
T x C	44	5,55**	50,314**	0,12**	0,02**	3199,53**	3210,55**
Resíduo	180	2,53	5,64	0,014	0,0023	90,83	97,18
CV%		1,61	7,2	6,84	7,70	19,30	19,96

GL = grau de liberdade; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo, ** significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

O aumento da temperatura não afetou negativamente a germinação das sementes de feijão-caupi, sendo que as doze cultivares apresentaram porcentagem de germinação acima de 91% em todas as temperaturas. Diferença significativa foi observada apenas entre as cultivares Acauã, Carijó, Gurguéia, Pujante e Rouxinol mantidas a 40°C, onde a menor taxa de germinação foi das sementes das cultivares Acauã e Gurguéia, com germinação de 93 e 91% respectivamente (Figura 1).

No presente trabalho, de acordo com os dados médios na análise de regressão, as maiores taxas de germinação ocorreram em uma faixa de temperatura que variou de 25,55 a 27,50 °C, onde a porcentagem de germinação foi entre 99,75 e 100%, para as cultivares Acauã, Carijó, Gurguéia, Pujante e Rouxinol (Figura 1). Verifica-se que apesar da temperatura de 20°C ter proporcionado porcentagem de germinação acima de 96%, as sementes levaram um período maior para germinar, o que significou menor IVG, menor VMG e maior TMG. A porcentagem de germinação das sementes das cultivares Guariba, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Tapahium e Tumucumaque não apresentou influência do aumento na temperatura, todas apresentaram germinação de 100%.

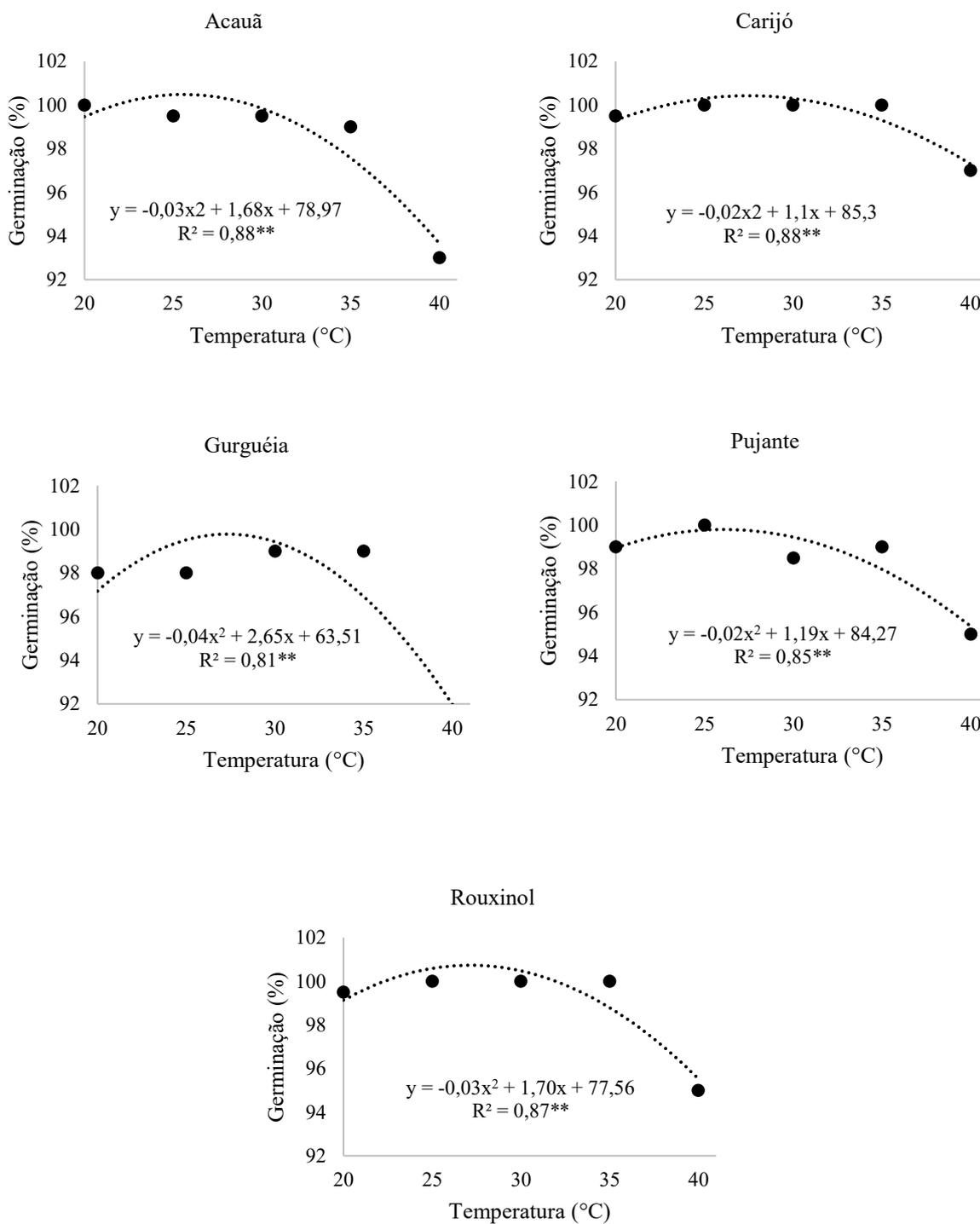


Figura 1: Porcentagem de germinação de sementes de diferentes cultivares de feijão-caupi submetidas ao aumento de temperatura. Coeficientes da regressão significativos com $p < 0,01$ (**) e $p < 0,05$ (*).

Temperaturas abaixo do ideal resultam em um atraso na germinação das sementes devido à atividade enzimática relacionada à respiração reduzida e ao metabolismo celular

(TAIZ et al., 2017). Cada espécie tem uma temperatura mínima e uma temperatura limite abaixo e acima da qual a germinação não ocorre (MOTSA et al., 2015). Além disso, o aumento da temperatura pode reduzir a porcentagem de germinação das sementes, causando estresse térmico, levando à inibição da germinação e podendo também causar dormência térmica, afetando a viabilidade das sementes (BEWLEY et al., 2013). Esse elemento climático regula as atividades enzimáticas promovendo ou inibindo a síntese de hormônios, como o ácido abscísico e o etileno, que afetam a germinação das sementes (GAO-TAKAI et al., 2019). Isso ocorre porque temperaturas elevadas aumentam os níveis de ácido abscísico e inibem genes responsáveis pela síntese da giberelina, hormônio essencial para a ativação do processo germinativo (MIRANSARI et al., 2014). Além disso, a alta temperatura pode inibir a síntese de etileno, outro hormônio responsável pela germinação das sementes. A Tabela 2 mostra que os dados médios da análise de regressão indicaram que a faixa de temperatura entre 30-35 ° C favoreceu o índice de velocidade de germinação, com temperaturas ótimas variando de acordo com a cultivar. O maior IVG médio foi observado em sementes da cultivar Carijó, com valor de 48,61 na temperatura ótima de 30,40 ° C (Tabela. 2).

Tabela 2. Médias da análise de regressão da temperatura ótima para o índice de velocidade de germinação (IVG).

Cultivares	Temperatura Ótima (°C)	IVG
Acauã	31,37	36,37
Carijó	30,49	48,61
Guariba	30,73	46,01
Gurguéia	30,54	46,07
Itaim	35,48	36,09
Juruá	30,56	46,52
Pajeú	31,64	39,66
Potengi	31,61	39,53
Pujante	31,75	36,40
Rouxinol	30,96	40,93
Tapahium	31,80	38,13
Tumucumaque	30,51	47,82

A cultivar Itaim apresentou temperatura de 35,48 °C como a melhor para o índice de velocidade de germinação. Essa mesma faixa de temperatura favoreceu o tempo médio de

germinação de germinação, pois quanto maior o índice de velocidade de germinação, menor o tempo de germinação das sementes (Tabela 3).

Tabela 3. Tempo médio de germinação (TMG) e Velocidade média de germinação (VMG) de diferentes cultivares de feijão-caupi, submetidas ao aumento de temperatura.

TMG												
Temperatura	Acauã	Carijó	Guariba	Gurguéia	Itaim	Juruá	Pajeú	Potengi	Pujante	Rouxinol	Tapahium	Tumucumaque
20°C	2,23 aC	2,12 bC	1,13 bD	2,08 bC	2,21 aC	2,11 bC	2,06 bC	2,21 aD	2,32 aD	2,27 aC	2,27 aD	2,17 bC
25°C	2,05 bC	1,57 eB	1,72 dC	1,83 cB	1,92 cB	1,48 eB	2,12 bC	1,97 cC	2,29 aD	1,86 cB	2,15 bD	1,49 eB
30°C	1,78 bB	1,10 cA	1,22 cB	1,13 cA	2,23 aC	1,33 cB	1,57 bB	1,60 bB	1,67 bB	1,70 bB	1,66 bB	1,20 cA
35°C	1,18 aA	1,03 aA	1,03 Aa	1,11 aA	1,11 aA	1,02 aA	1,02 aA	1,06 aA	1,22 aA	1,06 aA	1,10 aA	1,09 aA
40°C	2,14 aC	2,08 aC	2,04 aD	2,01 aC	1,75 bB	2,00 aC	2,00 aC	2,00 aC	2,09 aC	2,17 aC	2,00 aC	2,00 aC
VMG												
Temperatura	Acauã	Carijó	Guariba	Gurguéia	Itaim	Juruá	Pajeú	Potengi	Pujante	Rouxinol	Tapahium	Tumucumaque
20°C	0,45 aB	0,47 aB	0,47 aB	0,48 aB	0,45 aB	0,47 aB	0,48 aB	0,45 aB	0,43 aB	0,44 aB	0,44 aB	0,46 aB
25°C	0,49 dB	0,64 aC	0,58 bC	0,55 cB	0,52 cC	0,68 aC	0,47 dB	0,51 cB	0,44 dB	0,54 cC	0,47 dB	0,68 aC
30°C	0,56 dC	0,91 aD	0,82 bD	0,89 aC	0,46 eB	0,75 cD	0,64 dC	0,62 dC	0,60 dC	0,59 dC	0,60 dC	0,84 bD
35°C	0,85 cD	0,97 aD	0,97 aE	0,90 bC	0,90 bE	0,98 aE	0,97 aD	0,94 aD	0,82 cD	0,94 aD	0,90 bD	0,91 aE
40°C	0,45 bB	0,48 bB	0,49 bB	0,50 bB	0,62 aD	0,50 bB	0,50 bB	0,50 bB	0,48 bB	0,46 bB	0,50 bB	0,50 bB

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

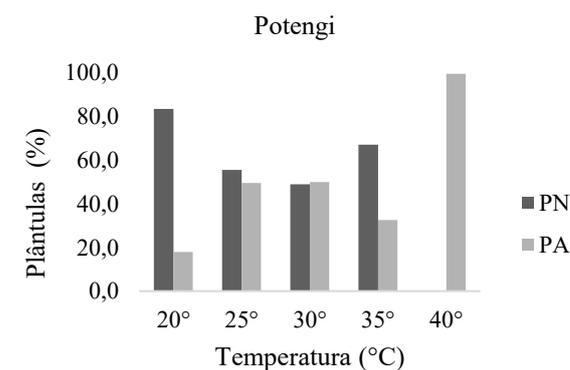
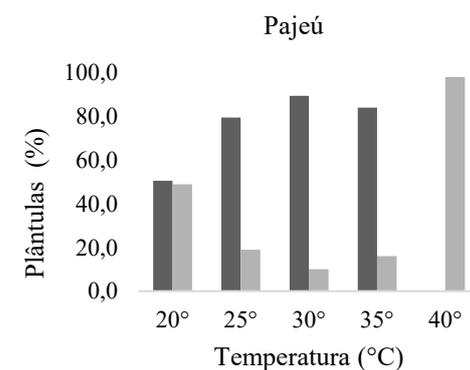
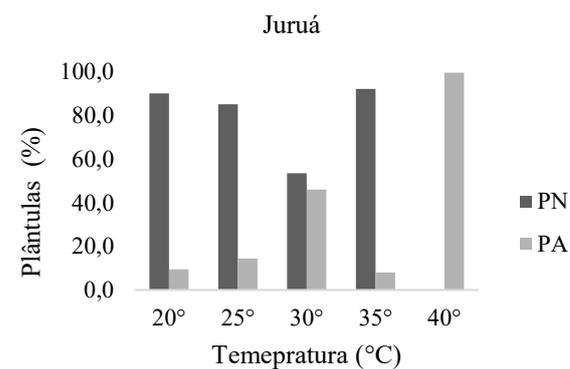
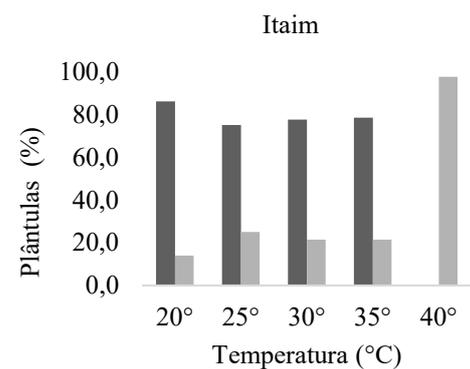
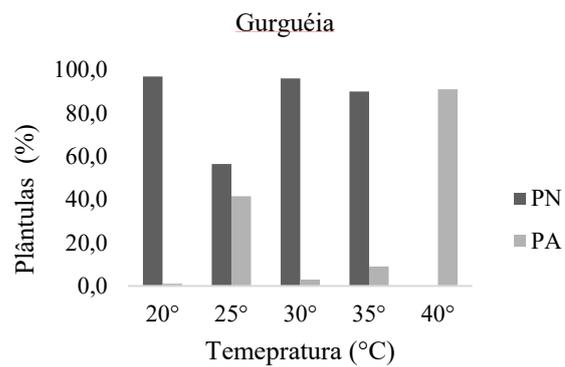
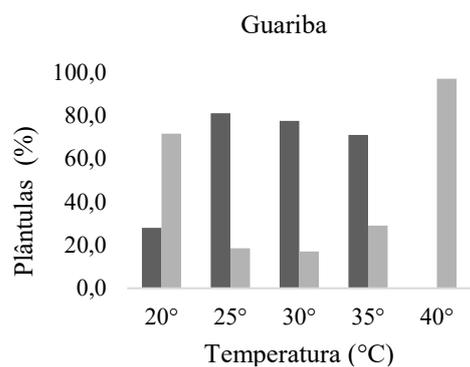
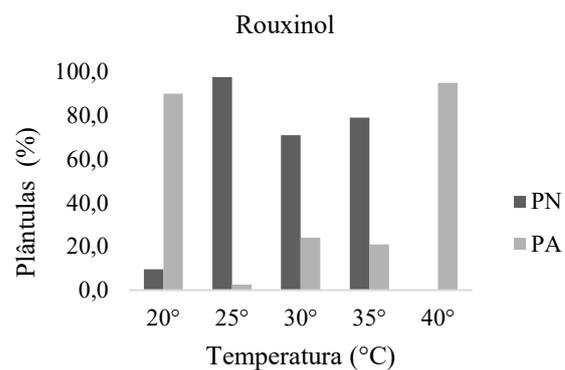
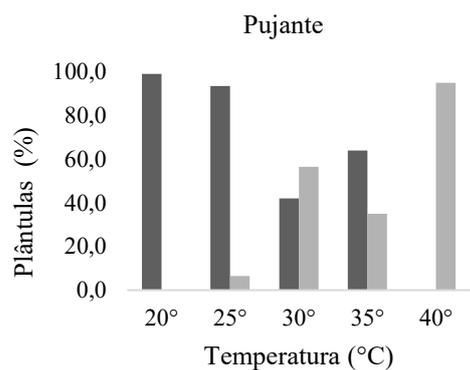
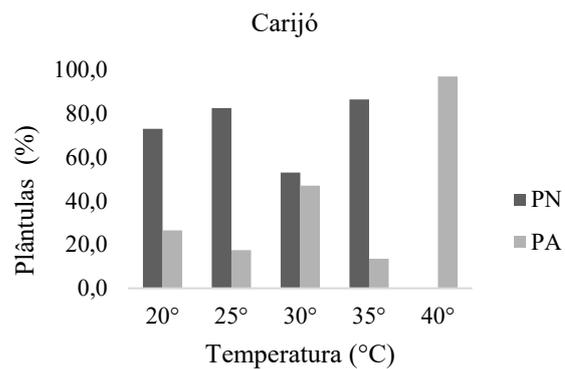
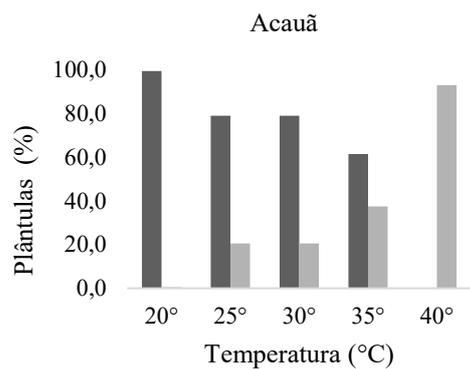
Durante o processo de germinação, a temperatura interfere no tempo de embebição de água e nas reações químicas, alterando assim a velocidade germinação. Para o feijão comum, a temperatura ótima para o IVG foi de 25-30 °C (ZABOT et al., 2008). Outros gêneros de plantas da família Fabaceae, como feijão-fava e a ervilha apresentam as temperaturas de 28,5 e 28,1 °C como ótimas para a germinação das sementes (TRIBOUILLOIS et al., 2016). Desta forma, o feijão comum e estas outras leguminosas podem ser mais sensíveis ao aumento de temperatura, quando comparadas com o feijão-caupi. Isto porque, os resultados deste trabalho mostraram que as cultivares tiveram um desempenho ótimo das sementes em temperaturas de 30,49 a 35,48 °C (Tabela 2).

O Nordeste brasileiro obteve uma produção total anual de feijão-caupi de 417,9 mil toneladas na safra de 2018/2019 (CONAB, 2019), superior a outras regiões produtoras. No semiárido brasileiro, este é o principal cultivo de subsistência, sendo plantado praticamente durante todo o ano, tanto em sistema de monocultivo ou consórcio com outras culturas, no sequeiro ou irrigado (VALE et al., 2017). Esta região é caracterizada por temperaturas médias de 26-28°C. Assim, em um cenário de aumento de temperatura de 4,8°C, como previsto pelo IPCC, não prejudicará a germinação e o estabelecimentos das plântulas de feijão-caupi. Além disso, os resultados desta pesquisa atualizam a temperatura ótima utilizada pelas Regras de Análise de Sementes (RAS), 25 °C (Brasil, 2009).

Em temperaturas sub e supra ótimas, de 20 e 40°C, as sementes levaram mais tempo para germinar, havendo uma redução na VMG (Tabela 3).

A velocidade de germinação é um bom índice para avaliar a ocupação de uma espécie em um determinado ambiente, pois a germinação rápida é característica de espécies cuja estratégia é se instalar no ambiente o mais rápido possível, aproveitando as condições ambientais favoráveis (MELO JUNIOR et al., 2018). Assim, através do índice de velocidade de germinação, a temperatura ótima para germinação do feijão-caupi está entre 30,49 e 35,48 °C, variando de acordo com a cultivar (Tabela.3). Orzari et al. (2013) confirmaram que a temperatura ótima é aquela em que a maior porcentagem de germinação foi obtida no menor tempo. A temperatura interfere no tempo de embebição da água e nas reações químicas, alterando a velocidade de germinação (GORDIN et al., 2012). Essa velocidade pode estar relacionada à qualidade fisiológica das sementes, pois quanto maior o vigor, maior a velocidade e a taxa de germinação (PÁDUA et al., 2010).

Mesmo sob estresse térmico de 40 °C, todas as cultivares alcançaram porcentagem de germinação de 91 a 100%. No entanto, esse não foi um bom resultado, visto que nessa condição não houve formação de plântulas normais nas cultivares avaliadas (Figura 2). Assim, ambientes com temperaturas não ótimas para cada espécie podem atrasar a emergência das plântulas e reduzir o estande devido à formação de pequenas plântulas, confirmando que as condições ambientais são decisivas no processo de estabelecimento da cultura (SANTOS e ZONETTI, 2009). Em relação à porcentagem de plântulas normais e anormais, as cultivares também responderam de forma diferente às diferentes temperaturas. Temperaturas entre 25 e 35 °C favoreceram a formação de plântulas normais. Esta característica reforça a capacidade adaptativa do desenvolvimento inicial do feijão-caupi em condições de aumento de temperatura. Outras lavouras, como a melancia, por exemplo, apresentam a temperatura ótima para o desenvolvimento das mudas com temperatura média de 25 °C (SILVA et al., 2018). As plântulas bem desenvolvidas expressam o vigor das sementes que lhes deram origem, indicando que podem emergir mais rápida e uniformemente, e se estabelecer em condições adversas de campo, permitindo assim que o estande esperado seja mantido (SILVA et al., 2017).



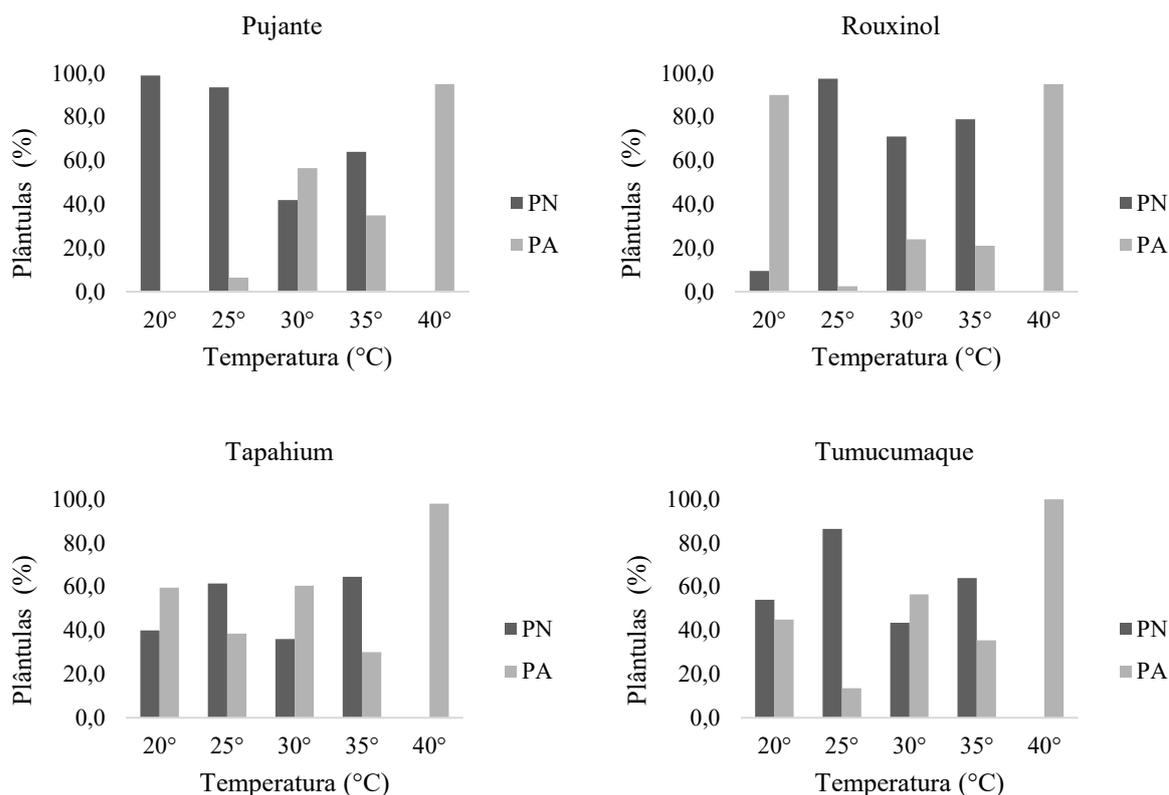


Figura 2: Porcentagem de plântulas normais (PN) e plântulas anormais (PA) de cultivares de feijão-caupi, submetidas ao aumento de temperaturas.

A germinação das sementes é uma fase crítica para o estabelecimento das plântulas no meio de cultivo, uma vez que estas não possuem habilidade para suportar as condições adversas do ambiente, como as altas temperaturas. No caso do feijão-caupi, as cultivares Acauã, Carijó, Guariba, Gurguéia, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Pujante, Rouxinol, Tapahium e Tumucumaque apresentaram um desempenho satisfatório para o estabelecimento das plantas, sendo necessários estudos que avaliem o efeito do aumento de temperaturas nos demais estádios fenológicos da planta.

CONCLUSÃO

O aumento da temperatura do ar entre 30-35 °C impactou positivamente no processo de germinação do feijão-caupi, apresentando maior porcentagem de germinação no menor tempo e favorecendo a formação de plântulas normais.

REFERÊNCIAS

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, J. D.; HILHORST, K.; NONOGAKI, H. Seeds:

physiology of development, germination and dormancy. New York: Springer, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. v. 6 – Safra 2018/2019, n. 9 - Nono levantamento, Brasília, setembro de 2019.

DJANAGUIRAMAN, M.; PERUMAL, R.; CIAMPITTI, I. A.; GUPTA, S. K.; PRASAD, P. V. V. Quantifying pearl millet response to high temperature stress: Thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Plant, Cell and Environment*, v.41, n.1, p. 993-1007, 2018.

FELIX, C. F.; ARAÚJO, F. S.; SILVA, M. D.; FERRARI, C. S.; PACHECO, M.V. Estresse hídrico e térmico na germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.13, n.2, p. 1-7, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GAO-TAKAI, M.; KATAYAMA-IKEGAMI, A.; MATSUDA, K.; SHINDO, H.; UEMAE, S.; OYAIZU, M. A low temperature promotes anthocyanin biosynthesis but does not accelerate endogenous abscisic acid accumulation in red-skinned grapes. *Plant Science*, v. 283, n.1, p.165-176, 2019.

GORDIN, C. R. B.; MARQUES, R. F.; MASETTO, T. E.; SCALON, S. P. Q. Germinação, biometria de sementes e morfologia de plântulas de *Guizotia abyssinica* Cass. *Revista Brasileira de Sementes*, v.34, n.4, p.619-627, 2012.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate Change 2013: the physical science basis*. Cambridge: University Press, 2013.

MARTINEZ, C. A.; OLIVEIRA, E. A. D.; MELLO, T. R. P.; MARIN, A. L. A. Respostas das plantas ao incremento atmosférico de dióxido de carbono e da temperatura. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v.8, n.6, p. 635-650, 2015.

MELO JUNIOR, J. L. A.; MELO, L. D. F. de A.; ARAUJO NETO, J. C.; FERREIRA, V. M. Germination and morphology of seeds and seedlings of *Colubrina glandulosa*

Perkins after overcoming dormancy. *Australian Journal of Crop Science*, v.12, n.1, p. 639-647, 2018.

MESGARAN, M. B.; ONOFRI, A.; MASHHADI, H. R.; COUSENS, R. D. Water availability shifts the optimal temperatures for seed germination A modelling approach. *Ecological Modelling*, v.351, n.1, p. 87-95, 2017.

MIRANSARI, M.; SMITH, D. L. Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, v.99, n.1, p.110-121, 2014.

MOTSA, M.M.; SLABBERT, M.M.; AVERBEKE, W.; MOREY, L. Effect of light and temperature on seed germination of selected African leafy vegetables. *South African Journal of Botany*, v.99, n.1, p. 29-35, 2015.

ORZARI, I.; MONQUERO, P. A.; REIS, F. CSABBAG, R. S.; HIRATA, A. C. S. Germinação de espécies da família Convolvulaceae sob diferentes condições de luz, temperatura e profundidade de semeadura. *Plantas Daninhas*, v.31, n.1, p. 53-61, 2013.

PÁDUA, G. P de.; ZITO, R. K.; ARANTES, N. E.; RANÇA NETO, J. B. 2010. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. *Revista Brasileira de Sementes*, v.32, n.3, p. 09-16, 2010.

PARMOON, G.; MOOSAVI, S.A.; AKBARI, H.; EBADI, A. Quantifying cardinal temperatures and thermal time required for germination of *Silybum marianum* seed. *The Crop J.* v.3, n.1, p. 145-151, 2015.

RANAL, M. A.; SANTANA, D.G.; FERREIRA, W.R.; MENDES-RODRIGUES, C. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. *Brazilian Journal Botany*, v.32, n.1, p. 849-855, 2009.

SABOYA, R. C. C.; BORGES, P. R. S.; SABOYA, L. M. F.; MONTEIRO, F. P. dos R.; SOUZA, A. E. A.; SANTO, A. F. Response of cowpea to inoculation with nitrogen-fixing strains in Gurupi-Tocantins State. *Journal Biotechnology of Biology*, v.4, n.1, p. 40-48, 2013.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. Análise estatística na germinação. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.12, n.4, p. 205-237, 2000.

SANTOS, G.A.; ZONETTI, P. C. Influência da temperatura na germinação e desenvolvimento do girassol (*Helianthus annuus* L.). Revista Iniciação Científica CESUMAR, v.11, n.1, p. 23-27, 2009.

SILVA, R. C. B.; ARAUJO, M.do N.; ORNELLAS, F. L. S.; DANTAS, B. F. Thermal stress and physiological changes in watermelon seeds. Revista de Pesquisa Agropecuária Tropical, v.48, n.1, p. 66-74, 2018.

SILVA, R. B.; MATOS, V. P.; FARIAS, S. G. G.; SENA, L. H. M.; SILVA, D. Y. B. O. Germinação e vigor de plântulas de *Parkia platycephala* Benth. em diferentes substratos e temperaturas. Revista Ciências Agronômicas, v.48, n.1, p.142-150, 2017.

TAIZ, L.; MOLLER, E. Z. I. M.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TRIBOUILLOIS, H.; DURR, C.; DEMILLY, D.; WAGNER, M. H.; JUSTES, E. Determination of germination response to temperature and water potential for a wide range of cover crop species and related functional groups. PLoS One, v.11, n.1, 2016.

VALE, J. C.; BERTINI, C.; BORÉM, A. Feijão-caupi: do plantio à colheita. Editora UFV, Viçosa, Brasil, 2017.

ZABOT, L.; DUTRA, L. M. C.; GARCIA, D. C.; MENEZES, N. L.; LUDWIG, M. P. Temperatura e qualidade fisiológica no crescimento de plântulas de Feijoeiro. Revista Brasileira de Agrociência, v.14, n.4, p. 60-64, 2008.

CAPÍTULO 2

Seleção de cultivares de feijão-caupi tolerantes a altas temperaturas: aspectos fisiológicos, bioquímicos e produção

Juliane Rafaelle Alves Barros^{1,2}; Miguel Julio Machado Guimarães²; Rodrigo Moura e Silva³; Maydara Thaylla Cavalcanti Rêgo¹; Nataniel Franklin de Melo⁴; Agnaldo Rodrigues de Melo Chaves⁴; Francislene Angelotti⁴

RESUMO

O estresse por alta temperatura pode dificultar o desenvolvimento do feijão-caupi, resultando em diversos danos, incluindo as fases vegetativa e reprodutiva da cultura. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi selecionar cultivares de feijão-caupi tolerantes ao estresse por altas temperaturas, utilizando diversos parâmetros relacionados a aspectos fisiológicos, bioquímicos e de produção. Para isso, foram utilizadas as cultivares Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol e Tapahium, mantidas em dois regimes de temperatura: 20-26-33 °C e 24,8-30,8-37,8 °C. O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento, em esquema fatorial 5x2 (cultivares x regimes de temperatura). Respostas diferenciadas entre as cultivares com o aumento de 4,8 °C na temperatura do ar. A alta temperatura promoveu uma maior quantidade de flores abortadas, levando a uma redução no rendimento da cultivares Carijó, Pujante, Rouxinol e Tapahium. A fotossíntese, condutância estomática, transpiração foliar e atividades enzimáticas foram significativamente influenciadas pela alta temperatura. A partir da combinação das respostas das variáveis biométricas, fisiológicas e produtivas, o cultivar Itaim pode ser considerado tolerante a um aumento de 4,8 °C na temperatura do ar.

Palavras - chave: rendimento de grão, estresse térmico, estresse oxidativo, atividade fisiológica, *Vigna unguiculata*.

¹ Doutoranda em Recursos genéticos vegetais, UEFS, Feira de Santana-BA; ² Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Raimundo das Mangabeiras, IFMA, Maranhão-MA; ³ Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental para o Semiárido, UPE, Petrolina-PE, ⁴ Pesquisador(a) Embrapa Semiárido, Petrolina-PE.

Artigo publicado Revista Physiology and Molecular Biology of plants, 27(1), p. 29-38, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00919-7>

Selection of cowpea cultivars for high temperature tolerance: physiological, biochemical and yield aspects

ABSTRACT

High temperature stress can hinder the development of cowpea resulting in several damages including vegetative and reproductive phases of the crop. In this context, the objective of this study was to select cowpea cultivars tolerant to high temperature stress using various parameters related to physiological, biochemical, and yield aspects. For this, the cultivars Carij6, Itaim, Pujante, Rouxinol and Tapahium were used, maintained in two temperature regimes: 20-26-33 °C and 24.8-30.8-37.8 °C. The experiment was carried out in growth chambers, in a 5x2 factorial arrangement (cultivars x temperature regimes). Responses differentiated among the cultivars with the increase of 4.8 °C in air temperature. The high temperature promoted a greater quantity of aborted flowers, leading to a reduction in the yield of the cultivars Carij6, Pujante, Rouxinol and Tapahium. The photosynthesis, stomatal conductance, leaf transpiration and enzymatic activities were significantly influenced by high temperature. From the combination of the responses of biometric, physiological and productive variables, the cultivar Itaim can be considered as tolerant to an increase of 4.8 °C in air temperature.

Keywords: grain yield, heat stress, oxidative stress, physiological activity, *Vigna unguiculata*.

INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma leguminosa originária do continente africano, amplamente utilizada como fonte de alimento, gerando emprego e renda para a agricultura familiar (Rocha et al. 2016). No Brasil, de acordo com dados da Companhia Nacional do Abastecimento CONAB (2019), na safra 2018/2019 o feijão-caupi ocupou uma área de 1.327,5 mil hectares, com produção estimada em 651,8 mil toneladas. Esta produção se concentra no Norte e Nordeste. Entretanto, nos últimos anos, devido ao aumento de tecnologias e de sua ampla adaptação às condições edafoclimáticas, o feijão-caupi passou a ser cultivado não só por pequenos produtores, mas também por médios e grandes, ganhando áreas de cultivo na região Centro-Oeste do Brasil (FREIRE FILHO et al., 2017), principalmente no estado de Mato Grosso, com produção de 229,6 mil toneladas, ocupando uma área superior a 200 mil hectares (CONAB, 2018).

Por ser uma leguminosa rústica, possui boas condições para adaptação em locais com altas temperaturas e baixa disponibilidade hídrica (ARAÚJO et al., 2018). Porém mesmo com essas características, o rendimento do feijão-caupi ainda é baixo no Nordeste, pois nesta região, a temperatura pode ultrapassar a ótima para cultura, o que contribui para o aumento do déficit hídrico, afetando o rendimento final das culturas, pois segundo Djanaguiraman et al. (2018), o aumento da temperatura e o déficit hídrico são os estresses abióticos que mais limitam a produtividade agrícola.

Estudos realizados por Hatfield e Prueger (2015), mostraram que o crescimento e o desenvolvimento das plantas dependem da temperatura e que cada espécie possui uma faixa específica representada por um mínimo, um máximo e um ótimo. De acordo com Vale et al. (2017), o feijão-caupi se desenvolve em uma faixa ampla de temperatura, entre 18 e 37°C. Entretanto, o ponto ótimo da temperatura varia com o estágio fenológico da planta (BASTOS, et al. 2017). Assim, temperaturas fora do ponto ótimo podem causar impacto desde a germinação das sementes até a produção final (SEHGAL et al., 2018), sendo que a fase reprodutiva é a mais afetada. Estudos realizados mostraram que temperatura acima de 35°C, provocam o abortamento de flores, estimulam a senescência das folhas, diminuindo a capacidade fotossintética, afetando assim a produtividade das vagens e de sementes de feijão-caupi, pois esse aumento interfere em aspectos fisiológicos e bioquímicos das plantas (ZANDALINAS et al., 2018).

Como resposta, as plantas diminuem o teor de clorofila, taxa de fotossíntese e transpiração (TAIZ et al., 2017) evitando perda de água. Além disso, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa através de atividades enzimáticas eliminadoras de espécies reativas de oxigênio (EROs), como a Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPx) e ascorbato peroxidase (APX), para se adaptar e sobreviver aos estresses abióticos (MERWAD et al., 2018). De acordo com o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, 2013), as previsões climáticas apontam para um aumento de até 4,8 °C na temperatura do ar até o final do século. Onde a região semiárida do Nordeste do Brasil será uma das mais afetadas, pois são as regiões mais vulneráveis (DJANAGUIRAMAN et al., 2018). Este aumento de temperatura pode afetar as plantas em nível molecular, fisiológico e bioquímico (GRAY e BRADY 2016), comprometendo seu crescimento, metabolismo e desenvolvimento (EFTEKHARI et al. 2017).

Portanto, um melhor entendimento das respostas das plantas às altas temperaturas é essencial para melhorar a produtividade e a qualidade das lavouras, além de permitir que os produtores selecionem genótipos termotolerantes com alto potencial de produção. Além de gerar empregos e renda para a agricultura familiar, o feijão-caupi é considerado uma cultura fundamental no contexto das mudanças climáticas globais e da segurança alimentar (ROCHA et al., 2016, GOMES et al., 2019). Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi selecionar cultivares de feijão-caupi tolerantes ao estresse por altas temperaturas, utilizando diversos parâmetros relacionados a aspectos fisiológicos, bioquímicos e de produtividade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento do tipo Fitotron com controles de temperatura, umidade e fotoperíodo. O delineamento foi em esquema fatorial 5x2 (cultivares x temperatura), com quatro repetições. As sementes comerciais, cultivares BRS Carijó, BRS Itaim, BRS Pujante, BRS Rouxinol e BRS Tapahium, fornecidos pela Embrapa Semiárido, foram utilizadas. Os regimes de temperaturas foram: T°1: 20-26-33°C (20°C: no horário de 20h as 6h; 26°C: no horário de 6h as 10h; 33°C: no horário de 10h as 15h; 26°C: no horário de 15h as 20h) na câmara 1 e o regime T°2: 24,8-30,8-37,8°C (24,8°C: no horário de 20h as 6h; 30,8°C: no horário de 6h as 10h; 37,8°C: no horário de 10h as 15h; 30,8°C: no horário de 15h as 20h) na câmara 2. Os valores de temperatura foram determinados a partir das temperaturas mínimas, média e máxima

variam de 18-22, 25-27 e 32-34°C, respectivamente, no Submédio do Vale do São Francisco, dos últimos 30 anos. Neste trabalho foi empregado um aumento de 4,8°C, baseado no cenário de aumento de temperatura do IPCC (2013).

As sementes foram semeadas dez sementes por vaso com capacidade de 7 L e após 15 dias da semeadura foi realizado o desbaste deixando apenas uma planta por vaso. A fertirrigação foi realizada 2 dias antes do plantio com base nos resultados da análise química do solo e conforme recomendado para a cultura (CAVALCANTI, 2008). Para esse processo, os adubos foram diluídos em água e aplicados no momento da irrigação.

Determinação do ciclo fenológico

As plantas foram avaliadas diariamente para a determinação do ciclo fenológico todos os dias após a semeadura (DAS's). Para avaliação, utilizou-se a escala de Oliveira et al. (2018). Onde a fase vegetativa contemplou os estádios: V0 – Germinação; V1 – Emergência; V2 – Folhas primárias; V3 Primeira folha composta aberta; V4 – Terceira folha trifoliada aberta. Já a fase reprodutiva foi dividida em: R5 – Pré-floração; R6 – Floração; R7 – Formação de vagens; R8 – Enchimento das vagens; e R9 – Maturação.

Parâmetros produtivos e biométricos

A avaliação da massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) foi realizada após a colheita, por meio do corte do caule rente ao solo para a separação da parte aérea e das raízes. Os materiais foram acondicionados em sacos de papel e mantidos em estufa a 65°C até atingir peso constante ($\pm 72h$), para se proceder.

Para avaliação do abortamento de flores (com início no estágio R6), diariamente foram contadas as flores de cada planta para obter o número de flores abortadas, por cada cultivar. O rendimento das sementes e os componentes primários avaliados foram: peso médio de vagem (PMV), comprimento da vagem (CV), diâmetro da vagem (DV), número de vagem por planta (NVP), número de sementes por planta (NSP), produção de sementes (PS). Estas avaliações foram realizadas quando as plantas atingiram o estágio de maturação das vagens, variando de acordo com o ciclo de cada cultivar.

Análise de parâmetros fisiológicos

As avaliações fisiológicas foram realizadas 30 dias após o plantio, quando as plantas se encontravam na fase V4, às 09:00 da manhã. Na ocasião foram avaliadas as trocas gasosas a partir do Analisador Portátil de Gás Infravermelho (IRGA), modelo Li-6400, utilizando luz artificial fixada em 2500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As variáveis analisadas

foram: taxa de fotossíntese (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e temperatura foliar (T_f). Para avaliação do teor de clorofila das folhas, foi determinado o índice relativo de clorofila com auxílio do clorofilômetro portátil, modelo CFL 1030 FALKER). Para realização das leituras, foi escolhido uma folha localizada no terço média da planta, sem injúrias, com coloração verde e totalmente expandida.

Atividades de enzimas eliminadoras de EROs

Folhas saudáveis, verdes e totalmente expandidas localizadas no terço médio da planta, foram coletadas após 30 dias do plantio para análises bioquímicas. As amostras foram imediatamente armazenadas em envelopes de papel alumínio e imersas em nitrogênio (N_2) líquido. Os extratos vegetais foram preparados usando 1 g de material vegetal macerado em nitrogênio líquido com adição de 0,01 g de polivinilpolipirrolidona e 3 ml de tampão de extração (pH 7,5) na concentração de 100mM de fosfato de potássio. Em seguida, o extrato foi centrifugado a 15.000 g durante 15 minutos, a 4 °C, e o sobrenadante obtido foi utilizado como extrato enzimático bruto.

O teor de proteína solúvel total foi determinado de acordo com o método de Bradford (1976) a 595 nm. A atividade da catalase (CAT) foi determinada seguindo a decomposição do H_2O_2 por 60 segundos, através das leituras espectrofotométricas a 240 nm, a temperatura de 25 °C, conforme método descrito por Havir et al., (1987). A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada conforme descrito por Nakano e Asada (1981), através do monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato utilizando espectrofotômetro com comprimento de onda a 290 nm, a 25 °C, durante 60 segundos. A determinação da atividade da enzima guaiacol peroxidase (GPX) foi baseada em estudos desenvolvidos por Cakmak e Horst (1991) por meio do monitoramento da redução do guaiacol peroxidase utilizando espectrofotômetro com comprimento de onda a 470 nm, a 25 °C, durante 60 segundos. Já a atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com a metodologia de Giannopolitis e Ries (1977), com leituras em espectrofotômetro em comprimento de onda a 560 nm, e definindo a unidade de SOD como a quantidade da enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT.

Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para comparação dos tratamentos seguida do teste de Tukey a 5% de probabilidade por meio do software estatístico Sisvar versão 5.6

RESULTADOS

Ciclo Fenológico

Os resultados da caracterização fenológica das cinco cultivares avaliadas podem ser observados na Tabela 1. De maneira geral, as cultivares apresentaram um comportamento semelhante nas fases V0 e V1, com duração de 1 a 2 dias, nos dois regimes de temperatura.

Tabela 1. Número de dias para cada estágio fenológico e duração do ciclo de cinco cultivares de feijão-caupi, mantidas em dois regimes de temperatura (20-26-33°C e 24,8-30,8-37,8°C).

Cultivar	Temperatura	Estádio Fenológico (dias)										Ciclo
		V0	V1	V2	V3	V4	R5	R6	R7	R8	R9	
Carijó	20-26-33°C	2	2	7	9	13	2	2	15	4	5	61
	24,8-30,8-37,8°C	2	2	6	6	16	1	4	10	2	6	55
Itaim	20-26-33°C	1	2	8	6	15	2	1	16	3	7	61
	24,8-30,8-37,8°C	2	1	5	6	17	1	2	9	5	4	52
Pujante	20-26-33°C	1	2	7	7	27	1	2	18	3	5	73
	24,8-30,8-37,8°C	2	2	5	9	42	2	35	10	3	4	114
Rouxinol	20-26-33°C	1	2	8	6	37	1	1	12	5	12	85
	24,8-30,8-37,8°C	2	2	6	8	44	2	1	29	5	14	113
Tapahium	20-26-33°C	1	1	9	9	12	1	6	19	3	4	65
	24,8-30,8-37,8°C	2	2	8	8	14	2	16	16	2	17	87

Verificou-se que o ciclo fenológico das cultivares Carijó e Itaim foi menor para as plantas expostas à alta temperatura, com redução de 6 e 9 dias respectivamente, quando comparadas às plantas expostas à temperatura de 20–26–33 °C. Porém, observou-se que para as cultivares Pujante, Rouxinol e Tapahium, a alta temperatura prolongou o ciclo fenológico em 41, 28 e 22 dias, respectivamente.

Durante a fase reprodutiva, a cultivar Pujante manteve a fase de floração (R6) por mais 33 dias em regime de alta temperatura. O prolongamento desta fase também foi observado para cultivar Tapahium. O aumento na temperatura afetou a indução do florescimento. Sob o regime de temperatura de 24,8–30,8–37,8 °C, uma alta porcentagem de flores abortadas (AF) foi observada (Figura 1a), e um maior tempo para atingir o estágio R7 (formação de vagens).

O incremento de 4,8 °C na temperatura promoveu um aumento significativo na porcentagem de flores abortadas (FA) para as cultivares Carijó, Pujante, Rouxinol e Tapahium (Figura 1a). A cultivar Itaim destacou-se por não apresentar aumento significativo no abortamento das flores em temperatura elevada.

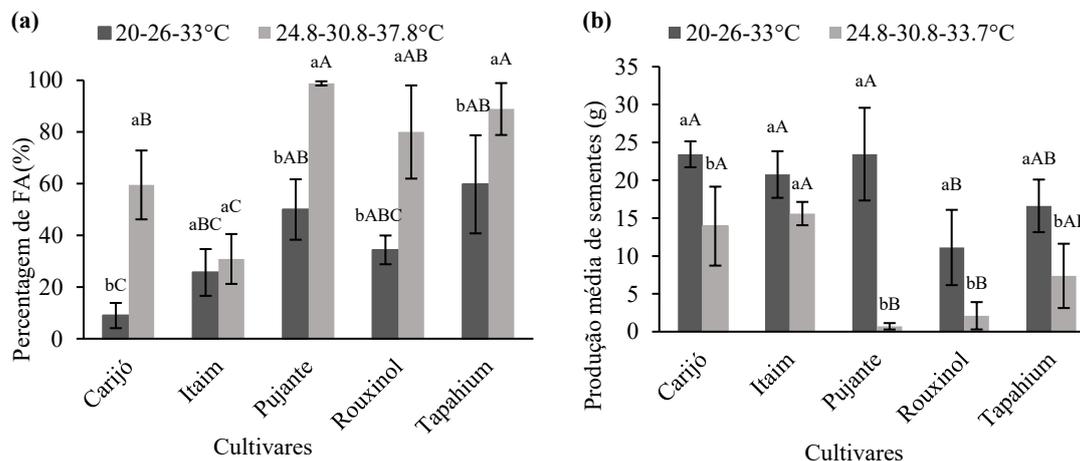


Figura 1. Porcentagem de flores abortadas (FA) (a) e produção média de sementes (g) (b) de cultivares de feijão-caupi mantidas sob dois regimes de temperatura. *Letras minúscula para temperatura e maiúscula para cultivares.

Parâmetros produtivos e biométricos

A interação cultivar x temperatura foi significativa para o rendimento das sementes e seus componentes primários: massa seca da parte aérea (MSPA), peso médio de vagem (PMV), comprimento da vagem (CV), diâmetro da vagem (DV), número de vagem por planta (NVP), número de sementes por planta (NSP) (Tabela 2).

As cultivares Pujante e Rouxinol apresentaram maiores médias para massa seca da parte aérea (MSPA) quando mantidas no regime de temperatura de 24,8-30,8-37,8°C, com 28,35 e 29,75 g, respectivamente. Para as demais cultivares a temperatura não interferiu nesta variável. Isso pode ser explicado pelo fato de que as plantas mantidas em temperaturas mais elevadas, levaram mais tempo no estágio vegetativo (Tabela 1).

Tabela 2. Massa seca da parte aérea (MSPA), peso médio de vagem (PMV), comprimento da vagem (CV), diâmetro da vagem (DV), número de vagem por planta (NVP), número de sementes por planta (NSP) de plantas de feijão-caupi, mantidas em dois regimes de temperatura (20-26-33°C e 24,8-30,8-37,8°C).

MSPA					
Temperatura	Carijó	Itaim	Pujante	Rouxinol	Tapahium
20-26-33°C	16,7 aA	11,77 aA	16,4 bA	17,91 bA	9,47 aA
24,8-30,8-37,8°C	16,95 aB	9,12 aB	28,35 aA	29,75 aA	15,47 aB
PMV (g)					
Temperatura	Carijó	Itaim	Pujante	Rouxinol	Tapahium
20-26-33°C	2,00 aA	1,96 aA	3,41 aA	3,37 aA	2,67 aA
24,8-30,8-37,8°C	2,01 aA	1,26 aA	0,48 bA	1,55 bA	1,64 aA
CV (cm)					
Temperatura	Carijó	Itaim	Pujante	Rouxinol	Tapahium
20-26-33°C	16,03 aA	13,17 aA	19,19 aA	20,31 aA	16,87 aA
24,8-30,8-37,8°C	14,87 aA	11,32 aA	3,40 bB	8,02 bB	13,58 aA
DV (mm)					
Temperatura	Carijó	Itaim	Pujante	Rouxinol	Tapahium
20-26-33°C	7,82 aA	8,56 aA	11,34 aA	10,56 aA	9,17 aA
24,8-30,8-37,8°C	8,07 aA	8,61 aA	2,62 bB	5,31 bB	9,32 aA
NVP					
Temperatura	Carijó	Itaim	Pujante	Rouxinol	Tapahium
20-26-33°C	15,25 aA	14,50 aA	9,50 aB	5,25 aC	8,25 aB
24,8-30,8-37,8°C	4,25 bB	14,00 aA	0,25 bB	1,50 bB	3,25 bB
NSP					
Temperatura	Carijó	Itaim	Pujante	Rouxinol	Tapahium
20-26-33°C	107,0 aA	83,0 aA	85,0 aA	53,0 aB	77,0 aA
24,8-30,8-37,8°C	54,0 bA	61,0 aA	2,0 bB	10,0 bB	29,0 bB

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para o peso médio da vagem (PMV), não houve diferença entre as cultivares mantidas no regime de temperatura de 20-26-33°C. Contudo, o aumento da temperatura causou redução significativa no PMV para as cultivares Pujante e Rouxinol. Tal comportamento é resultado da redução do comprimento das vagens (CV) destas cultivares, como observado na Tabela 2.

De acordo com os resultados, o número de vagens por planta (NVP) e o número de sementes por planta (NSP) também apresentaram influência do aumento da temperatura para as cultivares Carijó, Pujante, Rouxinol e Tapahium. A cultivar Itaim apresentou destaque em relação as demais cultivares pois não teve redução do NVP e do NSP frente ao aumento da temperatura (Tabela 2). Esse resultado se deve ao maior número de flores abortadas para as cultivares Carijó, Pujante, Rouxinol e Tapahium, o que não foi observado para a cultivar Itaim (Figura 1a).

As cultivares avaliadas apresentaram diferenças significativas na produção de sementes quando submetidas a diferentes regimes de temperatura. No regime de 20-26-33 °C todas as cultivares apresentaram maior produção de sementes. Destaca-se, mais uma vez, a cultivar Itaim que não apresentou redução na produção de sementes frente ao aumento de 4,8 °C. O aumento da temperatura reduziu 96%, 81%, 55% e 40% a produção de sementes das cultivares Pujante, Rouxinol, Tapahium e Carijó, respectivamente (Figura 1b).

Análise de parâmetros fisiológicos

A interação cultivares x temperatura também interferiu na fotossíntese (A), condutância estomática (g_s) e transpiração foliar (E) (Figura 2a). A atividade fotossintética das cultivares Carijó, Itaim e Tapahium não foi afetada pela alta temperatura. No entanto, o cultivar Pujante apresentou maior atividade fotossintética em plantas mantidas sob o regime de 24,8-30,8-37,8 °C, devido ao aumento da condutância estomática (g_s), e a maior transpiração (E). Resultados contrastantes foram observados na cultivar Rouxinol mantida no mesmo regime de temperatura.

Uma maior taxa de transpiração (E) e alta condutância estomática (Figura 2b, 2c) foram observadas para cv. Itaim e Tapahium quando submetidos a uma temperatura de 20-26-33 °C.

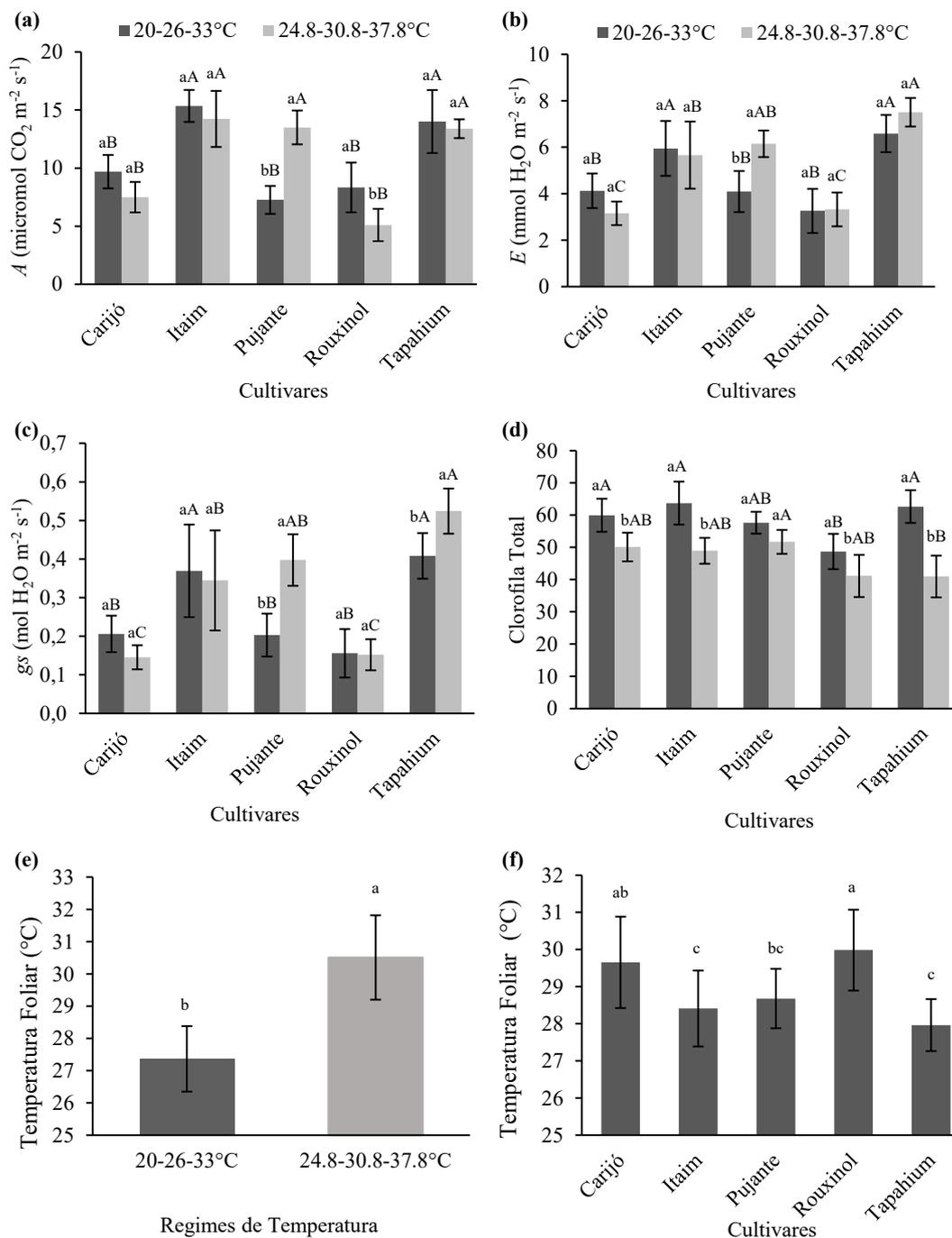


Figura 2. Parâmetros fotossintéticos de cultivares de feijão-caupi submetido a dois regimes de temperatura. (A) Taxa Fotossintética; (B) Taxa de Transpiração; (C) Condutância estomática; (D) Clorofila total; (E) e (F) Temperatura foliar. *letra minúscula para temperatura e maiúscula para cultivares.

Um aumento significativo foi observado para o teor de clorofila e temperatura foliar, com as maiores taxas observadas na câmara de temperatura mais baixa (Figura 2d). As variedades Itaim, Tapahium e Cario apresentaram maiores teores de clorofila total, com índice de 59,95 para a cv. Carijó, 63,72 para cv. Itaim e 62,66 para a cv. Tapahium.

A temperatura foliar (Tf) não teve influência da interação cultivar x temperatura. Porém, pode-se observar o efeito isolado da temperatura, verificando-se que a alta temperatura do ar proporcionou um maior Tf (Figura 2e). A Tf também foi afetada de acordo com a cultivar (Fig. 2f). As cultivares Carijó e Rouxinol apresentaram menor abertura estomática nos dois regimes de temperatura aplicados, resultando em menores valores de taxas de troca gasosa (*A* e *E*) quando comparadas às demais cultivares. Esse comportamento se refletiu na Tf dessas variedades, que registrou os maiores valores.

Atividades de enzimas eliminadoras de EROs

Para as enzimas CAT, APX, GPX E SOD, houve interação significativa entre as cultivares x temperatura. A atividade das enzimas diferiu entre as cultivares em ambos os regimes de temperatura (Figura 3).

As cultivares Rouxinol e Tapahium apresentaram elevada atividade da enzima CAT nos dois regimes de temperatura submetidas (Figura 3a). A cultivar Pujante, apresentou maior atividade enzimática quando submetida ao regime de maior temperatura, com um aumento de 133% na atividade da CAT. As demais cultivares apresentaram baixos valores dessa enzima, não havendo diferença significativa com o aumento de temperatura.

Reduções significativas de 58,53%, 63,72% e 49,72% na atividade específica de APX foram observadas apenas nas cultivares Itaim, Pujante e Rouxinol, respectivamente, para plantas expostas à alta temperatura (Figura 3b).

Quanto à enzima GPX, observou-se diferença significativa de acordo com os regimes de temperatura a que as cultivares Pujante e Rouxinol foram submetidas, com aumento de 105% e redução de 64,42%, respectivamente, com aumento de 4,8 °C na temperatura (Figura 3c).

A atividade específica da SOD foi afetada de forma diferenciada nas cultivares avaliadas. As cultivares Carijó e Itaim apresentaram aumento significativo na atividade específica em temperatura de 24,8-30,8-37,8°C. Para as cultivares Pujante e Tapahium, não houve alteração na atividade enzimática com o aumento de temperatura. Já a cultivar

Rouxinol apresentou redução significativa na atividade desta enzima, com o aumento da temperatura (Figura 3d).

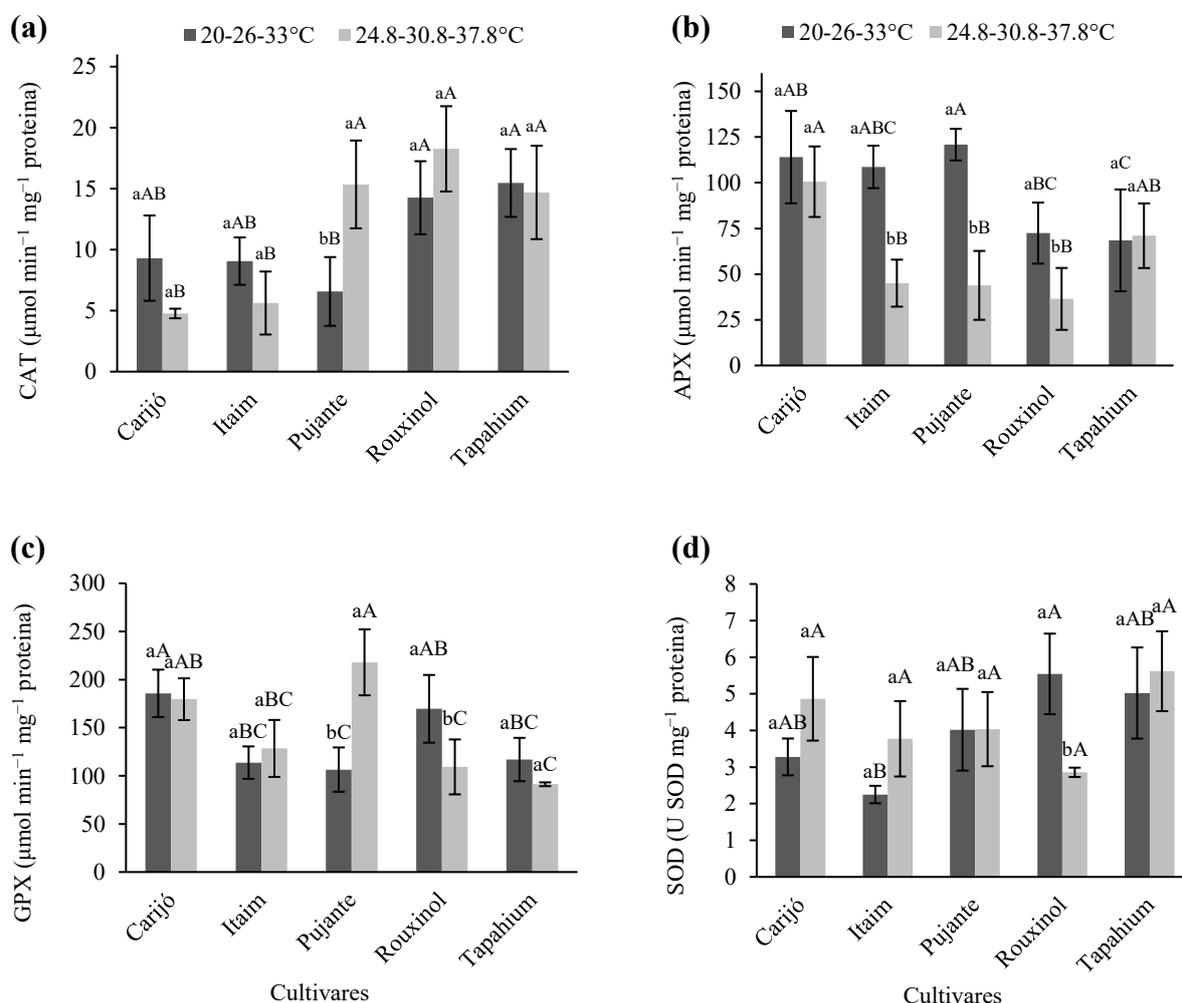


Figura 4. Atividade específica da Catalase (CAT) (a); Ascorbato Peroxidase (APX) (b); Guaiacol Peroxidase (GPX) (c) e superóxido dismutase (SOD) (d) em cultivares de feijão-caupi submetidas a diferentes regimes de temperatura. *Letra minúscula para temperaturas e maiúscula para cultivares.

DISCUSSÃO

A redução do ciclo fenológico das cultivares Carijó e Itaim pode ser explicada pelo fato de que altas temperaturas causam alterações na fenologia e encurtam o ciclo das plantas, devido ao maior acúmulo de graus-dia (BERGAMASHI e BERGONCI 2017). Uma fase de floração atrasada (R6) nas cultivares Pujante e Tapahium em alta temperatura, resultou no aumento do número de flores de aborto (Fig. 1a). Da mesma forma com cv. Rouxinol na fase (R7), o aumento de 4,8 °C na temperatura do ar fez com

que as vagens em formação caíssem, resultando no prolongamento desta fase. O desenvolvimento vegetativo aumenta com o aumento da temperatura do ar, uma vez que a temperatura ótima para o desenvolvimento vegetativo é superior à temperatura ótima para o desenvolvimento reprodutivo (HATFIELD e PRUEGER, 2015).

A resposta dos diferentes genótipos pode variar devido à alta temperatura. Estudos realizados em condições controladas confirmam a sensibilidade das cultivares BRS Pujante e BRS Tapahium à alta temperatura, com um percentual de flores abortadas de 33% e 66%, respectivamente (ANGELOTTI et al. 2020). Para o feijão-caupi, a fase reprodutiva é mais sensível ao aumento da temperatura, resultando na perda de botões florais, vagens e produção de sementes (SINGH et al., 2010). Assim, a seleção de uma cultivar tolerante neste caso será extremamente importante para reduzir as perdas devido às mudanças climáticas.

A exposição de plantas a altas temperaturas durante a fase de enchimento de grãos, mesmo por um curto período, pode acelerar a senescência das folhas, diminuir o número e peso de sementes e reduzindo o rendimento da colheita. As plantas tendem a desviar recursos para tolerar o estresse térmico, limitando a fotossíntese, que é essencial para o desenvolvimento reprodutivo (HOFFMANN JUNIOR et al., 2007; SITA et al., 2018). A redução na produção de sementes também está relacionada ao impacto da alta temperatura durante o período de floração. No feijão-caupi, plantas submetidas a temperaturas noturnas de 30 °C apresentaram baixa viabilidade de grãos de pólen e anteras indeiscentes (FREIRE FILHO et al. 2005), o que tem efeito direto na estrutura e retenção final da vagem, afetando ainda mais o número de sementes por vagem.

O estresse térmico pode ter um impacto negativo nos parâmetros fisiológicos, reduzindo drasticamente a taxa de crescimento e o rendimento. Isso se deve à sensibilidade das folhas às altas temperaturas. A fotossíntese pode ser inibida como resultado da perda de clorofila e redução da fixação e assimilação de carbono (YUAN et al., 2017). Conseqüentemente, essa redução dificulta a formação de componentes florais e o desenvolvimento de novas flores, resultando em menos vagens e sementes (SHARMA et al., 2016). Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as altas temperaturas têm um impacto no metabolismo das plantas de feijão-caupi, provocando alterações no padrão de crescimento. No entanto, as cultivares apresentaram respostas fisiológicas diferentes devido às diferentes exigências térmicas de cada genótipo.

A cv. Pujante foi pouco sensível ao estresse na fase vegetativa sem nenhuma diminuição da condutância estomática, resultando em alta taxa de atividade fotossintética,

o que não foi observado na cv Rouxinol. Embora a fotossíntese seja afetada em altas temperaturas, causando alterações no desenvolvimento e crescimento das plantas, essas cultivares apresentaram crescimento não reduzido. Este fato se explica, pois, quando o feijão-caupi atinge a fase de maturação (R9), as plantas entram em senescência. Porém, como pode ser visto na Figura 1a, as cultivares Pujante e Rouxinol apresentaram alta porcentagem de aborto de flores, o que prolongou o desenvolvimento vegetativo, diminuindo a senescência das folhas e, conseqüentemente, resultando no aumento da massa seca da parte aérea (SDM).

O aumento da temperatura do ar resultou em maior temperatura foliar. Sabe-se que cerca de 90% da água que as plantas absorvem é utilizada para regular a temperatura através da transpiração (TAIZ et al., 2017), portanto, com a diminuição da g_s , ocorre uma diminuição da transpiração e, conseqüentemente, um aumento em T_f .

As alterações nas atividades das enzimas sequestrantes de EROs em condições de alta temperatura, conforme observado neste estudo, podem estar associadas à adaptabilidade dos materiais genéticos avaliados quando submetidos ao estresse térmico. Assim, é reconhecido que altas temperaturas causam alterações no metabolismo de uma ampla gama de enzimas (MANSOOR e NAQVI, 2013). Dantas et al. (2015) observaram mudanças significativas nas atividades das enzimas sequestrantes de EROs, a CAT e APX em mudas de melancia submetidas ao estresse térmico, e concluíram que essas mudanças proporcionaram um melhor ajuste das funções celulares durante o estresse aplicado. Associada à manutenção das atividades das enzimas sequestrantes de EROs, a sincronia do padrão de comportamento das enzimas SOD, APX, CAT e GPX é fundamental na regulação do nível de EROs produzido na célula vegetal. À medida que o O_2^- é gerado, ele é dismutado em H_2O_2 pela SOD e então a H_2O_2 é eliminada pela ação de APX, CAT e GPX, que o converte em água e oxigênio (BARBOSA et al., 2014).

Assim, a eficiência deste processo reduz o nível de estresse oxidativo, sendo considerado crucial para o equilíbrio entre os níveis de O_2^- e H_2O (GUIMARÃES et al., 2018). As cultivares Pujante, Rouxinol e Tapahium podem ser classificados como sensíveis ao estresse térmico aplicado, pois apresentaram reduções significativas na produção de sementes, associadas à falta de sincronia nas atividades das enzimas avaliadas. A cv. Carijó pode ser considerado semi-tolerante por não apresentar, em geral, alterações significativas na atividade da enzima sequestrante de EROs, porém, apresentou redução na produção de sementes com o aumento da temperatura. A cultivar Itaim, por

outro lado, é tolerante ao estresse térmico aplicado, sem alterações significativas nas atividades das enzimas sequestrantes de EROs e na produção de sementes (Figura 1 e 3).

Os cultivares de feijão-caupi podem responder de forma diferente ao aumento da temperatura do ar. Esta primeira fase de seleção de cultivares tolerantes a altas temperaturas é uma etapa importante. No entanto, o impacto da temperatura juntamente com o déficit hídrico pode ser mais prejudicial, por isso é necessário entender a interação da temperatura e da água em diferentes cultivares de feijão-caupi para desenvolver estratégias de adaptação eficazes.

CONCLUSÕES

Os resultados revelaram respostas diferenciadas entre as cultivares Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol e Tapahium com o aumento de 4,8 °C na temperatura do ar. A alta temperatura promove maior quantidade de flores abortadas, levando à redução do rendimento das cultivares Carijó, Pujante, Rouxinol e Tapahium. A fotossíntese, condutância estomática, transpiração foliar e atividades enzimáticas foram significativamente alteradas pela alta temperatura. Pela combinação das respostas das variáveis biométricas, fisiológicas e produtivas, a cultivar Itaim pode ser considerada tolerante a um aumento de 4,8 °C na temperatura do ar. A indicação da cultivar termotolerante de feijão-caupi será de extrema importância para áreas de cultivo em regiões mais quentes devido à alta demanda dessa leguminosa para consumo humano.

REFERÊNCIAS

ANGELOTTI, F.; BARBOSA, L. G.; BARROS, J. R. A.; SANTOS, C. A. F. (2020) Cowpea (*Vigna unguiculata*) development under different temperatures and carbon dioxide concentrations. Revista Pesquisa Agropecuária Tropical, v.50, p.1-7, 2020.

ARAÚJO, E. D.; MELO, A. S.; ROCHA, M. S.; CARNEIRO, R. F.; ROCHA, M. M. Germination and initial growth of cowpea cultivars under osmotic stress and salicylic acid. Revista Caatinga, v. 31, n. 1, p. 80 – 89, 2018.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M de.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. Ciência Rural, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BERGAMASHI, H.; BERGONCI, J. I. (2017) As plantas e o clima: Princípios e aplicações. Agrolivros, Guaíba, 2017, 352 p.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. Anal Biochem, v.72, p.248-254, 1976.

CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). Physiologia Plantarum, v.83, n.3, p. 463–468, 1991.

CAVALCANTI, F. J. A. Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco. Recife: IPA, 2008, 212 p.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. v. 6 – Safra 2018/2019, n. 9 - Nono levantamento, Brasília, 201, 1–113 p.

DANTAS, B. F.; SILVA, R. C. B.; RIBEIRO, R. C.; ARAGÃO, C. A. Respiration and Antioxidant Enzymes Activity in Watermelon Seeds and Seedlings Subjected to Salt and Temperature Stresses. American Journal of Experimental Agriculture, v. 7, n. 2, p. 70 - 77, 2015.

DJANAGUIRAMAN, M.; PERUMAL, P.; CIAMPITTI, I. A.; GUPTA, S. K.;

PRASAD, P.V.V. Quantifying pearl millet response to high temperature stress: Thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Plant, Cell and Environment*, v. 41, n. 1, p. 993-1007, 2018.

EFTEKHARI, A.; BAGHIZADEH, A.; YAGHOUBI, M. M.; ABDOLSHAHI, R. Differences in the drought stress response of DREB2 and CAT1 genes and evaluation of related physiological parameters in some bread wheat cultivars. *Biotechnology & Biotechnology Equipment*, v.31, n.4, p.709–716, 2017.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; RODRIGUES, J. E. L. F.; VIEIRA, P. F. de M. J. A Cultura: Aspectos Socioeconômicos. In: Vale, J.C do; Bertini, C.; Borém, A. (Eds.) - Feijão-Caupi do plantio à colheita. Viçosa, MG; UFV, 1, p. 9-34, 2017.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiology*, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GOMES, A. M. G.; NHANTUMBO, N.; FERREIRA-PINTO, M.; MASSINGA, R.; RAMALHO, J. C.; RIBEIRO-BARROS, A. Breeding Elite Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] Varieties for Improved Food Security and Income in Africa: Opportunities and Challenges. In: ELESAWI, M. H (eds) Legume crops—characterization and breeding for improved food security. Intech Open, 2019, 626–640 p.

GRAY, S. B.; BRADY, S. M. Plant developmental responses to climate change. *Journal Developmental Biology*, v.419, n.1, p.64–77, 2016.

GUIMARÃES, M. J. M.; SIMÕES, W. L.; CAMARA, T. J. R.; SILVA, C. U. C.; WILLADINO, L. G. Antioxidant defenses of irrigated forage sorghum with saline aquaculture effluent. *Revista Caatinga*, v. 31, n. 1, p. 135-142. 2018.

HATFIELD, J. L; PRUEGER, J. H. Temperature extremes: Effect on plant growth and development. *Weather and Climate Extremes*, v.10, p.4-10, 2015.

HAVIR, E. A., MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HOFFMANN JUNIOR, L.; RIBEIRO, N. D.; ROSA, S. S.; JOST, E.; POERSCH, N. L.; MEDEIROS, S. L. P. Resposta de cultivares de feijão à alta temperatura do ar no período reprodutivo. *Ciência Rural*, v.37, n.6, p.1543-1548, 2007.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate Change 2013: the physical science basis*. Cambridge: University Press, 2013, 1535 p.

MANSOOR, S. NAQVI, F. N. Effect of heat stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, v.12, n.21, p.3196–3203, 2013.

MERWAD, A. R. M. A.; DESOKY, E. S. M.; RADY, M. M. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Scientia Horticulturae* v.228, n.1, p.132–144, 2018.

NAKANO, Y., ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiology*, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

OLIVEIRA, M. G. C.; OLIVEIRA, L. F. C.; WENDLAND, A.; GUIMARÃES, C. M.; QUINTELA, E. D.; BARBOSA, F. R.; CARVALHO, M. C. S.; LOBO JUNIOR M.; SILVEIRA, P. M. *Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos*. Brasília: Embrapa Arroz e Feijão, 2018, 59 p.

ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; MENEZES JÚNIOR, J. A. N.; HASHIMOTO, J. M.; NEVES, A. C.; SOUZA, F. M.; RIBEIRO, E.; FERNANDES, L. *Feijão-caupi: Melhoramento genético para o avanço da cultura*. Embrapa Meio-Norte, 2016, 6 p.

SEHGAL, A.; SITA, K.; SIDDIQUE, K.H.M.; KUMAR, R.; BHOGIREDDY, S.; VARSHNEY, R.K.; RAO, B.H.; NAIR, R.M.; PRASAD, P.V.V.; NAYYAR, H. Drought or/and Heat-Stress Effects on Seed Filling in Food Crops: Impacts on Functional Biochemistry, Seed Yields, and Nutritional Quality. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 1705, 2018.

SHARMA, L.; PRIVA, M.; BINDUMADHAVA, H. B.; NAIR, R. M.; NAVVAR, H. Influence of high temperature stress on growth, phenology and yield performance of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] under managed growth conditions. *Scientia Horticulturae*, v. 213, n.14, p. 379-391, 2016.

SINGH, S.K.; KAKANI, V.G.; SURABHI, G.K.; REDDY, K.R. Cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) genotypes response to multiple abiotic stresses. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*, v. 100, p. 135-146, 2010.

SITA, K.; SEHGAL, A.; BHANDARI, K.; KUMAR, J.; KUMAR, S.; SINGH, S.; SIDDIQUE, KHM.; H. Impact of heat stress during seed filling on seed quality and seed yield in lentil (*Lens culinaris* Medikus) genotypes. *Journal of the Science Food and Agriculture*, v. 98, p. 5134–5141, 2018.

TAIZ, L.; MOLLER, E. Z. I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed. 2017.

VALE, JC. do.; BERTINI, C.; BORÉM, A. *Feijão-caupi: do plantio à colheita*. Viçosa: Editora UFV, 2017, 267 p.

YUAN, L.; YUAN, Y.; LIU, S.; WANG, J.; ZHU, S.; CHEN, G.; HOU, J.; WANG, C. Influence of high temperature on photosynthesis antioxidative capacity of chloroplast and carbon assimilation among heat-tolerant and heat-susceptible genotypes of nonheading chinese cabbage. *HortScience*, v.52, n.1, p.1464-1470, 2017.

ZANDALINAS S. I.; MITTLER R.; BALFAGÓN D.; ARBONA V.; GÓMEZ-CADENAS A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum*, v.162, p. 2–12, 2018.

CAPÍTULO 3

Restrição hídrica em diferentes fases fenológicas e o aumento da temperatura afetam a produção de feijão-caupi

Juliane Rafaela Alves Barros¹, Miguel Julio Machado Guimarães², Welson Lima Simões³, Nataniel Franklin de Melo³, Francislene Angelotti³

RESUMO

O déficit hídrico e as altas temperaturas são os fatores abióticos que mais restringem o crescimento e desenvolvimento das plantas. Entretanto, seus efeitos dependem da fase de desenvolvimento da cultura, da duração e da intensidade do estresse. Com isso, objetivou-se com esse trabalho, avaliar o desenvolvimento do feijão-caupi submetido à restrição hídrica em diferentes fases fenológicas e ao aumento da temperatura do ar. O experimento foi conduzido com a cultivar Carijó, em câmaras de crescimento, em arranjo fatorial de 4x3x2, sendo as disponibilidades hídricas (25, 50, 75 e 100%,) as fases fenológicas (vegetativa, floração e enchimento das vagens) e os regimes de temperatura (T^o1: 20-26-33 °C e T^o2: 24.8-30.8-37.8 °C), respectivamente. A redução da disponibilidade hídrica nas fases vegetativa e na floração ocasionou em queda na produção de sementes. A porcentagem de flores abortadas foi maior para as plantas mantidas no regime de temperatura com um aumento de 4.8 °C, com conseqüente redução na produção de sementes. O aumento da disponibilidade hídrica, favoreceu a produção de massa seca da parte aérea e da raiz. O aumento de 4,8 °C não afetou o peso da massa seca da parte aérea e das raízes, porém, reduziu cerca de 83% da eficiência de uso da água pela planta. Verificou-se as maiores atividades enzimáticas da CAT GPX e SOD nas plantas submetidas ao regime de temperatura com um aumento de 4.8 °C. Apenas a APX apresentou menor atividade enzimática com o aumento da temperatura. A cv. Carijó apresenta maior sensibilidade ao aumento de 4,8 °C na temperatura do ar do que aos déficits hídricos.

Termos para indexação: Estresse abiótico; estresse oxidativo; fenologia; *Vigna unguiculata*.

¹ Doutoranda em Recursos genéticos vegetais, UEFS, Feira de Santana-BA; ² Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Raimundo das Mangabeiras, IFMA, Maranhão-MA; ³ Pesquisador(a) Embrapa Semiárido, Petrolina-PE.

Artigo publicado pela Revista *Ciência e Agrotecnologia*, 45(1), p. 1-12, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202145022120>

Water restriction in different phenological stages and increased temperature affect cowpea production

ABSTRACT

Water deficit and high temperatures are abiotic factors that most limit plant growth and development. However, its effects depend on crop development stage and on stress duration and intensity. Thus, the objective of was to evaluate the development of cowpea subjected to water restriction in different phenological stages and to increase in air temperature. The experiment was conducted with the cultivar 'Carijó', in growth chambers, in a 4 x 3 x 2 factorial arrangement, corresponding to levels of water availability (25, 50, 75, and 100%), phenological stages (vegetative, flowering and pod filling) and temperature regimes (T°1: 20-26-33 °C e T°2: 24.8-30.8-37.8 °C), respectively. Reduction of water availability in the vegetative and flowering stages caused decrease in grain production. The percentage of aborted flowers was higher in plants maintained under an increased temperature of +4.8 °C, with consequent reduction in grain production. Higher water availability values favored shoot and root dry mass production. Increase of 4.8 °C did not affect shoot and root dry mass but reduced water use efficiency by about 83%. The highest enzymatic activities of CAT, GPX and SOD were found in plants subjected to the temperature of +4.8 °C. Only APX showed lower enzymatic activity with increasing temperature. The cv. 'Carijó' is more sensitive to the 4.8 °C increase in air temperature than to water deficits.

Index terms: Abiotic stress; oxidative stress; phenology; *Vigna unguiculata*.

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas vêm se tornando um desafio para a segurança alimentar (GOMES et al., 2019), uma vez que, o aumento da temperatura, e as alterações no padrão da precipitação afetam negativamente a produção agrícola. Além disso, os cenários futuros apontam que o déficit hídrico pode afetar drasticamente o crescimento e desenvolvimento das plantas em mais de 50% das terras agricultáveis até 2050, diminuindo a produtividade das culturas em todo o mundo (HASANUZZAMAN et al., 2019). Mesmo que o déficit hídrico seja o principal fator abiótico que afeta o estado hídrico das plantas, a severidade deste efeito também depende da temperatura do ar (JUMRANI e BHATIA, 2018).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L) se destaca por ser uma planta rica em proteínas e com importância socioeconômica para as regiões semiáridas (MELO et al., 2018). Alguns autores consideram esta leguminosa como uma espécie com maior tolerância ao estresse hídrico, em comparação com outras culturas (NDISO et al. 2016; MERWAD et al., 2018). Essas características tornam o cultivo do feijão-caupi relevante para a segurança alimentar, principalmente frente às mudanças climáticas globais (CARVALHO et al., 2019). Embora esta cultura seja adaptada às condições semiáridas, o déficit hídrico e temperaturas elevadas durante seu ciclo de desenvolvimento, podem ter um impacto negativo na produção (NDISO et al., 2016). Segundo Karim et al., (2018), este impacto dependerá do estágio fenológico das culturas durante o qual esse estresse abiótico ocorrerá.

Neste contexto, entender como as plantas de feijão-caupi irão responder frente aos futuros aumentos de restrição hídrica e da temperatura do ar poderá contribuir para uma alteração na forma de manejo pelos produtores, no intuito de manter a sustentabilidade da produção. Algumas fases fenológicas como a floração e o enchimento das vagens são altamente dependentes da disponibilidade de água no solo (OLIVEIRA et al., 2018). Segundo Bergamaschi e Bergonci (2017), o aumento da temperatura tende a elevar a demanda hídrica da atmosfera, promovendo maiores perdas por evapotranspiração no sistema agrícola, o que pode reduzir a disponibilidade de água para as plantas. Assim, uma estratégia importante para o manejo das plantas será a compreensão da fase fenológica mais sensível ao déficit hídrico, para que, este recurso seja utilizado de maneira racional e efetiva.

Diante do exposto, os estudos que simulam a interação dos estresses abióticos citados acima serão determinantes para a adoção de estratégias de manejo, permitindo determinar a quantidade de água necessária para planta no momento certo, otimizando assim, o uso deste recurso (SILVA et al., 2019). Assim, esta pesquisa tem como objetivo avaliar o desenvolvimento do feijão-caupi submetido à restrição hídrica em diferentes fases fenológicas e ao aumento da temperatura do ar.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento, do tipo Fitotron, com controle de temperatura, umidade e fotoperíodo, em 2019. O delineamento experimental conduzido com a cultivar Carijó, de grande importância econômica para a região e semeadas em vasos com capacidade de 7L, em arranjo fatorial de 4x3x2, correspondendo aos níveis de disponibilidade hídrica do solo, estádios fenológicos e regimes de temperatura, respectivamente. Os níveis de disponibilidade de água no solo foram 25; 50; 75; e 100%, aplicados nas fases fenológicas vegetativa, floração e enchimento das vagens. Os regimes de temperatura foram: T°1: 20-26-33 °C (20°C: no horário de 20 às 6h; 26 °C: no horário de 6 às 10h e 33 °C: no horário das 10 às 15h; 26°C: no horário de 15 às 20h); T°2: 24,8-30,8-37,8 °C (24,8 °C: no horário de 20 às 6h; 30,8 °C: no horário de 6 às 10h; 37,8 °C: no horário de 10 às 15h; 30,8 °C: no horário de 15 às 20h), com quatro repetições. A umidade relativa foi fixada em um valor de 60% ±5% e a intensidade da luz em 1.500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esses valores de temperatura foram determinados a partir das temperaturas mínimas, média e máxima do Submédio do Vale do São Francisco, que variam de 18-22, 25-27 e 32-34 °C, respectivamente. O aumento de 4,8 °C em cima desses valores, foi baseado no cenário futuro para o aumento de temperatura registrado pelo Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC, 2013).

O manejo da irrigação, foi realizado com auxílio de uma TDR (Reflectometria no Domínio do Tempo), modelo TDR100 da Campbell. Para este experimento foram utilizadas sondas de cabo coaxial com três hastes. Inicialmente foi realizada a calibração da TDR para o solo utilizado no experimento, um argissolo vermelho-amarelo eutrófico, conforme Batista (2016). A adubação foi realizada três dias antes do plantio, conforme os resultados das análises químicas do solo e das indicações para a cultura (Cavalcanti, 2008). As irrigações foram realizadas a cada dois dias a partir dos dados gerados pela TDR, com a reposição do volume de água evapotranspirada, mantendo a disponibilidade de água no solo referente a cada tratamento.

Antes do plantio, todos os vasos foram irrigados até a sua capacidade de retenção máxima de água. O manejo da irrigação envolvendo os tratamentos experimentais foi iniciado quinze dias após o plantio. A disponibilidade de água no solo foi aplicada nas diferentes fases fenológicas, dividida em três etapas.

As plantas da primeira etapa receberam o déficit hídrico apenas na fase vegetativa (após a abertura da primeira folha composta), encerrando a partir da emissão dos primeiros botões florais. Na segunda etapa, as plantas foram submetidas às diferentes disponibilidades de água na fase de floração até o início do enchimento das vagens. As plantas da terceira etapa receberam o déficit hídrico apenas quando iniciou o enchimento das vagens, encerrando com a colheita. Ao final de cada etapa foram quantificados os dias que as plantas foram submetidas as diferentes disponibilidades hídricas.

Parâmetros biométricos e produtivos

Na fase de florescimento, as flores de cada planta foram contadas diariamente para posterior obtenção do número de flores abortadas. O rendimento dos grãos foi obtido por meio do peso das sementes aos 60 dias após o plantio. Esta avaliação foi realizada a partir do estágio de maturação das vagens, segundo Oliveira et al. (2018).

A massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) foram realizadas após a colheita, por meio do corte do caule rente ao solo para a separação da parte aérea e das raízes. Os materiais foram acondicionados em sacos de papel e mantidos em estufa a 65°C até atingir peso constante (± 72 h). Após este período foi realizada a pesagem em balança para obtenção do peso seco. Realizou-se também a avaliação da razão parte aérea:raiz.

A eficiência de uso da água (g L^{-1}) foi calculada por meio da relação da produção de grãos (g), com a quantidade de água utilizada na irrigação durante todo o ciclo.

Determinação da atividade enzimática

Para análises bioquímicas, folhas verdes totalmente expandidas e sem lesões foram coletadas do terço médio da planta nos diferentes estágios fenológicos. As amostras foram imediatamente armazenadas em envelopes de folha de alumínio e imersas em nitrogênio líquido (NL_2). Os extratos vegetais foram preparados usando 1 g de material vegetal macerado em nitrogênio líquido com adição de 0,01 g de polivinilpolipirrolidona e 3 ml de tampão de extração (pH 7,5) na concentração de 100mM de fosfato de potássio. Em seguida, o extrato foi centrifugado a 15.000 g durante 15 minutos, a 4 °C, e o sobrenadante obtido foi utilizado como extrato enzimático bruto.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada seguindo a decomposição do H_2O_2 por 60 segundos, através das leituras espectrofotométricas a 240 nm, a temperatura de 25 °C, conforme método descrito por Havir e Mchale (1987). A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada conforme descrito por Nakano e Asada (1981), através do monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato utilizando espectrofotômetro com comprimento de onda a 290 nm, a 25 °C, durante 60 segundos. A determinação da atividade da enzima guaiacol peroxidase (GPX) foi baseada em estudos desenvolvidos por Cakmak e Horst (1991) por meio do monitoramento da redução do guaiacol utilizando espectrofotômetro com comprimento de onda a 470 nm, a 25 °C, durante 60 segundos. Já a atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com a metodologia de Giannopolitis e Ries (1977), com leituras em espectrofotômetro em comprimento de onda a 560 nm, e definindo a unidade de SOD como a quantidade da enzima necessária para inibir em 50% a fotoredução do NBT.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste T ($p < 0,05$), na qual foram testados os efeitos significativos isolados e as interações entre as fontes de variação. Na presença de significância foi realizada a análise de regressão para avaliar as disponibilidades hídricas testadas e teste de médias de Tukey para comparar as fases e regimes de temperatura, utilizando o software SISVAR Versão 5.6.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A interação tripla da disponibilidade hídrica x fases fenológicas x temperatura não foi significativa para as variáveis produção, massa seca da parte aérea e raiz, relação parte: raiz e eficiência do uso da água pelo feijão-caupi. No entanto, a produção de grãos foi influenciada pela interação disponibilidade de água x estádios fenológicos e pelo simples efeito da temperatura. A massa seca da parte aérea e a massa seca da raiz foram influenciadas pelos efeitos simples da disponibilidade de água e da temperatura. A disponibilidade de água e a temperatura influenciaram de forma isolada a relação parte aérea: raiz. A eficiência do uso da água foi influenciada apenas pela temperatura do ar (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância, pelo quadrado médio, para as variáveis: produção de grãos (P), massa seca da parte aérea (MSP), massa seca da raiz (MSR), relação parte aérea: raiz (A:R), eficiência do uso da água (EUA), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPX) e superóxido dismutase (SOD) em feijão-caupi.

Fonte de variação	QM									
	GL	P	MSP	MSR	A/R	EUA	CAT	APX	GPX	SOD
Disponibilidade Hídrica (DH)	3	18.69*	110.00**	41.67**	9.17*	0.036ns	63.99**	605.40**	2004.53**	84,71**
Fase Fenológica (FF)	2	45.00**	17.83ns	7.77ns	6.85ns	0.09*	24.83**	55481.47**	6460.43**	2138.50**
Temperatura (T)	1	2288.13**	1095.55**	15.75*	23.01**	16.09**	79.57**	5988.35**	1940.22**	2030.71**
DH x FF	6	22.89**	7.84ns	7.11ns	5.30ns	0.04ns	2.60*	857.60**	96.47ns	315.40**
DH x T	3	0.27ns	2.70ns	0.57ns	0.30ns	0.06ns	19.71**	1221.86**	39.49ns	14.74ns
FF x T	2	12.21ns	19.87ns	4.05ns	0.44ns	0.04ns	43.27**	1873.59**	175.10ns	973.91**
DH x FF x T	6	8.79ns	26.35ns	2.60ns	1.45ns	0.004ns	4.76**	718.47**	495.84**	47.33**
Resíduo	72	4.91	14.17	3.84	2.90	0.02	0.97	107.71	66.24	13.04
CV%		28.87	21.37	30.82	54.04	27.82	15.84	19.533	13.63	14.95

GL = grau de liberdade; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo, * significativo ao nível de 5% de probabilidade, ** significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Em relação à produção de grãos, os maiores valores foram observados nas plantas mantidas com disponibilidade hídrica de 50, 75 e 100%, não havendo diferença em relação à aplicação de água nos diferentes estádios fenológicos. A redução da lâmina d'água, com aplicação de apenas 25% nas fases vegetativa e floração, reduziu a produção de grãos em 63,33 e 50,76%, respectivamente, quando comparada a 100% da disponibilidade hídrica. (Figura 1).

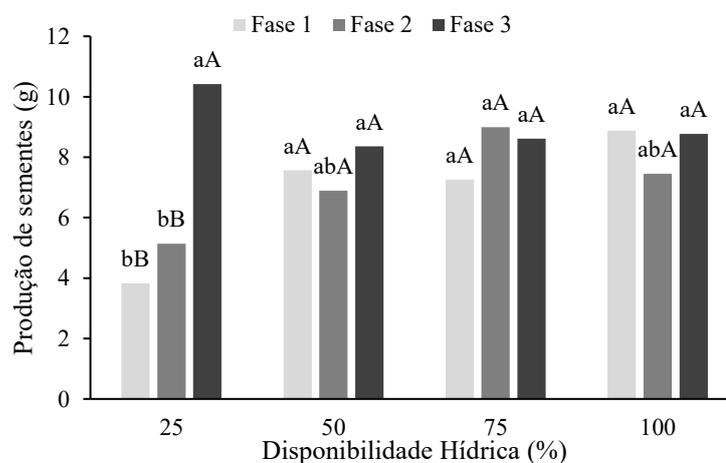


Figura 1. Produção de sementes (g) de plantas de feijão-caupi, cultivar Carijó, em função da disponibilidade hídrica nas fases fenológicas (Fase 1: vegetativa, Fase 2: floração e

Fase 3: enchimento das vagens). *Letras maiúscula para fase fenológica e minúscula para disponibilidade hídrica.

De acordo com Silva et al. (2019), a floração é considerada a fase mais sensível ao déficit hídrico, para cultura do feijão-caupi, provocando queda de flores e redução no número de vagens por planta, reduzindo assim a produção. Entretanto, verificou-se que a fase vegetativa foi tão sensível ao déficit hídrico, quanto a fase de floração. Isso ocorreu porque um dos fatores que devem ser analisados quanto a suscetibilidade das plantas ao estresse abiótico é o tempo de duração em que a planta foi exposta ao déficit hídrico (NEMESKÉRI e HELYES, 2019; NDISO et al., 2016).

Como pode ser observado na figura 2, a fase vegetativa foi exposta por mais tempo ao estresse hídrico. Assim, para a lâmina de 25%, a maior duração da fase vegetativa pode ter o mesmo impacto negativo na produção de sementes que o estresse simulado na fase da floração (Figura 1). Ressalta-se que a redução da água durante a floração, causou uma redução significativa na produção de sementes, cerca de 50,76% (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Karim et al. (2018), com redução na produção de sementes das plantas submetidas ao déficit hídrico na fase de floração.

A redução na disponibilidade hídrica (disponibilidade de 25%) durante a fase de enchimento das vagens, não ocasionou queda na produção das plantas (Figura 1). Isto pode ser explicado pela menor demanda de água neste período fase (MURGA-ORRILLO et al., 2016), e, pelo menor número de dias que as plantas foram expostas nesta fase (NDISO et al., 2016) (Figura 2).

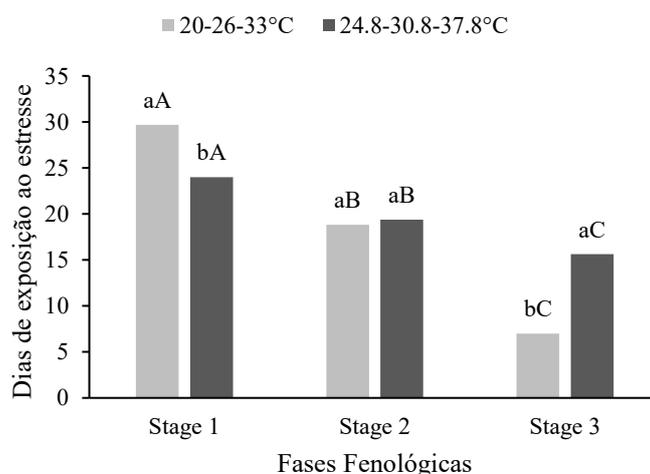


Figura 2. Dias de exposição ao estresse hídrico de plantas de feijão-caupi, cultivar Carijó, em função do regime de temperatura e fases fenológicas (Fase 1: vegetativa, Fase 2:

floração e Fase 3: enchimento das vagens). *Letras minúscula para temperatura e maiúscula para fase fenológica.

Pode-se observar que os dias de exposição das plantas ao estresse hídrico diferiu com o aumento da temperatura nas diferentes fases fenológicas (Figura 2). A fase vegetativa foi a fase mais longa, com duração média de 30 dias. Assim, as plantas foram expostas à redução da disponibilidade hídrica por maior tempo. Observa-se também, que o incremento de 4,8 °C na temperatura do ar reduziu o número de dias desta fase, com redução no tempo de exposição ao estresse hídrico e o ciclo de desenvolvimento das plantas.

Segundo Bergamaschi e Bergonci (2017), o aumento da temperatura está associado à aceleração do crescimento e da fenologia, para que, quando submetidas a condições de estresse, as plantas alterem o metabolismo, de maneira que não prejudique seu desenvolvimento normal. A aceleração do ciclo ocorre em função da resposta da planta à condição de estresse, elevando a sua respiração (SCHMIDT et al., 2017).

Observa-se que o aumento de 4.8 °C na temperatura do ar, prolongou o tempo de exposição da fase 3 do feijão-caupi ao estresse hídrico, devido à queda de vagens. De acordo com Hoffmann Júnior et al. (2007), temperaturas elevadas são um dos fatores ambientais que mais exerce influência sobre a abscisão de flores e de vagens, o não-enchimento adequado de grãos e a retenção final de vagens no feijão.

O incremento de 4,8°C na temperatura do ar ocasionou um aumento de 79,35% na porcentagem de flores abortadas, com conseqüente redução de 77,78% na produção de sementes de feijão-caupi (Figura 3A e 3B).

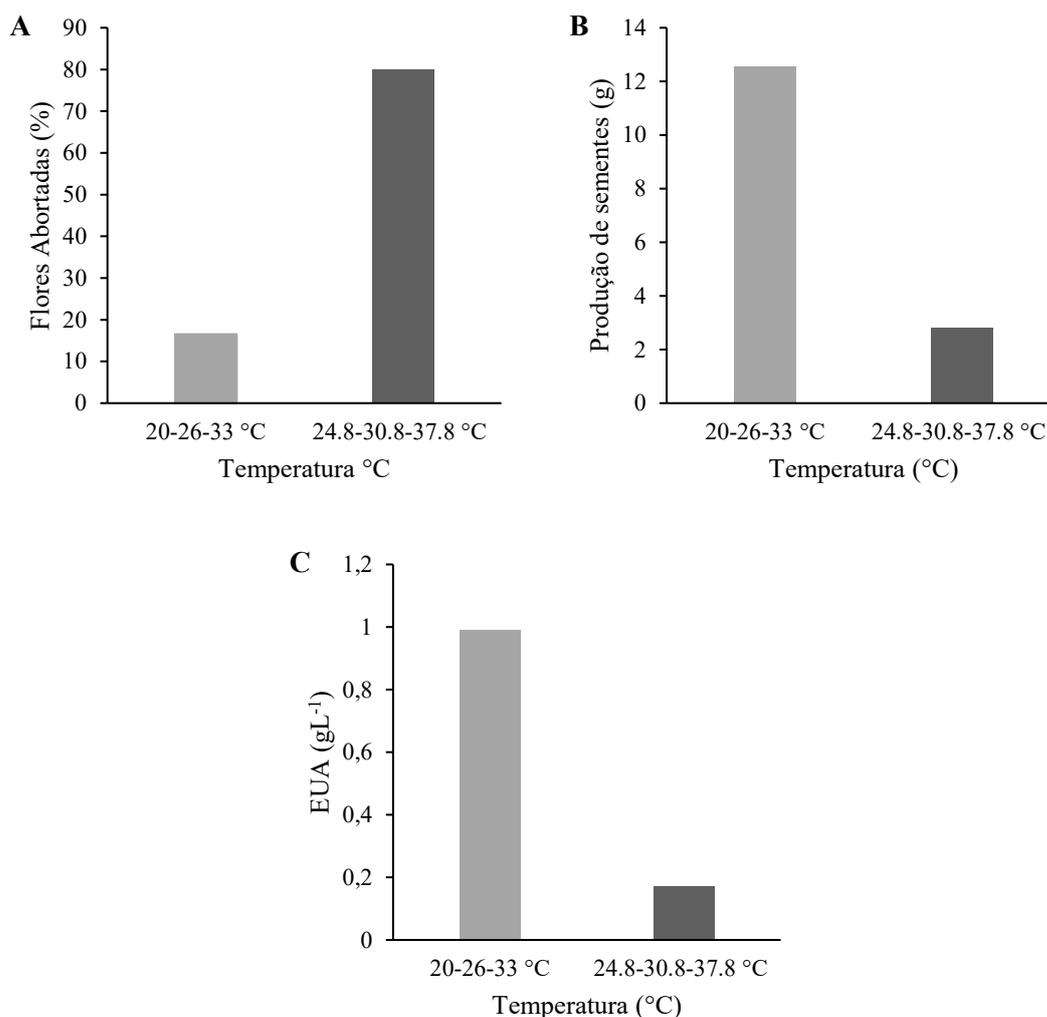


Figura 3. A) Porcentagem de flores abortadas, B) Produção de sementes (g) e C) Eficiência do uso da água (g^L⁻¹) de plantas de feijão-caupi, cultivar Carijó, em função dos regimes de temperatura.

O estresse térmico durante a reprodução das leguminosas causam perda significativa no rendimento das sementes (HATFIELD e PRUEGER, 2015). Um dos danos é a redução no número de ramos florais e, no número de flores por planta (HARSANT et al., 2013). Outro impacto, está relacionado com a baixa viabilidade e germinação do pólen, pois o aumento da temperatura pode afetar os gametófitos masculinos e femininos, aumentando o abortamento de flores, com conseqüente redução no número de grãos (SILVA et al., 2020).

Além disso, temperaturas elevadas, reduzem o tamanho das sementes devido ao acúmulo insuficiente de fotossintatos durante a fase de enchimento das vagens (KUMAR et al., 2016). Segundo esses autores, alguns dias de estresse térmico nessa fase, com temperaturas entre 30 - 35 °C, aceleram a senescência, diminuem o número e o peso das

sementes, reduzindo o rendimento das leguminosas, corroborando assim com os resultados encontrados.

As plantas de feijão-caupi, da cultivar Carijó, apresentaram maior eficiência de uso da água (EUA) quando desenvolvidas em regime de temperatura de 20-26-33 °C. O aumento de 4,8 °C na temperatura do ar reduziu em 83% a EUA (Figura 3C). Esse comportamento é consequência da redução da produção de sementes observada nas plantas submetidas ao regime de maior temperatura (Figura 3B), uma vez que este parâmetro representa uma relação direta entre a quantidade de sementes produzidas e consumo hídrico da planta.

O incremento de 4,8°C na temperatura do ar, resultou no aumento do peso da massa seca da parte aérea e das raízes das plantas de feijão-caupi (Figura 4). Isto pode ser explicado por que o aumento na temperatura resulta no incremento do desenvolvimento vegetativo (HATFIELD e PRUEGER, 2015). De acordo com Sehgal et al. (2018), as folhas se adaptam às temperaturas elevadas, devido aos mecanismos eficazes de termotolerância, que permite a regulação da temperatura foliar pela transpiração durante o período com alta temperatura (KOEVOSTS et al., 2016). Além disso, as raízes são mais sensíveis ao estresse por altas temperaturas do que a da parte aérea das plantas, conforme indicado pelo aumento na proporção parte aérea: raiz (Figura 4C). Os resultados são semelhantes aos encontrados por Giri et al. (2017), que associaram este efeito a maiores danos causados por temperaturas nas membranas radiculares das plantas.

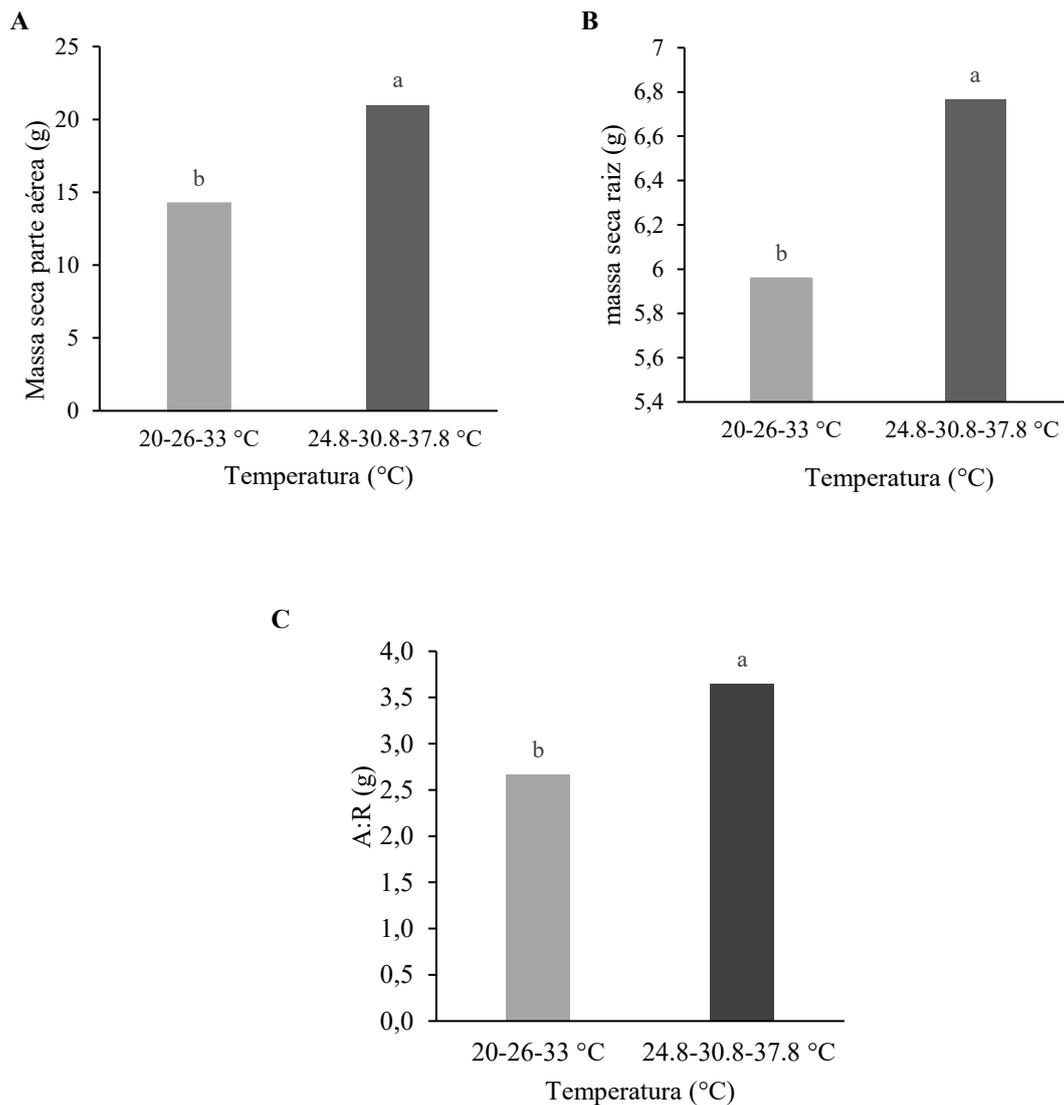


Figura 4. Massa seca da parte aérea (g) (A), massa seca da raiz (g) (b) e relação parte aérea: raiz (A:R) (C) de plantas de feijão-caupi, cultivar Carijó, submetida a diferentes regimes de temperatura.

O aumento da disponibilidade hídrica também apresentou um efeito positivo no peso da massa seca da parte aérea e da raiz (Figura 5). No entanto, esse efeito foi maior na massa seca da raiz, conforme evidenciado pela redução significativa na parte aérea: raiz na Figura 5C.

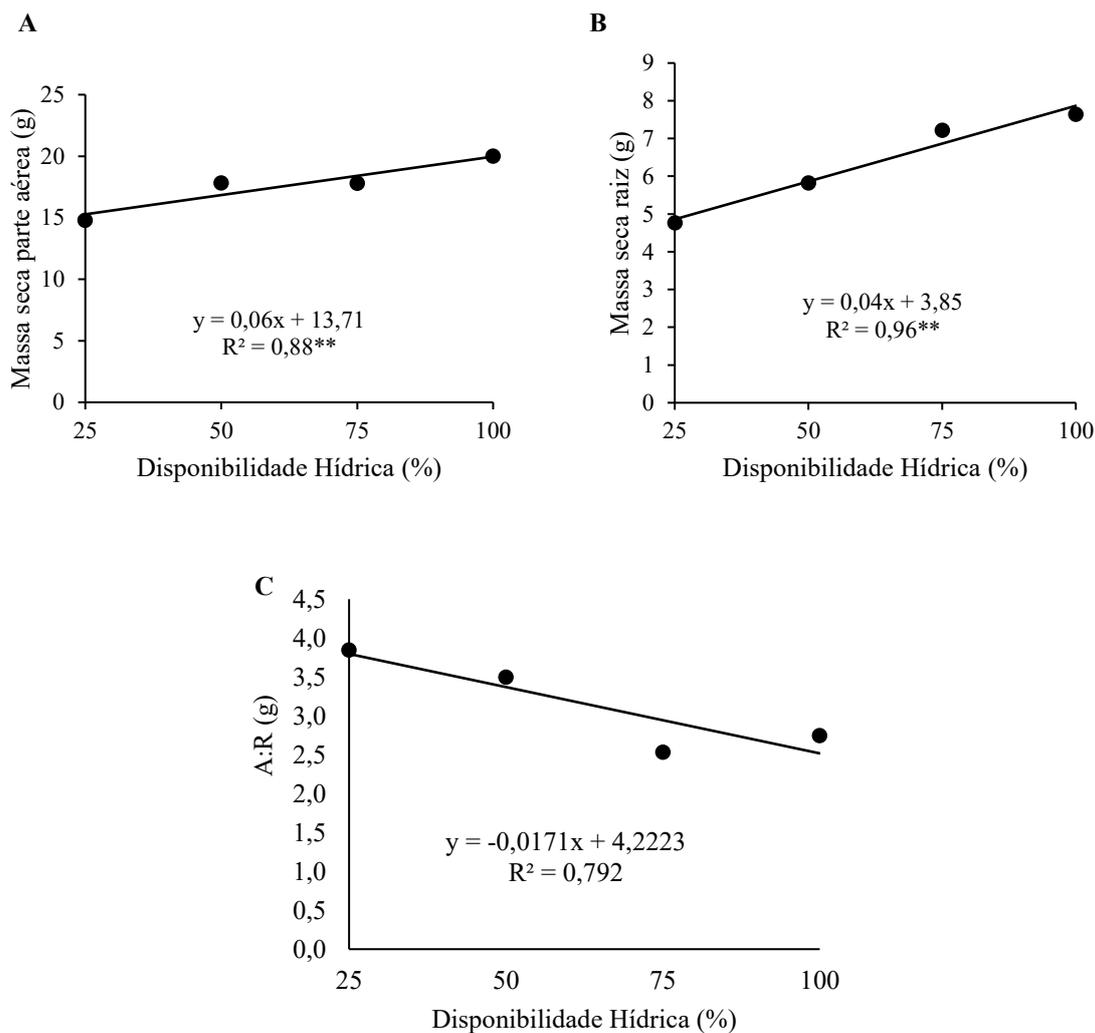


Figura 5. Massa seca da parte aérea (g) (A), massa seca da raiz (g) (b) e relação parte aérea: raiz (A:R) (C) de plantas de feijão-caupi, cultivar Carijó, em função da disponibilidade hídrica. Coeficiente da regressão significativo com $p < 0,01$ (**).

Trabalhos indicam que a biomassa de leguminosas pode ser prejudicada pelo déficit hídrico moderado e grave (FAROOQ et al., 2017). As plantas sob déficit hídrico apresentam alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas que afetam seu crescimento, pois a redução na disponibilidade hídrica, diminui o teor de água nos tecidos das plantas, aumentando a temperatura do dossel, com redução no teor de clorofila e consequentemente uma menor atividade fotossintética (KUMAR et al., 2016; KARIM et al., 2018).

Para atividade específica das enzimas avaliadas, pode-se observar comportamentos distintos nos regimes de temperatura e disponibilidades hídricas avaliadas em cada fase fenológica da planta (Figura 6). Em termos gerais, verificou-se

que com o aumento da temperatura (24,8-30,8-37,8 °C) as maiores atividades enzimáticas foram para CAT, GPX e SOD e a APX apresentou comportamento inverso das demais.

As alterações no metabolismo enzimático registradas neste estudo demonstram que as fases de desenvolvimento vegetativo e a floração apresentam comportamento enzimático semelhantes. Quanto à influência da disponibilidade hídrica, houve redução na atividade da CAT com o aumento da disponibilidade hídrica, nas três fases fenológicas avaliadas, independentemente do regime de temperatura, com exceção das plantas submetidas a baixa disponibilidade hídrica na fase de enchimento das vagens (Fase 3), no regime de temperatura de 20-26-33 °C, as quais não apresentaram ajuste de regressão significativa (Figura 6).

O aumento da atividade da CAT pode estar associado ao aumento da quantidade de H₂O₂ devido ao estresse térmico aplicado nas plantas, como observado para trigo (KUMAR et al., 2012) e feijão-mungo (*Vigna radiata* L) (MANSOOR e NAQVI, 2013). Entretanto, as alterações no metabolismo enzimático provocadas pelo estresse térmico em plantas irão variar em função da tolerância do material genético avaliado.

A atividade da enzima APX apresentou comportamento distinto nas diferentes fases de desenvolvimento do feijão-caupi. Na fase vegetativa, a atividade enzimática apresentou comportamentos opostos entre os regimes de temperatura com o aumento da disponibilidade hídrica (Figura 6). Enquanto que, as plantas submetidas ao regime de temperatura 20-26-33 °C apresentaram redução na atividade da APX com o aumento da disponibilidade hídrica, o regime de temperatura de 24,8-30,8-37,8 °C, associado a maior disponibilidade hídrica, provocou um aumento na atividade enzimática da APX.

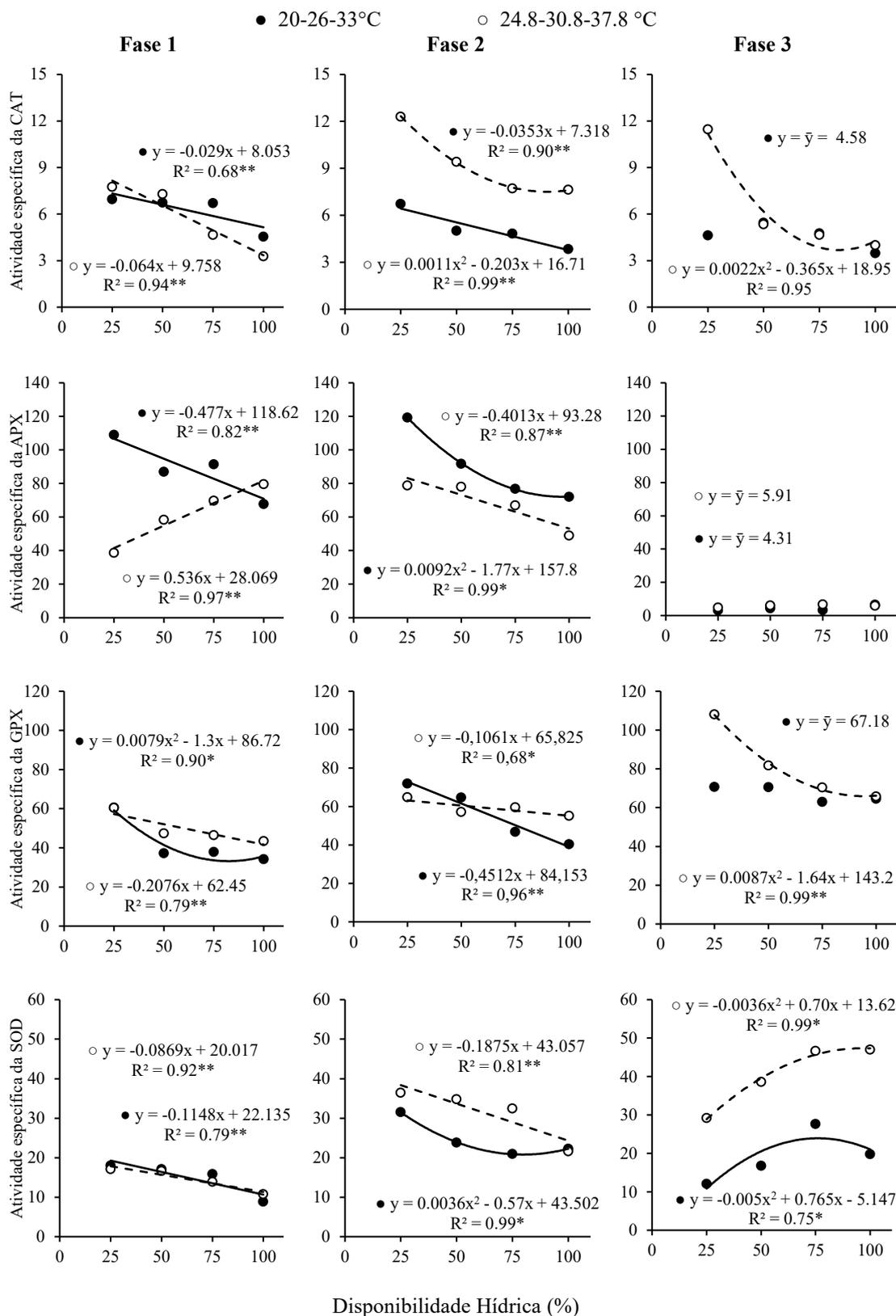


Figura 6. Atividade das enzimas: A) Catalase (CAT) ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína); B) Ascorbato Peroxidase (APX) ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína); C - Guaiacol Peroxidase

(GPX) ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e D - Superóxido dismutase (SOD) (U SOD mg^{-1} proteína) em cultivares de feijão-caupi, cultivar Carijó, submetidas a diferentes disponibilidades hídricas e regimes de temperatura em três fases fenológicas (Fase 1: vegetativa, Fase 2: floração e Fase 3: enchimento das vagens). Coeficiente da regressão significativo com $p < 0,05$ (*) e $p < 0,01$ (**).

Esses resultados destacam o efeito da interação entre os estresses aplicadas à atividade APX. Em temperaturas amenas o efeito do estresse causado pela disponibilidade de água é evidenciado com maior atividade enzimática em baixa disponibilidade. Em plantas submetidas a um aumento de temperatura de $4,8 \text{ }^\circ\text{C}$, a combinação de baixa disponibilidade hídrica e altas temperaturas levou a reduções significativas na atividade de APX, demonstrando assim um forte estresse com a combinação dos tratamentos aplicados. Isso pode estar relacionado à afinidade dessa enzima com o H_2O_2 , que está na ordem micromolar. Quando a quantidade de H_2O_2 ultrapassa essa ordem, atingindo a ordem milimolar, o que configura alto estresse oxidativo, outras enzimas atuam na regulação do H_2O_2 , como CAT e GPX (HASANUZZAMAN et al., 2012).

O aumento da disponibilidade hídrica provocou redução na atividade da enzima GPX em todas as fases avaliadas, com exceção das plantas submetidas ao regime de temperatura $20\text{-}26\text{-}33 \text{ }^\circ\text{C}$ na fase de enchimento das vagens (Figura 6). Nesta fase houve uma manutenção da atividade, independente da disponibilidade hídrica aplicada. Paralelamente às reduções registradas, pode-se observar que as plantas que sofreram estresse hídrico na fase de enchimento das vagens apresentaram maior atividade enzimática da GPX. O padrão enzimático da GPX nas plantas avaliadas sugere que esta enzima desempenha um papel importante na regulação de H_2O_2 em plantas submetidas ao déficit hídrico, independentemente da temperatura as quais estão expostas. Resultados semelhantes foram registrados por Borella et al. (2017), os quais verificaram aumentos significativos da atividade da GPX em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) quando submetidos ao déficit hídrico.

A enzima SOD apresentou redução da atividade com o aumento da disponibilidade hídrica nas fases vegetativa e de floração (Figura 6). Já as plantas submetidas a diferentes disponibilidades hídricas na fase de enchimento das vagens apresentaram um aumento da atividade desta enzima com o aumento da oferta de água. Os maiores valores de atividade enzimática da SOD foram observados ao se aplicar uma

disponibilidade hídrica de 76,5% com 24,1(U SOD mg^{-1} proteína) no regime de temperatura 24,8-30,8-37,8 °C, e 97,2% com 47,6 (U SOD mg^{-1} proteína) nas plantas submetidas ao aumento de 4,8 °C na temperatura do ar.

As alterações nas atividades enzimáticas em condições de estresse múltiplo, como deficit hídrico e elevadas temperatura, como observadas neste trabalho, podem estar associadas à ativação dos mecanismos de defesa oxidativo das plantas (MANSOOR e NAQVI, 2013). A maior atividade de enzimas antioxidantes pode contribuir para uma melhor tolerância ao deficit hídrico, justificando-se assim maiores atividades enzimáticas nas plantas submetidas ao estresse hídrico, como a atividade de enzimas responsáveis pela manutenção da homeostase oxidativa em feijão-caupi (CARVALHO et al., 2019).

Ao observar as plantas que foram submetidas a redução da disponibilidade hídrica nas fases vegetativa e fase de floração, nota-se que, em geral, quanto menor a disponibilidade hídrica, maior foi a atividade específica da SOD (primeira linha de defesa), bem como as enzimas que atuam na segunda linha de defesa do estresse oxidativo (CAT, APX e GPX). A maior atividade de enzimas antioxidantes pode aumentar a capacidade de proteção celular contra danos oxidativos, contribuindo assim para uma melhor tolerância ao deficit hídrico e temperaturas elevadas (ZANDALIAS et al., 2018).

Já as plantas submetidas ao deficit hídrico na fase de enchimento das vagens apresentaram falta de sincronia entre as enzimas que atuam nas linhas de defesa oxidativa. Com o aumento significativo da atividade da SOD, há um maior acúmulo de H_2O_2 gerado na dismutação do $\text{O}_2^{\cdot-}$ e, com a redução da atividade das enzimas que atuam na eliminação do H_2O_2 (como observado nas enzimas CAT, APX e GPX) há um possível acúmulo desta espécie reativa de oxigênio (BARBOSA et al., 2014; YOU e CHAN, 2015). A falta de sincronia entre a atividade das enzimas avaliadas na fase de enchimento de vagens pode estar associada à idade fenológica das plantas avaliadas, pois as mesmas já estavam entrando na última fase do seu ciclo, ativando assim o estado de senescência, e morte celular.

As alterações no metabolismo enzimático registradas neste estudo demonstram que a as fases de desenvolvimento vegetativo e floração apresentam comportamento enzimático semelhantes. Este resultado pode estar relacionado com o tempo de duração mais prolongado destas fases (Figura 2), pois um dos principais fatores que irá determinar o grau de severidade do estresse abiótico é o tempo de exposição ao estresse (NDISO et al., 2016). O maior tempo de exposição nas fases vegetativa e floração, associado a alta intensidade do estresse, como observado nas plantas submetidas a lâmina de 25% de

disponibilidade hídrica, pode provocar danos irreversíveis às plantas, como a redução significativa na produção de sementes observadas na Figura 3A.

As mudanças climáticas expõem as plantas de feijão-caupi ao déficit hídrico e ao aumento de temperatura, alterando sua fenologia, causando redução em seu crescimento e produtividade. Mesmo com esses impactos, pouco se sabe do efeito da interação desses estresses abióticos nas diferentes fases fenológicas do feijão-caupi. Estudos como este indicam que a adoção de um manejo de irrigação nas fases em que o feijão-caupi é mais sensível ao estresse, serão necessários, uma vez que as plantas não suportarão o efeito negativo do déficit hídrico. Com o aumento da temperatura será indispensável conhecer a fenologia da cultura, para que desta forma possa-se escolher uma época de plantio adequada, visando períodos com temperaturas mais baixas, principalmente durante a fase reprodutiva, minimizando os danos causados pela temperatura e aumentando a eficiência do uso da água.

CONCLUSÃO

A baixa disponibilidade hídrica e o aumento da temperatura reduzem a produção de grãos do feijão-caupi, cv. Carijó. Contudo, as plantas se mostraram mais sensível ao incremento de 4,8 °C na temperatura do ar do que ao déficit hídrico, uma vez que a aplicação de déficit hídrico severo só irá reduzir a produção de sementes quando aplicado nas fases vegetativa, devido a duração do estresse e a fase de floração. A ação combinada dos estresses por baixa disponibilidade hídrica e altas temperatura, provocou um aumento da atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidante, evidenciando que as plantas estavam sob estresse, o que refletiu diretamente na produção do feijão-caupi.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M de.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, v. 44, p. 453-460, 2014.
- BATISTA, L. S.; COELHO, E. F.; CARVALHO, F. A. P.; SILVA, M. G.; GOMES FILHO, R. R.; GONÇALVES, A. A. Calibração de sonda artesanal de uso com TDR para avaliação de umidade de solos. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, v. 10, p. 522-532, 2016.
- BERGAMASHI, H.; BERGONCI, J. I. *As plantas e o clima: Princípios e aplicações*. Guaíba: Agrolivros, 2017, 352 p.
- BORELLA, J.; FONTOURA, U. S.; LARRÉ, C. F.; BACARIN, M. A. Differential response to water stress in two tropical common bean cultivars. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife, v.12, n.3, p.316-324, 2017.
- CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum*, v. 83, n. 3, p. 463–468, 1991.
- CARVALHO, M.; CASTRO, I.; PEREIRA, J. M.; CORREIA, C.; CORTINES, M. E.; MATOS, M.; ROSA, E.; CARNIDE, V.; LINO NETO, T. Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. *Journal Plant Physiology*, v.241, n.1, p. 1-13, 2019.
- CAVALCANTI, F. J de A. *Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco*. 2ª Apr. 3.ed., Recife: IPA, 2008, 212 p.
- FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BAROOWA, B.; BHARADWAJ, N.; ALGHAMDI, S. S.; SIDDIQUE, K. H. M. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, v.203, p.81-102, 2017.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiology*, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.
- GIRI, A.; HECKATHORN, S.; MISHRA, S.; KRAUSE, C. Heat stress decreases levels of nutrient-uptake and assimilation proteins in tomato roots. *Plants*, v.6, n.1, p.1-15, 2017.

GOMES, A. M. G.; NHANTUMBO, N.; FERREIRA-PINTO, M.; MASSINGA, R., RAMALHO, J. C.; RIBEIRO-BARROS. Breeding elite cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] varieties for improved food security and income in Africa: Opportunities and challenges. In: EL-ESAWI, M. H. Legume crops - Characterization and breeding for improved food security. Intech Open, 2019, 626-640 p.

HARSANT, J.; PAVLOVIC, L.; CHIU, G.; SULTMANIS, S.; SAGE, T. L. High temperature stress and its effect on pollen development and morphological components of harvest index in the C3 model grass *Brachypodium distachyon*. Journal of Experimental Botany, v.64, p.2971-2983, 2013.

HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M.; OKU, H.; ISLAM, M.T. Plant tolerance to environmental stress: role of phytoprotectants. CRC Press, Boca Raton, USA, 2019, 468p.

HASANUZZAMAN, M.; HOSSAIN, M. A.; DA SILVA, J. A. T.; FUJITA, M. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies. Springer Netherlands, v. 15 p. 261-315, 2012.

HATFIELD, J. L.; PRUEGER, J. H. Temperature extremes: Effect on plant growth and development. Weather and Climate Extremes, v.10, p.4-10, 2015.

HAVIR, E. A., MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. Plant Physiology, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HOFFMANN JUNIOR, L.; RIBEIRO, N. D.; ROSA, S. S.; JOST, E.; POERSCH, N. L.; MEDEIROS, S. L. P. Resposta de cultivares de feijão à alta temperatura do ar no período reprodutivo. Ciência Rural, v.37, n.6, p.1543-1548, 2007.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. Climate Change 2013: the physical science basis. Cambridge: University Press, 2013, 1535 p.

JUMRANI, K.; BHATIA, V. S. Impact of combined stress of high temperature and water deficit on growth and seed yield of soybean. Physiology and Molecular Biology of Plants, v. 24, n.1, p. 37-50, 2018.

KARIM, T.D.A.; SANOUSSI, A.; MAÂROUHI, I.M.; FALALOU, H.; YACOUBOU, B. Effect of water deficit at different stages of development on the yield components of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) genotypes. *African Journal of Biotechnology*, v. 19, n. 9, p. 279-287, 2018.

KOEVOETS, I. T.; VENEMA, J. H.; ELZENGA, J. T. M.; TESTERINK, C. Roots Withstanding their Environment: Exploiting Root System Architecture Responses to Abiotic Stress to Improve Crop Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, v.7, n.1, p 1-19, 2016.

KUMAR, R. R.; GOSWAMI, S.; SHARMA.; SINGH, K.; GADPAYLE, K. A.; KUMAR, N.; RAI, G. K.; SINGH, M.; RAI, R. D. Protection against heat stress in wheat involves change in cell membrane stability, antioxidant enzymes, osmolyte, H₂O₂ and transcript of heat shock protein. *International Journal Plant of Physiology and Biochemistry*, v.4, n.4, p.83-91, 2012.

KUMAR, J.; KANT, R.; KUMAR, S.; BASU, P. S.; SARKER, A.; SINGH, N. P. Heat tolerance in lentil under field conditions. *Legume Genomics Genet*, v.7, p.1–11, 2016.

MANSOOR, S. NAQVI, F. N. Effect of heat stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, v.12, n.21, p.3196–3203, 2013.

MELO, A. S de.; SILVA, A. R. F da.; DUTRA, A. F.; DUTRA, W, A. F.; BRITO, M. E. B.; SILVA, F.V da. Photosynthetic efficiency and production of cowpea cultivars under deficit irrigation. *Revista Ambiente & Água*, v.13 n.5, p.1-8, 2018.

MERWAD, A. R. M. A.; DESOKY, E. S. M.; RADY, M. M. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Scientia Horticulturae* v.228, n.1, p.132–144, 2018.

MURGA-ORRILLO, H.; ARAÚJO, W. F.; ROCHA, P. R. R.; SAKAZAKI, R. T.; DIONISIO, L. F. S.; POLO-VARGAS, A. R. Evapotranspiração e coeficiente de cultivo do feijão-caupi cultivado em solo do cerrado submetido à cobertura morta. *Irriga*, v. 21, n. 1, p. 172-187, 2016.

NAKANO, Y., ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiology*, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NEMESKÉRI, E.; HELYES, L. Ohysiological responses of selected vegetable crop species to Water Stress. *Agronomy*, v.9, n.8, p.447, 2019.

NDISO, J. B.; OLUBAYO, F.; CHEMINING'WA, G. N.; SAHA, H. M. Effect of Drought Stress on Canopy Temperature, Growth and Yield Performance of Cowpea Varieties. *International Journal of Plant & Soil Science*, v.9, n.3, p.1-12, 2016.

OLIVEIRA, M. G. C.; OLIVEIRA, L. F. C.; WENDLAND, A.; GUIMARÃES, C. M.; QUINTELA, E. D.; BARBOSA, F. R.; CARVALHO, M. C. S.; LOBO JUNIOR M.; SILVEIRA, P. M. *Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos*. Brasília: Embrapa Arroz e Feijão, 2018, 59 p.

SCHMIDT, D.; ZAMBAN, D.; PROCHNOW, D., CARON, B.O.; SOUZA, V.Q.; PAULA, G.M.; COCCO, C. Caracterização fenológica, filocrono e requerimento térmico de tomateiro italiano em dois ciclos de cultivo. *Horticultura Brasileira*, v.35 n.1, p. 1-8, 2017.

SEHGAL, A.; SITA, K.; SIDDIQUE, K.H.M.; KUMAR, R.; BHOGIREDDY, S.; VARSHNEY, R.K.; RAO, B.H.; NAIR, R.M.; PRASAD, P.V.V.; NAYYAR, H. Drought or/and Heat-Stress Effects on Seed Filling in Food Crops: Impacts on Functional Biochemistry, Seed Yields, and Nutritional Quality. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 1705, 2018.

SILVA, S.; SILVA, C. S. da.; SOUZA, J. E.; SOUSA, A. C. da P.; ARAÚJO, E. R. Uso econômico da água para o feijão caupi na região do sertão alagoano. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, v. 9, n. 1, p. 07-13, 2019.

YOU, J. AND Z. CHAN. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. *Frontiers in Plant Science*, v.6, p.1-15, 2015.

ZANDALINAS, S. I.; MITTLER, R.; BALFAGÓN, D.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum*, v.162, p. 2–12, 2018.

CAPÍTULO 4

Temperatura: elemento determinante para a época de cultivo do feijão-caupi

(Temperatura determina o rendimento do feijão-caupi)

Juliane Rafaela Alves Barros¹⁴, Miguel Julio Machado Guimarães², Welson Lima Simões³, Nataniel Franklin de Melo³, Francislene Angelotti³

RESUMO

A época de plantio do feijão-caupi é crucial para um alto rendimento e deve compreender o período do ano que garante as melhores condições climáticas para o cultivo do feijão-caupi. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da disponibilidade hídrica e da temperatura durante o período de crescimento sobre o desempenho do feijão-caupi. Um experimento em casa de vegetação foi conduzido em esquema fatorial $4 \times 2 \times 5$, com quatro repetições. Os fatores incluíram quatro níveis de umidade do solo (25%, 50%, 75% e 100% da capacidade de retenção de água), duas épocas de cultivo (amena e quente) e cinco cultivares de feijão-caupi (Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol e Tapahium). Foram avaliados o número de vagens e sementes por planta, produção de sementes, eficiência no uso de água, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e parâmetros fisiológicos. A produção de sementes foi maior durante a estação amena do que durante a estação quente e aumentou linearmente com o aumento da disponibilidade de água no solo. A atividade fotossintética e a transpiração foram maiores durante a estação quente do que durante a estação amena, com sua redução sob uma disponibilidade de água de 25%, independentemente da estação de crescimento. O conteúdo total de clorofila diminuiu com o excesso de água. Independentemente da disponibilidade de água, a temperatura foi o fator climático mais limitante para o desempenho do feijão-caupi. As cultivares Carijó, Itaim e Tapahium apresentaram menor redução de produtividade quando cultivadas na estação quente.

Palavras-chave: deficit hídrico; estresse térmico; rendimento de sementes; trocas gasosas; *Vigna unguiculata* (L).

¹⁴ Doutoranda em Recursos genéticos vegetais, UEFS, Feira de Santana-BA; ² Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Raimundo das Mangabeiras, IFMA, Maranhão-MA;

³ Pesquisador(a) Embrapa Semiárido, Petrolina-PE.

Temperature: determining element for cowpea growing season

(Temperature determines the yield of cowpea)

ABSTRACT

Cowpea planting season is crucial for high yield and should comprise the period of the year that warrants the best climatic conditions for cowpea cultivation. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of water availability and temperature during the growing season on cowpea performance. A greenhouse experiment was conducted using a $4 \times 2 \times 5$ factorial arrangement, with four replications. Factors included four levels of soil moisture (25%, 50%, 75%, and 100% of water holding capacity), two growing seasons (mild and hot), and five cowpea cultivars (Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol, and Tapahium). The number of pods and seeds per plant, seed production, water use efficiency, shoot dry mass, root dry mass, and physiological parameters were evaluated. Seed production was higher during the mild season than during the hot season and increased linearly with increasing soil water availability. Photosynthetic activity and transpiration were higher during the hot season than during the mild season, with their reduction under a water availability of 25% regardless of the growing season. Total chlorophyll content decreased with excess water. Regardless of water availability, temperature was the most limiting climatic factor for cowpea performance. Cultivars Carijó, Itaim, and Tapahium exhibited a lower reduction in productivity when grown in the hot season.

Key words: water deficit; thermal stress; seed yield; gas exchange; *Vigna unguiculata* (L).

INTRODUÇÃO

As plantas estão expostas a diversos estresses ambientais, entre eles o déficit hídrico e as altas temperaturas, causando impactos negativos e impedindo que as mesmas atinjam o seu potencial de crescimento e produção (JUMRANI e BHATIA, 2018). No contexto das mudanças climáticas, estes elementos se tornaram particularmente importantes, devido ao aumento na frequência dos eventos extremos, como ondas de calor e períodos de seca (IPCC, 2014).

Este cenário poderá reduzir a eficiência do uso da água para os cultivos (NORTON et al., 2016), com efeito direto nos processos fisiológicos, reduzindo a atividade fotossintética, e aumentando a temperatura foliar, ocasionando a queda na produtividade das plantas (PERDOMO et al., 2015). Além disso, o aumento da temperatura do ar poderá alterar a demanda hídrica dos cultivos, uma vez que, haverá uma elevação na evaporação a partir do solo, fazendo com que ocorra um aumento na transpiração das plantas e consequentemente um maior consumo de água (TAIZ et al., 2017).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) é uma cultura de importância socioeconômica, que gera emprego e renda para a agricultura familiar, com ampla utilização como fonte de alimento (ROCHA et al., 2016), apresentando baixo custo de produção em comparação com outros cultivos agrícolas. No Brasil, a produção do feijão-caupi se concentra no Norte e Nordeste, sendo que no segundo caso, a produção é maior no Semiárido (MELO et al., 2018), uma das regiões mais vulneráveis às mudanças no clima (DJANAGUIRAMAN et al., 2018), apresentando uma precipitação média anual de 464,8 mm e temperatura média do ar de 26 °C (LOPES et al., 2017; ANGELOTTI et al., 2020).

Compreender as respostas do feijão-caupi ao aumento da temperatura sob diferentes condições de disponibilidade de água e a interação entre esses dois fatores ambientais é um desafio para a pesquisa e contribuirá para o desenvolvimento de estratégias de manejo sustentável adequadas. No entanto, estudos sobre as necessidades de água do feijão-caupi (por exemplo, AHMED e SULIMAN, 2010; HAYATU et al., 2014; SOUZA et al., 2017; KARIM et al., 2018) não abordaram a interação com a temperatura para diferentes cultivares. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da disponibilidade de água e da temperatura no desempenho de diversas cultivares de feijão-caupi.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação, em duas épocas de cultivo, sendo um período de maio a julho de 2018 (ameno) e outro de outubro de 2019 a janeiro de 2020 (quente), cujas variáveis meteorológicas, foram obtidas através da estação meteorológica automática instaladas no local. Os valores das temperaturas máxima, média e mínima e da umidade relativa do ar, das duas épocas de cultivo, estão apresentados na Figura 1.

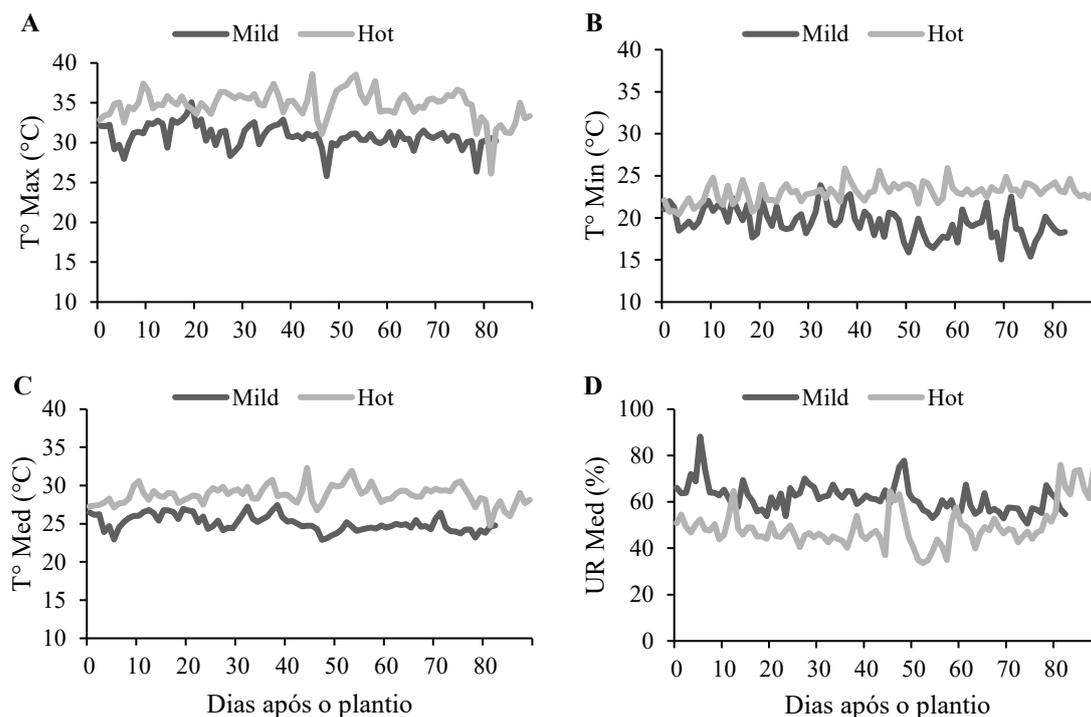


Figura 1. A: Temperatura máxima (T°Max °C), B: Temperatura mínima (T°Min °C), C: Temperatura média (T°Med °C) e D: Umidade relativa média (URMed %), nos períodos quente e ameno para o cultivo do feijão-caupi.

O experimento seguiu o arranjo fatorial de 4x2x5, sendo quatro níveis de umidade no solo (25; 50; 75 e 100% da capacidade máxima de retenção de água pelo solo), duas épocas de cultivo (período ameno e quente) e cinco cultivares de feijão-caupi (Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol e Tapahium), com quatro repetições, totalizando 80 plantas por época de cultivo. A semeadura foi realizada em vasos com capacidade de sete litros, cujo solo utilizado foi coletado na camada de 0-30 cm, de um argissolo vermelho-amarelo eutrófico, com capacidade máxima de retenção de água de 19,5%. A adubação de

fundação foi realizada 3 dias antes do plantio, conforme os resultados das análises químicas do solo e das recomendações para a cultura (CAVALCANTI, 2008).

O manejo da irrigação, foi realizado com auxílio da TDR (Time Domain Reflectometry ou Reflectometria no Domínio do Tempo), modelo TDR100 da Campbell. Para este experimento foram utilizadas sondas de cabo coaxial com três hastes. Inicialmente foi realizada a calibração da TDR para o solo utilizado no experimento, conforme Batista (2016). As irrigações foram realizadas a cada dois dias por meio da reposição do volume de água evapotranspirada para manter a disponibilidade de água no solo referente a cada tratamento, baseado nos dados gerados pela TDR.

As avaliações de rendimento das sementes e os componentes primários se deu com aproximadamente sessenta dias após o plantio, variando em função das cultivares e a época de cultivo. No período ameno e quente, o ciclo foi de 83 e 90 dias, respectivamente. A produção de sementes e os componentes primários avaliados foram: número de vagens por planta, número de sementes por planta, produção de sementes. A eficiência do uso da água (EUA) foi calculada como a proporção da produção de sementes pela quantidade de água usada na irrigação ao longo do ciclo.

A avaliação da massa seca da parte aérea e das raízes foi realizada após a colheita, utilizando todas as plantas contidas no experimento, por meio do corte do caule rente ao solo, separando a parte aérea e as raízes. Os materiais foram acondicionados em sacos de papel e mantidos em estufa a 65°C até atingir peso constante (± 72 h).

As avaliações fisiológicas foram realizadas 30 dias após o plantio, nos horários entre 09:00 e 11:00 da manhã, para as duas épocas de cultivo, quando a terceira folha trifoliolada encontrava-se completamente aberta. Na ocasião foram avaliadas as trocas gasosas a partir do Analisador Portátil de Gás Infravermelho (IRGA), modelo Li-6400, utilizando luz artificial fixada em $2500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As variáveis analisadas foram: taxa de fotossíntese (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e temperatura foliar (T_f). Para avaliação do teor de clorofila das folhas, foi determinado o índice relativo de clorofila com auxílio do clorofilômetro portátil, modelo CFL 1030 FALKER). Para a realização das leituras foi selecionada a folha localizada no terço médio da planta, sem injúrias, com coloração verde e totalmente expandida.

Os resultados foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste T ($p < 0,05$), na qual foram testados os efeitos significativos isolados e as interações entre as fontes de variação. Na presença de significância foi realizada a análise de regressão para avaliar as disponibilidades hídricas testadas e teste de médias de Tukey para comparar as

épocas de plantio e as cultivares, utilizando o software SISVAR Versão 5.6.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A produção das cultivares de feijão-caupi foi afetada pelas condições ambientais das safras avaliadas. O número de vagens e o número de sementes por planta foram maiores no período ameno (Figura 2), no qual a temperatura máxima variou de 25 a 33 ° C e a umidade relativa permaneceu na faixa de 70 a 90% (Figuras 1A e 1D).

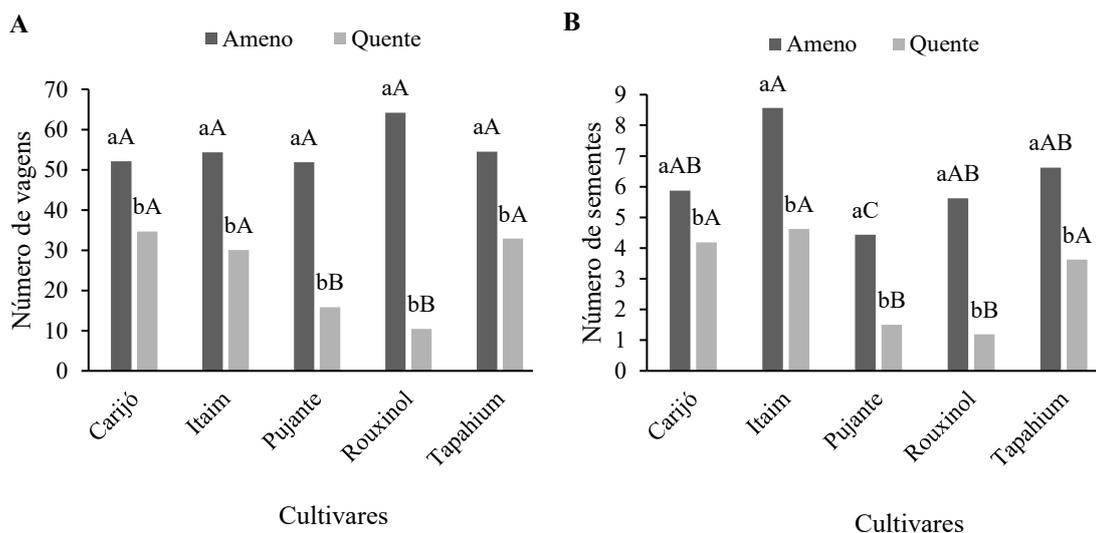


Figura 2. Número de vagens (A) e número de sementes (B) por planta de cinco cultivares de feijão-caupi, em duas épocas de cultivo. *Letras minúscula para a época de cultivo e maiúscula para cultivares.

No período quente, a temperatura máxima variou de 35 a 37 ° C, coincidindo com as fases de floração e formação de vagens, o que explica a redução do número de vagens e sementes por planta (Figura 2A e 2B). Na estação de crescimento com temperaturas amenas, a temperatura máxima variou de 29 a 32 ° C durante essas fases. As altas temperaturas afetam negativamente a formação dos botões florais, a germinação e o crescimento do tubo polínico, reduzindo o número de grãos de pólen liberados para fertilização, aumentando o número de flores abortadas (SITA et al., 2017; BARROS et al., 2021). Além disso, temperaturas entre 30 e 35 ° C durante a fase de enchimento das sementes aceleram a senescência, reduzem o número e o peso das sementes e, conseqüentemente, o rendimento das leguminosas (KUMAR et al., 2016).

O estresse térmico também causa alterações metabólicas, limitando a síntese de sacarose e amido, reduzindo o acúmulo de carboidratos nas sementes (KAUSHAL et al., 2013; SITA et al., 2017). No Semiárido brasileiro, temperaturas máximas médias diárias

de 37 °C e temperaturas noturnas de 24,8 °C podem afetar significativamente a produtividade do feijão-caupi, resultando no aborto de flores e frutos (BARROS et al., 2021). Conforme observado neste estudo, isso resulta em redução significativa do rendimento. Por outro lado, durante o período ameno, foram registrados dias com temperaturas mínimas de 15 °C (Figura 1B). No entanto, essa temperatura coincidiu com o tempo de maturação da vagem, quando a temperatura não causa perdas na produção final das sementes (NDISO et al., 2016). O feijão-caupi pode crescer em uma ampla faixa de temperatura (18 e 37 °C), mas a temperatura ótima varia para as diferentes fases fenológicas (VALE et al., 2017).

As cinco cultivares apresentaram redução na produção de vagens e sementes no período quente. No entanto, as cultivares Pujante e Rouxinol apresentaram os menores números de vagens e sementes quando plantadas no período mais quente, com temperaturas máximas entre 26 °C e 38,60 °C e umidade relativa variando de 48,8% a 99,8% (Figura 1A e 1D). Para a cultivar Pujante, houve reduções de 66,13% no número de vagens e 69,48% no número de sementes no período quente, enquanto para a cultivar Rouxinol as reduções foram de 79% no número de vagens e 83,68% no número de sementes (Figura 2). As diferentes cultivares, apesar de serem da mesma espécie, podem apresentar respostas distintas quanto à sua adaptabilidade ao ambiente e, portanto, podem ter um desempenho diferente quanto às épocas de plantio (MATOSO et al., 2018).

Os maiores números de vagens, sementes e produção de sementes foram verificados com o aumento da disponibilidade de água no solo no período vegetativo com temperaturas amenas (Figura 3). No entanto, nenhum modelo de regressão ajustado para a estação de crescimento com temperaturas quentes, que foi, portanto, representado apenas pela média (Figura 3C). Esse resultado reforça a relação positiva entre a quantidade de água aplicada e a produção de frutos e sementes por planta. O feijão-caupi é sensível ao déficit hídrico, sendo que esse estresse abiótico também pode causar o abortamento das flores, queda das vagens e redução no enchimento das sementes (MWALE et al., 2017), conforme observado no presente estudo. Na fase de floração, um longo período de déficit hídrico pode causar redução de 63 a 98% na produtividade do feijão-caupi (NDISO et al., 2016).

Durante as fases de floração e enchimento de grãos ocorre o aborto de flores jovens e vagens por competição fonte-dreno, formando flores anormais e falha na fertilização, ou vagens mais jovens, que abortam por deficiência de compostos fotoassimilados (SILVA et al., 2019). Essa deficiência está associada a uma redução da

taxa fotossintética devido à inibição de processos metabólicos, causando menor eficiência no uso de energia pelo aparato fotoquímico da planta (FAROOQ et al., 2017).

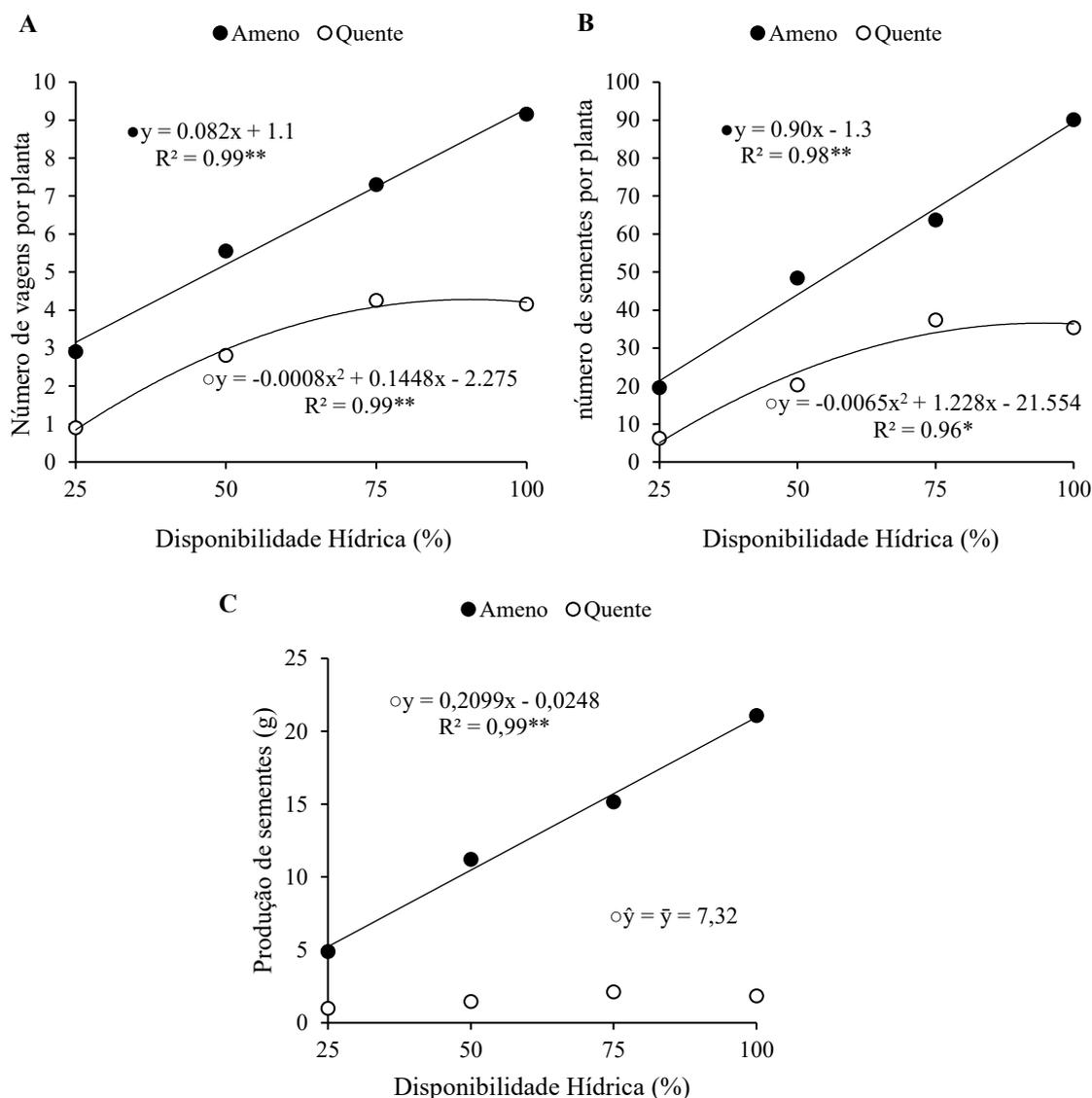


Figura 3. Número de vagens (A), número de sementes por planta (B) e produção de sementes (C) em função da disponibilidade hídrica do solo e duas épocas de cultivo. Coeficiente da regressão significativo com $p < 0,01$ (**) e $p < 0,05$ (*).

Houve uma redução de 54 e 60% no número de vagens e de sementes, respectivamente, do período quente, em relação ao período com temperaturas amenas, mesmo com disponibilidade hídrica de 100% (Figuras 3A e 3B). Observa-se que na época de cultivo mais quente, houve uma queda de cerca de 90% na produção da cultura, em comparação a época mais amena (Figura 3C). Isto indica que mesmo com a irrigação, a

temperatura foi o elemento determinante para a produção do feijão-caupi. No período mais quente foram registrados 42 dias com temperaturas acima de 35 °C, dos quais 31 dias ocorreram na fase reprodutiva, com início a partir do trigésimo dia após o plantio. A interação entre deficit hídrico e alta temperatura pode retardar ou inibir o desenvolvimento dos botões florais, resultando em poucas flores, levando a uma redução substancial na produção do feijão-caupi (NDISO et al., 2016), uma vez que esta combinação pode resultar em alterações morfológicas, fisiológicas, alterações bioquímicas e moleculares nas plantas (ZANDALINAS et al., 2017).

No período mais ameno, a disponibilidade de água no solo de 61% promoveu a maior eficiência do uso da água (EUA), 1,28 g L⁻¹ (Figura 4B). Assim, pode-se afirmar que o melhor ponto de conversão água / grão ocorre quando as plantas estão sujeitas a disponibilidade hídrica de 61%. A partir desse valor, há uma redução na EUA, indicando que essa eficiência diminui quando o abastecimento de água está próximo de 100% da disponibilidade hídrica (SILVA et al., 2019). A redução da EUA com o aumento da disponibilidade hídrica está associada ao fato de o feijão-caupi ser uma espécie capaz de extrair água em potenciais menores do que aqueles usados para determinar o ponto de murcha permanente do solo (COELHO et al., 2014) o que contribui para aumentar a amplitude de disponibilidade de água no solo para a cultura, de forma que valores próximos ou acima de 100% da disponibilidade hídrica não apresentem aumentos significativos na EUA, conforme observado neste trabalho.

Resultados como estes dão suporte ao produtor quanto à tomada de decisão para o manejo da irrigação sustentável, indicando que não há necessidade do uso de 100% da disponibilidade hídrica, visto que, a irrigação que promova uma disponibilidade de 61% da capacidade máxima de retenção de água já é o suficiente para garantir uma maior EUA, resultando assim, na economia de água e energia com a bomba ligada. Esse resultado é de grande importância, principalmente para o Semiárido, devido à escassez de água nessa região.

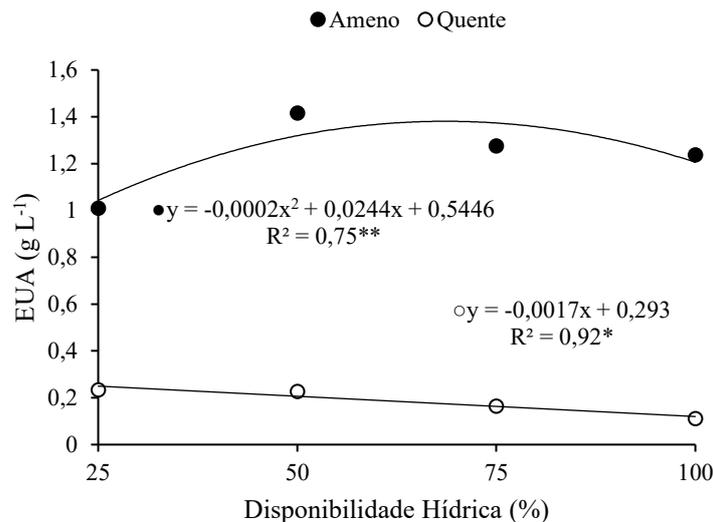


Figura 4. Eficiência do uso da água (EUA) (g L^{-1}) em função da disponibilidade hídrica em duas épocas de cultivo. Coeficiente da regressão significativo com $p < 0,01$ (**) e $p < 0,05$ (*).

Para o período quente, nota-se que a EUA é menor que a do período mais ameno (Figura 4). Essa eficiência diminui à medida que aumenta a disponibilidade de água. Esse comportamento está relacionado à redução da produção de sementes registrada no período mais quente, uma vez que EUA é a relação direta entre a produção obtida e o consumo total de água da planta. Souza et al. (2011), avaliando EUA em feijão-caupi no semiárido em dezembro de 2007, verificaram maior eficiência de uso da água com irrigação de apenas 75% ETo.

Em relação à massa seca da parte aérea e massa seca da raiz, constatou-se que o período mais quente favoreceu o aumento desta variável para as cultivares Pujante e Rouxinol (Figura 5). Para essas duas cultivares, o aumento da temperatura afetou diretamente a fase reprodutiva, reduzindo a produção de vagens e sementes, o que prolongou a fase vegetativa, resultando em maior massa seca. De acordo com Sehgal et al. (2018), as folhas se adaptam a temperaturas elevadas, regulando a temperatura foliar através da transpiração. As raízes, por sua vez, quando submetidas a estresse por altas temperaturas, produzem mais ramificações secundárias, além de apresentarem maior diâmetro (KOEVOETS et al., 2016).

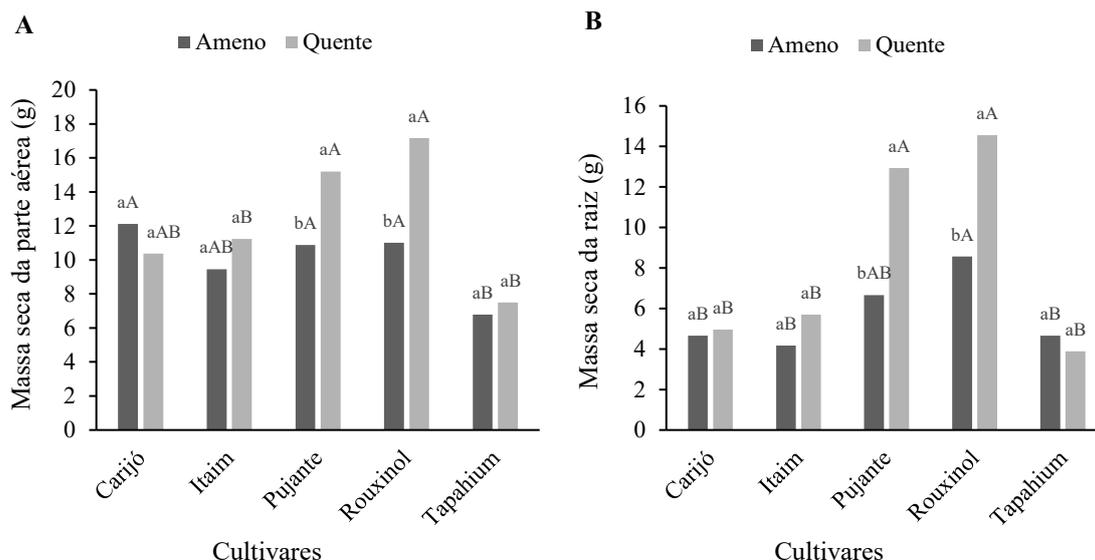


Figura 5. Massa seca da parte aérea (A) e das raízes (B) de cinco cultivares de feijão-caupi, em função da época de cultivo. *Letras minúscula para época de cultivo e maiúscula para cultivares.

Nas duas safras, houve aumento da massa seca da parte aérea e da massa seca da raiz com maior disponibilidade de água (Figura 6). Pois o aumento da disponibilidade hídrica no solo, melhora a absorção de água e nutrientes pelas raízes, favorecendo as atividades fisiológicas, principalmente a capacidade fotossintética, essencial para o crescimento e a matéria seca pelas plantas (CHEN et al., 2017). Na condição de baixa disponibilidade de água no solo, as plantas tendem a realocar recursos da parte aérea às raízes, interrompendo seu crescimento. Essa resposta morfofisiológica é uma estratégia das plantas para reduzir a perda de água por transpiração (GRAY e BRADY, 2016). Além disso, o déficit hídrico prolongado causa diminuição do potencial hídrico da folha e da abertura estomática, reduzindo o tamanho da folha e o crescimento da raiz (XU et al., 2016). Isso ocorre devido a alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, resultando em aumento da temperatura do dossel, reduzindo o conteúdo de clorofila e consequentemente levando à menor atividade fotossintética (TOSCANO et al., 2016; KARIM et al., 2018).

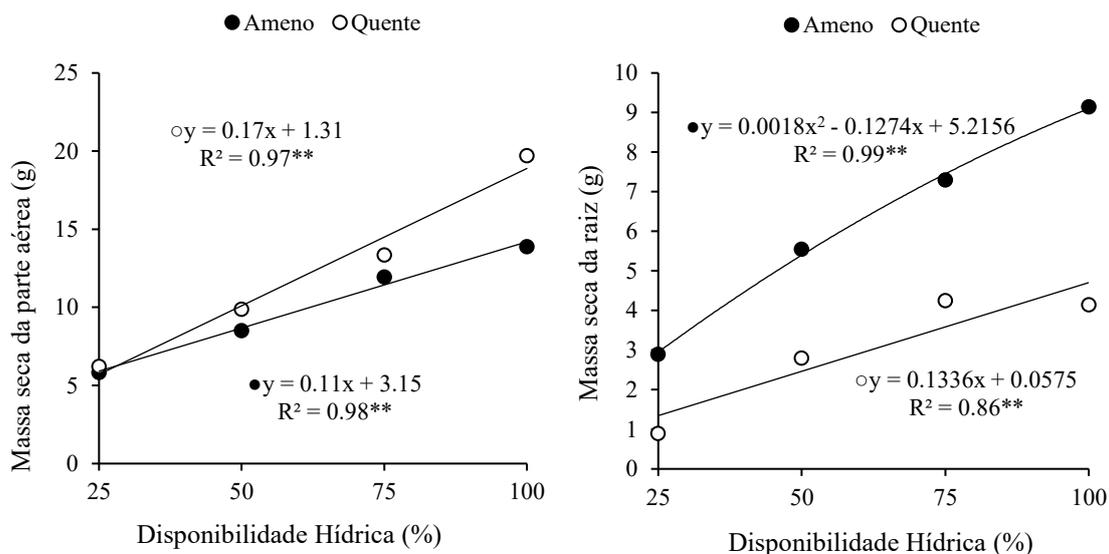


Figura 6. Massa seca da parte aérea (A) e da raiz (B) em função da disponibilidade hídrica e da época de cultivo. Coeficiente da regressão significativo com $p < 0,01$ (**).

A época de cultivo e a disponibilidade de água afetaram a fotossíntese (Figuras 7A e 7B) e a transpiração (Figuras 7C e 7D). A atividade fotossintética foi maior no período mais quente devido ao aumento da condutância estomática e da transpiração (Figuras 7A, 7E e 7C).

Observa-se que a menor disponibilidade hídrica reduziu a atividade fotossintética e a transpiração (Figuras 7B e 7D). A disponibilidade hídrica de 84% promoveu maior atividade fotossintética, igual a $19,10 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, e a disponibilidade de água no solo de 92% proporcionou maior transpiração, igual a $6,36 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Durante o estresse hídrico, ocorre redução do teor de água nos tecidos, levando à inibição da fotossíntese e redução da transpiração (MATHOBO et al., 2017).

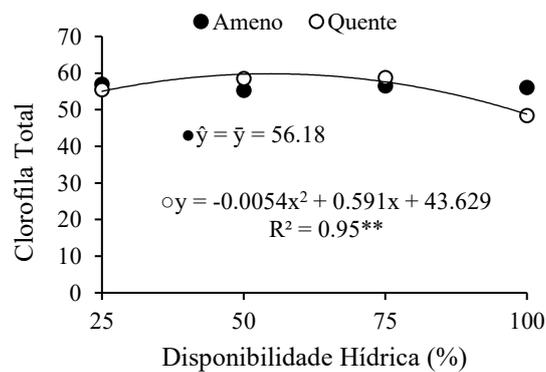
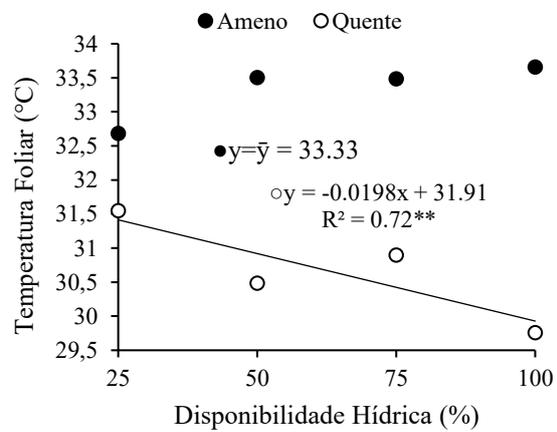
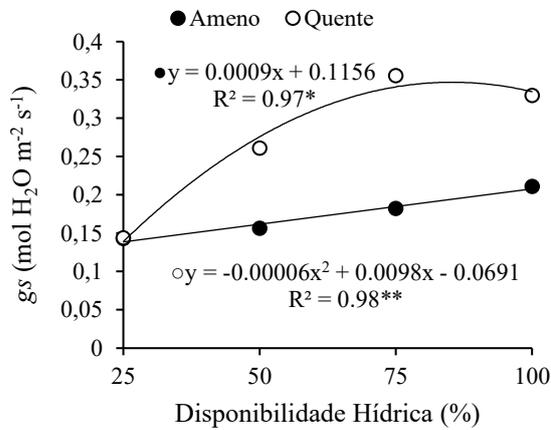
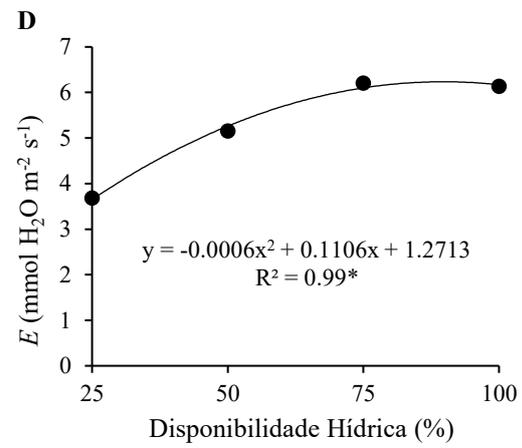
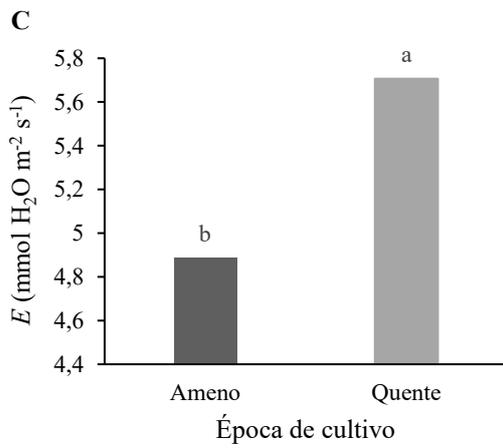
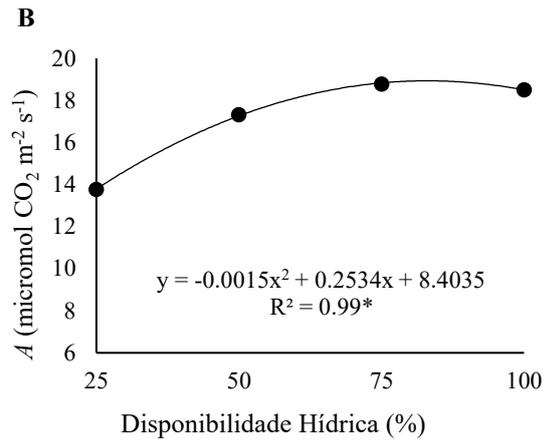
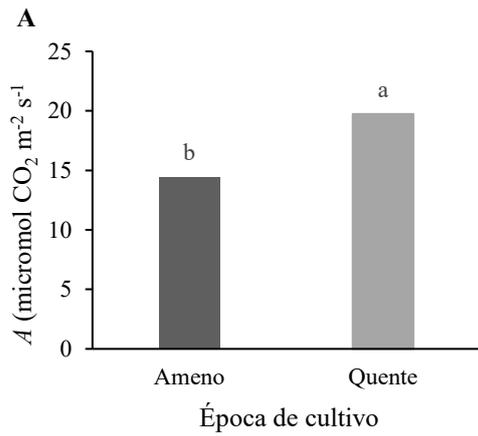


Figura 7. Parâmetros fotossintéticos de cultivares de feijão-caupi em função da disponibilidade hídrica e duas épocas de cultivo. Fotossintética (A e B); Taxa de Transpiração (C e D); Condutância estomática (E); Temperatura foliar (°C) (F) e Índice de clorofila total (G). Coeficiente da regressão significativo com $p < 0,01$ (**) e $p < 0,05$ (*).

Houve aumento linear da condutância estomática, sem ajuste de modelo de regressão para temperatura foliar, em função do aumento da disponibilidade hídrica no período ameno (Figuras 7E e 7F). Para o período quente, a maior condutância estomática ($0,33 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foi observada na disponibilidade hídrica de 81% (Figura 7E). A água é o elemento essencial na regulação estomática, portanto, sob estresse hídrico, as plantas diminuem a abertura estomática para manter o potencial hídrico na folha, reduzindo a assimilação de CO_2 e, portanto, fotoassimilados, diminuindo a massa seca e a produção (RIVAS et al., 2016). A redução da condutância estomática indica a existência de mecanismos de adaptação, reduzindo as perdas de água quando a planta está sob estresse hídrico. Como consequência do fechamento estomático, ocorre uma redução na transpiração foliar, causando alta temperatura foliar (Figura 7F). De acordo com Buckley (2019) e Taiz et al. (2017) 97% da água absorvida pelas plantas é utilizada para regular a temperatura da folha por meio da transpiração.

Sob condições de restrição de água, as plantas de feijão-caupi diminuíram a condutância estomática (Figura 7E). A redução da condutância estomática durante o deficit hídrico ocorre para reduzir a perda de água pelas plantas (NEMESKÉRI e HELYES, 2019). Além disso, isso promoveu uma redução na fotossíntese (Figura 7B) e transpiração (Figura 7D). A redução da atividade fotossintética resultou na diminuição da produção de sementes e da massa seca observada (Figuras 4A e 6A), uma vez que a fotossíntese é o principal processo fisiológico que impulsiona o crescimento da planta (SINGH et al., 2014).

No período quente, o índice máximo de clorofila foi para plantas expostas à disponibilidade de água de 54,72% (Figura 7G). Observou-se que valores de disponibilidade hídrica superiores aos citados anteriormente levaram a uma redução significativa neste índice. Tal comportamento pode ter sido causado pelo excesso de água no solo, resultando em falta de oxigênio para as raízes, o que acarreta a morte dos tecidos radiculares, e as plantas podem responder a isso com limitação na síntese de clorofila (TAIZ et al., 2017). Essa redução no índice de clorofila pode ser responsável pela redução

da fotossíntese para a disponibilidade de água de 100% (Figura 7B), uma vez que a eficiência fotossintética está ligada ao teor de clorofila das plantas (TAIZ et al., 2017).

No período ameno, não houve ajuste da regressão para o índice de clorofila total, sendo representado pela média (Figura 7G). Essa pesquisa possibilitou simular o efeito do aumento da temperatura e do déficit hídrico, e a partir dos dados obtidos, pode-se afirmar que independentemente da disponibilidade hídrica, a temperatura é o elemento climático que mais restringe a produção do feijão-caupi.

Desta forma, além de conhecer a época ideal para o plantio do feijão-caupi afim de obter maior rendimento da cultura, será necessário a adoção de medidas de adaptação que contribuam para modificar o microclima nas épocas quentes. Entre estas medidas destacam-se o uso de cobertura morta, de coquetéis vegetais e de policultivos (Angelotti et al., 2019). Essas práticas além de reduzir os impactos causados pelas temperaturas elevadas poderão contribuir para otimizar o uso da água. Além disso, há a necessidade de estudos com outras cultivares de feijão-caupi, com o objetivo de identificar materiais com tolerâncias temperaturas elevadas.

CONCLUSÃO

Independentemente da disponibilidade de água, a temperatura é o elemento climático que mais restringe o desempenho do feijão-caupi. As cultivares Carijó, Itaim e Tapahium apresentaram menor redução do potencial produtivo no plantio no período quente.

REFERÊNCIAS

AHMED, F. E.; SULIMAN, A. S. H. Effect of water stress applied at different stages of growth on seed yield and water-use efficiency of Cowpea. *Agriculture and Biology Journal of North America*, v.1, n.4, p.534-540, 2010.

ANGELOTTI, F.; GIONGO, V. Ações de mitigação e adaptação frente às mudanças climáticas. In: MELO, R.F; VOLTOLINI, T. V. (Org.). *Agricultura familiar dependente de chuva no Semiárido*. Petrolina-PE: Embrapa Semiárido, 2019, 445-467 p.

ANGELOTTI, F.; BARBOSA, L. G.; BARROS, J. R. A.; SANTOS, C. A. F. Cowpea (*Vigna unguiculata*) development under different temperatures and carbon dioxide concentrations. *Revista Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.50, n.1, p.1-7, 2020.

BARROS, J. R. A.; GUIMARÃES, M. J. M.; SILVA, R. M.; RÊGO, M. T. C.; MELO, N. F.; CHAVES, A. R. M.; ANGELOTTI, F. Selection of cowpea cultivars for high temperature tolerance: physiological, biochemical and yield aspects. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, v.27, n.1, p.1-10, 2021.

BATISTA, L. S.; COELHO, E. F.; CARVALHO, F. A. P.; SILVA, M. G.; GOMES FILHO, R. R.; GONÇALVES, A. A. Calibração de sonda artesanal de uso com TDR para avaliação de umidade de solos. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, v. 10, p. 522-532, 2016.

BUCKLEY, T. N. How do stomata respond to water status?. *New Phytologist*, v.224, n.1, p.21-36, 2019.

CAVALCANTI, F. J de A. *Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco*. 2ª Apr. 3.ed., Recife: IPA, 2008, 212 p.

CHEN, Z.; MA, H.; XIA, J.; HOU, F.; SHI, X.; HAO, X.; LUO, H. Optimal pre-plant irrigation and fertilization can improve biomass accumulation by maintaining the root and leaf productive capacity of cotton crop. *Scientific Reports*, v.7, n.1, p.1-13, 2017.

COELHO, J. B. M.; BARROS, M. F. C.; BEZERRA NETO, E.; SOUZA, E. R. Ponto de murcha permanente fisiológico e potencial osmótico de feijão caupi cultivado em solos salinizados. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.18, n.7, p.708–713,

2014.

DJANAGUIRAMAN, M.; PERUMAL, I.A.; CIAMPITTI, S.K.; GUPTA E P.V.V. PRASAD. Quantifying pearl millet response to high temperature stress: Thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Plant, Cell and Environment*, v. 41, n. 1, p. 993-1007, 2018.

FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BAROOWA, B.; BHARADWAJ, N.; ALGHAMDI, S. S.; SIDDIQUE, K. H. M. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, v.203, p.81-102, 2017.

GRAY, S.B.; BRADY. Plant developmental responses to climate change. *Developmental Biology*, v.419, n.1, p. 64-77, 2016.

HAYATU, M.; MUHAMMAD, S. Y.; HABIBU, U. A. Effect of water stress on the leaf relative water content and yield of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) walp.) genotype. *International Journal of Scientific & Technology Research*, v.3, n.1, p.148- 152, 2014.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE: Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Edenhofer, O., R. PichsMadrugá, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, 2014.

JUMRANI, K.; BHATIA, V. S. Impact of combined stress of high temperature and water deficit on growth and seed yield of soybean. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, v. 24, n.1, p. 37-50, 2018.

KARIM, T.D.A.; SANOUSSI, A.; MAÂROUHI, I.M.; FALALOU, H.; YACOUBOU, B. Effect of water deficit at different stages of development on the yield components of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) genotypes. *African Journal of Biotechnology*, v. 19, n. 9, p. 279-287, 2018.

KAUSHAL, N.; AWASTHI, R.; GUPTA, K.; GAUR, P.; SIDDIQUE, K. H. M.;

NAYYAR, H. Heat-stress-induced reproductive failures in chickpea (*Cicer arietinum*) are associated with impaired sucrose metabolism in leaves and anthers. *Functional Plant Biology*, v.40, n.12, p.1334-1349, 2013.

KOEVOETS, I. T.; VENEMA, J. H.; ELZENGA, J. T. M.; TESTERINK, C. Roots Withstanding their Environment: Exploiting Root System Architecture Responses to Abiotic Stress to Improve Crop Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, v.7, n.1, p 1-19, 2016.

KUMAR, J.; KANT, R.; KUMAR, S.; BASU, P. S.; SARKER, A.; SINGH, N. P. Heat tolerance in lentil under field conditions. *Legume Genomics Genet*, v.7, p.1–11, 2016.

LOPES, I.; GUIMARÃES, M. J. M.; MELO, J. M. M.; RAMOS, C. M. C. Balanço hídrico em função de regimes pluviométricos na região de Petrolina-PE. *Irriga*, v. 22, n.3, p. 443-457, 2017.

MATOSO, A. O.; SORATTO, R. P.; GUARNIERI, F.; COSTA, N. R.; ABRAHÃO, R. C.; TIRABASSI, L. H. Sowing Date Effects on Cowpea Cultivars as a Second Crop in Southeastern Brazil. *Agronomy Journal*, v.110, n.1, p.1-14, 2018.

MATHOBO, R.; MARAIS, D.; STEYN, J. M. (2017). The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agricultural Water Management*, v.180, n.1, p.118-125, 2017.

MELO, L. D. F. A.; MELO JUNIOR, J. L. A.; FERREIRA, V. M.; ARAUJO NETO, J. C.; NEVES, M. I. R. S. Biometric characterization and seed germination of giant mimosa (*Mimosa bimucronata* (DC) O. Kuntze). *Australian Journal of Crop Science*, v.12, n.1, p.108-115, 2018.

MWALE, S. E.; MILDRED, O. S.; KASSIM, S.; ACHOLA, E.; OKUL, V.; GIBSON, P.; RUBAIHAYO, P. Response of Cowpea Genotypes to Drought Stress in Uganda. *American Journal of Plant Sciences*, v.13, n.1, p.13-21, 2017.

NDISO, J. B.; OLUBAYO, F.; CHEMINING'WA, G. N.; SAHA, H. M. Effect of Drought Stress on Canopy Temperature, Growth and Yield Performance of Cowpea Varieties. *International Journal of Plant & Soil Science*, v.9, n.3, p.1-12, 2016.

NEMESKÉRI, E.; HELYES, L. Ohysiological responses of selected vegetable crop species to Water Stress. *Agronomy*, v.9, n.8, p.447, 2019.

NORTON, M. R.; MALINOWSKI, D. P.; VOLAIRE, F. Plant drought survival under climate change and strategies to improve perennial grasses. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v.36, n.29, p.1-15, 2016.

PERDOMO, J. A.; CONESA, M. À.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBÓ, M; GALMÉS, J. Effects of long-term individual and combined water and temperature stress on the growth of rice, wheat and maize: relationship with morphological and physiological acclimation. *Physiology Plant*, v.155, n.2, p. 149-165, 2015.

RIVAS, R.; FALCÃO, H. M.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; PIMENTEL, C.; SANTOS, M. G. Drought tolerance in cowpea species is driven by less sensitivity of leaf gas exchange to water deficit and rapid recovery of photosynthesis after rehydration. *South_African Journal of Botany*, v.103, n.1, p.101-107, 2016.

ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; MENEZES JÚNIOR, J. A. N.; HASHIMOTO, J. M.; NEVES, A. C.; SOUZA, F. M.; RIBEIRO, E.; FERNANDES, L. Feijão-caupi: Melhoramento genético para o avanço da cultura. *Embrapa Meio-Norte*, 2016, 6 p.

SEHGAL, A.; SITA, K.; SIDDIQUE, K.H.M.; KUMAR, R.; BHOGIREDDY, S.; VARSHNEY, R.K.; RAO, B.H.; NAIR, R.M.; PRASAD, P.V.V.; NAYYAR, H. Drought or/and Heat-Stress Effects on Seed Filling in Food Crops: Impacts on Functional Biochemistry, Seed Yields, and Nutritional Quality. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 1705, 2018.

SILVA, S.; SILVA, C. S. da.; SOUZA, J. E.; SOUSA, A. C. da P.; ARAÚJO, E. R. Uso econômico da água para o feijão caupi na região do sertão alagoano. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, v. 9, n. 1, p. 07-13, 2019.

SINGH, J.; PANDEY, P.; JAMES, D.; CHANDRASEKHAR, K.; ACHARY, V. M. M.; KAUL, T.; REDDY, M. K. Enhancing C3 photosynthesis: an outlook on feasible interventions for crop improvement. *Plant Biotechnol Journal*, v.12, n.9, p.1217–1230, 2014.

SITA, K.; SEHGAL, A.; HANUMANTHARAO, B.; NAIR, R.M.; PRASAD, P.V.V.;

KUMAR, S.; 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*, v.8, n.1, p.1-30, 2017.

SOUZA, L. S. B.; MOURA, M. S. B.; SEDIYAMA, G. C.; SILVA, T. G. F. Eficiência do uso da água das culturas do milho e do feijão-caupi sob sistemas de plantio exclusivo e consorciado no semiárido brasileiro. *Bragantia*, v.70, n.3, 715-721, 2011.

SOUZA, P. J. O. P.; FARIAS, V. D. S.; LIMA, M. J. A.; RAMOS, T. F.; SOUSA, A. M. L. Cowpea leaf area, biomass production and productivity under different water regimes in castanhal, Pará, Brazil. *Revista Caatinga*, v.30, n.3, 748-759, 2017.

TAIZ, L.; MOLLER, E. Z. I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed. 2017.

TOSCANO, S.; FARIERI, E.; FERRANTE, A.; ROMANO, D. Physiological and biochemical responses in two ornamental shrubs to drought stress. *Frontiers in Plant Science*, v.7, p.1–12, 2016.

VALE, JC. do., BERTINI, C., BORÉM, A. 2017. *Feijão-caupi: do plantio à colheita*. Viçosa: Editora UFV. 267 p.

XU, Z.; JIANG, Y.; JIA, B.; ZHOU, G. Elevated-CO₂ response of stomata and its dependence on environmental factors. *Front in Plant Science*, v.7, n.1, 657, 2016.

ZANDALINAS S. I.; MITTLER R.; BALFAGÓN D.; ARBONA V.; GÓMEZ-CADENAS A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum*, v.162, p. 2–12, 2018.

CAPÍTULO 5

Expressão diferencial dos genes *P5CR* (prolina) e *αTPS6* (trealose) em plantas de feijão-caupi sob déficit hídrico e altas temperaturas

RESUMO

Plantas expostas a condições ambientais adversas desenvolvem mecanismos moleculares de adaptação e/ou defesa que contribuem para tolerância via sistemas de prevenção e proteção contra os danos celulares causados por esses estresses abióticos. Com isso, objetivou-se avaliar a expressão gênica de osmoprotetores (prolina e trealose) em plantas de feijão-caupi cv. Carijó, sob condições controladas de déficit hídrico e altas temperaturas. Os ensaios experimentais foram realizados em câmaras de crescimento sob condições controladas, em esquema fatorial de 4x3x2, que corresponde a níveis de disponibilidade hídrica do solo (25, 50, 75 e 100 %-controle), estádios fenológicos (vegetativa, floração e enchimento da vagem) e regimes de temperatura (20-26-33 °C e 24,8-30,8-37,8 °C), respectivamente. A coleta do material vegetal foi realizada em três fases fenológicas distintas, sendo utilizados tecidos foliares para a extração do RNA total e síntese de DNA complementar (cDNA). Os genes *P5CR* (prolina) e *αTPS6* (trealose) apresentaram expressão diferencial sendo induzidos positivamente com aumento da temperatura (24,8-30,8-37,8 °C) e menor disponibilidade hídrica (25%) na fase vegetativa do feijão-caupi. Além disso, *P5CR* também apresentou aumento de expressão com disponibilidade hídrica de 50% em temperaturas elevadas. Na fase de enchimento de vagens, os genes *P5CR* e *αTPS6* apresentaram expressão diferencial reprimida com disponibilidade hídrica de 75%, enquanto apenas o gene *P5CR* foi induzido quando a disponibilidade hídrica foi reduzida para 25%, em ambiente sob condições de estresse térmico. Mesmo em condições de seca severa (25 e 50%), os genes *P5CR* e *αTPS6* não foram induzidos em ambiente com temperatura amena (20-26-33 °C). Genes *P5CR* e *TPS6* foram induzidos no feijão-caupi cv. Carijó, em resposta a estresses abióticos associados (déficit hídrico e altas temperaturas), o que indica a sua participação nos mecanismos de adaptação da espécie em condições de estresse.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*, estresse abióticos, osmoprotetores, RT-qPCR.

INTRODUÇÃO

Vários fatores ambientais afetam negativamente as plantas, acarretando alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, causando impacto no desenvolvimento, crescimento e produtividade vegetal (TOSCANO, et al., 2016). O déficit hídrico e temperaturas extremas estão entre as principais restrições ambientais à produtividade agrícola no mundo. No entanto, as plantas desenvolveram diversos mecanismos de resposta para se aclimatarem e sobreviverem a condições ambientais adversas (CARVALHO et al., 2017).

Quando estressadas, as células vegetais são estimuladas e sinalizam respostas via hormônios vegetais, mensageiros secundários, transdutores de sinal e reguladores de transcrição, que irão coordenar o crescimento e desenvolvimento das plantas em meio ao estresse (DANQUAH et al., 2014). Esses estímulos ativam genes que codificam proteínas e enzimas diretamente envolvidas no metabolismo do estresse, contribuindo para a resposta de aclimação a um dado estímulo (CASARETTO et al., 2016). Em condições de déficit hídrico e altas temperaturas, esses genes podem atuar na proteção da célula por meio da produção de importantes proteínas metabólicas, assegurando assim, a manutenção do turgor na célula e regulação de genes alvos (TODAKA et al., 2012).

Essas proteínas têm a função de regular a concentração de substâncias osmoprotetoras, pequenas moléculas que auxiliam na resposta vegetal a estresses extremos, atuando no ajuste da pressão osmótica celular, na detoxificação de espécies reativas de oxigênio, preservação da integridade de membranas e estabilização de enzimas e proteínas (DAR et al., 2016). Entre os osmoprotetores, encontram-se a prolina, que pode atuar como molécula sinalizadora e reguladora, capaz de ativar respostas múltiplas que são componentes do processo de aclimação, assim como a trealose, capaz de estabilizar proteínas e membranas biológicas, ainda que submetida a variadas condições de estresse (HASANUZZAMAN et al., 2010).

Com as alterações no clima, os estresses abióticos serão intensificados devido à frequência de eventos extremos, como ondas de calor e períodos de seca prolongados (IPCC, 2014), havendo assim a necessidade de estratégias de adaptação com culturas-alvo. O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) é considerado uma cultura chave para a segurança alimentar, por ser uma espécie rica em proteínas e com importância socioeconômica para as regiões semiáridas (MELO et al., 2018), apresentando baixo custo de produção, e por ser mais tolerante à seca e ao calor, em comparação com outros cultivos agrícolas (CARVALHO et al., 2019).

Diversos mecanismos adaptativos à seca foram descritos no feijão-caupi, (GOUFO et al., 2017) e vários genes relacionados ao déficit hídrico foram identificados, alguns dos quais envolvidos no metabolismo antioxidante (CARVALHO et al., 2017). Barros et al. (2020), por sua vez, avaliaram como as plantas de feijão-caupi respondem a estresses combinados (temperatura x déficit hídrico), o que torna essa cultura um modelo interessante para investigar as bases da adaptação aos estresses abióticos, uma vez que, ocorrem de forma simultânea na natureza.

Essas características do feijão-caupi enfatizam a importância de estudos moleculares que visem entender os mecanismos adaptativos de respostas à estresses. Além disso, compreender a natureza das cascatas de sinalização, bem como genes específicos diferencialmente expressos em resposta à altas temperatura e déficit hídrico será de grande importância para o desenvolvimento de plantas tolerantes frente as mudanças climáticas. Com isso, objetivou-se com essa pesquisa, avaliar a expressão gênica diferencial de osmoprotetores (prolina e trealose) em plantas de feijão-caupi cv. Carijó sob déficit hídrico e altas temperaturas.

MATERIAL E MÉTODO

Material vegetal e condições de crescimento

O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento, do tipo Fitotron, com controle de temperatura, umidade e fotoperíodo, em 2019. O delineamento experimental conduzido com a cultivar Carijó, de grande importância econômica para a região e semeadas em vasos com capacidade de 7L, foi em arranjo fatorial de 4x3x2, correspondendo aos níveis de disponibilidade hídrica do solo, estádios fenológicos e regimes de temperatura, respectivamente. Os níveis de disponibilidade de água no solo foram 25; 50; 75; e 100%, aplicados nas fases fenológicas vegetativa, floração e enchimento das vagens. Os regimes de temperatura foram: T°1: 20-26-33 °C (20°C: no horário de 20 às 6h; 26 °C: no horário de 6 às 10h e 33 °C: no horário das 10 às 15h; 26°C: no horário de 15 às 20h); T°2: 24,8-30,8-37,8 °C (24,8 °C: no horário de 20 às 6h; 30,8 °C: no horário de 6 às 10h; 37,8 °C: no horário de 10 às 15h; 30,8 °C: no horário de 15 às 20h), com quatro repetições. A umidade relativa foi fixada em um valor de 60% ±5% e a intensidade da luz em 1.500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esses valores de temperatura foram determinados a partir das temperaturas mínimas, média e máxima do Submédio do Vale do São Francisco, que variam de 18-22, 25-27 e 32-34 °C, respectivamente. O aumento

de 4,8 °C em cima desses valores, foi baseado no cenário futuro para o aumento de temperatura registrado pelo Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC, 2013).

O manejo da irrigação, foi realizado com auxílio de uma TDR (Reflectometria no Domínio do Tempo), modelo TDR100 da Campbell. Para este experimento foram utilizadas sondas de cabo coaxial com três hastes. Inicialmente foi realizada a calibração da TDR para o solo utilizado no experimento, um argissolo vermelho-amarelo eutrófico, conforme Batista (2016). A adubação foi realizada três dias antes do plantio, conforme os resultados das análises químicas do solo e das indicações para a cultura (CAVALCANTI, 2008). As irrigações foram realizadas a cada dois dias a partir dos dados gerados pela TDR, com a reposição do volume de água evapotranspirada, mantendo a disponibilidade de água no solo referente a cada tratamento.

Antes do plantio, todos os vasos foram irrigados até a sua capacidade de retenção máxima de água. O manejo da irrigação envolvendo os tratamentos experimentais foi iniciado quinze dias após o plantio. A disponibilidade de água no solo foi aplicada nas diferentes fases fenológicas, dividida em três etapas.

As plantas da primeira etapa receberam o déficit hídrico apenas na fase vegetativa (após a abertura da primeira folha composta), encerrando a partir da emissão dos primeiros botões florais. Na segunda etapa, as plantas foram submetidas às diferentes disponibilidades de água na fase de floração até o início do enchimento das vagens. As plantas da terceira etapa receberam o déficit hídrico apenas quando iniciou o enchimento das vagens, encerrando com a colheita. Ao final de cada etapa foram quantificados os dias que as plantas foram submetidas as diferentes disponibilidades hídricas.

A coleta do material vegetal para extração do RNA, foi realizada nas fases mencionadas acima.

Extração de RNA

O RNA total foi extraído utilizando o Kit Reliaprep RNA Tissue Miniprep System (Promega) utilizando aproximadamente 200 mg de tecido foliar, e posteriormente tratado com DNase (visando remover contaminação genômica). A integridade do RNA foi verificada em gel de agarose 1 % corado com Brometo de etídio em corrida a 70V, 120 A, por 90 minutos. As amostras foram quantificadas em fluorômetro Qubit (Life Technologies) e imediatamente armazenadas a - 80 °C.

Síntese de cDNA

A síntese de cDNA foi realizada utilizando 500 ng de RNA total e empregando-se o GoScrip Reverse Transcription System Kit (Promega), seguindo as recomendações do fabricante. Inicialmente, as amostras de RNA foram adicionadas aos *primers* Oligo (dT), incubadas em termobloco a 70 °C por 5 minutos e em gelo por 5 minutos. A reação foi adicionada ao mix da reação de transcrição reversa (4 µL do GoScript™ 5X Reaction Buffer, 2.6 µL do MgCl₂ (4 mM), 1 µL do PCR Nucleotide Mix (0,5 mM), 1 µL do Recombinant RNasin Ribonuclease Inhibitor, 1 µL da GoScrip Reverse Transcriptase e 5,4 µL de água ultrapura) e incubada em termociclador a 25 °C por 5 minutos (anelamento), 42 °C por 60 minutos (extensão), 70 °C por 15 minutos (inativação da RT) e armazenadas a - 20 °C.

Desenho dos primers

Os genes-alvo foram desenhados utilizando os softwares Primer-BLAST (YE et al., 2012) e Primer3Plus (UNTERGASSER et al., 2007), seguindo os seguintes critérios: tamanho do amplicon (70–200 pb), conteúdo GC (40–60%), tamanho do primer (18–22 bases). Os genes de referência foram obtidos na literatura (AMORIM et al., 2018) (Tabela 1).

Tabela 1. Primers para RT-qPCR de genes de referência e alvo em tecido foliar de plantas de feijão-caupi cv. carijó sob estresse abiótico.

Gene (número de acesso)	Descrição	Primer (frente/reverso)	Amplicon	Referência
Gene Alvo P5CR (XM_014634245.1)	Delta (1)-pyrroline-5carboxylate reductase	(F) GCTTTGGCTGATGGAGGAGT (R) ACCATTGATGCTGCTCCCAA	92 pb	Este estudo
α TPS (XM_014665298.1)	Trehalose 6-phosphate synthase	(F) AGACTGCACTTGTATGGTGCT (R) CTTGCTCACACCCCTGTGGTT	161 pb	Este estudo
Genes de Referência β TUB (XM_007147394.1)	Beta-tubulin	(F) CCGTTGTGGAGCCTTACAAT (R) GCTTGAGGGTCCTGAAACAA	117 pb	Amorim et al., 2018
UED21D	Ubiquitin conjugating enzyme E2 variant 1D	(F) AGAAAAGCCCCCAAGTGTTTC (R) CTGCCATCTCCTTCTTCAGC	161 pb	Amorim et al., 2018
UNK (XM_007131494.1)	Phaseolus vulgaris unknown gene	(F) ATTCCCATCATGCAGCAAAG (R) AGATCCCTCCAGGTCAATCC	192 pb	Amorim et al., 2018

Análise da expressão diferencial por RT-qPCR

As validações por RT-qPCR foram realizadas de acordo com as orientações do MIQE (*The Minimum Information for Publication of Quantitative RealTime PCR Experiments*) (BUSTIN et al., 2009) visando aumentar a transparência e a confiabilidade dos resultados obtidos. As reações foram realizadas em equipamento QuantStudio 5 Real-Time (ThermoFisher Scientific), utilizando sistema de detecção SYBR Green. Em todas as reações foram utilizadas triplicatas biológicas e técnicas, além de controles negativos (NTC) para cada par de *primer*. Os valores de eficiência de amplificação ($E = 10^{-1/\text{slope}}$), coeficiente de correlação (R), *interception* (y) e *slope* foram calculados pelo método da curva padrão utilizando diluições seriadas (1, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}).

O *mix* de reação compreendeu 1 μL de de cDNA, 5 μL de Go-Taq SYBR Green qPCR Master Mix 2x (Promega), 3,4 μL de água ultrapura e 0,3 μL de cada *primer* (5 μM), em um volume final de 10 μL . As reações foram submetidas a uma etapa inicial de desnaturação de 95 °C por 2 minutos, seguido por 40 ciclos a 95 °C por 15 s e 60 °C por 60 s, utilizando placas de 96 poços. As curvas de dissociação foram analisadas a 65–95 °C por 20 minutos. Para as análises de expressão relativa, foram utilizados três genes de referência para a normalização dos resultados. Os níveis de expressão gênica foram avaliados no software REST (versão 2.0.13) (PFAFFL et al., 2002).

RESULTADOS

Dois pares de *primers* foram desenhados (*P5CR* e *α TPS*) em *V. unguiculata* para avaliação da expressão gênica por RT-qPCR em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (cultivar Carijó) submetidas a estresses abióticos (temperatura x deficit hídrico). A fase de floração foi descartada da análise, pois as amostras do grupo controle (disponibilidade hídrica de 100%) apresentaram quantificação de RNA inferior a 50 ng/ μL , não sendo verificadas as duas bandas correspondentes ao RNA ribossomal após eletroforese em gel de agarose (Figura 1). Dessa forma, foram utilizadas apenas a fase vegetativa (Fase 1) e a fase de enchimento das vagens (Fase 3) para síntese de cDNA e reações de RT-qPCR.

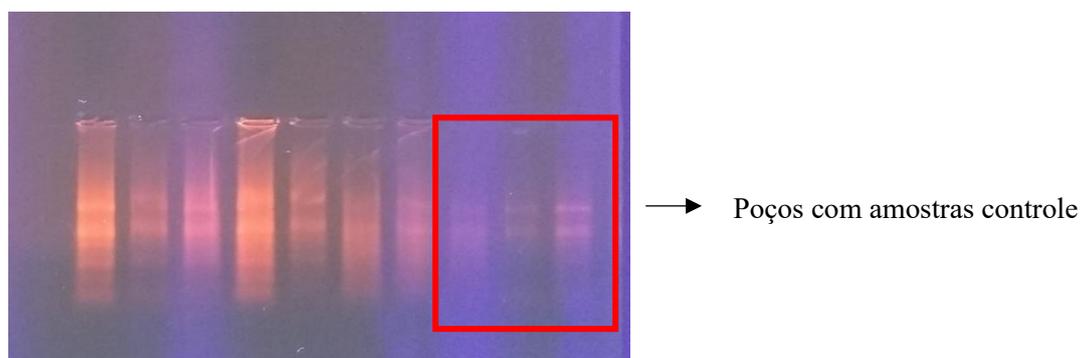


Figura 1. Eletroforese em gel de agarose das amostras de RNA total de tecidos foliares de feijão-caupi, cv. Carijó sob deficit hídrico e altas temperaturas.

Os *primers* desenhados para genes alvos, bem como para os genes de referência obtidos na literatura, apresentaram eficiência variando de 90,74 % a 106,93 % (Tabela 2; Figura 2), com coeficientes de correlação (R^2) variando de 0,97 a 0,99 e *slope* entre -3,16 e -3,56 (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros obtidos nas reações de eficiência para os genes alvos e de referência.

Genes	<i>Slope</i>	Eficiência (%)	R^2
<i>P5CR</i>	-3,566	104,29	0,99
<i>TPS6</i>	-3,566	90,74	0,99
<i>BTUB</i>	-3,166	106,92	0,97
<i>UED10</i>	-3,449	94,96	0,99
<i>UNK</i>	-3,37	98,03	0,99

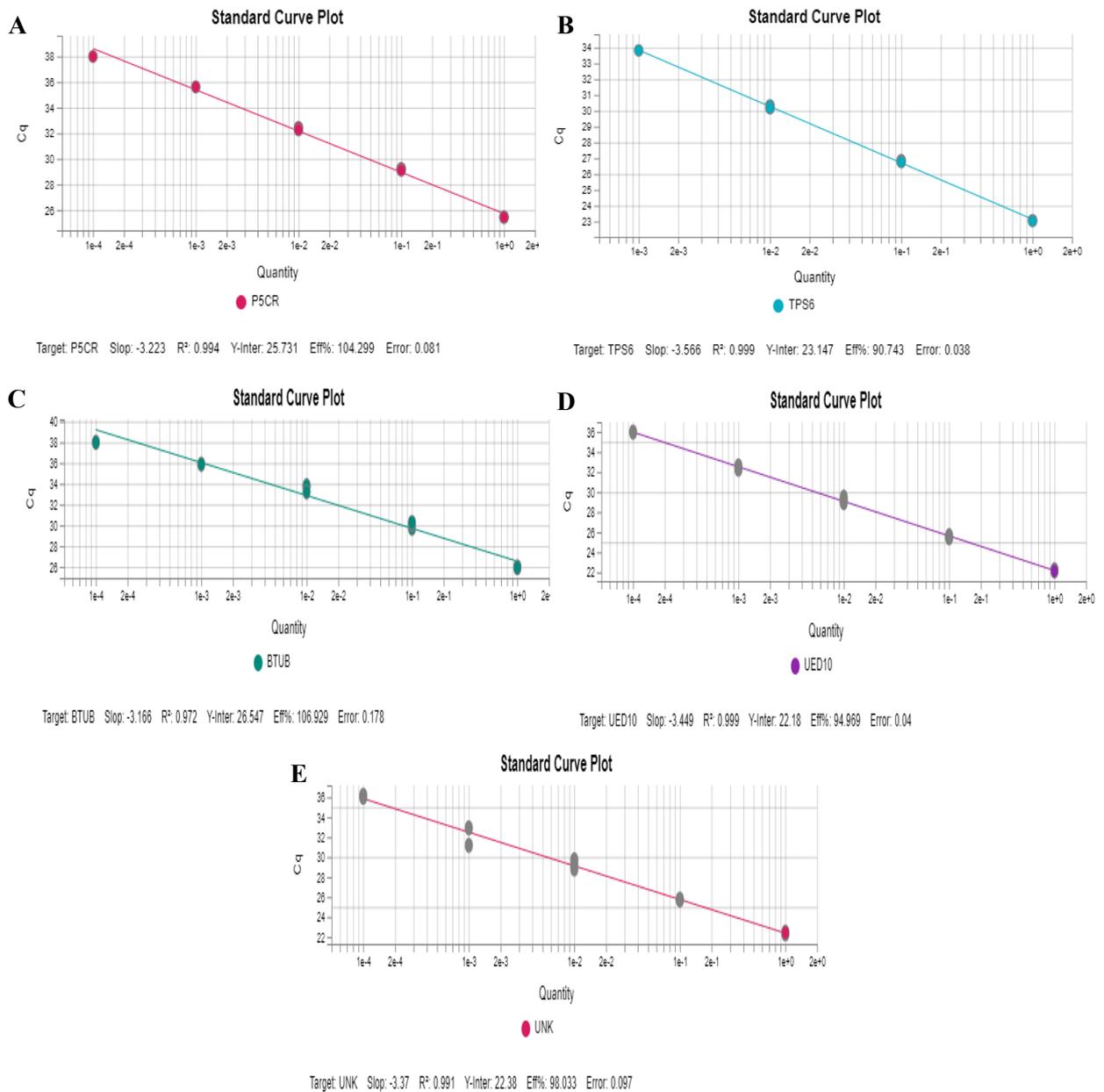


Figura 2. Curva de eficiência dos genes *P5CR* (A); *TPS6* (B); *BTUB* (C); *UED10* (D) e *UNK* (E) em amostras de cDNA de tecidos foliares de feijão-caupi, cv. Carijó sob estresses abióticos.

Além disso, as curvas de amplificação se mostraram consistentes nos pontos de diluição e réplicas técnicas utilizadas (Figura 3).

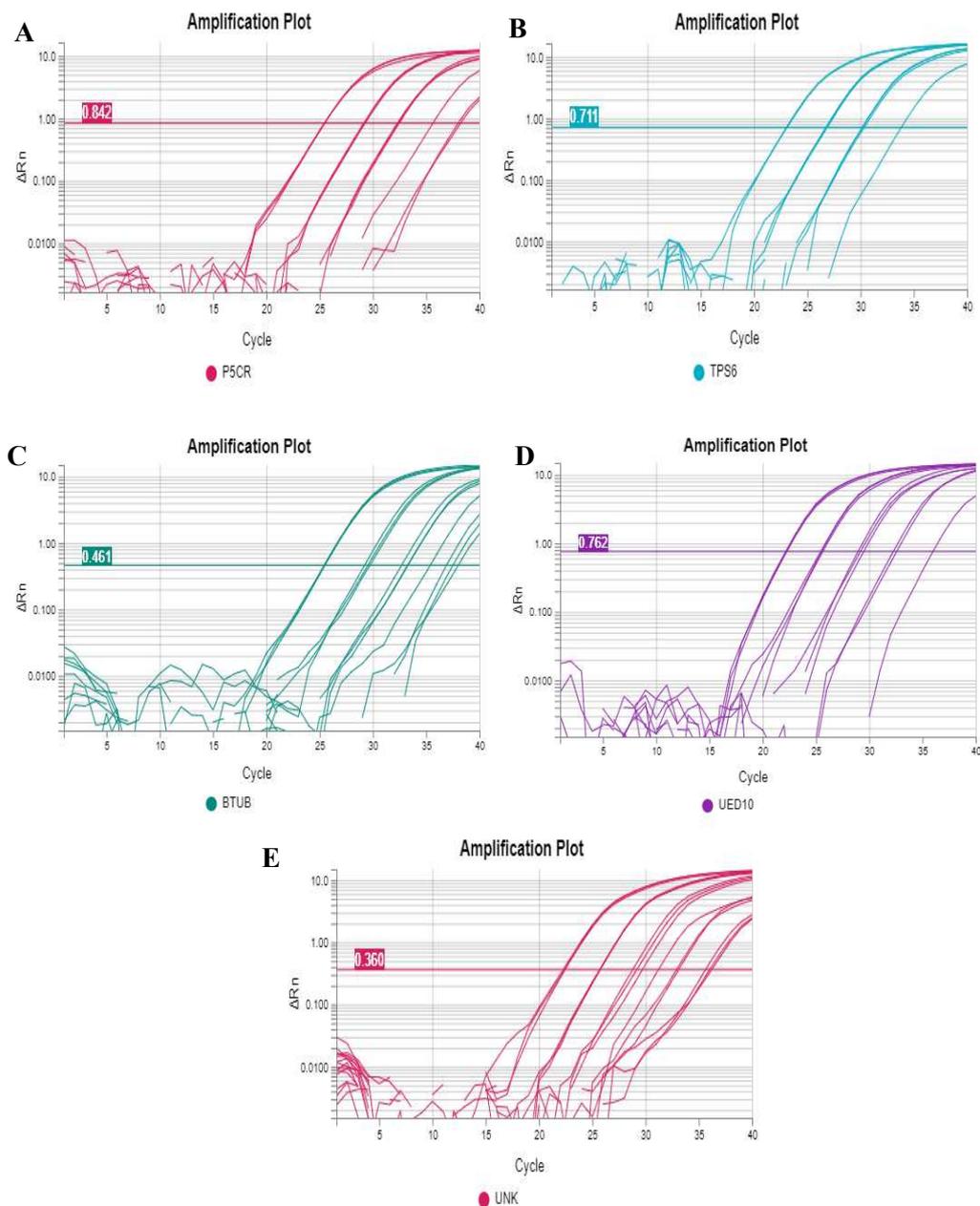


Figura 3. Curva de amplificação dos genes *P5CR* (A); *TPS6* (B); *BTUB* (C); *UED10* (D) e *UNK* (E) em amostras de cDNA de tecidos foliares de feijão-caupi, cv. Carijó sob estresses abióticos.

Nas curvas de *melting* foram obtidos picos únicos para todos os genes avaliados, confirmando a especificidade dos *primers* (Figuras 4).

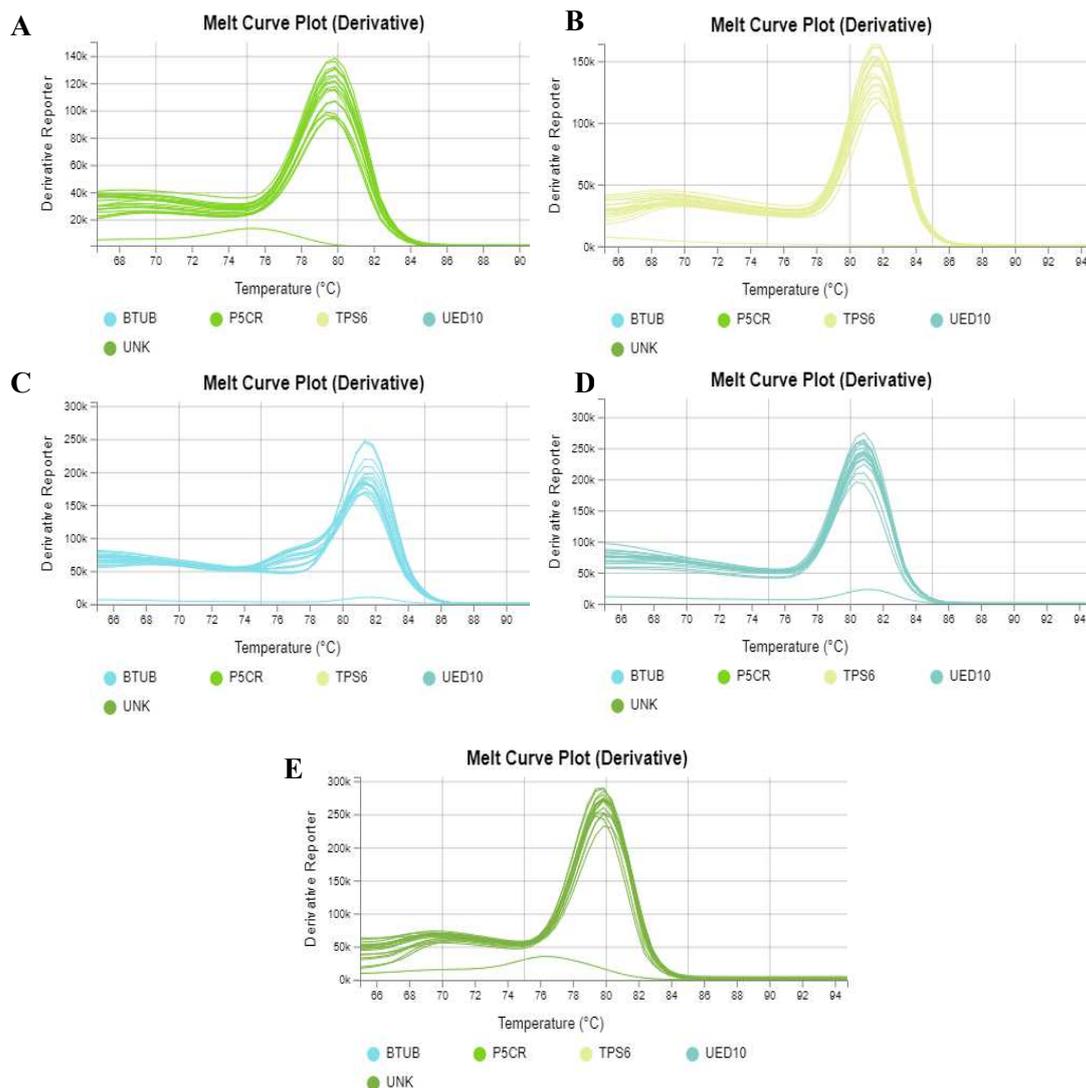


Figura 4. Curva de Melting dos genes *P5CR* (A); *TPS6* (B); *BTUB* (C); *UED10* (D) e *UNK* (E) em amostras de cDNA de tecidos foliares de feijão-caupi, cv. Carijó sob estresses abióticos.

Foi observado que na temperatura mais baixa (20-26-33 °C) não houve expressão dos genes alvos, mesmo em condições de baixa disponibilidade hídrica (25 e 50%), em ambas as fases fenológicas (Tabela 3). Já nas plantas expostas ao aumento de temperatura (24,8-30,8-37,8 °C) e menor disponibilidade hídrica (25%), os genes *P5CR* e *αTPS6* foram induzidos 2,913 e 3,258 vezes, respectivamente, quando comparados ao controle (100%), na fase vegetativa (Fase I). Para a lâmina de 50%, apenas o gene *P5CR* foi diferencialmente expresso, apresentando indução de 1,722 vezes em relação ao controle, na mesma fase fenológica (Tabela 3).

Tabela 3. Expressão relativa na fase vegetativa via RT-qPCR do *P5CR* e *αTPS6* em cDNAs de plantas de feijão-caupi cv. Carijó sob estresse abiótico.

F1C1 25% x F1C1 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	1.200 (NS)	0.628 – 2.344	0.413 – 3.554	0.402
αTPS6	0.847 (NS)	0.348 – 1.883	0.239 – 4.685	0.559
F1C1 50% x F1C1 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	1.088 (NS)	0.557 – 2.343	0.258 – 2.942	0.714
αTPS6	1.029(NS)	0.423 – 2.317	0.220 – 5.057	0.939
F1C1 75% x F1C1 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	0.793 (NS)	0.427 – 1.635	0.249 – 2.401	0.320
αTPS6	0.668 (NS)	0,204 – 2.396	0.092 – 7.249	0.344
F1C2 25% x F1C2 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	2.913 (UR)	1.743 – 4.825	1.324 – 6.737	0.000
αTPS6	3.258 (UR)	1.302 – 6.661	0.685 – 10.501	0.002
F1C2 50% x F1C2 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	1.722(UR)	1.029 – 2.952	0.610 – 4.444	0.012
αTPS6	1.382 (NS)	0.558 – 3.813	0.326 – 8.325	0.328
F1C2 75% x F1C2 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	0.865 (NS)	0.467 – 1.580	0.312 – 2.425	0.462
αTPS6	1.329 (NS)	0.832 – 2.383	0.345 – 3.229	0.185

F1= Fase vegetativa; C1= Câmara 1 (20-26-33 °C); C2= Câmara 2 (24,8-30,8-37,8 °C); NS= não significativo; UR= up-regulated (induzido); SE= erro padrão; CI= intervalo de confiança.

Na fase de enchimento das vagens (Fase 3), os genes alvo não apresentaram diferenças de expressão significativas entre os grupos avaliados em temperaturas mais baixas (20-26-33 °C), mesmo sob deficit hídrico extremo.

Tabela 4. Expressão relativa da fase de enchimento via RT-qPCR do *P5CR* e *αTPS6* em cDNAs de plantas de feijão-caupi cv. Carijó sob estresse abiótico.

F3C1 25% x F3C1 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	1.301 (NS)	0.836 – 1.938	0.726 – 2.369	0.052
αTPS6	1.227 (NS)	0.654 – 2.390	0.406 – 4.173	0.368
F3C1 50% x F3C1 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	0.827 (NS)	0.593 – 1.071	0.485 – 1.178	0.054
αTPS6	1.529 (NS)	0.917 – 3.116	0.617 – 4.477	0.064
F3C1 75% x F3C1 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	0.837 (NS)	0.569 – 1.140	0.489 – 1.654	0.163
αTPS6	1.019 (NS)	0.519 – 2.083	0.372 – 3.244	0.931
F3C2 25% x F3C2 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	1.267 (UR)	0,952 - 1,672	0.751 – 1.953	0.031
αTPS6	1.110 (NS)	0.632 – 2.417	0.234 – 2.910	0.679
F3C2 50% x F3C2 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	0.939 (NS)	0.608 – 1.376	0.496 – 1.624	0.647
αTPS6	0.606 (NS)	0.245 – 1.638	0.203 – 1.963	0.058
F3C2 75% x F3C2 100%				
Gene	Expressão relativa	SE	95% CI	P(H1)
P5CR	0.812 (DR)	0.660 – 0.977	0.518 – 1.115	0.004
αTPS6	0.330 (DR)	0.169 – 0.681	0.075 – 0.825	0.000

F3= Fase de enchimento da vagem; C1= Câmara 1 (20-26-33 °C); C2= Câmara 2 (24,8-30,8-37,8 °C); NS= não significativo; UR= up-regulated (induzido); DR = down-regulated (reprimido); SE= erro padrão; CI= intervalo de confiança.

Por outro lado, com o aumento de 4,8 °C na temperatura, o gene *P5CR* foi induzido 1,267 vezes quando comparado aos seus controles em disponibilidade hídrica de 25% (Tabela 4). Além disso, os genes *P5CR* e *TPS6* foram reprimidos 0,812 e 0,330 vezes,

respectivamente, em condições de estresse hídrico moderado (75%), sugerindo que as atividades fisiológicas e enzimáticas podem ter sido suficientes para proteger as plantas contra os estresses aplicados.

DISCUSSÃO

Quando o feijão-caupi está sob estresse hídrico e/ou aumento de temperatura, os estômatos se fecham rapidamente e a transpiração das folhas é reduzida, ocasionando o aumento da temperatura foliar, como observado por Barros et al. (2021). Como resposta, as plantas acionam mecanismos de defesa, que estão correlacionadas à tolerância ao déficit hídrico e a alta temperatura no feijão-caupi (BARROS et al., 2020; BARROS et al., 2021). Além de respostas fisiológicas e bioquímicas, as plantas também geram respostas a níveis moleculares, através da expressão de genes.

O gene *P5CS* (pirrolina-5-carboxilato redutase), é induzido especialmente em condições de déficit hídrico (SADHUKHAN et al., 2014), e está envolvido na síntese da prolina, um osmoprotetor que permite que as células vegetais desidratadas tolerem a desidratação mantendo o turgor. Essa enzima também protege as plantas contra espécies reativas ao oxigênio (EROs) e mantêm a homeostase, a partir do ajuste da pressão osmótica celular (DAR et al., 2016). O aumento de EROs, também induz a síntese da prolina, podendo modular a expressão do gene *P5CS* para gerar uma resposta fisiológica (BEN REJEB et al., 2015).

Os genes da síntese da prolina são regulados por diversos estresses para permitir o acúmulo de prolina, contribuindo para resposta de aclimatação a um dado estímulo (CASARETTO et al., 2016). Zegaoui et al. (2017), observaram que *P5CS* foi altamente induzido em resposta ao estresse hídrico em plantas de feijão-caupi, assim como observado neste estudo (Tabela 3 e 4). Carvalho et al. (2019) também verificaram o aumento no acúmulo de prolina em plantas de feijão-caupi submetidas ao estresse hídrico, e que esse acúmulo variou entre as cultivares analisadas, o que sugere diferenças genótipo-específicas, uma vez que um maior acúmulo de prolina foi correlacionado com plantas tolerantes ao estresse (TOSCANO et al., 2016).

Além disso, vale ressaltar que a prolina pode atuar não apenas em resposta ao estresse, mas também como fonte de energia, pois sua oxidação produz 30 ATPs (KISHOR e SREENIVASULU, 2014). Essa atuação que pode explicar a expressão do *P5CS* na fase 3 (Tabela 4), uma vez que nessa fase a demanda de água é menor na espécie (MURGA-ORRILLO et al., 2016).

Neste estudo, além da expressão do gene *P5CR*, ocorreu também a expressão do *αTPS6* nas plantas de feijão-caupi cultivadas em ambiente com alta temperatura e diferentes disponibilidades hídricas. Esse gene está ligado a síntese da trealose, um dos principais osmoprotetores compatíveis acumulados durante o estresse (MAHAJAN e TUTEJA, 2005). A trealose é eficiente sob condições de déficit hídrico, pois estabiliza as proteínas e estruturas celulares e/ou mantém a turgescência das células por meio de um equilíbrio da pressão osmótica, sem comprometer processos celulares (ALI e ASHRAF, 2011). Além disso, foi observado que a trealose proporciona tolerância contra o estresse hídrico através do aumento da estabilidade da membrana celular em *Arabidopsis* (STOLKER, 2010). É importante mencionar que a trealose está presente em nódulos radiculares de leguminosas, e que essa concentração se correlaciona com a tolerância da planta à seca (KHATER et al., 2018).

Ibrahim e Abdellatif (2016) afirmaram que o tratamento com trealose (10 mM) induziu tolerância ao estresse hídrico em plantas de trigo por meio do aumento do açúcar solúvel total, prolina e aminoácidos livres. Em feijão-caupi, Khater et al. (2018) relataram que o acúmulo de trealose contribuiu para a melhoria dos parâmetros de crescimento e proporcionou aumento nos pigmentos fotossintéticos em tecidos foliares frescos de plantas de feijão-caupi sob condições de seca.

Barros et al. (2021) observaram que o aumento 4,8 °C na temperatura do ar não reduziu a atividade fotossintética, transpiração e abertura estomática em plantas de feijão-caupi cv. Carijó quando comparado as plantas mantidas em temperatura de 20-26-33 °C. Observou-se também que o incremento da temperatura ocasionou maiores atividades da SOD. O aumento na atividade enzimática da CAT, APX e SOD, também foi observado para essa mesma cultivar, quando exposta a alta temperatura e diferentes disponibilidades hídricas (BARROS et al., 2020).

Os resultados mencionados anteriormente podem estar relacionados com a expressão de *P5CR* e *TPS6* em feijão-caupi sob estresse hídrico e térmico, uma vez que a prolina está relacionada ao ajuste osmótico, mantendo as atividades fisiológicas das plantas, podendo também atuar como molécula sinalizadora e reguladora, capaz de ativar respostas múltiplas que são componentes do processo de aclimação (MAGGIO et al., 2002), além de modular a função mitocondrial e influenciar a proliferação celular ao ativar genes específicos essenciais para planta se recuperar do estresse (SZABADOS e SAVOURE, 2009).

A trealose protege indiretamente a enzima superóxido dismutase (SOD) e/ou elimina diretamente as EROs em plantas (LUO *et al.*, 2008), podendo explicar o aumento dessa enzima nas plantas sob estresses abióticos (BARROS *et al.*, 2020; ALDESUQUY e GHANEM, 2015). Em plantas de trigo, a trealose neutralizou os efeitos negativos do estresse hídrico, atuando como eliminador direto e indireto de EROs (STOLKER, 2010). Fernandez *et al.*, (2010) propuseram que a trealose pode ser uma molécula sinalizadora de estresses abióticos que induz as plantas a acelerar sua taxa de produção de EROs, enviando um sinal para ativar antioxidantes enzimáticos para sua eliminação, a fim de neutralizar o estresse oxidativo associado ao estresse.

A resposta das plantas à estresses abióticos é de grande interesse para a pesquisa, e a procura por genótipos com melhor desempenho em ambientes adversos vem sendo foco de diversos estudos (MONTEIRO *et al.* 2014, BARROS *et al.*, 2021). Quando cultivadas sob estresse, as plantas são afetadas por danos metabólicos e fisiológicos que prejudicam seu crescimento e desenvolvimento. Dessa forma, estudos que visem um melhor entendimento dos mecanismos de adaptação das plantas a ambientes desfavoráveis de cultivo são necessários, especialmente com às mudanças climáticas constantes, que são cada vez mais comuns (FARIDUDDIN *et al.* 2013).

CONCLUSÃO

Genes *P5CR* e *TPS6*, pertencentes a diferentes classes de osmoprotetores, foram induzidos no feijão-caupi cv. Carijó em resposta ao aumento de temperatura e déficit hídrico, o que indica a sua participação nos mecanismos de proteção e/ou adaptação da espécie.

REFERÊNCIAS

ALDESUQUY H.; GHANEM, H. Exogenous salicylic acid and trehalose ameliorate short term drought stress in wheat cultivars by up-regulating membrane characteristics and antioxidant defense System. *Journal Horticulture*, v.2, n.2, p. 139, 2015.

ALI, Q.; ASHRAF, M. Induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) due to exogenous application of trehalose: Growth, photosynthesis, water relations and oxidative defense mechanism. *Journal of Agronomy and Crop Science*, v.197, p. 258-271, 2011.

AMORIM et al. Cowpea and abiotic stresses: identification of reference genes for transcriptional profiling by qPCR. *Plant methods*, v. 14, p. 88, 2018.

BARROS, J. R. A.; GUIMARÃES, M. J. M.; SILVA, R. M.; RÊGO, M. T. C.; MELO, N. F.; CHAVES, A. R. M.; ANGELOTTI, F. Selection of cowpea cultivars for high temperature tolerance: physiological, biochemical and yield aspects. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, v.27, n.1, p.1-10, 2021.

BARROS, J. R. A.; GUIMARÃES, M. J. M.; SIMOES, W. L.; MELO, N. F.; ANGELOTTI, F. Water restriction in different phenological stages and increased temperature affect cowpea production. *Ciência e Agrometeorologia*, v.45, n.1, p. 1-12, 2020.

BATISTA, L. S.; COELHO, E. F.; CARVALHO, F. A. P.; SILVA, M. G.; GOMES FILHO, R. R.; GONÇALVES, A. A. Calibração de sonda artesanal de uso com TDR para avaliação de umidade de solos. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, v. 10, p. 522-532, 2016.

BEN REJEB, K.; LEFEBVRE-DE VOS, D.; LE DISQUET, I.; LEPRINCE, A.S.; BORDENAVE, M.; MALDINEY, R.; JDEY, A.; ABDELLY, C.; SAVOURÉ, A. Hydrogen peroxide produced by NADPH oxidases increases proline accumulation during salt or mannitol stress in *Arabidopsis thaliana*, *New Phytology*, v.208, p. 1138-1148, 2015

BUSTIN, S.A.; BENES, V.; GARSON, J.A.; HELLEMANS, J.; HUGGETT, J.; KUBISTA, M.; MUELLER, R.; NOLAN, T.; PFAFFL, M.W.; SHIPLEY, G.L.; VANDESOMPELE, J.; WITTEWER, C.T. The MIQE Guidelines: *Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments*. *Clinical Chemistry*, v. 55,

n. 4, p. 611-622, 2009.

CARVALHO, M.; CARVALHO, M.; CASTRO, I.; PEREIRA, J. M.; CORREIA, C.; CORTINES, M. E.; MATOS, M.; ROSA, E.; CARNIDE, V.; LINO NETO, T. Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, v.241, n.1, p. 1-13, 2019.

CARVALHO, M.; LINO-NETO, T.; ROSA, E.; CARNIDE, V. Cowpea: a legume crop for a challenging environment. *Journal Science Food Agriculture.*, v.97, p. 4273-4284, 2017.

CASARETTO, J. A.; EL-KEREAMY, A.; ZENG, B.; STIEGELMEYER, S. M.; CHEN, X.; BI, Y. M.; ROTHSTEIN, S. J. Expression of OsMYB55 in maize activates stress-responsive genes and enhances heat and drought tolerance. *BMC Genomics*, v. 17, p. 1–15, 2016.

CAVALCANTI, F. J de A. Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco. 2ª Apr. 3.ed., Recife: IPA, 2008, 212 p.

CHARY, S. N.; HICKS, G. R., CHOI, Y. G.; CARTER, D.; RAIKHEL, N. V. Trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase regulates cell shape and plant architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, v.146, p.97–107, 2008.

DANQUAH, A.; ZELICOURT A de; COLCOMBET, J.; HIRT, H. The role of ABA and MAPK signaling pathways in plant abiotic stress responses. *Biotechnology Advances* v. 32, p. 40–52, 2014.

DAR, M. I.; INFAN, M.; NAUSHIN, F.; REHMAN, F. Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In: IQBAL, N.; RAHAT, N.; KHAN, A. N. (Ed.). *OSMOLYTES AND PLANTS ACCLIMATION TO CHANGING ENVIRONMENT: EMERGING OMICS TECHNOLOGIES*. New Delhi: Springer, 2016, 155-166 p.

FARIDUDDIN, Q.; VARSHNEY, P.; YUSUF, M.; AHMAD, A. Polyamines: potent modulators of plant responses to stress. *Journal Plant Interact*, v.8, p. 1-16, 2013.

FERNANDEZ, O.; BETHENCOURT, L.; QUERO, A.; SANGWAN, R. S.; CLEMENT, C. Trehalose and plant stress responses: friend or foe? *Trends Plant Science*, v.15, p.409-

417, 2010.

FRANÇA, M. B. M.; PANEK, A. D.; ELEUTHERIO, E. C. A. Oxidative stress and its effects during dehydration. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.146, p.621-631, 2007.

GOUFO, P.; MOUTINHO-PEREIRA, J. M.; JORGE, T. F.; CORREIA, C. M.; OLIVEIRA, M. R.; ROSA, E. S.; ANTÓNIO, C.; TRINDADE. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Metabolomics: Osmoprotection as a Physiological Strategy for Drought Stress Resistance and Improved Yield. *Frontiers in Plant Science*, v.8, p.1-22, 2017.

HASANUZZAMAN, M.; HOSSAIN, M.A.; FUJITA, M. Physiological and biochemical mechanisms of nitric oxide induced abiotic stress tolerance in plants. *American Journal Plant Physiology*, v. 5, p. 295–324, 2010.

IBRAHIM, H. A.; ABDELLATIF, M.R. Y. Effect of maltose and trehalose on growth, yield and some biochemical components of wheat plant under water stress. *Annals of Agricultural Science*, v.61, n.2, p. 267–274, 2016.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE: Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Edenhofer, O., R. Pichs Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, 2014.

KISHOR P. B. K.; SREENIVASULU N. (2014). Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? *Plant Cell Environ.* v.37, p. 300–311, 2014.

KHATER, M. A.; MONA, G. D.; SADAK, M. S.; SHALABY, M. A. F.; ELAWADI, M. E.; EL-DIN, K. G. Enhancement the performance of cowpea plants grown under drought conditions via trehalose application. *Middle East Journal of Agriculture Research*, v.7, 782-800, 2018.

LUO, Y.; LI, W.-M.; WANG, W.; Trehalose: protector of antioxidant enzymes or reactive oxygen species scavenger under heat stress? *Environmental and Experimental Botany*, v.63, p. 378-384, 2008.

MAGGIO, A.; MIYAZAKI, S.; VERONESE, P.; FUJITA, T.; IBEAS, J. I.; DAMSZ, B.; NARASIMHAN, M. L.; HASEGAWA, P. M.; JOLY, R. J.; BRESSAN, R. A. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *The Plant Journal*, Heslington, v. 36, n. 6, p. 699-712, 2002.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 444, p. 139-58, 2005.

MELO, A. S.; SILVA, A. R. F.; DUTRA, A. F.; DUTRA, W. F.; BRITO, M. E. B.; SÁ, F. V. S. Photosynthetic efficiency and production of cowpea cultivars under deficit irrigation. *Revista Ambiente & Água*, v.13, n.5, p. 1-8, 2018.

MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. Crescimento e teor de prolina em mudas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.49, p. 18-25, 2014.

MURGA-ORRILLO, H.; ARAÚJO, W. F.; ROCHA, P. R. R.; SAKAZAKI, R. T.; DIONISIO, L. F. S.; POLO-VARGAS, A. R. Evapotranspiração e coeficiente de cultivo do feijão-caupi cultivado em solo do cerrado submetido à cobertura morta. *Irriga*, v. 21, n. 1, p. 172-187, 2016.

PFAFFL, M.W.; HORGAN, G.W.; DEMPFFLE, L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, v. 30, n. 9, p. e36, 2002.

SADHUKHAN, A.; KOBAYASHI, Y.; KOBAYASHI, Y.; TOKIZAWA, M.; YAMAMOTO, Y.Y.; IUCHI, S.; KOYAMA, H.; PANDA, S.K.; SAHOO, L. VuDREB2A, a novel DREB2-type transcription factor in the drought-tolerant legume cowpea, mediates DRE-dependent expression of stress-responsive genes and confers enhanced drought resistance in transgenic *Arabidopsis* Planta, v. 240, p. 645-664, 2014.

STOLKER, R. Combating abiotic stress using trehalose. M.Sc. Thesis, Wageningen University and Research Centre, 2010.

TODAKA, D.; NAKASHIMA, K.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Toward understanding transcriptional regulatory networks in abiotic stress responses and tolerance in Rice. *The Rice Journal*, v.5, n.6, p.15, 2012.

TOSCANO, S.; FARIERI, E.; FERRANTE, A.; ROMANO, D. Physiological and biochemical responses in two ornamental shrubs to drought stress. *Frontiers in Plant Science*, v.7, p.1–12, 2016.

UNTERGASSER, A. et al. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Research*, v. 35, p. 71-74, 2007.

YE, J.; COULOURIS, G.; ZARETSKAYA, I.; CUTCUTACHE, I.; ROZEN, S.; MADDEN, T.L. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, v. 13, p. 134, 2012.

ZEGAOU, Z.; PLANCHAIS, S.; CABASSA, C.; DJEBBAR, R.; BELBACHIR, O. A.; CAROL, P. Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. *Journal of Plant Physiology*, v. 218, p. 26-34, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da temperatura do ar e o déficit hídrico afetou negativamente as plantas de feijão-caupi, causando danos a produção, uma vez que, ocasionou alterações nos parâmetros fisiológicos, bioquímicos e moleculares das plantas. O impacto desses estresses é uma preocupação crescente devido os cenários de mudanças climáticas o que gera preocupação quanto a segurança alimentar. O feijão-caupi vem tomando destaque em comparação a outras culturas, sendo considerada uma cultura chave para segurança alimentar. Desta forma, a busca por genótipos tolerantes se torna crucial para enfrentar os desafios futuros. A seleção de cultivares superiores de feijão-caupi, combinando alto potencial produtivo, boa adaptabilidade e estabilidade, em diferentes condições ambientais, terá um enorme impacto positivo para as populações de regiões semiáridas, onde parte da população não tem recursos financeiros para aquisição de alimentos.

O programa de melhoramento genético de feijão-caupi da Embrapa Semiárido tem lançado cultivares adaptadas as condições ambientais do semiárido, e os resultados encontrados nesta pesquisa darão suporte para a recomendação de mais uma nova cultivar, associado a alta produção em condições de alta temperatura, a cv. Itaim.

Diferentes mecanismos de defesa têm sido usados como respostas das plantas aos estresses abióticos e os resultados aqui encontrados, irão contribuir a melhorar e redefinir estratégias para o manejo da cultura do feijão-caupi, de modo a não comprometer a sustentabilidade do sistema produtivo. A pesquisa aqui realizada mostra medidas de adaptação como a indicação de genótipos mais adaptadas aos cenários de mudanças climáticas, épocas de plantio mais adequadas a cultura, fase fenológica mais tolerante ao déficit hídrico e o manejo de irrigação com a indicação do consumo mínimo e eficiente de água para a produção de feijão-caupi, visando contribuir principalmente com os pequenos produtores.

Compreender os mecanismos bioquímicos, fisiológicos e a base genética da tolerância do feijão-caupi ao aumento de temperatura e déficit hídrico é a base para o desenvolvimento de genótipos tolerantes a esses estresses, contribuindo assim com a segurança alimentar. Os resultados aqui encontrados poderão ser utilizados em trabalhos futuros, em campo, buscando sempre melhorar a qualidade e o rendimento dos grãos de feijão-caupi.

ANEXOS

(Artigos Publicados/Aceitos para publicação)

Anexo 1. Optimal temperature for germination and seedling development in cowpea seeds.

Anexo 2. Initial growth of cowpea cultivars with an increase of 4.8 ° C in air temperature.

Anexo 3. Maternal environment on seed germination and viability in cowpea.

Anexo 4. Selection of cowpea cultivars for high temperature tolerance: physiological, biochemical and yield aspects.

Anexo 5. Water restriction in different phenological stages and increased temperature affects cowpea production.

Anexo 6 (comprovante). Production and biochemical responses of cowpea under thermal and water stress. *Artigo aceito pela Revista Brasileira de Ciências Agrárias
Temperature: determining element for cowpea growing season. * Artigo aceito pela Revista Acta Scientiarum. Agronomy

Optimal temperature for germination and seedling development in cowpea seeds

Temperatura óptima para la germinación y el desarrollo de plántulas de semillas de frijol caupí



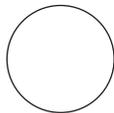
JULIANE RAFAELE ALVES BARROS¹
FRANCISLENE ANGELOTTI^{2, 4}
JÉSSICA DE OLIVEIRA SANTOS³
RODRIGO MOURA E SILVA³
BÁRBARA FRANÇA DANTAS²
NATONIEL FRANKLIN DE MELO²

Diversity in cowpea cultivars

Photo: J.R.A. Barros

ABSTRACT

Temperature is one of the climatic elements that affect germination and seedling development. Thus, the objective of this study was to evaluate germination and seedling development in cowpea cultivars under increasing temperatures. Seeds from the cultivars Acauã, Carijó, Guariba, Gurguéia, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Pujante, Rouxinol, Tapahium, and Tumucumaque were kept in a germination chamber at temperatures of 20, 25, 30, 35 and 40°C, with a photoperiod of 12 h. Cowpea seeds have optimal germination performance and seedling development at temperatures in the range of 30.49 - 35.48°C. The cultivars presented a germination percentage above 91% under 40°C; however, the seedlings were abnormal. The temperature 20°C provided germination above 96% but required a longer period to germinate. The temperature range between 30 - 35°C favored the germination speed index, an average time, and seed germination speed, with optimum temperatures varying between the cultivars. The highest normal seedling rate was observed at temperatures between 25 and 35°C.



Additional keywords: germination; seedling development; thermal stress; *Vigna unguiculata*.

¹ State University of Feira de Santana (Universidade Estadual de Feira de Santana), Feira de Santana (Brazil). ORCID Barros, J.R.A.: 0000-0002-0408-0904

² Embrapa Semiárido, Petrolina (Brazil). ORCID Angelotti, F.: 0000-0001-7869-7264; ORCID Dantas, B.F.: 0000-0002-2375-9373; ORCID Melo, N.E.: 0000-0001-6888-4090

³ University of Pernambuco (Universidade de Pernambuco), Campus Petrolina, Petrolina (Brazil). ORCID Santos, J.O.: 0000-0002-1894-9359; ORCID Silva, R.M.: 0000-0002-2088-1955

⁴ Corresponding author. francislene.angelotti@embrapa.br



RESUMEN

La temperatura es uno de los elementos climáticos que afectan la mayoría del proceso de germinación y el desarrollo de las plántulas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la germinación y el desarrollo de plántulas de los cultivares de frijol caupí a temperatura creciente. Para este propósito, las semillas de los cultivares Acauã, Carijó, Guariba, Gurguéia, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Pujante, Nightingale, Tapahium y Tumucumaque se mantuvieron en la cámara de germinación a temperaturas de 20, 25, 30, 35 y 40°C, con fotoperiodo de 12 horas. Las semillas de frijol caupí tienen un rendimiento óptimo de germinación y desarrollo de plántulas a temperaturas en el rango de 30.49 - 35.48°C. Los cultivares presentaron un porcentaje de germinación superior al 91% por debajo de 40°C, sin embargo, no se observó formación de plántulas normales. La temperatura de 20°C proporcionó una germinación superior al 96%, pero con un período más largo para germinar. El rango de temperatura entre 30 y 35°C favoreció el índice de velocidad de germinación, el tiempo promedio y la velocidad de germinación de la semilla, con temperaturas óptimas que varían entre los cultivares. La tasa más alta de plántulas normales se observó a temperaturas entre 25 y 35°C.

Palabras clave adicionales: germinación; desarrollo de plántulas; estrés térmico; *Vigna unguiculata*.

Received for publication: 22-11-2019 Accepted for publication: 11-06-2020

INTRODUCTION

The cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) is a legume of great importance, not only in Brazil but also in other countries, especially on the African continent. In recent years, this crop has advanced in the domestic and international context, with increased production and market expansion (Vale *et al.*, 2017). According to data from the Brazilian National Supply Company - CONAB (2019), in the 2018/2019 crop year, cowpea occupied an area of 1,327.5 thousand hectares in Brazil, with an estimated production of 651.8 thousand tons.

However, its yield is still considered low in Brazil. This low yield is associated with inadequate crop management and climatic conditions (Saboya *et al.*, 2013). Temperature, for example, is one of the more influential climatic elements in crops because it can directly affect plant growth, yield, and seed germination and can also reduce seedling growth (Martinez *et al.*, 2015).

Studies conducted by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC, 2013) showed that the average atmosphere temperature increased around 0.85°C from 1880 to 2012. Additionally, climate change scenarios also point to an increase in average temperature for the planet from 2.6 (most optimistic scenario) to 4.8°C (most pessimistic scenario) by 2100. Experts say that this increase will not be uniform,

with inter-annual and regional variations, and will lead to extreme climatic events, such as droughts and heavy rainfall (IPCC, 2013). According to Vale *et al.* (2017), cowpea development occurs in a wide temperature range, between 18 and 37°C. However, the Brazilian Legislation indicates a seed analysis temperature of 25°C as optimal for seed germination (Brazil, 2009). Thus, the predicted increase in temperature may cause problems for seed germination.

Djanaguiraman *et al.* (2018) reported that plants will not only be exposed to higher average temperatures but also to more frequent short episodes of high temperatures. According to the authors, arid and semi-arid regions are more vulnerable to climate change and extreme temperature events. Thus, vigorous seed germination and uniform seedling establishment are highly desirable, especially in these regions (Parmoon *et al.*, 2015).

The early phase of plant life is one of the more important since plant establishment will depend on the ability of seeds and seedlings to overcome adverse environmental conditions (Melo Junior *et al.*, 2018). Each species has a minimum, maximum, and optimal temperature for germination, and these cardinal temperatures indicate the limit in which germination of a particular species can occur (Mesgaran *et al.*, 2017; Felix *et al.*, 2018). The optimal temperature for

maximum seed germination tends to differ among crops, and seed tolerance to high temperatures must be identified (Motsa *et al.*, 2015). The selection of plants that are tolerant to temperature increases is of great importance, especially during the germination process, in order to facilitate the establishment of seedlings and uniformity in crops. Thus, the objective of this study was to evaluate the germination and seedling development of cowpea cultivars under increasing temperatures.

MATERIALS AND METHODS

This experiment was carried from April to May of 2018. Germination tests were performed in BOD (Biochemical Oxygen Demand) chambers, manufactured by Eletrolab Equipamentos para Laboratório, located in Brazil, equipped with white-fluorescent lamps, Philips 20 W. This experiment was carried out in a completely randomized design, with four replicates of 50 seeds, in a 12×5 factorial scheme, with twelve cowpea cultivars (Acauã, Carijó, Guariba, Gurguéia, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Pujante, Rouxinol, Tapahium, and Tumucumaque), which were stored in air-conditioning, which reduced changes in seed quality, such as dormancy, moisture content and germination percentage (Brazil, 2009), and five temperatures (20, 25, 30, 35, and 40°C), with a light regimen of 12/12 h (dark/light).

Initially, superficial disinfection of the seeds was done using a fungicide with the Alkylenobis (dithiocarbamate) chemical group at a ratio of 4 g (fungicide) to 1000 g of seeds. The seeds were arranged on a paper roll moistened with distilled water, at a ratio 2.5 times the dry paper weight. Germinated seeds were counted daily for a period of 12 d, with the root protrusion equal to or greater than 2 mm as a parameter. After this period, normal and abnormal seedlings were counted, according to the rules for seed analysis (Brazil, 2009).

Germination percentage and kinetics indexes were estimated. The following parameters were evaluated: germination percentage (G), germination speed (VG), germination speed index (GSI) and average germination time (AGT) using equations 1 to 4, respectively. For review and instructions on how to apply and calculate these indexes, see Santana and Ranal (2000); Santana and Ranal (2004) and Ranal *et al.* (2009). The germination percentage (G) was obtained with the daily counting of germinated seeds (Eq. 1). The

average germination time (AGT) referred to the sum of the number of germinated seeds multiplied by the incubation time in days and divided by the sum of germinated seeds per day (Eq. 2). The germination speed (GS) was calculated with the inverse of the average germination time with daily counting (Eq. 3). The germination speed index (GSI) was calculated from the sum of the number of germinated seeds per day divided by the respective number of days elapsed from sowing, corresponding to the number of germinated seeds over time, expressed in seed / day (Eq. 4).

$$G = \frac{\sum_{i=1}^k ni}{A} * 100 \quad (1)$$

$$TMG = \frac{\sum_{i=1}^k ni.ti}{\sum_{i=1}^k ni} \quad (2)$$

$$VMG = \frac{\sum_{i=1}^k ni}{\sum_{i=1}^k ni.ti} \quad (3)$$

$$IVG = \sum_{i=1}^k \frac{Ni}{ti} \quad (4)$$

where K was the last day of observation, A was total number of seeds placed to germinate, ni was non-accumulated number of germinated seeds, ti was number of days, and Ni was accumulated number of germinated seeds.

Normal seedlings had the potential to continue development and generate normal plants, with developed shoot and root system, while abnormal seedlings had essential structures that were damaged or absent (shoot and root system), according to the Brazilian Legislation for seed analysis (Brazil, 2009).

The data were submitted to variance analysis (ANOVA), and the means were compared with Scott Knott's test at 5% of significance using Sisvar v. 5.6 (Ferreira, 2011). The averages obtained for germination and germination speed index were compared with regression analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

For all evaluated parameters: germination percentage (G%) germination speed index (GSI), average germination time (AGT), average germination speed (AGS), normal (NS) and abnormal (AS) seedlings, the variance analysis presented significant F values for cultivar and temperature and for the interaction cultivar × temperature (Tab. 1).

Table 1. Summary of variance analysis with mean square for germination percentage (G), germination speed index (GSI), average germination time (AGT), average germination speed (AGS), and percentage values of normal (NS) and abnormal (AS) seedlings of different cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars, submitted to temperature increases.

Variation source	Mean square						
	DF	G%	GSI	AGT	AGS	NS	AS
Temperature (T)	4	76.93**	5013.06**	9.26**	1.71**	39581.67**	36690.60**
Cultivar (C)	11	12.34**	122.65**	0.32**	0.05**	2602.84**	2537.27**
T × C	44	5.55**	50.314**	0.12**	0.02**	3199.53**	3210.55**
Residue	180	2.53	5.64	0.014	0.0023	90.83	97.18
CV%		1.61	7.2	6.84	7.7	19.3	19.96

DF = degree of freedom; CV = coefficient of variation; ns = not significant, ** significant at 1% of probability according to Scott-Knott's test.

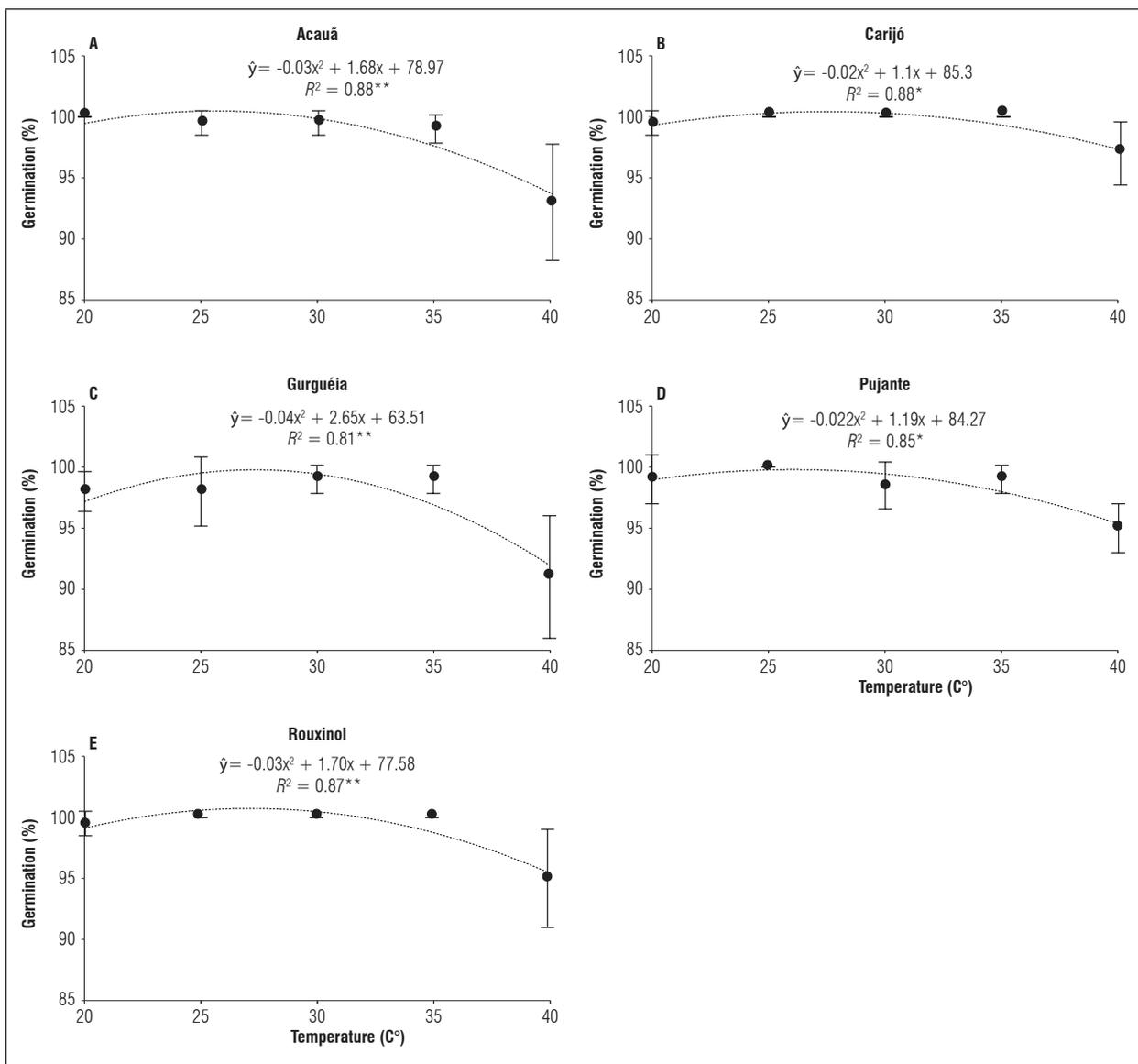


Figure 1. Percentage of seed germination of different cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cultivars submitted to temperature increases. Significant regression coefficients with $P < 0.01$ () and $P < 0.05$ (*).**

The increase in temperature did not affect the germination of cowpea seeds, and the twelve cultivars presented germination percentages above 91% for all temperatures. A significant difference was observed only between the cultivars Acauã, Carijó, Gurguéia, Pujante and Rouxinol at 40°C, where the lowest germination rate was observed in the seeds of the cultivars Acauã and Gurguéia, with a germination of 93 and 91%, respectively (Fig. 1).

In the present study, according to the average data in the regression analysis, the higher germination rates occurred in a temperature ranging from 25.55 to 27.50°C, where the germination percentage was between 99.75 to 100% for the cultivars Acauã, Carijó, Gurguéia, Pujante and Rouxinol (Fig. 1). Although the temperature 20°C provided germination percentages above 96%, the seeds took longer to germinate, which meant a lower GSI, lower AGS and higher AGT. The seed germination percentages of Guariba, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Tapahium, and Tumucumaque cultivars were not influenced by the temperature increases.

Temperatures below the optimum result in a delay of seed germination because of reduced respiration-related enzyme activity and cellular metabolism (Taiz *et al.*, 2017). Each species has a minimum temperature and a limit temperature, below and above which germination does not occur (Motsa *et al.*, 2015). In addition, increasing temperature may reduce the percentage of seed germination by causing thermal stress, leading to inhibition of germination, and may also cause thermal dormancy, affecting seed viability (Bewley *et al.*, 2013). This climatic element regulates enzymatic activities by promoting or inhibiting the synthesis of hormones, such as abscisic acid and ethylene, which affect seed germination (Gao-Takai *et al.*, 2019). This occurs because elevated temperatures increase levels of abscisic acid and inhibit genes responsible for the synthesis of gibberellin, an essential hormone for activating the germinative process (Miransari *et al.*, 2014). In addition, a high temperature can inhibit the synthesis of ethylene, another hormone responsible for seed germination.

Table 2 shows that the average data of the regression analysis indicated that the temperature range between 30-35°C favored the germination speed index, with optimum temperatures varying according to the cultivar. The highest average GSI was observed in seeds of cultivar Carijó, with a value of 48.61 at the optimum temperature of 30.40°C (Tab. 2).

Table 2. Means of regression analysis of the optimum temperature for the germination speed index of different cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cultivars (GSI).

Cultivars	Optimum temperature (°C)	GSI
Acauã	31.37	36.37
Carijó	30.49	48.61
Guariba	30.73	46.01
Gurguéia	30.54	46.07
Itaim	35.48	36.09
Juruá	30.56	46.52
Pajeú	31.64	39.66
Potengi	31.61	39.53
Pujante	31.75	36.40
Rouxinol	30.96	40.93
Tapahium	31.80	38.13
Tumucumaque	30.51	47.82

The cultivar Itaim had a temperature of 35.48 as the best for the GSI. This same temperature range favored AGT since the higher the germination speed index, the shorter the time for seed germination (Tab. 3).

During the germination process, temperature interferes with the water soak time and chemical reactions, thereby changing the germination speed. For common beans, the optimal temperature for GSI was 25-30°C (Zabot *et al.*, 2008). Other genera of Fabaceae plants, such as fava beans and peas, present temperatures of 28.5 and 28.1°C as optimal for seed germination (Tribouillois *et al.*, 2016). Common beans and these other legumes may be more sensitive to a temperature increase than cowpea because the present study had optimal seed performance at temperatures from 30.49 to 35.48°C (Tab. 2).

The Brazilian Northeast had a total annual cowpea production of 417.9 thousand tons in the 2018/2019 crop year (CONAB, 2019), higher than in other producing regions. In the Brazilian semiarid region, it is the main subsistence crop, planted practically throughout the year, either in a monoculture or intercrop system and in dry or irrigated areas (Vale *et al.*, 2017). This region has average temperatures of 26-28°C. Thus, a scenario of a 4.8°C temperature increase, as predicted by the IPCC, will not affect the germination and establishment of cowpea seedlings. In addition, the results of this research update the optimal temperature used by the Seed Analysis Rules (SAR), 25°C (Brazil, 2009).

At sub and supra optimum temperatures of 20 and 40°C, the seeds took longer to germinate, with a reduction in AGS (Tab. 3). This reduction indicated a physiological decline of the seed, which can occur either by reducing or stalling seed metabolism at suboptimal temperatures, or protein denaturation, causing a loss of enzymatic activity at elevated temperatures (Orzari *et al.*, 2013).

The germination speed is a good index to evaluate the occupation of a species in a given environment, because rapid germination is characteristic of species whose strategy is to settle in the environment as quickly as possible, taking advantage of favorable environmental conditions (Melo Junior *et al.*, 2018). Thus, through the germination speed index, the optimal temperature for cowpea germination is between 30.49-35.48°C, varying according to the cultivar (Tab. 3). Orzari *et al.* (2013) confirmed that the optimal temperature is that in which the highest germination percentage was obtained within the shortest time. Temperature interferes with water soaking time and chemical reactions, changing the speed of germination (Gordin *et al.*, 2012). This speed may be related to the physiological quality of the seeds, because the greater the vigor, the greater the speed and the germination rate (Pádua *et al.*, 2010).

Even under thermal stress of 40°C, all cultivars reached germination percentage from 91 to 100%. However, this was not a good result, since under this condition there was no formation of normal seedlings in the evaluated cultivars (Fig. 2). Thus, environments with temperatures that are not optimal for each species can delay seedling emergence and reduce the stand due to the formation of small seedlings, confirming that environmental conditions are decisive in the process of crop establishment (Santos and Zonetti, 2009).

Regarding the percentage of normal and abnormal seedlings, the cultivars also responded differently to different temperatures. Temperatures between 25 and 35°C favored the formation of normal seedlings. This feature reinforces the adaptive capacity of the early development of cowpea under conditions of temperature increase. Other crops such as watermelon, for example, have the optimal temperature for seedling development at an average temperature of 25°C (Silva *et al.*, 2018). The well-developed seedlings express the vigor of the seeds that gave rise to them, indicating that they can emerge faster and more uniformly, and establish themselves in adverse field conditions, thus allowing the expected stand to be obtained (Silva *et al.*, 2017).

Table 3. Average germination time and average germination speed of different cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cultivars submitted to temperature increases.

Temperature	Germination time										Average germination speed													
	Acauá	Carijó	Guariba	Gurguéia	Itaim	Juruá	Pajeú	Potengi	Pujante	Rouxinol	Tapahium	Tumucumaque	Acauá	Carijó	Guariba	Gurguéia	Itaim	Juruá	Pajeú	Potengi	Pujante	Rouxinol	Tapahium	Tumucumaque
20°C	2.23 aC	2.12 bC	1.13 bD	2.08 bC	2.21 aC	2.11 bC	2.06 bC	2.21 aD	2.32 aD	2.27 aC	2.27 aD	2.17 bC	0.45 aB	0.47 aB	0.47 aB	0.48 aB	0.45 aB	0.47 aB	0.48 aB	0.45 aB	0.43 aB	0.44 aB	0.44 aB	0.46 aB
25°C	2.05 bC	1.57 eB	1.72 dC	1.83 cB	1.92 cB	1.48 eB	2.12 bC	1.97 cC	2.29 aD	1.86 cB	2.15 bD	1.49 eB	0.49 dB	0.64 aC	0.58 bC	0.55 cB	0.52 cC	0.68 aC	0.47 dB	0.51 cB	0.44 dB	0.54 cC	0.47 dB	0.68 aC
30°C	1.78 bB	1.10 cA	1.22 cB	1.13 cA	2.23 aC	1.33 cB	1.57 bB	1.60 bB	1.67 bB	1.70 bB	1.66 bB	1.20 cA	0.56 dC	0.91 aD	0.82 bD	0.89 aC	0.46 eB	0.75 cD	0.64 dC	0.62 dC	0.60 dC	0.59 dC	0.60 dC	0.84 bD
35°C	1.18 aA	1.03 aA	1.03 aA	1.11 aA	1.11 aA	1.02 aA	1.02 aA	1.06 aA	1.22 aA	1.06 aA	1.10 aA	1.09 aA	0.85 cD	0.97 aD	0.97 aE	0.90 bC	0.90 bE	0.98 aE	0.97 aD	0.94 aD	0.82 cD	0.94 aD	0.90 bD	0.91 aE
40°C	2.14 aC	2.08 aC	2.04 aD	2.01 aC	1.75 bB	2.00 aC	2.00 aC	2.00 aC	2.09 aC	2.17 aC	2.00 aC	2.00 aC	0.45 bB	0.48 bB	0.49 bB	0.50 bB	0.62 aD	0.50 bB	0.50 bB	0.50 bB	0.48 bB	0.46 bB	0.50 bB	0.50 bB

Means followed by the same lowercase letter in a row and uppercase letter in a column do not differ from each other according to the Scott-Knott test at 5% probability.

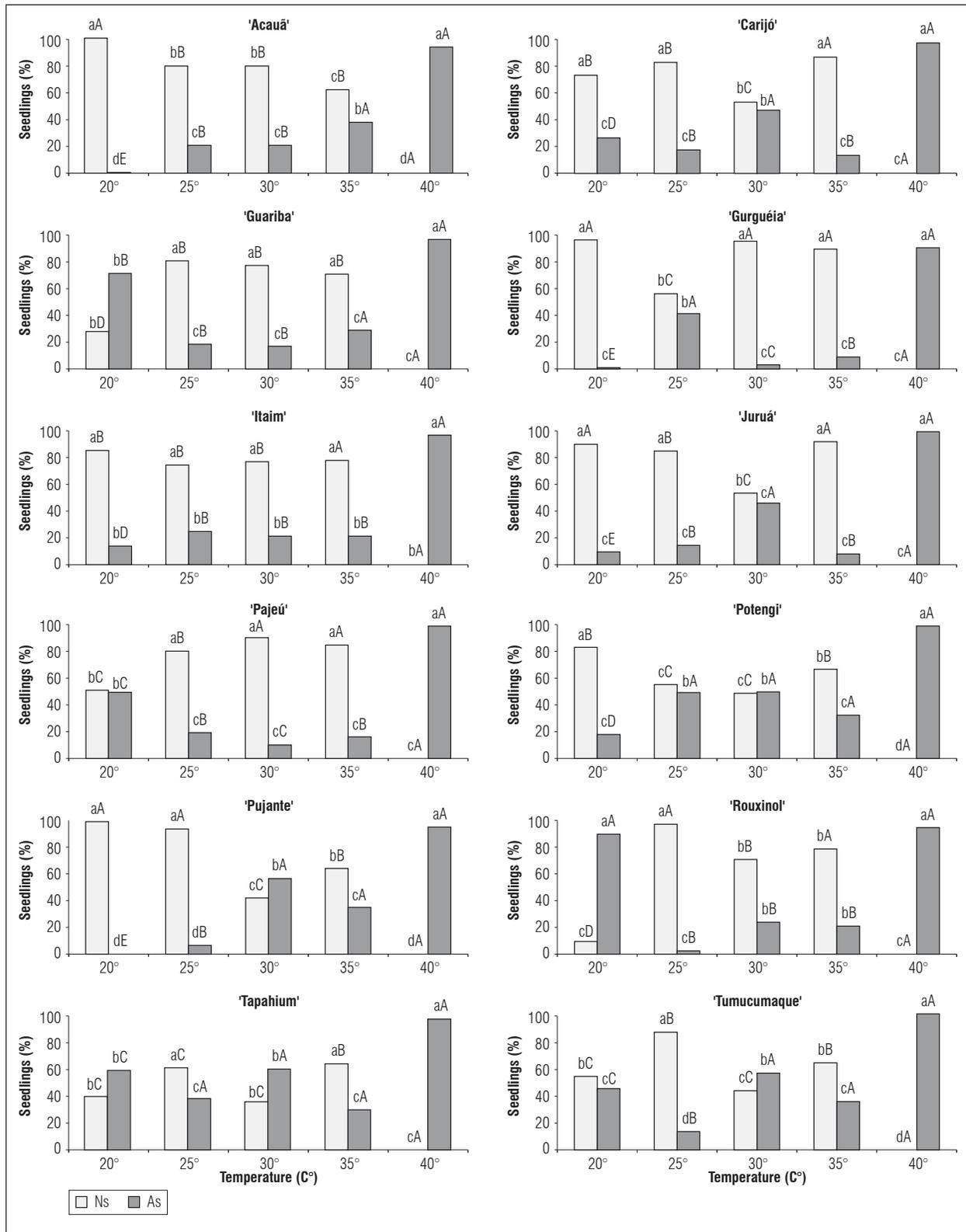


Figure 2. Percentage of normal seedlings (NS) and abnormal seedlings (AS) of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cultivars submitted to increased temperatures. * Lower case letters for temperatures and upper case for cultivars.

Seed germination is a critical phase for seedling establishment in the culture medium, as they do not have the ability to withstand adverse environmental conditions, such as high temperatures. In the case of cowpea, the cultivars Acauã, Carijó, Guariba, Gurguéia, Itaim, Juruá, Pajeú, Potengi, Pujante, Rouxinol, Tapahium and Tumucumaque presented a satisfactory performance for the establishment of the plants, being necessary studies regarding the effect of temperature increase in the other phenological stages of the plant.

CONCLUSION

The increase in air temperature between 30-35°C have a positive impact on germination process of cowpea, showing higher percentage of germination within the shortest time and favored the formation of normal seedlings.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Foundation for the Support of Research of the State of Bahia (FAPESB) for funding the doctoral scholarship (Nº BOL0419/2017).

Conflict of interests: The manuscript was prepared and reviewed with the participation of the authors, who declare that there exists no conflict of interest that puts at risk the validity of the presented results.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Bewley, J.D., J.D. Bradford, K. Hilhorst, and H. Nonogaki. 2013. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*. Springer, New York. Doi: 10.1007/978-1-4614-4693-4
- Brazil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. *Regras para análise de sementes*.: MAPA/ACS, Brasília, DF.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. 2019. *Acompanhamento da safra brasileira de grãos*. v. 6 – Safra 2018/2019, n. 9 - Nono levantamento, Brasília.
- Djanaguiraman, M., R. Perumal, I.A. Ciampitti, S.K. Gupta, and P.V.V. Prasad. 2018. Quantifying pearl millet response to high temperature stress: Thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Pl. Cel. Environ.* 41(1), 993-1007. Doi: 10.1111/pce.12931
- Felix, C.F., F.S. Araújo, M.D. Silva, C.S. Ferrari, and M.V. Pacheco. 2018. Estresse hídrico e térmico na germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Rev. Bras. Cienc. Agrar.* 13(2), 1-7. Doi: 10.5039/agraria.v13i2a5515
- Ferreira, D.F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc. Agrotec.* 35(6), 1039-1042. Doi: 10.1590/S1413-70542011000600001
- Gao-Takai, M., A. Katayama-Ikegami, K. Matsuda, H. Shinodo, S. Uemae, and M. Oyaizu. 2019. A low temperature promotes anthocyanin biosynthesis but does not accelerate endogenous abscisic acid accumulation in red-skinned grapes. *Plant Sci.* 283(1), 165-176. Doi: 10.1016/j.plantsci.2019.01.015
- Gordin, C.R.B., R.F. Marques, T.E. Masetto and S.P.Q. Scalon. 2012. Germinação, biometria de sementes e morfologia de plântulas de *Guizotia abyssinica* Cass. *Rev. Bras. Semen.* 34(4), 619-627. Doi: 10.1590/S0101-31222012000400013
- IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change. 2013: *Mudanças climáticas 2013: The Physical Science Basis*. Contribuição do Grupo de Trabalho I para o Quinto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, UK; New York, NY.
- Martinez, C.A., E.A.D. Oliveira, T.R.P. Mello, and A.L.A. Marin. 2015. Respostas das plantas ao incremento atmosférico de dióxido de carbono e da temperatura. *Rev. Bras. Geo. Fis.* 8(6), 635-650. Doi: 10.26848/rbgf.v8.0.p635-650
- Melo Junior, J.L.A., L.D.F. de A. Melo, J.C. Araujo Neto, and V.M. Ferreira. 2018. Germination and morphology of seeds and seedlings of *Colubrina glandulosa* Perkins after overcoming dormancy. *Aust. J. Crop Sci.* 12(1), 639-647. Doi: 10.21475/ajcs.18.12.04.pne980
- Mesgaran, M.B., A. Onofri, H.R. Mashhadi, and R.D. Cousens. 2017. Water availability shifts the optimal temperatures for seed germination A modelling approach. *Ecol. Model.* 351(1), 87-95. Doi: 10.1016/j.ecolmodel.2017.02.020
- Miransari, M. and D.L. Smith. 2014. Plant hormones and seed germination. *Environ. Exp. Bot.* 99(1), 110-121. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.11.005
- Motsa, M.M., M.M. Slabbert, W. Averbek, and L. Morey. 2015. Effect of light and temperature on seed germination of selected African leafy vegetables. *Sout. Afr. J. Bot.* 99(1), 29-35. Doi: 10.1016/j.sajb.2015.03.185
- Orzari, I., P.A. Monquero, F.C. Reis, R.S. Sabbag, and A.C.S. Hirata. 2013. Germinação de espécies da família Convolvulaceae sob diferentes condições de luz,

- temperatura e profundidade de sementeira. Pl. Dan. 31(1), 53-61. Doi: 10.1590/S0100-83582013000100006
- Pádua, G.P. de., R.K. Zito, N.E. Arantes, and J.B. Ração Neto. 2010. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. Rev. Bras. Semen. 32(3), 09-16. Doi: 10.1590/S0101-31222010000300001
- Parmoon, G., S.A. Moosavi, H. Akbari, and A. Ebadi. 2015. Quantifying cardinal temperatures and thermal time required for germination of *Silybum marianum* seed. Crop J. 3(1), 145-151. Doi: 10.1016/j.cj.2014.11.003
- Ranal, M.A., D.G. Santana, W.R. Ferreira, and C. Mendes-Rodrigues. 2009. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. Braz. J. Bot. 32, 849-855. Doi: 10.1590/S0100-84042009000400022
- Saboya, R.C.C., P.R.S. Borges, L.M.F. Saboya, F.P. dos R. Monteiro, A.E.A. Souza, and A.F. Santo. 2013. Response of cowpea to inoculation with nitrogen-fixing strains in Gurupi-Tocantins State. J. Biot. Biod. 4(1), 40-48. Doi: 10.20873/jbb.uft.cemaf.v4n1.saboya
- Santana, D.G. and M.A. Ranal. 2000. Análise estatística da germinação. Rev. Bras. Fisi. Veg. 12, 175-204.
- Santana, D.G. and M.A. Ranal. 2004. Análise da germinação: um enfoque estatístico. Editora Universidade de Brasília, Brasília, Brazil.
- Santos, G.A. and P.C. Zonetti. 2009. Influência da temperatura na germinação e desenvolvimento do girassol (*Helianthus annuus* L.). Rev. Inic. Cien. Ces. 11(1), 23-27.
- Silva, R.C.B., M. do N. Araujo, F.L.S. Ornellas, and B.F. Dantas. 2018. Thermal stress and physiological changes in watermelon seeds. Rev. Pes. Agr. Trop. 48(1), 66-74. Doi: 10.1590/1983-40632018v4850404
- Silva, R.B., V.P. Matos, S.G.G. Farias, L.H.M. Sena, and D.Y.B.O. Silva. 2017. Germinação e vigor de plântulas de *Parkia platycephala* Benth. em diferentes substratos e temperaturas. Rev. Ciênc. Agron. 48(1), 142-150. Doi: 10.5935/1806-6690.20170016
- Taiz, L., E.Z.I.M. Moller, and A. Murphy. 2017. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6th ed. Artmed, Porto Alegre.
- Tribouillois, H., C. Durr, D. Demilly, M.H. Wagner, and E. Justes. 2016. Determination of germination response to temperature and water potential for a wide range of cover crop species and related functional groups. PLoS One 11(1). Doi: 10.1371/journal.pone.0161185
- Vale, J.C., C. Bertini, and A. Borém. 2017. Feijão-caupi: do plantio à colheita. Editora UFV, Viçosa, Brazil.
- Zabot, L., L.M.C. Dutra, D.C. Garcia, N.L. Menezes, and M.P. Ludwig. 2008. Temperatura e qualidade fisiológica no crescimento de plântulas de Feijoeiro. Rev. Bras. Agr. 14(4), 60-64.

Initial growth of cowpea cultivars with an increase of 4.8 ° C in air temperature

Crescimento inicial de cultivares de feijão-caupi com aumento de 4,8 ° C na temperatura do ar

DOI:10.34117/bjdv7n2-592

Recebimento dos originais: 20/01/2021

Aceitação para publicação: 20/02/2021

Juliane Rafaele Alves Barros

Master in Agronomy

Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, Bahia, Brazil

E-mail: juliane-ab@hotmail.com

Miguel Júlio Machado Guimarães

Phd in Agricultural Engineering

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), São

Raimundo das Mangabeiras, Maranhão, Brazil

E-mail:mjmguimaraes@hotmail.com

Rodrigo Moura e Silva

Biologist

Universidade de Pernambuco, Petrolina, Pernambuco, Brazil

E-mail: moura.pnz@gmail.com

Maydara Thaylla Cavalcanti Rêgo

Master in Plant Genetic Resources

Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, Bahia, Brazil

E-mail: maydara.rego@hotmail.com

Nataniel Franklin de Melo

Phd in Biological Sciences

Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brazil

E-mail: nataniel.melo@embrapa.br

Francislene Angelotti

PhD in Agronomy

Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brazil

E-mail: francislene.angelotti@embrapa.br

ABSTRACT

Vigorous germination and uniform seedling establishment are determinant and dependent on the performance of cultivars in the face of rising air temperatures. Thus, the objective was to evaluate the initial development of different cultivars of cowpea against the increase of 4.8 ° C in the daily temperature regime. The experiment was carried out in growth chambers, in a 5x2 factorial scheme (cultivars x temperature regimes). It was evaluated: germination percentage, germination speed index, average germination time, average germination speed, average germination speed, the initial seedling length and the

initial seedling dry weight. The increase of 4.8 ° C in the temperature did not affect the germination percentage of the seeds, being above 90%. The germination speed index and the average germination speed were higher at temperatures of 24.8-30.8-37.8 ° C. For the germination percentage, the cultivars Pujante, Rouxinol and Tapahium presented the highest indexes, above 90%. The germination speed index and the average germination speed were higher for cv. For Rouxinol, consequently, the average germination time was shorter. The initial seedling length did not differ between cultivars, with an average value of 17.73 cm. The cv. Pujante differed among the other cultivars in terms of seedling dry mass. The initial growth and dry mass of seedlings were higher in the environment with a temperature of 24.8-30.8-37.8 ° C. The 4.8 ° C increase in air temperature does not affect the initial phase of cowpea. The germinative parameters of this legume vary according to the cultivars.

Keywords: *vigna unguiculata*; heat stress; climate changes; cultivars

RESUMO

A germinação vigorosa e o estabelecimento uniforme de plântulas são processos determinantes e dependentes do desempenho das cultivares frente ao aumento da temperatura do ar. Assim, objetivou-se avaliar desenvolvimento inicial de plântulas de diferentes cultivares de feijão-caupi frente ao aumento de 4.8 ° C no regime diário de temperatura. O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento, em esquema fatorial 5x2 (cultivares x regimes de temperatura). Avaliou-se: porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação, velocidade média de germinação, comprimento de plântula e peso seco de plântula. O aumento de 4,8 ° C na temperatura não afetou a porcentagem de germinação das sementes, ficando acima de 90%. O índice de velocidade de germinação e a velocidade média de germinação foram maiores nas temperaturas de 24,8-30,8-37,8 ° C. Para a porcentagem de germinação, as cultivares Pujante, Rouxinol e Tapahium apresentaram os maiores índices, superiores a 90%. O índice de velocidade de germinação e a velocidade média de germinação, foram maiores para a cv. Para o Rouxinol, consequentemente, o tempo médio de germinação foi menor. O comprimento inicial das plântulas não diferiu entre as cultivares, com um valor médio de 17,73 cm. A cv. Pujante diferiu entre as outras cultivares quanto a massa seca das plântulas. O crescimento inicial e a massa seca das plântulas, foram maiores no ambiente com temperatura de 24,8-30,8-37,8 ° C. O aumento de 4,8 ° C na temperatura do ar não afeta a fase inicial do feijão-caupi. Os parâmetros germinativos dessa leguminosa variam de acordo com as cultivares.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*; estresse por calor; mudanças climáticas; cultivares

1 INTRODUCTION

The germination of seeds and the initial development of seedlings depend on climatic conditions and are fundamental processes for the establishment of the plant in the field (Tribouillois et al., 2016). Among the various factors that influence germination, temperature is one of the most relevant because it directly influences plant growth and development (Motsa et al., 2015). Temperatures higher than the optimum reduce or

paralyze the metabolism of seeds, caused by protein denaturation and loss of enzymatic activity (Orzari et al. 2013). As a consequence, a retardation in the emergence of seedlings or the formation of small seedlings may occur (Santos and Zonetti, 2009).

As a result of global climate changes, the air temperature will alter, causing more frequent, intense and longer lasting temperature variations. (Cunha et al., 2019). According to the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), in the pessimistic scenario, the increase in air temperature could reach between 3.7 and 4.8 °C by 2100 (IPCC, 2014). This represents a danger to food security, as this increase in temperature will cause losses in the productivity of several crops. Thus, the use of cultivars with more vigorous germination and uniform establishment of seedlings will be an important strategy in the face of temperature increase (Skoufogianni et al., 2017).

Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) is considered a key crop in the context of global climate change and food security (Carvalho et al., 2019). Because in addition to representing an accessible nutritional source, with a fundamental role in the balance of diets, due to its low fat content and high carbohydrate content (Gomes et al., 2019), it generates employment and income for family agriculture (Merwad et al., 2018; Rocha et al., 2016), especially in the Brazilian semi-arid region (Melo et al., 2018).

Semi-arid regions are the more vulnerable to climate change and extreme temperature events (Djanaguiraman et al., 2018). The Brazilian semi-arid region has an average temperature of approximately 26 °C (Angelotti et al., 2020) and according to the data described by the Rules for Seed Analysis (*Regras para Análise de Sementes - RAS*) the ideal temperature for the germination of the cowpea is 25 °C (BRAZIL, 2009), so the increase in temperature predicted by the IPCC (2014) may affect the viability of the seeds. In addition, there is no literature on the impact of the 4.8 °C increase on seed germination and establishment of seedlings of cowpea cultivars.

The existing works report only the effect of fixed temperatures or with day and night variations (Covell et al., 1986; Craufurd et al., 1996; Islam et al., 2006; Butler et al., 2014; Motsa et al., 2015; Chagas et al., 2018). These results help to explain the initial process, but do not simulate the performance of the cowpea in the face of daily temperature variations, as in the environment. Studies simulating daily temperature variations contribute to understanding how seeds of different cultivars will respond during the germination process and the establishment of seedlings in higher temperature environments, allowing the selection of tolerant materials that germinate and establish successfully, even in adverse conditions (Motsa et al., 2015).

Therefore, the objective of this study was to evaluate the initial development of different cultivars of cowpea against the increase of 4.8 ° C in the daily temperature regime.

2 MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out in growth chambers, of the Fitotron type, with temperature, humidity and photoperiod control. Seeds of five cowpea cultivars were used: BRS Carijó, BRS Itaim, BRS Pujante, BRS Rouxinol and BRS Tapahium. The sowing took place in pots, with a capacity of 7 L. Fertilization was carried out two days before planting, according to the results of the soil chemical analysis and the crop recommendation (Cavalcanti, 2008).

The experiment was carried out in a 5x2 factorial arrangement (cultivars x temperature), using four replications. The temperature regimes were: T ° 1: 20-26-33 ° C (20 ° C: between 8 pm and 6 am; 26 ° C: between 6 am and 10 am; 33 ° C: between 10 am and 3 pm; 26 ° C: from 3 pm to 8 pm) for the chamber 1. For the chamber 2 the regime T ° 2: 24.8-30.8-37.8 ° C (24.8 ° C: from 8 pm to 6 am; 30.8 ° C: from 6 am to 10 am; 37.8 ° C: from 10 am to 3 pm; 30.8 ° C: from 3 pm to 8 pm) was adopted. Temperature values were determined from minimum, average and maximum temperatures, ranging from 18-22, 25-27 and 32-34°C, respectively, in the São Francisco Sub-Middle Valley, Brazil. In this study, an increase of 4.8 ° C was used, based on the temperature increase scenario IPCC (2014).

For germination evaluation, four replications of ten seeds were used. The germinated seed count was daily performed. The parameters evaluated were: germination percentage (G), germination speed index (GSI), average germination time (AGT) and average germination speed (AGS). Germination percentage (G) was obtained by the daily counting of germinated seeds (Equation 1: Labouriau, 1970). The germination speed index (GSI) was calculated from the sum of the number of germinated seeds per day, divided by the respective number of days elapsed from sowing, corresponding to the number of germinated seeds over time, expressed in seed / day (Equation 2: Maguire, 1962; Santana and Ranal, 2000). The average germination time (AGT) refers to the sum of the number of germinated seeds multiplied by the incubation time in days divided by the sum of germinated seeds per day (Equation 3: Labouriau, 1983; Santana and Ranal, 2000). Average germination speed (AGS) was calculated by the inverse of the average

germination time by daily counting (Equation 4: Kotowski, 1926; Santana and Ranal, 2000).

$$\text{Equation 1 } G = \frac{\sum_{i=1}^k ni}{A} * 100$$

$$\text{Equation 2 } GSR = \sum_{i=1}^k \frac{Ni}{ti}$$

$$\text{Equation 3 } AGT = \frac{\sum_{i=1}^k ni.ti}{\sum_{i=1}^k ni}$$

$$\text{Equation 4 } AGS = \frac{\sum_{i=1}^k ni}{\sum_{i=1}^k ni.ti}$$

On what:

K = last day of observation;

A = Total number of seeds placed to germinate;

ni = non accumulated number of germinated seeds;

ti = number of days;

Ni = accumulated number of germinated seeds

To evaluate the initial growth, 15 days after planting proceeding a cut in the bottom part of the stem. For seedling length evaluation a ruler was used. Seedlings were placed in paper bags and stored in an oven at 65 °C for ± 72 hours, to obtain the dry mass (g).

Variance analysis (ANAVA) was performed, being the means compared by Tukey's test at 5% of probability using the SISVAR Version 5.6 software.

3 RESULTS AND DISCUSSION

The interaction of cultivars x temperature was not significant for the germination of cowpea seeds and did not interfere in the initial seedlings growth (Table 1). However, the isolated effect of cultivars was observed both in seed germination and in the initial development of plants. The increase in temperature interfered in the germination speed index (GSI), average germination time (AGT), average germination speed (AGS), in the initial seedling length (SL) and in the initial seedling dry weight (DSW) (Table 1).

Table 1. Summary of the variance analysis, by the mean square, of parameters evaluated in different cowpea cultivars submitted to two temperature regimes.

Variation source	MS						
	DF	G%	GSI	AGT	AGS	SL	DSW
Cultivar (cv)	4	316.25**	2.60**	0.41**	0.01**	8.82ns	0.32**
Temperature (T)	1	202.5ns	20.49**	3.04**	0.08**	477.61**	1.19**
Cultivar x T	4	8.75ns	0.27ns	0.06ns	0.001ns	1.65ns	0.19ns
Residue	30	52.5	0.28	0.06	0.0023	6.9	0.09
CV%		7.77	12.69	9.77	10.37	14.81	15.81

DF = degree of freedom; CV = coefficient of variation; ns = not significant, ** significant at 1% of probability, * significant at 5% of probability compared by Tukey's test. Germination percentage (G), germination speed index (GSI), average germination time (AGT), average germination speed (AGS), initial seedling length (SL), the initial seedling dry weight (DSW).

The result showed that the germinative parameters may vary depending on the cultivar analyzed (Table 2). For the germination percentage, the cultivars Pujante, Rouxinol and Tapahium presented the highest indexes with a value greater than 90%. The germination speed index (GSI) and the average germination speed (AGS), were higher for cv. Rouxinol, consequently, the average germination time (AGT) for this cultivar was smaller. During the germination process, the temperature interferes with the water soaking time and chemical reactions, changing the germination speed (Gordin, 2012). This high percentage and germination speed may be related to the physiological quality of the seeds, since the greater the vigor, the greater the speed and germination rate (Padua et al., 2010). According to Melo Junior et al. (2018), rapid germination favors the establishment of species, since the seeds are exposed to adverse environmental conditions for a long time.

The initial seedling length not differ between cultivars (SL), obtaining an average value of 17.73 cm. Similar results were found in a study by Nunes et al. (2019) when evaluating the effect of temperature on cowpea genotypes, which found that there was no significant difference in the initial seedling length of the evaluated genotypes, regardless the temperature regime. The initial dry weight of the seedling was higher for cv. Therefore, different cultivars, even if they are of the same species, may present different responses to each other (Matoso et al., 2018) (Table 2).

Table 2. Germinative parameters of cowpea cultivars submitted to two temperature regimes.

Cultivar	G%	GSI	AGT	AGS	SL	DSW
Carijó	90.0 ab	4.29 ab	2.38 bc	0.43 ab	18.01	1.97 ab
Itaim	83.7 b	3.44 c	2.61 ab	0.39 bc	18.88	1.66 b
Pujante	96.2 a	3.92 bc	2.18 c	0.36 c	17.32	2.20 a
Rouxinol	97.5 a	5.00 a	2.77 a	0.47 a	18.31	2.07 ab
Tapahium	98.7 a	4.17 bc	2.58 ab	0.39 bc	16.15	1.95 ab
Means	-	-	-	-	17,73	-
MSD	10.51	0.76	0.36	0.06	3.81	0.45

Means followed by the same lowercase letter in the column do not differ by Tukey's test at 5% probability. Germination percentage (G), germination speed index (GSI), average germination time (AGT), average germination speed (AGS), initial seedling length (SL), the initial seedling dry weight (DSW). Minimal significant difference (MSD).

An increase in 4.8 °C of air temperature did not affect the percentage of germination of cowpea seeds. It was found that the seeds submitted to the temperature regime 24.8-30.8-37.8 °C presented higher germination speed index (GSI) and average germination speed (AGS) with less time to germinate (Table 3). The high temperatures tend to accelerate the speed of water absorption and chemical reactions (Carvalho and Nakagawa, 2012). Additionally, the increase in temperature is associated with the acceleration of the cycle, permitting plants to alter their metabolism when subjected to stress conditions so as not to prejudice development (Bergamaschi and Bergonci, 2017; Schmidt et al., 2017), which justifies the higher germination speed of seeds submitted to temperature increase.

In the temperature regime of 20-26-33 °C, the seeds took longer to germinate (Table 3).

Table 3. Germinative parameters of cowpea submitted to temperature increase.

Temperature	G%	GSI	AGT	AGS	SL	DSW
20-26-33°C	91.0	3.45 b	2.78 b	0.36 b	14.28 b	1.80 b
24.8-30.8-37.8°C	95.5	4.88 a	2.23 a	0.46 a	21.19 a	2.14 a
Means	93.25	-	-	-	-	-
MSD	4.68	0.341	0.158	0.027	1.696	0.201

Means followed by the same lowercase letter in the column do not differ by Tukey's test at 5% probability. Germination percentage (G), germination speed index (GSI), average germination time (AGT), average germination speed (AGS), initial seedling length (SL), the initial seedling dry weight (DSW). Minimal significant difference (MSD).

The increase in temperature also interfered in the initial growth of cowpea seedlings (SL and DSW). Seedlings developed in the environment with a temperature range of 24.8-30.8-37.8 °C showed an increase in length of 32.6% and 15.9% in initial dry

weight, respectively. This result reinforces the effect of temperature in promoting the rapid seedlings development due to the interference of this element in water absorption and chemical reactions (Carvalho and Nakagawa, 2012). On the other hand, lower temperature during sowing can decrease the mobilization of reserves, reducing the growth rate (Cruz et al., 2007). This explains the shorter length and the lower shoot dry mass of cowpea cultivars at a temperature range of 20-26-33 °C.

In this way, environments with temperatures outside the optimal point can delay the emergence of seedlings, and reduce the stand because of the formation of small seedlings, confirming that environmental conditions are decisive in the process of establishing crops (Santos and Zonetti, 2009).

Based on the data obtained in this research, it is stated that the initial growth of the cultivars Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol and Tapahium was tolerant to an increase of 4.8 °C in air temperature, presenting an optimum performance when maintained in the regime of 24.8-30.8-37.8 °C (Table 3). However, studies will be necessary to evaluate the impact of the temperature increase on the different phenological phases of the cowpea, since each phase presents an optimal range for its growth and development.

Considering this and the future scenario of climate change, the selection of plants tolerant to temperature increase will be of great importance, especially during the germination process, as it will contribute to the establishment of seedlings and the uniformity of the crop.

4 CONCLUSION

The increase of 4.8 °C in air temperature does not affect the initial phase of the cowpea. The germinative parameters of this legume vary according to the cultivars.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Foundation for the Support of Research of the State of Bahia (FAPESB) for funding the doctoral scholarship (N° BOL0419 / 2017).

REFERENCE

ANGELOTTI, F; BARBOSA, LG; BARROS, JRA; SANTOS, CAF. Cowpea (*Vigna unguiculata*) development under different temperatures and carbon dioxide concentrations. *Revista Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 50, n.1, p.1-7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-40632020v5059377>

BERGAMASHI, H; BERGONCI, JI. *As plantas e o clima: Princípios e aplicações*. Guaíba: Agrolivros, 2017. 352p.

BUTLER, TJ; CELEN, AE; WEBB, SL; KRSTIC, D; INTERRANTE, SM. Temperature affects the germination of forage legume seeds. *Crop Science*, v. 54, n.1, p. 1-8, 2014. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.01.0063>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, 2009. 395p.

CALBO, AG; AROCA, SC. Medidas para mitigar os efeitos das mudanças climáticas na produção de hortaliças. In: Guedes, M. R. (Ed.). *Mudanças climáticas globais e a produção de hortaliças*. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2009. 95-126p.

CARVALHO, M; CASTRO, I; PEREIRA, JM; CORREIA, C; CORTINES, ME; MATOS, M; ROSA, E; CARNIDE, V; LINO NETO, T. Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, v. 241, n.1, p.1-13, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153001>

CARVALHO, NM; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 588p.

CAVALCANTI, FJ de A. *Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco*. 2ª Apr. 3.ed., Recife: IPA, 2008. 212p.

CHAGAS, JTB; FARIAS, JEC; SOUZA, RF; JÚNIOR, SPF; COSTA, MGS. Germinação e vigor de sementes crioulas de feijão-caupi. *Agrarian Academy, Centro Científico Conhecer*, v.5, n.9; p.1-12, 2018. https://doi.org/10.18677/Agrarian_Academy_2018a48

COVELL, S; ELLIS, RH; ROBERTS, EH; SUMMERFIELD, RJ. The Influence of Temperature on Seed Germination Rate in Grain Legumes: I. A comparison of chickpea, lentil, soybean and cowpea at constant temperatures. *Journal of Experimental Botany*, v. 37, n.1, p. 705-715, 1986. <https://doi.org/10.1093/jxb/37.5.705>

CRAUFURD, PQ; SUMMERFIELD, RJ; ELLIS, RH; ROBERTS, EH. Development in cowpea (*Vigna unguiculata*) I. The influence of temperature on seed germination and seedling emergence. *Experimental Agriculture*, v.32, n.1, p.1-12, 1996. <https://doi.org/10.1017/S0014479700025801>

CRUZ, HL; FERRARI, CS; MENEGHELLO, GE; KONFLANZ, V; ZIMMER, PD; VINHOLES, PS; CASTRO, MAS. Avaliação de genótipos de milho para semeadura precoce sob influência de baixa temperatura. *Revista Brasileira de Sementes*, v.20, n.1, p.52-60, 2007.

CUNHA, APMA; ZERI, M; DEUSDARÁ LEAL, K; COSTA, L; CUARTAS, LA; MARENGO, JA; TOMASELLA, J; VIEIRA, RM; BARBOSA, AA; CUNNINGHAM, C; CAL GARCIA, JV; BROEDEL, E; ALVALÁ, R; RIBEIRO-NETO, G. Eventos de extrema seca no Brasil de 2011 a 2019. *Atmosfera*, v.10, n.11, p.642, 2019.

DJANAGUIRAMAN, M; PERUMAL, P; CIAMPITTI, IA; GUPTA, SK; PRASAD, PVV. Quantifying pearl millet response to high temperature stress: Thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Plant, Cell and Environment*, v.41, n.1, p. 993-1007, 2018. <https://doi.org/10.1111/pce.12931>

GOMES, AMG; NHANTUMBO, N; FERREIRA-PINTO, M; MASSINGA, R; RAMALHO, JC; RIBEIRO-BARROS, A. Breeding Elite Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] Varieties for Improved Food Security and Income in Africa: Opportunities and Challenges, Legume Crops - Characterization and Breeding for Improved Food Security, Mohamed Ahmed El-Esawi, IntechOpen, 2019.

GORDIN, CRB; MARQUES, RF; MASETTO, TE; SCALON, SPQ. Germinação, biometria de sementes e morfologia de plântulas de *Guizotia abyssinica* Cass. *Revista Brasileira de Sementes*, v.34, n.4, p.619-627, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000400013>

IPCC. *Climate Change Synthesis Report Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Geneva: IPCC, 2014. 151p.

ISLAM, S; CARMEN, RC; JUNIOR, JOG. Screening for tolerance of stress temperature during germination of twenty five cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) cultivars. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, v.4, n.2, p.191-195, 2006.

KOTOWSKI, F. Temperature relations to germination of vegetable seed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, v. 23, n.1, p. 176-184, 1926.

LABOURIAU, LG. *A germinação das sementes*. Washington, DC: Secretaria Geral da Organização dos Estados Unidos Americanos, 1983.

MAGUIRE, JD. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v.2, n.1, p.176-177, 1962. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

MATOSO, AO; SORATTO, RP; GUARNIERI, F; COSTA, NR; ABRAHÃO, RC; TIRABASSI, LH. Sowing Date Effects on Cowpea Cultivars as a Second Crop in Southeastern Brazil. *Agronomy Journal*, v.110, n.1, p.1-14, 2018. <https://doi.org/10.2134/agronj2018.01.0051>

MELO JUNIOR, JLA; MELO, LDFA; ARAUJO NETO, JC; FERREIRA, VM. Germination and morphology of seeds and seedlings of *Colubrina glandulosa* Perkins after overcoming dormancy. *Australian Journal of Crop Science*, v.12, n.4, p.639-647, 2018. <https://doi.org/10.21475/ajcs.18.12.04.pne980>

MELO, AS de. SILVA, ARF da; DUTRA, AF.; DUTRA, WAF; BRITO, MEB; SILVA, FV da. Photosynthetic efficiency and production of cowpea cultivars under deficit irrigation. *Revista Ambiente & Água*, v.13 n.5, p.1-8, 2018. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2133>

MERWAD, ARMA; DESOKY, ESM; RADY, MM. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Scientia Horticulturae*, v. 228, n.1, p.132-144, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.008>

MOTSA, MM; SLABBERT, MM; AVERBEKE, W; MOREY, AL. Effect of light and temperature on seed germination of selected African leafy vegetables. *South African Journal of Botany*, v. 99, n.1, p.29-35, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.03.185>

NUNES, LR de L; PINHEIRO, PR; PINHEIRO, CL; LIMA, AP; DUTRA, AS. (2019). Germination and vigour in seeds of the cowpea in response to salt and heat stress. *Revista Caatinga*, v.32, n.1, p.143-151, 2019. <https://doi.org/10.1590/1983-21252019V32N115RC>

ORZARI, I; MONQUERO, PA; REIS, FC; SABBAG, RS; HIRATA, ACS. Germinação de espécies da família Convolvulaceae sob diferentes condições de luz, temperatura e profundidade de semeadura. *Planta Daninha*, v.31, n.1, p.53-61, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582013000100006>

PÁDUA, GP de; ZITO, RK; ARANTES, NE; RANÇA NETO, J de B. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. *Revista Brasileira de Sementes*, v.32, n.3, p.09-16, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000300001>

ROCHA, MM; SILVA, KJD; MENEZES JÚNIOR, JAN; HASHIMOTO, JM; NEVES, AC; SOUZA, FM; RIBEIRO, E; FERNANDES, L. *Feijão-caupi: Melhoramento genético para o avanço da cultura*. Embrapa Meio-Norte, Teresina, 2016. 6p.

SANTANA, DG; RANAL, MA. Análise estatística na germinação. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.12, n.1, p.205-237, 2000.

SANTOS, GA; ZONETTI, PC. Influência da temperatura na germinação e desenvolvimento do girassol (*Helianthus annuus* L.). *Revista Iniciação Científica Cesumar*, v.11, n.1, p.23-27, 2009.

SCHMIDT, D; ZAMBAN, D; PROCHNOW, D; CARON, BO; SOUZA, VQ; PAULA, GM; COCCO, C. Caracterização fenológica, filocrono e requerimento térmico de tomateiro italiano em dois ciclos de cultivo. *Horticultura Brasileira*, v.35, n.1, p.1-8, 2017. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620170114>

SKOUFOGIANNI, E; BARTZIALIS, D; GIANNOULIS, KD; KANDRI, E; DANALATOS, NG. Seed germination rates of different cool season legumes. *Agrofor International Journal*, v.2, n. p.1-6, 2017. <https://doi.org/10.7251/AGRENG1701035S>

TRIBOUILLOIS, H; DÜRR, C; DEMILLY, D; WAGNER, M-H; JUSTES, E. Determination of Germination response to temperature and water potential for a wide range of cover crop species and related functional groups. *PloS one*, v.11, n.8, p.1-16, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161185>

Maternal environment on seed germination and viability in cowpea**Ambiente materno na germinação e viabilidade de sementes de feijão-caupi**

DOI:10.34117/bjdv6n11-567

Recebimento dos originais: 25/10/2020

Aceitação para publicação: 26/11/2020

Juliane Rafaele Alves Barros

Master in Agronomy

State University of Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, Bahia, Brazil

E-mail: juliane-ab@hotmail.com

Miguel Júlio Machado Guimarães

Phd in Agricultural Engineering

Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brazil

E-mail:mjmguimarães@hotmail.com

Bárbara França Dantas

PhD in Agronomy

Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brazil

E-mail: barbara.dantas@embrapa.br

Nataniel Franklin de Melo

Phd in Biological Sciences

Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brazil

E-mail: nataniel.melo@embrapa.br

Francislene Angelotti

PhD in Agronomy

Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brazil

E-mail: francislene.angelotti@embrapa.br

ABSTRACT

Seed quality is determined by the environmental conditions to which they were exposed during their formation. Thus, the objective of this study was to evaluate the seed viability and seedling formation of cowpea cultivars produced in a high-temperature environment. Seeds of the cowpea cultivars Carijó, Itaim and Tapahium produced in growth chambers under temperature regimes T^o1: 20-26-33 °C and T^o2: 24.8-30.8-37.8 °C were used. The experimental design was completely randomized, with four replicates of 25 seeds, placed to germinate at a temperature of 25 °C in B.O.D chambers. Increase in air temperature during seed production did not hamper germination percentage. However, the 4.8 °C increase in air temperature reduced the vigor of seeds of the cultivar Tapahium, resulting in an increase in the number of abnormal seedlings. Seeds of the cultivars Carijó and Itaim produced under temperature regime 24.8-30.8-37.8 °C showed higher performance.

Keywords: climate change, initial growth, parent plant, *Vigna unguiculata* L.

RESUMO

A qualidade das sementes é determinada pelas condições ambientais as quais as mesmas foram expostas durante sua formação. Desta forma, o objetivo do trabalho foi de avaliar a viabilidade de sementes e a formação de plântulas de cultivares de feijão-caupi, produzidas em ambiente com alta temperatura. Foram utilizadas sementes de feijão-caupi das cultivares Carijó, Itaim e Tapahium produzidas em câmaras de crescimento, sob regime de temperatura T^o1: 20-26-33 °C e T^o2: 24,8-30,8-37,8 °C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes, colocadas para germinar em temperatura de 25 °C em câmaras tipo B.O.D. O aumento da temperatura do ar durante a produção das sementes não prejudicou a porcentagem de germinação. Contudo, o incremento de 4,8°C na temperatura do ar reduziu o vigor das sementes da cultivar Tapahium, resultando no aumento do número de plântulas anormais. As sementes das cultivares Carijó e Itaim produzidas em regime de temperatura 24,8-30,8-37,8°C apresentaram maior desempenho.

Palavras-chave: crescimento inicial, germinação, mudanças climáticas, planta mãe, *Vigna unguiculata* L.

1 INTRODUCTION

Temperature is one of the climatic elements that will undergo changes in the face of climate change. For exerting direct influence on crops, from seed germination to final production, temperature is an element that needs to be considered for the final yield of crops (Martinez et al., 2015). According to future scenarios predicted by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), there may be an increase between 3.7 and 4.8 °C in air temperature by 2100 (IPCC, 2014).

This can pose a threat to food security, since the increase in temperature can slow or inhibit the development of flower buds and cause falls of pods in formation, resulting in a substantial reduction in the production of cowpea, which is a target crop in the face of climate changes (Nidso et al., 2016; Carvalho et al., 2019). In addition, seed vigor is reduced by the stress of increased temperature, both before and after the point of physiological maturity (Finch-Savage and Bassel, 2016), and there are no studies on the viability of cowpea seeds produced in high-temperature environments.

Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) is a legume crop of great socioeconomic importance and one of the main components of the diet of populations, especially in semiarid regions (Melo et al., 2018). According to Djanaguiraman et al. (2018), these regions are vulnerable to climate changes and extreme temperature events, so that the cultivation of species with vigorous germination and the uniform establishment of seedlings are highly desirable.

Vigorous seed germination and seedling establishment are crucial phases for plant development (Skoufogianni et al., 2017). However, the viability of the seeds depends on the prevailing climate during their formation. Thus, it can be affirmed that the quality of the seeds

and the establishment of seedlings will depend on the temperature conditions at which the parent plant grew, produced and matured its seeds (Geshnizjani et al., 2019).

Thus, the success of agricultural production depends initially on seed quality, which is directly related to the environmental conditions to which the parent plant was exposed during the formation and development of these seeds (Li et al., 2017; Hampton et al., 2013). Thus, the increase in temperature on the parent plant will significantly influence the characteristics of the seeds, including their size, dormancy and germination (Penfield and MacGregor, 2017). In addition, air temperature also plays a significant role during the germination process and the establishment of seedlings (Peeters et al., 2019).

Given the above, knowing the quality of seeds produced under high-temperature conditions will be essential to indicate tolerant cultivars, since this quality is responsible for the initial development in the field, which will promote an increase in yield per season. Therefore, the objective of this study was to evaluate the seed viability and seedling formation of cowpea cultivars produced in a high-temperature environment.

2 MATERIAL AND METHODS

Seeds of the cultivars Carijó, Itaim and Tapahium produced in phytotron-type growth chambers, under the temperature regimes of T°1: 20-26-33 °C (20 °C: from 20h to 6h; 26 °C: from 6h to 10h; 33 °C: from 10h to 15h; 26 °C: from 15h to 20h); and T°2: 24.8-30.8-37.8°C (24.8 °C: from 20h to 6h; 30.8 °C: from 6h to 10h; 37.8 °C: from 10h to 15h; 30.8 °C: from 15h to 20h).

The experimental design was completely randomized, with four repetitions of 25 seeds in B.O.D (Biochemical Oxygen Demand)-type chambers equipped with white fluorescent lamps, with light regime of 12/12 hours (dark/light, respectively). The seeds were maintained at 25 °C because, according to the Rules for Seed Analysis (*Regras para Análise de Sementes – RAS*), this is the ideal temperature for the germination test of *Vigna unguiculata* seeds (Brasil, 2009).

Initially, surface of the seeds was disinfested using fungicide of the chemical group Alkylene-bis-dithiocarbamate, in a ratio of 4 g (fungicide) to 1000 g of seeds. Then the seeds were arranged on Germitest paper moistened with distilled water, in a proportion equivalent to 2.5 times the dry paper weight. The Germitest paper containing the seeds was rolled up, placed in plastic bag, and maintained in B.O.D for the evaluation of seed viability. The number of germinated seeds was determined by means of two counts: the first at four days and the second at seven days. Seeds with radicle protrusion equal to or greater than 2 mm were considered

germinated. After the second count, an evaluation was performed to quantify the percentage of normal and abnormal seedlings (Brasil, 2009). Normal seedlings were considered as those that had potential to continue their development, with developed root system and shoots. On the other hand, abnormal seedlings were the ones that had absent or damaged shoots and root systems, according to the Rules for Seed Analysis (Brasil, 2009). Shoot and root lengths were measured using a millimeter ruler (cm). To evaluate shoot dry mass (SDM) and root dry mass (RDM), shoots and roots were separated, placed in paper bags and dried in an oven at 65 °C until reaching constant weight (± 72 h). After this period, the materials were weighed on a scale to obtain dry weight (g).

Analysis of variance (ANOVA) was performed and means were compared by Tukey test at 5% probability level using the program SISVAR Version 5.6.

3 RESULTS AND DISCUSSION

The summary of the analysis of variance shows that the germination of seeds of the different cultivars was not significantly influenced by the temperature regime imposed to the parent plant during seed formation and development (Table 1). This result shows that even seeds produced in an environment with a 4.8 °C increase in temperature had a high percentage of germination (92%) for cowpea. Environments with high temperature during seed filling often disrupt normal seed development, which increases the proportion of shriveled, abnormal and lower-quality seeds, which may reduce seed vigor, but not necessarily germination (Hampton et al., 2013).

Table 1. Summary of the analysis of variance, by the mean square, for the variables: germination percentage (G%), normal seedlings (NS), abnormal seedlings (AS), shoot length (SL), root length (RL), shoot dry mass (SDM) and root dry mass (RDM) of the cowpea cultivars Carijó, Itaim and Tapahium, from seeds produced under two temperature regimes.

Variation source	MS							
	DF	G (%)	NS	AS	SL	RL	SDM	RDM
Temperature (T)	1	0.66ns	216.00**	210.04**	6.41**	0.59ns	0.005ns	0.0032ns
Cultivar (cv)	2	8.66ns	327.81**	301.79**	1.77ns	13.62*	0.109**	0.033**
T x cv	2	4.66ns	242.37**	226.04**	2.01ns	9.71ns	0.033**	0.00087ns
Residue	18	3.77	2.97	2.9	0.68	3.15	0.0022	0.00088
CV%		1.96	9.07	29.42	9.81	11.13	8.3	11.59

DF = degrees of freedom; CV = coefficient of variation; ns = not significant, ** significant at 1% probability level, * significant at 5% probability level by Tukey test.

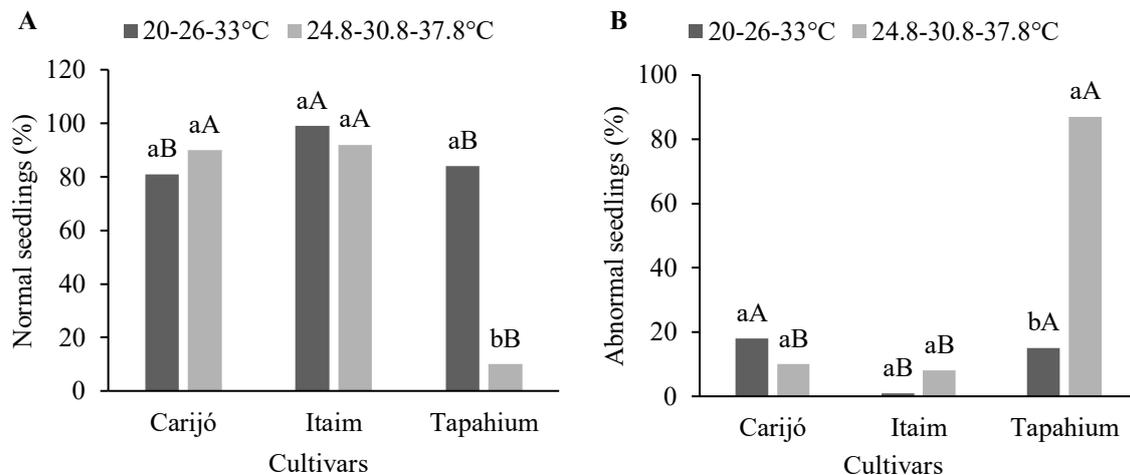
Some plant species that develop under high temperatures produce seeds that have little dormancy and consequently a higher germination (Edwards et al., 2016). In addition, annual plants, such as cowpea, have a relatively short development cycle, which promotes greater

capacity to adapt to changes in the environment (Dewan et al., 2018). Such adaptation favors the germination potential of cowpea, as observed in the study conducted by Craufurd et al. (1996), where the temperature increase up to 40 °C did not prevent the germination of cowpea seeds, with a percentage above 80%.

The interaction between temperature regime of the parent plant and cultivars was significant for the numbers of normal and abnormal seedlings and for shoot dry mass. For the individual effect, the temperature regime under which the seed was produced affected shoot length. Root length, shoot dry mass and root dry mass differed between cultivars (Table 1).

For the cultivar Tapahium, the increase in temperature during seed development and growth significantly reduced the formation of normal seedlings (Figures 1A and B). However, the cultivars Carij3 and Itaim had a percentage of normal seedlings higher than 80% for seeds produced under the temperature regime of 24.8-30.8-37.8 °C, in which the percentage of normal seedlings was 90% and 92%, respectively (Figure 1A).

Figure 1. Number of normal seedlings (A) and abnormal seedlings (B) of cowpea cultivars, from seeds produced under two temperature regimes. *Lowercase letters for temperature and uppercase letters for cultivars.

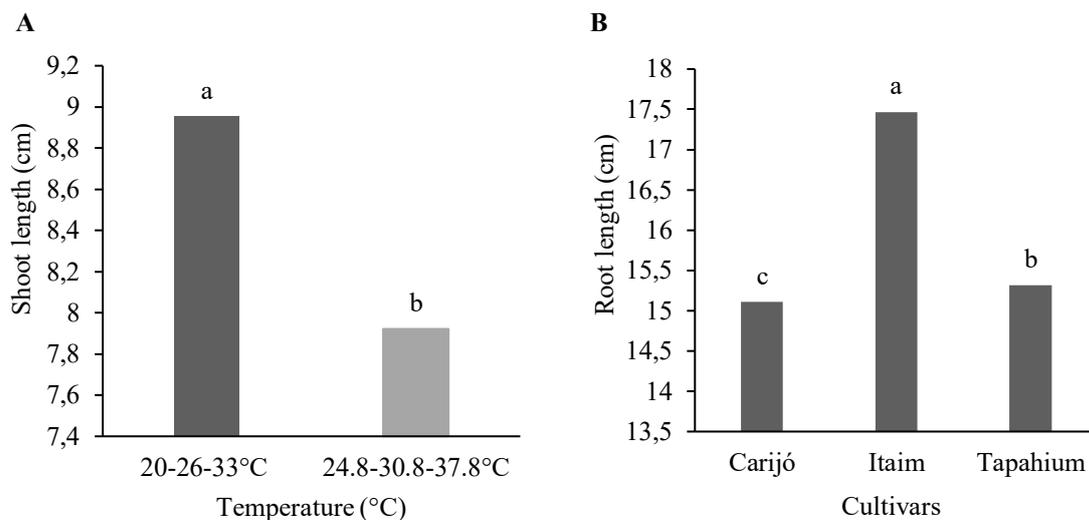


The cultivars may show different responses regarding their adaptability to the environment (Matoso et al., 2018). This explains the reduction in the percentage of normal seedlings of the cv. Tapahium, indicating its sensitivity to temperature increase during seed formation. High temperatures can reduce seed vigor due to the formation of shriveled, abnormal and lower-quality seeds, resulting in the formation of abnormal seedlings, reducing the possibility of establishment in the field (Krzyzanowski et al., 2018). This is because, during seed production, high temperatures increase the proportion between respiration and photosynthesis, reducing the plant's ability to provide photoassimilates for the seeds, which are necessary to synthesize the storage compounds during germination (Taiz et al., 2017). Thus,

even if the seeds can germinate, as observed in the present study, they may lead to problems during seedling establishment due to the influence of environmental conditions during the development of the parent plant.

Shoot length was longer for seedlings grown from seeds produced under the temperature regime of 20-26-33 °C (Figure 2A), with an average value of 8.95 cm. For seeds formed under 24.8-30.8-37.8 °C, seedlings had an average length of 7.92 cm.

Figure 2. Shoot length (cm) (A) and root length (cm) (B) of cowpea cultivars from seeds produced under two temperature regimes.

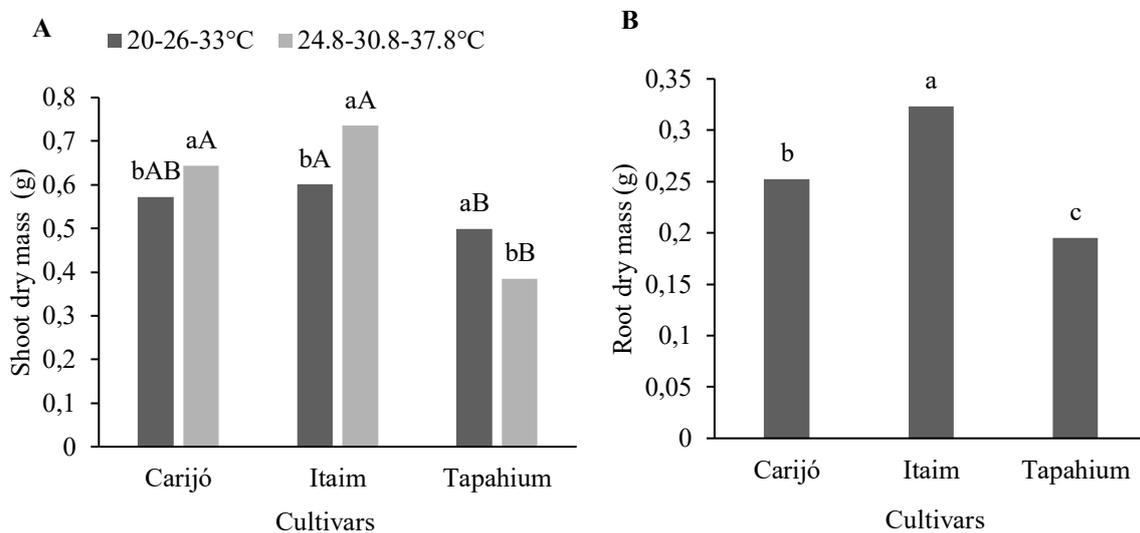


The impact of thermal stress depends on the duration, intensity and plant development stage (Ndiso et al., 2016). In the present study, plants were exposed to temperature increase throughout their development. Thus, the temperature had a direct impact on seed formation, which influenced seedling growth.

For root length, regardless of the temperature regime under which the seeds were produced, the cv. Itaim obtained a longer length of the root system compared to the others, with an average of 17.46 cm (Figure 2B). Roots play a crucial role in the establishment and performance of plants, mainly due to the abiotic stresses (Koevoets et al., 2016). According to these authors, the presence of deep root systems enables plants to access water in deeper layers, benefiting their production and survival under adverse conditions. This is an important characteristic, especially for the semi-arid region, because it has climate with high temperatures and low water availability (Melo et al., 2018). Thus, the cultivar Itaim stands out because, despite being produced under increased temperature conditions, it produces vigorous seeds, with better establishment of seedlings (Figures 1A and 2B).

Seedlings of the cultivars Carijó and Itaim, grown from seeds produced at a temperature of 24.8-30.8-37.8 °C, obtained higher values of shoot dry mass, 0.64 g and 0.73 g, respectively, compared to seeds produced at lower temperature, with averages of 0.57 for Carijó and 0.60 for Itaim (Figure 3A). For the cv. Tapahium, the increase in temperature during seed formation reduced shoot dry mass. This can be explained by the fact that thermal stress compromises the accumulation of various seed constituents by inhibiting the enzymatic processes of starch and protein synthesis (Farooq et al., 2017). Moreover, as verified in this study, the seeds of this cultivar developed under the temperature regime of 24.8-30.8-37.8 °C had a higher number of abnormal seedlings, with absent or damaged shoots (Figure 1B).

Figure 3. Shoot dry mass (g) (A) and root dry mass (g) (B) of cowpea cultivars produced under two temperature regimes. *Lowercase letters for temperature and uppercase letters for cultivars.



Grain filling is a crucial stage for the development of all crops, as it involves processes of mobilization and transport of various constituents necessary for the synthesis of proteins, carbohydrates and lipids in seeds (Farooq et al., 2017). This process is highly sensitive to environmental changes and influences the qualitative and quantitative characteristics of the final yield of seeds (Yang and Zhang, 2006). Therefore, the increase of temperature imposed on the parent plant will significantly influence the characteristics of the seeds (Li et al., 2017), hence affecting the growth and weight of seedlings, as observed in the present study.

Regardless of the temperature regime under which the seed was produced, root dry mass was also higher for the cv. Itaim, with an average of 0.33 g (Figure 3B), hence evidencing that, despite being of the same species, the response of the different genotypes may vary as a function of the increase in temperature, confirming their sensitivity (Matoso et al., 2018)

In general, we found that the seeds of the cultivars Carijó and Itaim produced in an environment with a 4.8 °C increase of temperature showed higher seed viability during germination and seedling development. This indicates that these cultivars will perform better for initial development in the face of climate change. Thus, knowing the environmental conditions to which cowpea seeds were produced will be important for the recommendation of cultivars tolerant to thermal stress.

4 CONCLUSIONS

The increase in temperature during seed production will not affect the germination percentage of cowpea. However, the 4.8 °C increase in air temperature reduces seed vigor, resulting in an increase in the number of abnormal seedlings of the cultivar Tapahium. Seeds of the cultivars Carijó and Itaim produced under temperature regime of 24.8-30.8-37.8 °C showed higher viability during the processes of germination and seedling development.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Foundation for the Support of Research of the State of Bahia (FAPESB) for funding the doctoral scholarship (Nº BOL0419 / 2017), the Foundation for the Support of Science and Technology of Pernambuco (FACEPE) (APQ - 0185-5.01 / 19) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) (316033/2020-000) for financial assistance.

REFERENCES

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, 2009. 395p.

CARVALHO, M; CASTRO, I; PEREIRA, JM; CORREIA, C; CORTINES, ME; MATOS, M; ROSA, E; CARNIDE, V; LINO NETO, T. Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, v.241, n.1, p.1-13, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153001>

DEWAN, S; MIJNSBRUGGE, KV; FRENNE, P; STEENACKERS, M; MICHIELS, B; VERHEYEN, K. Maternal temperature during seed maturation affects seed germination and

timing of bud set in seedlings of European black poplar. *Forest Ecology and Management*, v.410, n.1, p.126-135, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.01.002>

DJANAGUIRAMAN, M; PERUMAL, R; CIAMPITTI, IA; GUPTA_SK; PRASAD_PVV. Quantifying pearl millet response to high temperature stress: Thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Plant, Cell and Environment*, v.41, n.5, p.993-1007, 2018. <https://doi.org/10.1111/pce.12931>

EDWARDS, BR; BURGHARDT, LT; ZAPATA-GARCIA, M; DONOHUE, K. Maternal temperature effects on dormancy influence germination responses to water availability in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*, v.126, n.1, p. 55-67, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.02.011>

FAROOQ, M; GOGOI, N; BARTHAKUR, S; BAROOWA, B; BHARADWAJ, N; ALGHAMDI, SS; SIDDIQUE, KHM. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, n.203, v.2, p.81-102, 2017. <https://doi.org/10.1111/jac.12169>

FINCH-SAVAGE, WE; BASSEL, GW. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, n.67, v.1 p. 567-591, 2016. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv490>

GESHNIZJANI, N; KHORAMI, AS; WILLEMS, LAJ; SNOEK, BL; HILHORST, HWM; LIGTERINK, W. The interaction between genotype and maternal nutritional environments affects tomato seed and seedling quality. *Journal of Experimental Botany*, v.70, n.10 p. 2905-2918, 2019. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz101>

HAMPTON, JG; BOELT, B; ROLSTON, MP; CHASTAIN, TG. Effects of elevated CO₂ and temperature on seed quality. *Journal of Agricultural Science*, v.151, n.1, p.154-162, 2013. <https://doi.org/10.1017/S0021859612000263>

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects*. Contribution of working group II to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2014.

KOEVOETS, IT; VENEMA, JH; ELZENGA, JT; TESTERINK, C. Roots Withstanding their Environment: Exploiting Root System Architecture Responses to Abiotic Stress to Improve

Crop Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, v.7, n.1, p.1-19, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01335>

KRZYŻANOWSKI, FC; FRANÇA-NETO, JB; HENNING, AA. *A alta qualidade da semente de soja: fator importante para a produção da cultura*. Circular Técnica 136, 2018.

LI, R; CHEN, L; WU, Y; ZHANG, R; BASKIN, CC; BASKIN, JM; HU, X. Effects of Cultivar and Maternal Environment on Seed Quality in *Vicia sativa*. *Frontiers in Plant Science*, v.8, n.1, p. 1411, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01411>

MATOSO, AO; SORATTO, RP; GUARNIERI, F; COSTA, NR; ABRAHÃO, RC; TIRABASSI, LH. Sowing Date Effects on Cowpea Cultivars as a Second Crop in Southeastern Brazil. *Agronomy Journal*, v.110, n.1, p.1-14, 2018. <https://doi.org/10.2134/agronj2018.01.0051>

MARTINEZ, CA; OLIVEIRA, EAD; MELLO, TRP; MARIN, ALA. Respostas das plantas ao incremento atmosférico de dióxido de carbono e da temperatura. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v.8, p.635-650, 2015. <https://doi.org/10.26848/rbgf.v8.0.p635-650>

MELO, AS; SILVA, ARF; DUTRA, AF; BRITO, MEB; SILVA, FV. Photosynthetic efficiency and production of cowpea cultivars under deficit irrigation. *Revista Ambiente & Água*, v.13, n.5, p.1-8, 2018. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2133>

NDISO, JB; OLUBAYO, F; CHEMINING'WA, GN; SAHA, HM. Effect of Drought Stress on Canopy Temperature, Growth and Yield Performance of Cowpea Varieties. *International Journal of Plant & Soil Science*, v.9, n.3, p. 1-12, 2016. <https://doi.org/10.9734/IJPSS/2016/21844>

PEETERS, NPA; WILLYCK, IR; NABBERN, RHM; WATERER, DR; VERHOEVEN, TMO; TNINO, KK. Effect of location on dwarf French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed production and seedling vigour. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science*, v.70, n.3, p.224-232, 2019. <https://doi.org/10.1080/09064710.2019.1710561>

PENFIELD, S; MACGREGOR, DR. Effects of environmental variation during seed production on seed dormancy and germination. *Journal of Experimental Botany*, v.68, n.4, p.819-825, 2017. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw436>

TAIZ, L; MOLLER, EZIM; MURPHY, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SKOUFOGIANNI, E; BARTZIALIS, D; GIANNOULIS, KD; KANDRI, E; DANALATOS, NG. Seed germination rates of different cool season legumes. *Agrofor International Journal*, v.2, n.1, p.1-6, 2017. <https://doi.org/10.7251 / AGRENG1701035S>

YANG, J; ZHANG, J. Grain filling of cereal under soil drying. *New Phytologist*, v.169, n. 2, p. 223-236, 2006.



Selection of cowpea cultivars for high temperature tolerance: physiological, biochemical and yield aspects

Juliane Rafaelle Alves Barros¹ · Miguel Julio Machado Guimarães² · Rodrigo Moura e Silva³ · Maydara Thaylla Cavalcanti Rêgo¹ · Nataniel Franklin de Melo² · Agnaldo Rodrigues de Melo Chaves² · Francislene Angelotti²

Received: 13 August 2020 / Revised: 11 December 2020 / Accepted: 15 December 2020
© Prof. H.S. Srivastava Foundation for Science and Society 2021

Abstract High temperature stress can hinder the development of cowpea resulting in several damages including vegetative and reproductive phases of the crop. In this context, the objective of this study was to select cowpea cultivars tolerant to high temperature stress using various parameters related to physiological, biochemical, and yield aspects. For this, the cultivars Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol, and Tapahium were used, maintained in two temperature regimes: 20–26–33 °C and 24.8–30.8–37.8 °C. The experiment was carried out in growth chambers, in a 5 × 2 factorial arrangement (cultivars × temperature regimes). Responses differentiated among the cultivars Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol, and Tapahium with the increase of 4.8 °C in air temperature. The high temperature promoted a greater quantity of aborted flowers, leading to a reduction in the yield of the cultivars Carijó, Pujante, Rouxinol, and Tapahium. The photosynthesis, stomatal conductance, leaf transpiration and enzymatic activities were significantly influenced by high temperature. From the combination of the responses of biometric, physiological and productive variables, the cultivar Itaim can be considered as tolerant to an increase of 4.8 °C in air temperature.

Keywords Grain yield · Heat stress · Oxidative stress · Physiological activity · *Vigna unguiculata*

Introduction

The cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] is a legume from the African continent, widely used as a food source, generating employment and income for small growers (Rocha et al. 2016). In Brazil, according to data from the National Supply Company CONAB (2019), in the 2018/2019 harvest, cowpea occupied an area of 1327.5 thousand hectares, with an estimated production of 651.8 thousand tons. This production is concentrated in the North and Northeast, whereas in the latter, cultivation is predominantly in the semi-arid region.

However, in recent years, due to the increase in technologies and their wide adaptation to edapho-climatic conditions, cowpea started to be cultivated not only by small growers but also in medium and large properties, gaining cultivation areas in the Brazilian Midwest region, mainly in the Mato Grosso State, with a production of 229.6 thousand tons, occupying more than 200 thousand hectares in area (CONAB 2019).

Cowpea is a rustic legume, with good conditions for adaptation in places with high temperatures and low water availability (Araújo et al. 2018), but even with these characteristics, the cowpea yield is still low in the Northeast region of Brazil, because in this region the temperature can exceed the optimum for the crop, which will contribute to the increase of the water deficit, affecting the final yield of the crops. According to Djanaguiraman et al. (2018), the rise in temperature and the water deficit is the abiotic stresses that most limit agricultural productivity.

✉ Francislene Angelotti
francislene.angelotti@embrapa.br

¹ State University of Feira de Santana (UEFS), Av. Transnordestina, s/n, Novo Horizonte, Feira De Santana, Bahia 44036-900, Brazil
² Embrapa Semiárido, Rodovia, BR-428, Km 152, s/n - Zona Rural, Petrolina, Pernambuco 56302-970, Brazil
³ University of Pernambuco (UPE), Rodovia BR 203, Km 2 s/n - Vila Eduardo, Petrolina, Pernambuco 56328-900, Brazil

Studies carried out by Hatfield and Prueger (2015), show that the growth and development of plants depend on temperature and that each species has a specific range represented by a minimum, maximum and optimum. According to Vale et al. (2017), cowpea grows in a wide temperature range, between 18 and 37 °C, however, the optimum temperature point varies with the plant's phenological stage. Thus, temperatures outside the optimum point can impact seed germination to final production (Sehgal et al. 2018), with the reproductive phase being the most affected. Studies have shown that temperature above 35 °C, causes the abortive flowers, stimulates the senescence of the leaves, decreasing the photosynthetic capacity, affecting the productivity of cowpea pods and seeds, as this increase interferes with physiological and biochemical aspects of plants (Zandalinas et al. 2018).

In response, plants decrease the chlorophyll content, photosynthesis rate and transpiration (Taiz et al. 2017) avoiding water loss. However, plants have developed defense mechanisms consisting of ROS scavenging enzyme activities (Reactive oxygen species), such as Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPX) and Ascorbate Peroxidase (APX), to adapt and survive abiotic stresses (Merwad et al. 2018). Thus, the characterization of defense mechanisms at the cellular level is of great importance for breeding, genetic engineering and the creation of cultivars tolerant to environmental stresses.

According to the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC 2013), climate forecasts indicate an increase of up to 4.8 °C in air temperature by the end of the century. Where the northeast semi-arid region of Brazil will be one of the most affected, as they are the most vulnerable regions (Djanaguiraman et al. 2018). This increase in temperature may affect plants at the molecular, physiological and biochemical level (Gray and Brady 2016), compromising their growth, metabolism and development (Eftekhari et al. 2017).

Therefore, a better understanding of plant responses to high temperatures is essential to improve crop yield and quality, in addition to enabling the farmers to select thermotolerant genotypes with high production potential. In addition to generating jobs and income for family farming, cowpea is considered a key crop in the context of global climate change and food security (Rocha et al. 2016, Gomes et al. 2019). In this context, the objective of this study was to select cowpea cultivars tolerant to high temperature stress using various parameters related to physiological, biochemical and yield aspects.

Materials and methods

The experiment was carried out in Fitotron type growth chambers with temperature, humidity, and photoperiod controls. Commercial seeds of five cowpea cultivars were used BRS Carijó, BRS Itaim, BRS Pujante, BRS Rouxinol and BRS Tapahium, supplied by Embrapa Semiarid. Ten seeds were seeded per pot with a capacity of 7 L and after 15 days of sowing thinning was performed leaving only one plant per pot. Fertigation was carried out 2 days before planting based to the results of the soil chemical analysis and as recommodated for the crop (de Cavalcanti 2008).

The experiment was carried out in a 5 × 2 factorial arrangement (cultivars x temperature), using four replications. The temperature regimes were: T° 1: 20–26–33° C (20 °C: between 8 pm and 6 am; 26 °C: between 6 am and 10 am; 33 °C: between 10 am and 3 pm; 26 °C: from 3 pm to 8 pm) for the chamber 1. For chamber 2 the regime T° 2: 24.8–30.8–37.8 °C (24.8 °C: from 8 pm to 6 am; 30.8 °C: from 6 am to 10 am; 37.8 °C: from 10 am to 3 pm; 30.8 °C: from 3 pm to 8 pm) was adopted. Temperature values were determined from minimum, average and maximum temperatures, ranging from 18–22, 25–27 and 32–34 °C, respectively, in the São Francisco Sub-Middle Valley, Brazil. In this study, an increase of 4.8 °C was used, based on the temperature scenario indicated by IPCC (2013).

Determination of the phenological cycle

The plants were daily evaluated after sowing (DAS) to determine the phenological cycle. For evaluation, the scale of Oliveira et al. (2018) was used, where the vegetative phase included the stages, V0—Germination; V1—Emergence; V2—Primary leaves; V3—First open composite leaf; V4—Third open trifoliolate leaf. The reproductive phase was divided into R5—Pre-flowering; R6—Flowering; R7—Pod formation; R8—Pod filling; and R9—Maturation.

Productive and biometric parameters

The evaluation of shoot dry mass (SDM) and root dry mass (RDM) was carried out after harvest, by cutting the stem close to the soil to separate the shoot from the roots. The materials were packed in paper bags and kept in an oven at 65 °C for ± 72 h.

To evaluate the flower abortion data (starting at stage R6), the flowers of each plant were daily counted to obtain the number of aborted flowers for each cultivar. Seed yield, average pod weight (APW), pod length (PL), pod diameter (PD), number of pods per plant (NPP), number of seeds per

plant (NSP), seed production (PS) were recorded at the time the plants reached the pod maturation stage specific to each cultivar cycle.

Physiological parameters were recorded 30 days after planting, when the plants were in phase V4. Portable Infrared Gas Analyzer (IRGA), model Li-6400, was used to record the gas exchange parameters, photosynthesis rate (A), stomatal conductance (gs), transpiration (E) and leaf temperature (Tf) using artificial light fixed at $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The chlorophyll content of the leaves and relative chlorophyll index was determined using a portable chlorophyll meter, model CFL 1030 FALKER. For the readings, it was chosen leaves located in the middle third of the plant, without injuries, with green color, and fully expanded.

ROS scavenging enzyme activities

Healthy, green, and fully expanded leaves located in the middle third of the plant, were collected after 30 days of planting for biochemical analyses. The samples were immediately stored in aluminum foil envelopes and immersed in liquid nitrogen (N_2). The plant extracts were prepared using 1 g of vegetative tissue material grinded in liquid nitrogen and suspended in 3 ml of extraction buffer (pH 7.5) at a concentration of 100 mM potassium phosphate supplemented with 0.01 g of polyvinylpyrrolidone. Then, the extract was centrifuged at 15,000 g for 15 min, at 4 °C, and the supernatant was used as a crude enzymatic extract.

Total soluble protein content was determined according to the method of Bradford (1976) at 595 nm. The catalase activity (CAT) was determined following the decomposition of H_2O_2 for 60 s through spectrophotometric readings at 240 nm at 25 °C according to the method described by Havir and Mchale (1987). The activity of ascorbate peroxidase (APX) was determined as described by Nakano and Asada (1981), by measuring the oxidation rate of ascorbate at a wavelength of 290 nm, at 25 °C for 60 s. The activity of the enzyme guaiacol peroxidase (GPX) was determined by monitoring the reduction of guaiacol using a spectrophotometer with a wavelength at 470 nm, at 25 °C, for 60 s following the protocol developed by Cakmak and Horst (1991). The activity of superoxide dismutase (SOD) was determined according to the methodology of Giannopolitis and Ries (1977), with spectrophotometer readings at 560 nm wavelength, defining the SOD unit as the amount of enzyme needed to inhibit in 50% of NBT photoreduction.

Statistical analysis

The data were subjected to Analysis of Variance (ANOVA) to compare the treatments followed by Tukey's test at 5% probability using the statistical software Sisvar® version 5.6.

Results

Phenological cycle

The results of the phenological characterization of the five cultivars evaluated is given in Table 1. In general, the cultivars showed similar behavior in phases V0 and V1, for 1–2 days, at both temperature regimes.

It was found that the phenological cycle of the cultivars Carijó and Itaim was shorter for plants exposed to high temperature, with a reduction of 6 and 9 days respectively, when compared to plants exposed to a temperature of 20–26–33 °C. However, it was noted that for the cultivars Pujante, Rouxinol and Tapahium, the high temperature prolonged the phenological cycle by 41, 28 and 22 days, respectively.

During the reproductive phase, the cultivar Pujante maintained flowering phase (R6) for an additional 33 days under the high temperature regime. The prolonged flowering phase was also observed in cultivar Tapahium. A increase in temperature perturbed the flowering induction. Under the temperature regime of 24.8–30.8–37.8 °C a high percentage of aborted flowers (AF) was observed (Fig. 1a), and delayed time to reach the R7 stage (pod formation).

An increase in 4.8 °C of air temperature promoted a significant increase in the percentage of aborted flowers (FA) for the cultivars Carijó, Pujante, Rouxinol and Tapahium (Fig. 1a). The cultivar Itaim did not show a significant increase in the flowers abortion at the higher temperatures.

Productive and biometric parameters

The interaction between cultivar and temperature was significant for seed yield and its related traits including, shoot dry mass (SDM), average pod weight (APW), pod length (PL), pod diameter (PD), number of pods per plant (NPP), number of seeds per plant (NSP) (Table 2).

The cultivars Pujante and Rouxinol showed high shoot dry mass (SDM) when kept in a temperature regime of 24.8–30.8–37.8 °C with 28.35 and 29.75 g, respectively because they were in the vegetative stage for a longer duration under high temperature regime (Table 1).

Table 1 Number of days for each phenological stage and cycle length of five cowpea cultivars maintained under two temperature regimes

Cultivar	Temperature	Phenological cycle (days)										Cycle
		V0	V1	V2	V3	V4	R5	R6	R7	R8	R9	
Carij3	20–26–33 3C	2	2	7	9	13	2	2	15	4	5	61
	24.8–30.8–37.8 3C	2	2	6	6	16	1	4	10	2	6	55
Itaim	20–26–33 3C	1	2	8	6	15	2	1	16	3	7	61
	24.8–30.8–37.8 3C	2	1	5	6	17	1	2	9	5	4	52
Pujante	20–26–33 3C	1	2	7	7	27	1	2	18	3	5	73
	24.8–30.8–37.8 3C	2	2	5	9	42	2	35	10	3	4	114
Rouxinol	20–26–33 3C	1	2	8	6	37	1	1	12	5	12	85
	24.8–30.8–37.8 3C	2	2	6	8	44	2	1	29	5	14	113
Taphium	20–26–33 3C	1	1	9	9	12	1	6	19	3	4	65
	24.8–30.8–37.8 3C	2	2	8	8	14	2	16	16	2	17	87

V0, Germination; V1, Emergence; V2, Primary leaves; V3, First open composite leaf; V4, Third open trifoliate leaf. The reproductive phase was divided into: R5, Pre-flowering; R6, Flowering; R7, Pod formation; R8, Pod filling; and R9, Maturation

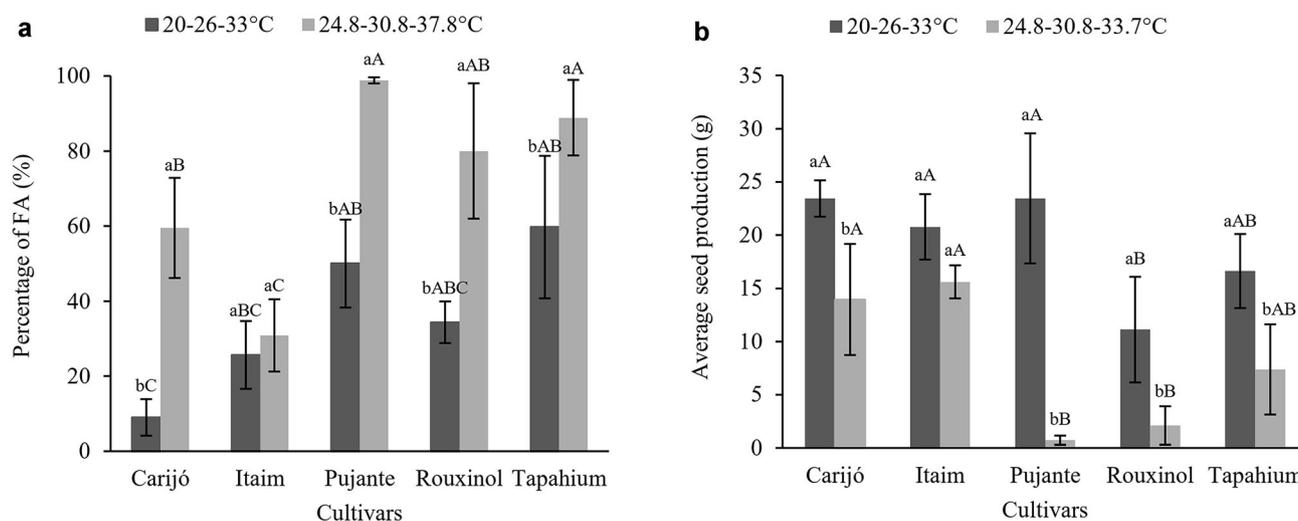


Fig. 1 Percentage of aborted flowers (FA) (a) and Average seed production (g) (b) of cowpea cultivars maintained under two temperature regimes *Lowercase letters for temperature and uppercase letters for cultivars

For the other cultivars, temperature did not show any affect on SDM.

For the average pod weight (APW), no difference between cultivars maintained at the temperature regime of 20–26–33 3C was observed. However, the high temperature caused a significant reduction in APW for the cultivars Pujante and Rouxinol. This result was due to the result of the reduction in pod length (PL) of these cultivars, as observed in Table 2.

High temperature influenced the number of pods per plant (NPP) and the number of seeds per plant (NSP) in the cultivars Carij3, Pujante, Rouxinol and Taphium. The cultivar Itaim showed prominence in relation to the other cultivars, with no reduction in NPP and NSP due to the high temperature (Table 2). This result is because of the

greater number of flowers aborted for the cultivars Carij3, Pujante, Rouxinol and Taphium, excvpt for the cultivar Itaim (Fig. 1a).

The evaluated cultivars showed significant differences in seed production (PS) when submitted to different temperature regimes. In the regime of 20–26–33 3C the cultivars Carij3, Pujante, Rouxinol and Taphium had high seed production rate. No reduction in seed production with the 4.8 3C increase in temperature was recorded in cultivar Itaim. The high temperature reduced 96%, 81%, 55% and 40% the seed production of the cultivars Pujante, Rouxinol, Taphium and Carij3, respectively (Fig. 1b).

Table 2 Average value of shoot dry mass (SDM), pod weight (APW), pod length (PL), pod diameter (PD), number of pods per plant (NPP), number of seeds per plant (NSP) of cowpea plants maintained under two temperature regimes

Temperature	Carij6	Itaim	Pujante	Rouxinol	Tapahium
SDM (g)					
20–26–33 °C	16.7 ± 2.85 aA	11.77 ± 3.94 aA	16.4 ± 5.33 bA	17.91 ± 6.26 bA	9.47 ± 3.22 aA
24.8–30.8–37.8 °C	16.95 ± 6.85 aB	9.12 ± 2.85 aB	28.35 ± 2.86 aA	29.75 ± 4.41 aA	15.47 ± 5.61 aB
APW (g)					
20–26–33 °C	2.00 ± 0.19 aA	1.96 ± 0.80 aA	3.41 ± 0.52 aA	3.37 ± 1.14 aA	2.67 ± 1.13 aA
24.8–30.8–37.8 °C	2.01 ± 0.60 aA	1.26 ± 0.30 aA	0.48 ± 0.17 bA	1.55 ± 0.89 bA	1.64 ± 0.83 aA
PL (cm)					
20–26–33 °C	16.03 ± 0.94 aA	13.17 ± 1.58 aA	19.19 ± 2.34 aA	20.31 ± 3.68 aA	16.87 ± 2.18 aA
24.8–30.8–37.8 °C	14.87 ± 1.56 aA	11.32 ± 1.65 aA	3.40 ± 1.8 bB	8.02 ± 2.8 bB	13.58 ± 2.75 aA
PD (mm)					
20–26–33 °C	7.82 ± 0.18 aA	8.56 ± 0.33 aA	11.34 ± 0.66 aA	10.56 ± 0.75 aA	9.17 ± 0.98 aA
24.8–30.8–37.8 °C	8.07 ± 0.50 aA	8.61 ± 0.12 aA	2.62 ± 0.25 bB	5.31 ± 1.13 bB	9.32 ± 0.13 aA
NPP					
20–26–33 °C	15.25 ± 3.09 aA	14.50 ± 1.91 aA	9.50 ± 2.38 aB	5.25 ± 2.5 aC	8.25 ± 1.70 aB
24.8–30.8–37.8 °C	4.25 ± 2.06 bB	14.00 ± 4.24 aA	0.25 ± 0.15 bB	1.50 ± 0.38 bB	3.25 ± 1.06 bB
NSP					
20–26–33 °C	107.0 ± 6.53 aA	83.0 ± 15.81 aA	85.0 ± 23.90 aA	53.0 ± 17.45 aB	77.0 ± 11.95 aA
24.8–30.8–37.8 °C	54.0 ± 17.82 bA	61.0 ± 6.07 aA	2.0 ± 0.5 bB	10.0 ± 3.26 bB	29.0 ± 10.54 bB

Means followed by the same lowercase letter in the column and uppercase letter in line are not different according to Tukey's test at 5% of probability

Analysis of physiological parameters

The cultivar and temperature interaction also perturbed the photosynthesis (A), stomatal conductance (gs) and leaf transpiration (E). The photosynthetic activity of the cultivars Carij6, Itaim and Tapahium was not affected by the high temperature. However, the cultivar Pujante showed higher photosynthetic activity in plants maintained under the 24.8–30.8–37.8 °C regime, because the increase in stomatal conductance (gs) consequently resulted in the opening of stomata and further increased transpiration (E). Contrasting results were observed in the cultivar Rouxinol, which maintained the same temperature regime (Fig. 2a).

A higher transpiration rate (E) and high stomatal conductance (Fig. 2b, c) were observed for cv. Itaim and Tapahium when submitted to a temperature of 20–26–33 °C.

A significant increase was observed for the chlorophyll content and temperature, with the highest rates observed in the lowest temperature chamber (Fig. 2d). The varieties Itaim, Tapahium and Carij6 had higher levels of total chlorophyll, with an index of 59.95 for cv. Carij6, 63.72 for cv. Itaim and 62.66 for cv. Tapahium.

The leaf temperature (Tf) had no influence on the cultivar and temperature interaction. However, the isolated effect of temperature can be observed, verifying that the high air temperature provided a higher Tf (Fig. 2e). The Tf

was also affected according to the cultivar (Fig. 2f). The cultivars Carij6 and Rouxinol showed lower stomatal opening in the two applied temperature regimes, resulting in lower values of gas exchange rates (A and E) when compared to the other cultivars. This behavior was reflected in the Tf of these varieties, which registered the highest values.

ROS scavenging enzyme activities

For the enzymes CAT, APX, GPX and SOD, there was a significant interaction between cultivars and temperature. The enzyme activity observed between cultivars in both temperature regimes (Fig. 3).

The cultivars Rouxinol and Tapahium showed high activities of the CAT enzyme in the two submitted temperature regimes (Fig. 3a). The cultivar Pujante showed higher enzymatic activity when submitted to the higher temperature regime, with an increase of 133% in CAT activity. The other cultivars showed low activity of this enzyme, with no significant difference with the high temperature.

Significant reductions of 58.53%, 63.72% and 49.72% in the specific activity of APX were observed only in the cultivars Itaim, Pujante and Rouxinol, respectively, for plants exposed to high temperature (Fig. 3b).

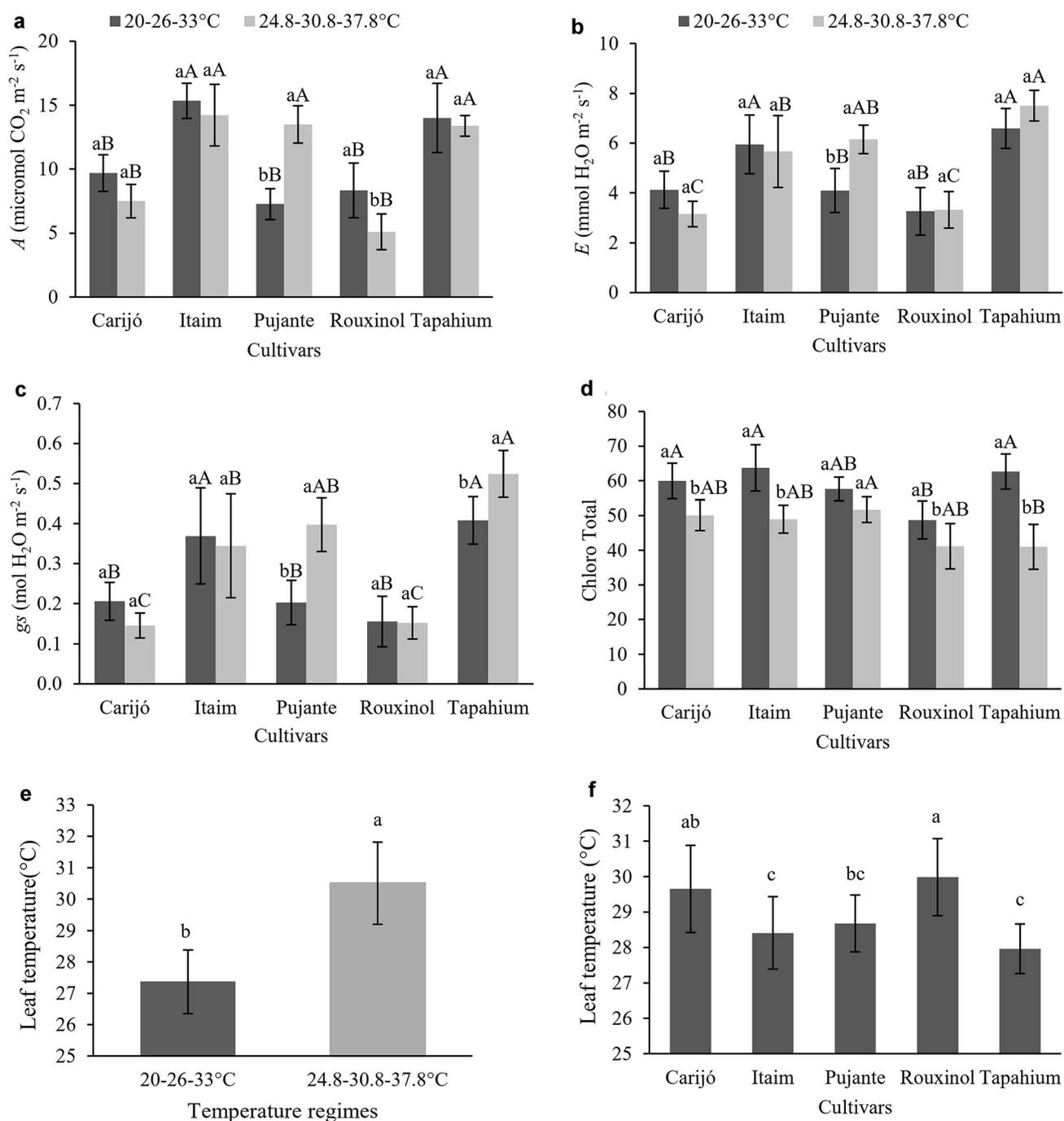


Fig. 2 Photosynthetic parameters including Photosynthetic rate (**a**), Transpiration rate (**b**), Stomatal conductance (**c**), Total chlorophyll (**d**) and Leaf temperature (**e**, **f**) recorded in different cowpea cultivars

grown under to two temperature regimes. *Lowercase letters for temperature and uppercase letters for cultivars

When the GPX enzyme was evaluated, it was observed a significant difference according to the temperature regimes that the cultivars were submitted for the Pujante and Rouxinol materials, with an increase of 105% and a reduction of 64.42%, respectively, with an increase of 4.8 $^{\circ}\text{C}$ in temperature (Fig. 3c).

The specific activity of SOD was differently affected according to the cultivar, with the cultivars Carij3, Itaim, Pujante and Tapahium no significant difference in the specific activity with an increase of temperature of 4.8 $^{\circ}\text{C}$ in air temperature, and the cultivar Rouxinol

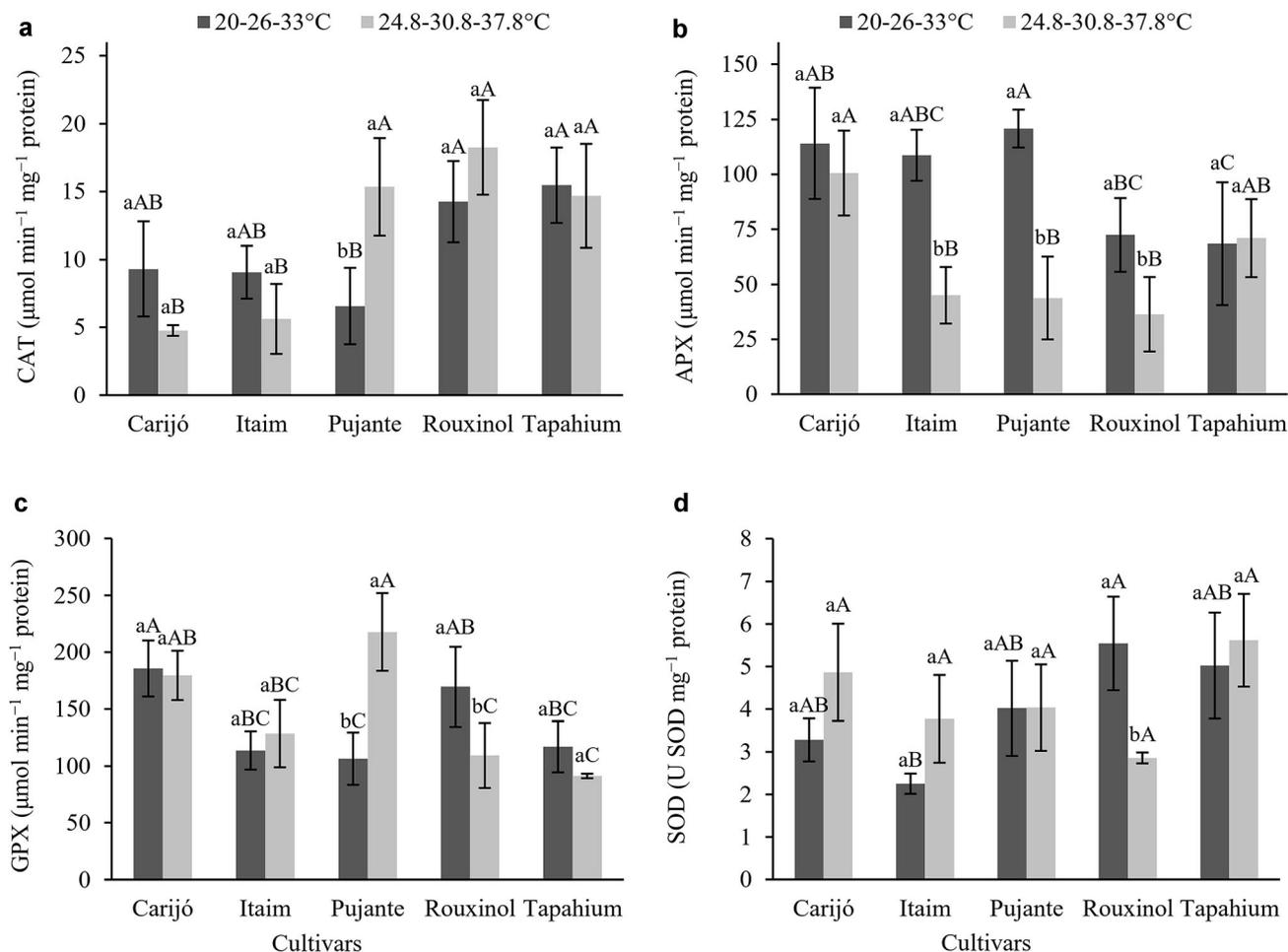


Fig. 3 Specific activity of Catalase (CAT) (a); Ascorbate Peroxidase (APX) (b); Guaiacol Peroxidase (GPX) (c) and superoxide dismutase (SOD) (d) in cowpea cultivars submitted to different temperature regimes. *Lowercase letters for temperatures and uppercase letters for cultivars

presented a significant reduction of this enzyme activity with an increase in the temperature (Fig. 3d).

Discussion

The reduction in the phenological cycle of the cultivars Carijó and Itaim can be explained by the fact that high temperatures cause changes in phenology and shortening the cycle of plants, due to the greater accumulation of degree-days (Bergamashi and Bergonci 2017). A delayed flowering phase (R6) in cultivars Pujante and Tapahium at high temperature, resulted the increase in the number of abortion flowers (Fig. 1a). Similarly with cv. Rouxinol in phase (R7), the increase of 4.8 °C in air temperature caused the pods infirmation to fall, resulting in the prolongation of this phase. The vegetative development increases with an increase in air temperature, since the optimum temperature for vegetative development is higher than the optimum temperature for reproductive

development (Hatfield and Prueger 2015). The response of the different genotypes may vary due to the high temperature. Studies carried out under controlled conditions confirm the sensitivity of the cultivars BRS Pujante and BRS Tapahium to the high temperature, with a percentage of aborted flowers of 33% and 66%, respectively (Angelotti et al. 2020). For cowpea, the reproductive stage is more sensitive to the temperature increase, resulting in the loss of flower buds, pods and seed production (Singh et al. 2010). Thus, the selection of a tolerant cultivar in this case will be extremely important to reduce losses due to climate change.

The exposure of plants to high temperatures during the grain filling phase, even for a short period, can accelerate leaves senescence, decrease seeds number and weight and reducing the crop yield. The plants tend to divert resources to deal with thermal stress, limiting the photosynthesis essential for reproductive development (Hoffmann Junior et al. 2007; Sita et al. 2018). The reduction in seed production is also related to the impact of the high

temperature during the flowering period. In cowpea, plants submitted to night temperatures of 30 °C showed low viability of pollen grains and indehiscent anthers (Freire Filho et al. 2005), which has a direct effect on the framework and final pod retention, further affecting the number of seeds per pod.

Thermal stress can have a negative impact on physiological parameters, drastically reducing the growth rate and yield. This is due to the leaf sensitivity to high temperature. Photosynthesis can be inhibited as a result of the chlorophyll loss and reduced carbon fixation and assimilation (Yuan et al. 2017). Consequently, this reduction hinders the formation of floral components and the development of new flowers, resulting in fewer pods and seeds (Sharma et al. 2016). The results obtained in this study demonstrating the high temperature having an impact on the metabolism of cowpea plants, causing changes in the growth pattern. However, the cultivars presented different physiological responses due to the different thermal requirement of each genotype.

The cv. Pujante was little sensitive to stress in the vegetative phase without any decrease in stomatal conductance, thus resulting in a high rate of photosynthetic activity, which did not observed in cv Rouxinol. Although photosynthesis is affected at high temperature, causing changes in the development and growth of plants, these cultivars showed unreduced growth. This fact is explained since, when the cowpea reaches the maturation stage (R9), the plants enter senescence, however, as can be seen in Fig. 1a, the cultivars Pujante and Rouxinol presented a high percentage of flower abortion, which prolonged the vegetative development, reducing the senescence of the leaves, and consequently, resulting in an increase in the shoot dry mass (SDM).

The increase in air temperature resulted a higher leaf temperature. It is known that about 90% of the water that the plants absorb is used to regulate the temperature through transpiration (Taiz et al. 2017), therefore, with the decrease in g_s , there is a decrease in transpiration and, consequently, an increase in T_f .

The changes in ROS scavenging enzyme activities under high temperature conditions, as observed in this study, can be associated with the adaptability of the evaluated genetic materials when submitted to thermal stress. Thus, it is recognized that high temperatures cause changes in the metabolism of a wide range of enzymes (Mansoor and Naqvi 2013). Dantas et al. (2015) observed significant changes in the ROS scavenging enzyme activities of CAT and APX in watermelon seedlings submitted to thermal stress, and concluded that these changes provided a better adjustment of cellular functions during applied stress. Associated with the maintenance of ROS scavenging enzyme activities, the synchrony of the behavior pattern of

the SOD, APX, CAT and GPX enzymes is fundamental in regulating the level of ROS produced in the plant cell. As the $O_2\cdot^-$ are generated, they are dismutated to H_2O_2 by SOD and then H_2O_2 is eliminated by the action of APX, CAT and GPX, which converts it into water and oxygen (Barbosa et al. 2014). Thus, the efficiency of this process reduces the level of oxidative stress, is considered toxic for the balance between the de $O_2\cdot^-$ and H_2O_2 levels (Guimarães et al. 2018). The cultivars Pujante, Rouxinol and Tapahium can be classified as sensitive to the applied thermal stress, since they showed significant reductions in seed production associated with lack of synchrony in the activities of the evaluated enzymes. The cv. Carijó can be considered semi-tolerant because it does not present, in general, significant changes in ROS scavenging enzyme activities, however, showed reduced seed production with increasing temperature. The cultivar Itaim, on the other hand, is tolerant of the applied thermal stress, with no significant changes in ROS scavenging enzyme activities and seed production (Figs. 1, 3).

Cowpea cultivars can respond differently to the increase in air temperatures. This first phase of selecting high temperature tolerant cultivars is an important step. However, the impact of temperature coupled with water deficit can be more detrimental, so it is necessary to understand the temperature and water interaction in different cowpea cultivars to develop effective adaptation strategies.

Conclusions

This study provides the information to select thermotolerant cowpea cultivars, from the impacts on production, physiological and enzymatic activities. The findings revealed responses differentiated among the cultivars Carijó, Itaim, Pujante, Rouxinol and Tapahium with the increase of 4.8 °C in air temperature. The high temperature promoted a greater quantity of aborted flowers, leading to a reduction in the yield of the cultivars Carijó, Pujante, Rouxinol and Tapahium. The photosynthesis, stomatal conductance, leaf transpiration and enzymatic activities were significantly altered by high temperature. From the combination of the responses of biometric, physiological and productive variables, the cultivar Itaim can be considered as tolerant to an increase of 4.8 °C in air temperature. The indication the thermotolerant cowpea cultivar will be extremely important for cultivation areas in warmer regions due to the high demand for this legume for human consumption. Further analyses are required including the interaction with the water element and field validation.

Acknowledgements Funding was provided by FAPESB (Grant No. N° BOLA419/2017), FACEPE (Grant No. APQ-0185-5.01/19) and CNPq (Grant No. 316033/2020-0).

References

- Angelotti F, Barbosa LG, Barros JRA, Santos CAF (2020) Cowpea (*Vigna unguiculata*) development under different temperatures and carbon dioxide concentrations. *Rev Pesq Agropec Trop* 50:1–7. <https://doi.org/10.1590/1983-40632020v5059377>
- Araújo ED, Melo AS, Rocha MS, Carneiro RF, Rocha MM (2018) Germination and initial growth of cowpea cultivars under osmotic stress and salicylic acid. *Rev Caat* 31:80–89. <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n110rc>
- Barbosa MR, Silva MM, Willadino L, Ulisses C, Camara TR (2014) Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciêñ Rural* 44:453–460
- Bergamashi H, Bergonci JI (2017) As plantas e o clima: Princípios e aplicações. Agrolivros, Guaíba, p 352
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Cakmak I, Horst WJ (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol Plantarum* 83:463–468. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x>
- CONAB (2019) Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. v. 6 – Safra 2018/2019, n. 9 - Nono levantamento, Brasília, pp 1–113
- Dantas BF, Silva RCB, Ribeiro RC, Aragão CA (2015) Respiration and Antioxidant Enzymes Activity in Watermelon Seeds and Seedlings Subjected to Salt and Temperature Stresses. *Am J Exp Agric* 7:70–77. <https://doi.org/10.9734/AJEA/2015/15749>
- de Cavalcanti FJA (2008) Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco. 2ª Apr. 3rd ed., Recife: IPA, p 212
- Djanaguiraman M, Perumal P, Ciampitti IA, Gupta SK, Prasad PVV (2018) Quantifying pearl millet response to high temperature stress: thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Plant Cell Environ* 41:993–1007. <https://doi.org/10.1111/pce.12931>
- Eftekhari A, Baghizadeh A, Yaghoobi MM, Abdolshahi R (2017) Differences in the drought stress response of DREB2 and CAT1 genes and evaluation of related physiological parameters in some bread heat cultivars. *Biotechnol. Equip* 31:709–716. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1316214>
- Freire Filho FR, Lima JAA, Ribeiro VQ (2005) Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, p 519
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977) Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol* 59:309–314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Gomes AMG, Nhantumbo N, Ferreira-Pinto M, Massinga R, Ramalho JC, Ribeiro-Barros A (2019). Breeding Elite Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] Varieties for Improved Food Security and Income in Africa: Opportunities and Challenges. In: EL-ESAWI, M. H (eds) Legume crops—characterization and breeding for improved food security. Intech Open, pp 626–640
- Gray SB, Brady SM (2016) Plant developmental responses to climate change. *J Dev Biol* 419:64–77. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.07.023>
- Guimarães MJM, Simões WL, Camara TJR, Silva CUC, Willadino LG (2018) Antioxidant defenses of irrigated forage sorghum with saline aquaculture effluent. *Rev Caat* 31:135–142. <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n116rc>
- Hatfield JL, Prueger JH (2015) Temperature extremes: effect on plant growth and development. *Weather Climate Extr* 10:4–10. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2015.08.001>
- Havir EA, Mchale NA (1987) Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol* 84:450–455. <https://doi.org/10.1104/pp.84.2.450>
- Hoffmann Junior L, Ribeiro ND, Rosa SS, Jost E, Poersch NL, Medeiros SLP (2007) Resposta de cultivares de feijão à alta temperatura do ar no período reprodutivo. *Ciêñ Rural* 37:1543–1548. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000600006>
- IPCC (2013) Climate change 2013: the physical science basis. University Press, Cambridge, p 1535
- Mansoor S, Naqvi FN (2013) Effect of heat stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings. *African J Biotechnol* 12:3196–3203. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2808.2808>
- Merwad ARMA, Desoky ESM, Rady MM (2018) Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Sci Hortic* 228:132–144. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10>
- Nakano Y, Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol* 22:867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Oliveira MGC, Oliveira LFC, Wendland A, Guimarães CM, Quintela ED, Barbosa FR, Carvalho MCS, Lobo Junior M, Silveira PM (2018) Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos. Embrapa Arroz e Feijão, Brasília, p 59
- Rocha MM, Silva KJD, Menezes Júnior JAN, Hashimoto JM, Neves AC, Souza FM, Ribeiro E, Fernandes L (2016) Feijão-caupi: Melhoramento genético para o avanço da cultura. Embrapa Meio-Norte, p 6
- Sehgal A, Sita K, Siddique KHM, Kumar R, Bhogireddy S, Varshney RK, Rao BH, Nair RM, Prasad PVV, Nayyar H (2018) Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. *Front Plant Sci* 9:1705. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01705>
- Sharma L, Priva M, Bindumadhava HB, NairRM Navvar H (2016) Influence of high temperature stress on growth, phenology and yield performance of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] under managed growth conditions. *Sci Hortic* 213:379–391. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.033>
- Singh Sk, Vg Kakani, Gk Surabhi, Kr Reddy (2010) Cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) genotypes response to multiple abiotic stresses. *J Photochem Photobiol Biol* 100:135–146. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.05.013>
- Sita K, Sehgal A, Bhandari K, Kumar J, Kumar S, Singh S, Siddique KHM (2018) Impact of heat stress during seed filling on seed quality and seed yield in lentil (*Lens culinaris* Medikus) genotypes. *J Sci Food Agric* 98:5134–5141. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9054>
- Taiz L, Zeiger E, Moller IM, Murphy A (2017) Fisiologia e desenvolvimento vegetal, 6th edn. Artmed, Porto Alegre
- Vale JC, Bertini C, Borém A (2017) Feijão-caupi: do plantio à colheita. Editora UFV, Viçosa, p 267
- Yuan L, Yuan Y, Liu S, Wang J, Zhu S, Chen G, Hou J, Wang C (2017) Influence of high temperature on photosynthesis antioxidative capacity of chloroplast and carbon assimilation among

heat-tolerant and heat-susceptible genotypes of nonheading chinese cabbage. HortScience 52:1464–1470. <https://doi.org/10.21273/hortsci12259-17>

Zandalinas SI, Mittler R, Balfagón D, Arbona V, Gómez-Cadenas A (2018) Plant adaptations to the combination of drought and high

temperatures. Physiol Plantarum 162:2–12. <https://doi.org/10.1111/ppl.12540>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Water restriction in different phenological stages and increased temperature affect cowpea production

Restrição hídrica em diferentes fases fenológicas e o aumento da temperatura afetam a produção de feijão-caupi

Juliane Rafaela Alves Barros¹, Miguel Julio Machado Guimarães², Welson Lima Simões², Nataniel Franklin de Melo², Francislene Angelotti^{2*}

¹Universidade Estadual de Feira de Santana/UEFS, Feira de Santana, BA, Brasil

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Embrapa, Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, Brasil

*Corresponding author: francislene.angelotti@embrapa.br

Received in August 10, 2020 and approved in October 21, 2020

ABSTRACT

Water deficit and high temperatures are abiotic factors that most limit plant growth and development. However, its effects depend on crop development stage and on stress duration and intensity. Thus, the objective of was to evaluate the development of cowpea subjected to water restriction in different phenological stages and to increase in air temperature. The experiment was conducted with the cultivar 'Carijó', in growth chambers, in a 4 x 3 x 2 factorial arrangement, corresponding to levels of water availability (25, 50, 75, and 100%), phenological stages (vegetative, flowering and pod filling) and temperature regimes (T^o1: 20-26-33 °C e T^o2: 24.8-30.8-37.8 °C), respectively. Reduction of water availability in the vegetative and flowering stages caused decrease in grain production. The percentage of aborted flowers was higher in plants maintained under an increased temperature of +4.8 °C, with consequent reduction in grain production. Higher water availability values favored shoot and root dry mass production. Increase of 4.8 °C did not affect shoot and root dry mass but reduced water use efficiency by about 83%. The highest enzymatic activities of CAT, GPX and SOD were found in plants subjected to the temperature of +4.8 °C. Only APX showed lower enzymatic activity with increasing temperature. The cv. 'Carijó' is more sensitive to the 4.8 °C increase in air temperature than to water deficits.

Index terms: Abiotic stress; oxidative stress; phenology; *Vigna unguiculata*.

RESUMO

O déficit hídrico e as altas temperaturas são os fatores abióticos que mais restringem o crescimento e desenvolvimento das plantas. Entretanto, seus efeitos dependem da fase de desenvolvimento da cultura, da duração e da intensidade do estresse. Com isso, objetivou-se com esse trabalho, avaliar o desenvolvimento do feijão-caupi submetido à restrição hídrica em diferentes fases fenológicas e ao aumento da temperatura do ar. O experimento foi conduzido com a cultivar Carijó, em câmaras de crescimento, em arranjo fatorial de 4x3x2, sendo as disponibilidades hídricas (25, 50, 75, and 100%), as fases fenológicas (vegetativa, floração e enchimento das vagens) e os regimes de temperatura (T^o1: 20-26-33 °C e T^o2: 24.8-30.8-37.8 °C), respectivamente. A redução da disponibilidade hídrica nas fases vegetativa e na floração ocasionou queda na produção de sementes. A porcentagem de flores abortadas foi maior para as plantas mantidas no regime de temperatura com um aumento de 4.8 °C, com consequentemente, redução na produção de sementes. O aumento da disponibilidade hídrica, favoreceu a produção de massa seca da parte aérea e da raiz. O aumento de 4,8 °C não afetou o peso da massa seca da parte aérea e das raízes, porém, reduziu cerca de 83% da eficiência de uso da água pela planta. Verificou-se as maiores atividades enzimáticas da CAT GPX e SOD nas plantas submetidas ao regime de temperatura de com um aumento de 4.8 °C. Apenas a APX apresentou menor atividade enzimática com o aumento da temperatura. A cv. Carijó apresenta maior sensibilidade ao aumento de 4,8 °C na temperatura do ar do que aos déficits hídricos.

Termos para indexação: Estresse abiótico; estresse oxidativo; fenologia; *Vigna unguiculata*.

INTRODUCTION

Climate change has become a challenge for food security (Gomes et al., 2019), since the increase in temperature and changes in rainfall pattern negatively

affect agricultural production. In addition, future scenarios indicate that water deficit can dramatically affect plant growth and development in more than 50% of farmland by 2050, reducing crop yield worldwide (Hasanuzzaman et al., 2019). Although water deficit is the main abiotic factor

affecting the water status of plants, the severity of this effect also depends on air temperature (Jumrani; Bhatia, 2018).

Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) stands out for being a plant rich in protein and with socioeconomic importance for the semiarid regions (Melo et al., 2018). Some authors consider this legume as a species with greater tolerance to water stress compared to other crops (Ndiso et al., 2016; Merwad; Desoky; Rady, 2018). These characteristics make cowpea cultivation relevant for food security, especially in the face of global climate change (Carvalho et al., 2019). Although this crop is adapted to semiarid conditions, water deficit and high temperatures during its development cycle can have a negative impact on production (Ndiso et al., 2016). According to Karim et al. (2018), this impact will depend on the phenological stage of the crops during which this abiotic stress occurs.

In this context, understanding how cowpea plants will respond to future increments in water restriction and air temperature may contribute to a change in the way the management is carried out by producers, in order to maintain production sustainability. Some phenological stages such as flowering and pod filling are highly dependent on soil water availability (Oliveira et al., 2018). According to Bergamaschi and Bergonci (2017), the increment in temperature tends to increase the water demand of the atmosphere, leading to greater losses by evapotranspiration in the agricultural system, which can reduce water availability to plants. Thus, an important strategy for plant management will be to understand the phenological stage most sensitive to water deficit, so that this resource is used rationally and effectively.

In view of the above, studies that simulate the interaction of the abiotic stresses will be determinant for the adoption of management strategies, making it possible to determine the amount of water needed for the plant at the right time, hence optimizing the use of this resource (Silva et al., 2019). Thus, this study aimed to evaluate the development of cowpea subjected to water restriction in different phenological stages and to the increase in air temperature.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted in Fitotron-type growth chambers, with control of temperature, humidity and photoperiod, in 2019. The experimental design was carried out with the cultivar 'Carijó', which has major economic importance for the region and were seeded in pots with capacity of 7 L, in a 4 x 3 x 2 factorial arrangement, corresponding to levels of soil water

availability, phenological stages and temperature regimes, respectively. Soil water availability levels were 25, 50, 75, and 100%, applied in the vegetative, flowering and pod filling phenological stages. Temperature regimes were: T¹: 20-26-33 °C (20 °C: from 8 p.m. to 6 a.m.; 26 °C: from 6 a.m. to 10 a.m.; 33 °C: from 10 a.m. to 3 p.m.; and 26 °C: from 3 p.m. to 8 p.m.); T²: 24.8-30.8-37.8 °C (24.8 °C: from 8 p.m. to 6 a.m.; 30.8 °C: from 6 a.m. to 10 a.m.; 37.8 °C: from 10 a.m. to 3 p.m.; 30.8 °C: from 3 p.m. to 8 p.m.), with four repetitions. The relative humidity was fixed at a value of 60% +/- 5% and the light intensity at 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. These temperature values were determined from the minimum, average and maximum temperatures of the São Francisco Valley Sub-medium, which vary from 18-22, 25-27 and 32-34 °C, respectively. The increase of 4.8 °C above these values was based on the future scenario for the temperature increase registered by the Intergovernmental Panel on Climate Change (Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC, 2013).

Irrigation management was performed with a TDR (Time Domain Reflectometry) device, TDR100 model from Campbell. For this experiment, coaxial cable probes with three rods were used. Initially, the TDR was calibrated for the soil used in the experiment, an *Argissolo Vermelho-Amarelo eutrófico* (Ultisol), according to Batista et al. (2016). Fertilization was performed three days before planting, according to the results of soil chemical analysis and recommendations for the crop (Cavalcanti, 2008). Irrigations were performed every two days based on the data generated by the TDR, with replacement of the evapotranspired volume of water, maintaining level of soil water availability soil corresponding to each treatment.

Prior to planting, all pots were irrigated up to their maximum water retention capacity. Irrigation management involving the experimental treatments began fifteen days after planting. The levels of soil water availability were applied in the different phenological stages, divided into three phases.

Plants of the first phase received water deficit only in the vegetative stage (after opening of the first compound leaf), ending from the production of the first flower buds.

In the second phase, plants were subjected to different levels of water availability in the flowering stage until the beginning of pod filling.

Plants of the third phase received water deficit only when pod filling began, ending with the harvest.

At the end of each phase, the days along which the plants were subjected to the different levels of water availability were quantified.

Biometric and production parameters

In the flowering stage, the flowers of each plant were counted daily to obtain the number of aborted flowers. Grain yield was obtained by determining grain weight at 60 days after planting. This evaluation was performed from the pod maturity stage, according to Oliveira et al. (2018).

Shoot dry mass (SDM) and root dry mass (RDM) were evaluated after harvest, by cutting the stem close to the soil to separate shoots and roots. The materials were placed in paper bags and kept in an oven at 65 °C until they reached constant weight (± 72 h). After this period, weighing was performed on a scale to obtain dry weight. The shoot: root ratio was also evaluated.

Water use efficiency (g l^{-1}) was calculated as the ratio between grain production (g) and the amount of water used in irrigation throughout the cycle.

Determination of enzymatic activity

For biochemical analyses, fully expanded green leaves without injuries were collected from the middle third of the plant in the different phenological stages. The samples were immediately stored in aluminum foil envelopes and immersed in liquid nitrogen (NL_2). Plant extracts were prepared using 1 g of plant material macerated in liquid nitrogen with addition of 0.01 g of polyvinylpyrrolidone and 3 mL of extraction buffer (pH 7.5) at the concentration of 100 mM of potassium phosphate. Then, the extract was centrifuged at 15,000 g for 15 minutes at 4 °C, and the obtained supernatant was used as crude enzymatic extract.

Catalase (CAT) activity was determined by following the decomposition of H_2O_2 for 60 seconds through spectrophotometric readings at 240 nm, at temperature of 25 °C, according to the method described by Havir and Mchale (1987). Ascorbate peroxidase (APX) activity was determined as described by Nakano and Asada (1981), by monitoring the oxidation rate of ascorbate using spectrophotometer with wavelength at 290 nm, at 25 °C, for 60 seconds. Guaiacol peroxidase (GPX) activity was determined based on studies conducted by Cakmak and Horst (1991) by monitoring the reduction of guaiacol using spectrophotometer with wavelength at 470 nm, at 25 °C, for 60 seconds. Superoxide dismutase (SOD) activity was determined according to the methodology of Giannopolitis and Ries (1977), with spectrophotometer readings at wavelength of 560 nm, and defining the SOD unit as the amount of enzyme needed to inhibit the photoreduction of NBT by 50%.

Statistical analysis

The results were subjected to analysis of variance with application of Turkey test ($p < 0.05$), in which the significant simple effects and interactions between the sources of variation were tested. In case of significance, regression analysis was performed to evaluate the relationship between the evaluated parameters and the water availability and Tukey test was applied to compare the stages and temperature regimes, using the program SISVAR Version 5.6.

RESULTS AND DISCUSSION

The triple interaction of water availability x phenological stages x temperature was not significant for the variables production, shoot dry mass, root dry mass, ratio shoot:root and water use efficiency by cowpea. However, grain production was influenced by the interaction of water availability x phenological stages, and the simple effect of temperature. Shoot dry mass and root dry mass were influenced by the simple effects of water availability and temperature. The water availability and temperature influenced in an isolated way the ratio shoot:root. The water use efficiency was influenced only by air temperature (Table 1).

Regarding grain production, the highest values were observed in plants maintained at 50, 75, and 100% water availability, with no difference related to water application in the different phenological stages. The reduction in water depth, with application of only 25% in the vegetative and flowering stages, reduced grain production by 63.33 and 50.76%, respectively, when compared to 100% of water availability (Figure 1).

According to Silva et al. (2019), flowering is considered the most sensitive stage to water deficit for cowpea crop, causing flower drop and reduction in the number of pods per plant, thus reducing production. However, it was verified that the vegetative stage was as sensitive to water deficit as the flowering stage. This occurred because one of the factors that should be analyzed regarding the susceptibility of plants to abiotic stress is the duration of the period along which the plant was exposed to water deficit (Nemeskéri; Helyes, 2019; Ndiso et al., 2016).

As can be seen in Figure 2, the vegetative stage was the one that was exposed to hydric stress for the most days. Therefore, for the 25% water depth, the longer duration of the vegetative stage may have the same negative impact on grain production as the stress

simulated in the flowering stage (Figure 1). It is worth pointing out that the reduction of water during flowering caused a significant reduction in grain production, about 50.76% (Figure 1). Similar results were reported by Karim et al. (2018), who found a reduction in the grain production of plants subjected to water deficit in the flowering stage.

Reduction in water availability (availability of 25%) during the pod filling stage did not cause reduction in the production of cowpea plants (Figure 1). This can be explained by the lower water requirement in this period (Murga-Orrillo et al., 2016) and by the lower number of days along which plants were exposed in this stage (Ndiso et al., 2016) (Figure 2).

Table 1: Summary of the analysis of variance, by the mean square, for the variables: grain production (GP), shoot dry mass (SDM), root dry mass (RDM), ratio shoot:root (S:R) water use efficiency (WUE), enzymes catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD) in cowpea.

Variation source	MS									
	GL	GP	SDM	RDM	S:R	WUE	CAT	APX	GPX	SOD
Water availability (WA)	3	18.69*	110.00**	41.67**	9.17*	0.036ns	63.99**	605.40**	2004.53**	84.71**
Phenological stages (PS)	2	45.00**	17.83ns	7.77ns	6.85ns	0.09*	24.83**	55481.47**	6460.43**	2138.50**
Temperature (T)	1	2288.13**	1095.55**	15.75*	23.01**	16.09**	79.57**	5988.35**	1940.22**	2030.71**
WA x PS	6	22.89**	7.84ns	7.11ns	5.30ns	0.04ns	2.60*	857.60**	96.47ns	315.40**
WA x T	3	0.27ns	2.70ns	0.57ns	0.30ns	0.06ns	19.71**	1221.86**	39.49ns	14.74ns
PS x T	2	12.21ns	19.87ns	4.05ns	0.44ns	0.04ns	43.27**	1873.59**	175.10ns	973.91**
WA x PS x T	6	8.79ns	26.35ns	2.60ns	1.45ns	0.004ns	4.76**	718.47**	495.84**	47.33**
Residue	72	4.91	14.17	3.84	2.90	0.02	0.97	107.71	66.24	13.04
CV%		28.87	21.37	30.82	54.04	27.82	15.84	19.533	13.63	14.95

DF = degrees of freedom; CV = coefficient of variation; ns = not significant, ** significant at 1% probability level, * significant at 5% probability level by Tukey test.

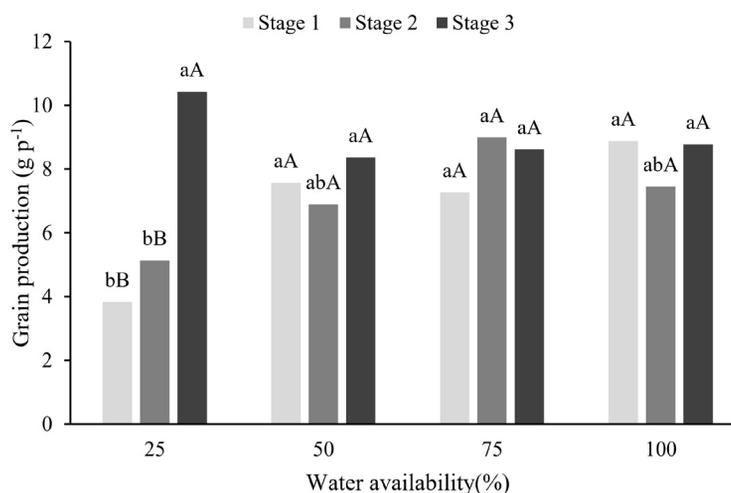


Figure 1: Mean values of grain production of cowpea plants, cultivar 'Carijó', as a function of water availability in the phenological stages (Stage 1: vegetative, Stage 2: flowering and Stage 3: pod filling). *Uppercase letters for phenological stage and lowercase letters for water availability.

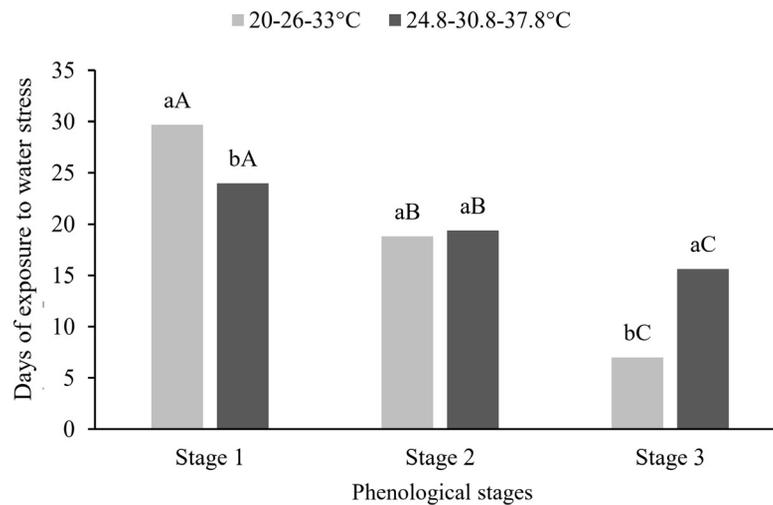


Figure 2: Mean of the days of exposure to water stress of cowpea plants, cultivar ‘Carijó’, as a function of temperature regime and phenological stages (Stage 1: vegetative, Stage 2: flowering and Stage 3: pod filling). *Lowercase letters for temperature and uppercase letters for phenological stage.

It can be observed that the days of exposure of plants to water stress differed with the increase in temperature in the different phenological stages (Figure 2). The vegetative stage was the longest one, with an average duration of 30 days. Thus, plants were exposed to reduction in water availability for longer. It is also observed that the increase of 4.8 °C in air temperature reduced the number of days of this stage, with reduction in the time of exposure to water stress and development cycle of the plants.

According to Bergamaschi and Bergonci (2017), the increase in temperature is associated with the acceleration of growth and phenology, so that, when subjected to stress conditions, plants alter their metabolism in order not to compromise their normal development. The acceleration of the cycle occurs because of the plant’s response to the stress condition, increasing its respiration (Schmidt et al., 2017).

It is observed that the increase of 4.8 °C in the air temperature, prolonged the exposure time of phase 3 of cowpea to water stress, due to the fall of pods. According to Hoffmann Júnior et al. (2007), high temperatures is one of the environmental factors that most influences the abscission of flowers and pods, the inadequate filling of grains and the final retention of pods in beans.

The 4.8 °C increment in air temperature caused a 79.35% increase in the percentage of aborted flowers, with a consequent reduction of 77.78% in the production of cowpea grain (Figure 3A and 3B).

Thermal stress during the reproduction of legumes causes significant loss in the yield of the grain (Hatfield; Prueger, 2015). One of the consequences is the reduction in the number of floral branches and in the number of flowers per plant (Harsant et al., 2013). Another impact is related to the low viability and germination of pollen, because the increase in temperature can affect male and female gametophytes, increasing the abortion of flowers, with consequent reduction in the number of grain (Silva et al., 2020).

In addition, high temperatures reduce grain size due to insufficient accumulation of photosynthates during the pod filling stage (Kumar et al., 2016). According to these authors, a few days of thermal stress in this stage, with temperatures between 30 - 35 °C, accelerate senescence and decrease the number and weight of grain, reducing the yield of legumes, thus corroborating the results found.

Cowpea plants of the cultivar ‘Carijó’ had higher water use efficiency (WUE) when grown under a temperature regime of 20-26-33 °C. The 4.8 °C increase in air temperature reduced WUE by 83% (Figure 3C). This behavior is a consequence of the reduction in grain production observed in plants subjected to the regime of higher temperature (Figure 3B), since this parameter represents a direct relationship between the amount of grain produced and water consumption by the plant.

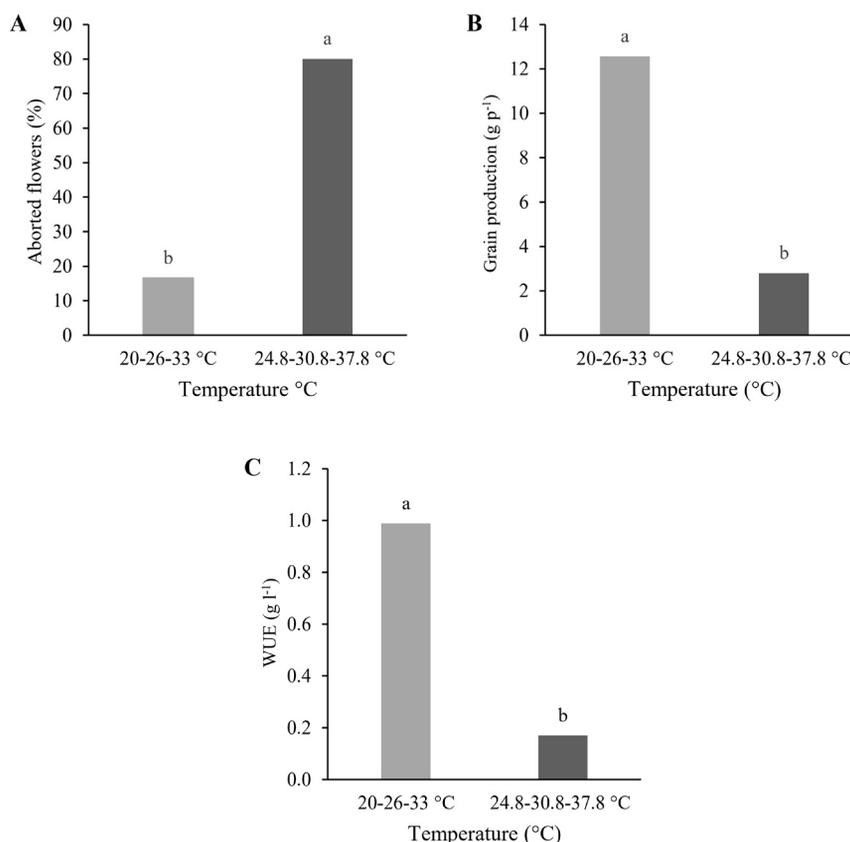


Figure 3: Mean values of percentage of aborted flowers (A), grain production (g) (B) and water use efficiency (WUE) (C) of cowpea plants, cultivar 'Carijó', as a function of temperature regimes.

The 4.8 °C increase in air temperature resulted in an increase in shoot dry mass and root dry mass of cowpea plants (Figure 4). This can be explained by the fact that the increase in temperature results in increased vegetative development (Hatfield; Prueger, 2015). According to Sehgal et al. (2018), the leaves adapt to high temperatures because of the effective thermotolerance mechanisms, which enable the regulation of leaf temperature by transpiration during the period with high temperature (Koevosts et al., 2016). In addition, roots are more sensitive to stress due to high temperatures than the shoot plants, as indicated by the increase in the ratio of shoot:root (Figure 4C). The results are similar to those found by Giri et al. (2017), who associated this effect with greater damage caused by temperatures in plant root membranes.

The increase in water availability also had a positive effect on the dry mass of the shoot and the dry mass of the root (Figure 5). However, this effect was greater on root dry mass, as evidenced by the significant reduction in the shoot:root in Figure 5C.

Studies indicate that the biomass of legumes can be hampered by moderate and severe water deficit (Farooq et al., 2017). Plants under water deficit exhibit morphological, physiological and biochemical alterations that affect their growth, because the decrease in water availability reduces water content in plant tissues, increasing canopy temperature, with reduction in chlorophyll content and, consequently, a lower photosynthetic activity (Kumar et al., 2016; Karim et al., 2018).

For the specific activity of the evaluated enzymes, different behaviors can be observed under the temperature regimes and water availability levels evaluated in each phenological stage of the plant (Figure 6). In general, it was found that with the increase in temperature (24.8-30.8-37.8 °C) the highest enzymatic activities were found for CAT, GPX and SOD, while APX showed the opposite behavior in relation to the others.

The alterations in enzymatic metabolism recorded in the present study demonstrate that the stages of vegetative development and flowering have similar enzymatic

behavior. Regarding the influence of water availability, there was a reduction in CAT activity with increased water availability in the three phenological stages evaluated, regardless of the temperature regime, except for plants subjected to low water availability in the pod filling stage (Stage 3) under the temperature regime of 20-26-33 °C, for which there was no significant fit of regression (Figure 6).

The increase in CAT activity with decreasing water levels may be associated with an increase in the amount of H₂O₂ due to the thermal stress applied in the plants, as observed for wheat (Kumar et al., 2012) and mung bean (*Vigna radiata* L.) (Mansoor; Naqvi, 2013). However, changes in enzymatic metabolism caused by thermal stress in plants will vary according to the tolerance of the genetic material evaluated.

The activity of the APX enzyme showed different behaviors in the different stages of cowpea development. In the vegetative stage, the enzymatic activity showed opposite behaviors between temperature regimes with increasing water availability (Figure 6). While plants subjected to the temperature regime 20-26-33 °C showed

a reduction in APX activity with increasing water availability, the temperature regime of 24.8-30.8-37.8 °C, associated with the highest water availability, caused an increase in the enzymatic activity of APX.

These results highlight the effect of the interaction between the stresses applied to the APX activity. At mild temperatures the effect of stress caused by water availability is evidenced with higher enzymatic activity at low availability. In plants subjected to a 4.8°C increase in temperature, the combination of low water availability and high temperatures led to significant reductions in APX activity, thus demonstrating a severe stress with the combination of treatments applied. This may be related to the affinity of this enzyme with H₂O₂, which is in the micromolar order, and APX is responsible for the fine regulation of the response to environmental stresses. When the amount of H₂O₂ exceeds this order, reaching the millimolar order, which configures high oxidative stress, other enzymes come into action in the regulation of H₂O₂, such as CAT and GPX (Hasanuzzaman et al., 2012).

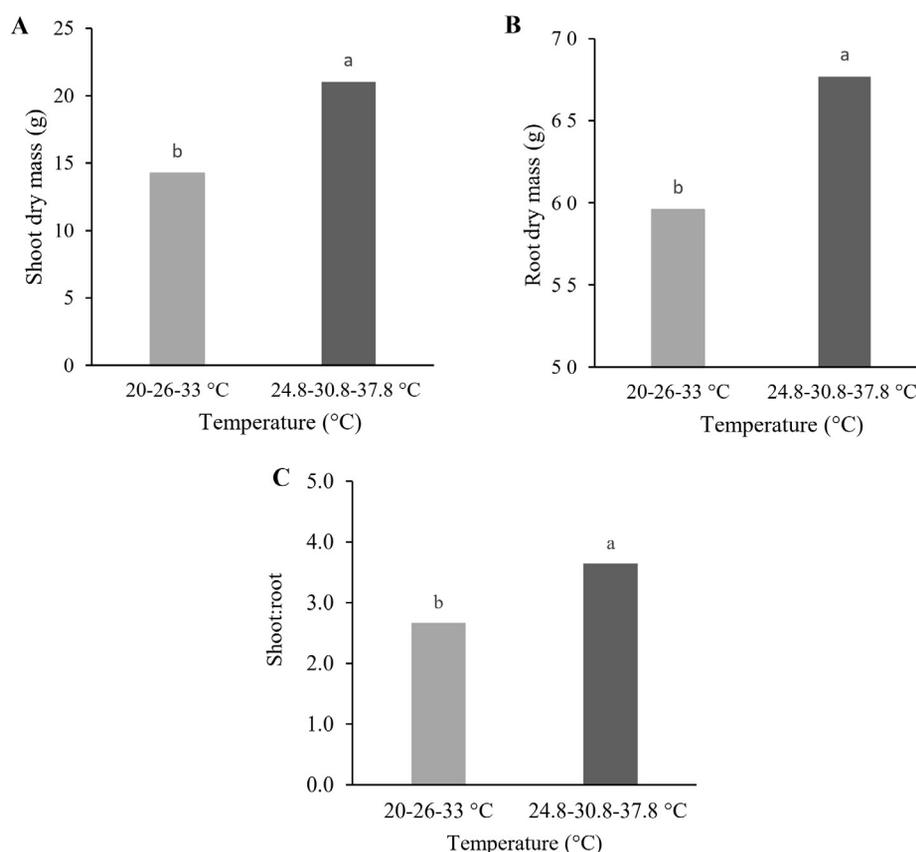


Figure 4: Mean values of Shoot dry mass (A), root dry mass (B) (g) and ratio shoot:root of cowpea plants, cultivar 'Carijó', subjected to different temperature regimes.

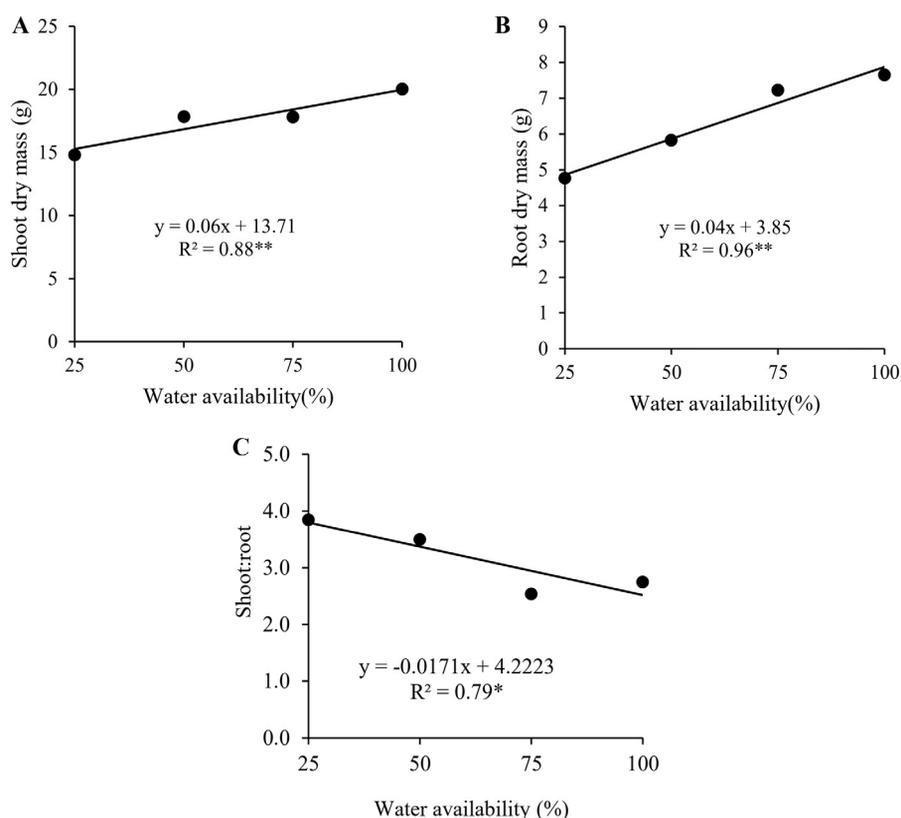


Figure 5: Shoot dry mass (A), root dry mass (B) (g) and ratio shoot:root of cowpea plants, cultivar 'Carijó', as a function of water availability. Significant regression coefficient with $p < 0.05$ (*) and $p < 0.01$ (**).

In the flowering stage, there was a reduction in enzymatic activity with the increase in water availability under both temperature regimes. No significant values of enzymatic activity of APX were observed in the pod filling stage. This behavior may be related to the start of the senescence stage of the plants.

The increase in water availability caused a reduction in GPX enzyme activity in all evaluated stages, except for plants subjected to the temperature regime of 20-26-33 °C in the pod filling stage (Figure 6). In this stage, there was a maintenance of the activity, regardless of the water availability level applied. Parallel to the reductions recorded, it can be observed that plants that suffered from water stress in the pod filling stage showed higher enzymatic activity of GPX. The enzymatic pattern of GPX in the evaluated plants suggests that this enzyme plays an important role in the regulation of H_2O_2 in plants subjected to water deficit, regardless of the temperature to which they are exposed. Similar results were recorded by Borella et al. (2017), who verified significant increases in GPX activity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars when subjected to water deficit.

The enzyme SOD showed a reduction in activity with the increase in water availability in the vegetative and flowering stages (Figure 6). On the other hand, the plants subjected to different water availability levels in the pod filling stage showed an increase in the activity of this enzyme with the increase in water supply. The highest values of enzymatic activity of SOD were observed under application of a water availability level of 76.5% with 24.1 (U SOD mg^{-1} protein) under the temperature regime of 20-26-33 °C, and 97.2% with 47.6 (U SOD mg^{-1} protein) in plants subjected to a 4.8 °C increase in air temperature.

Changes in enzymatic activities under multiple stress conditions, such as water deficit and high temperature, as observed in the present study, may be associated with the activation of oxidative defense mechanisms of plants (Mansoor; Naqvi, 2013). The higher activity of antioxidant enzymes can contribute to a better tolerance to water deficit, thus justifying greater enzymatic activities in plants subjected to water stress, such as the activity of enzymes responsible for maintaining oxidative homeostasis in cowpea (Carvalho et al., 2019).

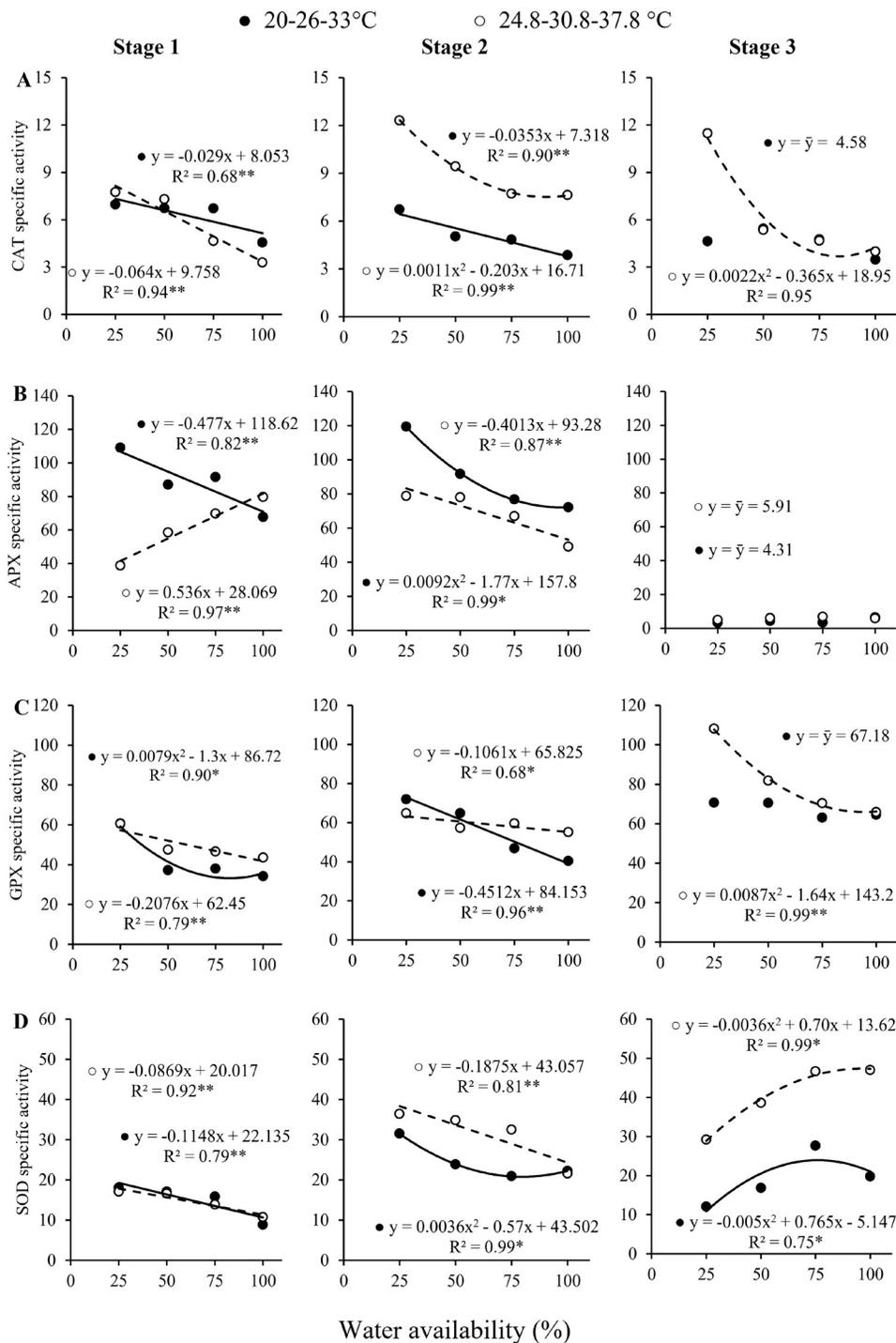


Figure 6: Enzyme activity: A) Catalase (CAT) ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein); B) Ascorbate Peroxidase (APX) ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein); C - Guaiacol Peroxidase (GPX) ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein) and D - Superoxide dismutase (SOD) (U SOD mg^{-1} protein) in cowpea, cultivar 'Carijó', subjected to different water availability levels and temperature regimes in three phenological stages (Stage 1: vegetative, Stage 2: flowering and Stage 3: pod filling). Significant regression coefficient with $p < 0.05$ (*) and $p < 0.01$ (**).

For plants that were subjected to reduction in water availability in the vegetative and flowering stages, it can be noted that, in general, the lower the water availability, the greater the specific activity of SOD (first line of defense), as well as the enzymes that act in the second line of defense against oxidative stress (CAT, APX and GPX). The maximum activity of antioxidant enzymes can increase the capacity of cellular protection against oxidative damage, thus contributing to a better tolerance to water deficit and high temperatures (Zandalinas et al., 2018).

On the other hand, plants subjected to water deficit in the pod filling stage showed a lack of synchrony between the enzymes that act on the lines of oxidative defense. With the significant increase in SOD activity, there is a greater accumulation of H_2O_2 generated in the dismutation of O_2^- and, with the reduction in the activity of enzymes that act in the elimination of H_2O_2 (as observed for CAT, APX and GPX), there is a possible accumulation of this reactive oxygen species (Barbosa et al., 2014; You; Chan, 2015). The lack of synchrony between the activity of the enzymes evaluated in the pod filling stage may be associated with the phenological age of the evaluated plants, as they were already entering the last stage of their cycle, thus activating the state of senescence, and cell death.

The alterations in enzymatic metabolism recorded in this study demonstrate that the stages of vegetative development and flowering have similar enzymatic behavior. This result may be related to the longer duration of these stages (Figure 2), because one of the main factors that will determine the degree of severity of abiotic stress is the time of exposure to the stress (Ndiso et al., 2016). The longer time of exposure in the vegetative and flowering stages, associated with high intensity of stress, as observed in plants subjected to 25% water availability, can cause irreversible damage to plants, like the significant reduction in grain production observed in Figure 3A.

Climate change exposes cowpea plants to water deficit and temperature increase, altering their phenology and causing reductions in their growth and yield. Even with these impacts, little is known about the effect of the interaction between these abiotic stresses on the different phenological stages of cowpea. Studies like this indicate that the adoption of irrigation management in the stages in which cowpea is more sensitive to stress will be necessary, since plants will not tolerate the negative effect of water deficit. With the increase in temperature it will be indispensable to know the phenology of the crop, so that one can choose an appropriate planting time, aiming at periods with lower temperatures, especially during the reproductive stage, minimizing the damage caused by temperature and increasing water use efficiency.

CONCLUSIONS

Low water availability and increase in temperature reduce grain production of cowpea, cv. 'Carijó'. However, the plants were more sensitive to the 4.8 °C increase in air temperature than to water deficit. Application of severe water deficit will only reduce grain production when applied in the vegetative stage, due to the duration of the stress, and in the flowering stage. The combined action of stresses with low water availability and high temperature caused an increase in the activity of enzymes in the antioxidant defense system, evidencing that cowpea plants were under stress, which directly affected their production.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Foundation for the Support of Research of the State of Bahia (FAPESB) for funding the doctoral scholarship (Nº BOL0419 / 2017), the Foundation for the Support of Science and Technology of Pernambuco (FACEPE) (APQ - 0185-5.01 / 19) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for financial assistance.

REFERENCES

- BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, 44(3):453-460, 2014.
- BATISTA, L. S. et al. Calibração de sonda artesanal de uso com TDR para avaliação de umidade de solos. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, 10(2):522-532, 2016.
- BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J. I. **As plantas e o clima: Princípios e aplicações**. Guaíba: Agrolivros, 2017. 352p.
- BORELLA, J. et al. Differential response to water stress in two tropical common bean cultivars. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, 12(3):316-324, 2017.
- CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, 83(3):463-468, 1991.
- CARVALHO, M. et al. Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. **Journal of Plant Physiology**, 241(1):1-13, 2019.
- CAVALCANTI, F. J. A. de. **Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco**. 2ª Apr. 3.ed., Recife: IPA, 2008, 212p.

- FAROOQ, M. et al. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science**, 203(1):81-102, 2017.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, 59(2):309-314, 1977.
- GIRI, A. et al. Heat stress decreases levels of nutrient-uptake and assimilation proteins in tomato roots. **Plants**, 6(6):1-15, 2017.
- GOMES, A. M. G. et al. Breeding elite cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] varieties for improved food security and income in Africa: Opportunities and challenges. In: EL-ESAWI, M. H. **Legume crops - Characterization and breeding for improved food security**. Intech Open, p. 626-640, 2019.
- HARSANT, J. et al. High temperature stress and its effect on pollen development and morphological components of harvest index in the C3 model grass *Brachypodium distachyon*. **Journal of Experimental Botany**, 64(10):2971-2983, 2013.
- HASANUZZAMAN, M. et al. **Plant tolerance to environmental stress: Role of phytoprotectants**. CRC Press, Boca Raton, USA, 2019, 468p.
- HASANUZZAMAN, M. et al. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. In: VENKATESWARLU, B. et al. **Crop stress and its management: Perspectives and strategies**. Springer Netherlands, p. 261-315, 2012.
- HATFIELD, J. L.; PRUEGER, J. H. Temperature extremes: Effect on plant growth and development. **Weather and Climate Extremes**, 10(1):4-10, 2015.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, 84(2):450-455, 1987.
- HOFFMANN JUNIOR, L. et al. Resposta de cultivares de feijão à alta temperatura do ar no período reprodutivo. **Ciência Rural**, 37(6):1543-1548, 2007.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. **Climate change 2013: The physical science basis**. Cambridge: University Press, 2013, 1535p.
- JUMRANI, K.; BHATIA, V. S. Impact of combined stress of high temperature and water deficit on growth and seed yield of soybean. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 24(1):37-50, 2018.
- KARIM, T. D. A. et al. Effect of water deficit at different stages of development on the yield components of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) genotypes. **African Journal of Biotechnology**, 17(9):279-287, 2018.
- KOEVOSTS, I. T. et al. Roots withstanding their environment: Exploiting root system architecture responses to abiotic stress to improve crop tolerance. **Frontiers in Plant Science**, 7(1):1-19, 2016.
- KUMAR, R. R. et al. Protection against heat stress in wheat involves change in cell membrane stability, antioxidant enzymes, osmolyte, H₂O₂ and transcript of heat shock protein. **International Journal of Plant Physiology and Biochemistry**, 4(4):83-91, 2012.
- KUMAR, M. Impact of climate change on crop yield and role of model for achieving food security. **Environmental Monitoring and Assessment**, 188(465):1-14, 2016.
- MANSOOR, S.; NAQVI, F. N. Effect of heat stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mung bean (*Vigna radiata* L) seedlings. **African Journal of Biotechnology**, 12(21):3196-3203, 2013.
- MELO, A. S. de. et al. Photosynthetic efficiency and production of cowpea cultivars under deficit irrigation. **Revista Ambiente & Água**, 13(5):1-8, 2018.
- MERWAD, A. R. M. A.; DESOKY, E. S. M.; RADY, M. M. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. **Scientia Horticulturae**, 228(1):132-144, 2018.
- MURGA-ORRILLO, H. et al. Evapotranspiração e coeficiente de cultivo do feijão-caupi cultivado em solo do cerrado submetido à cobertura morta. **Irriga**, 21(1):172-187, 2016.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. **Plant Cell Physiology**, 22(5):867-880, 1981.
- NEMESKÉRI, E.; HELYES, L. Physiological responses of selected vegetable crop species to water stress. **Agronomy**, 9(8):1-19, 2019.
- NDISO, J. B. et al. Effect of drought stress on canopy temperature, growth and yield performance of cowpea varieties. **International Journal of Plant & Soil Science**, 9(3):1-12, 2016.
- OLIVEIRA, L. F. C de. et al. **Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos**. Brasília: Embrapa Arroz e Feijão, 2018, 59p.
- SCHMIDT, D. et al. Caracterização fenológica, filocrono e requerimento térmico de tomateiro italiano em dois ciclos de cultivo. **Horticultura Brasileira**, 35(1):89-96, 2017.
- SEHGAL, A. et al. Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: Impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. **Frontiers Plant Science**, 9(1):1-19, 2018.

- SILVA, S. et al. Uso econômico da água para o feijão caupi na região do sertão alagoano. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, 9(1):7-13, 2019.
- SILVA, D. A. et al. Influence of high temperature on the reproductive biology of dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Scientia Agricola**, 77(3):e20180233, 2020.
- YOU, J.; CHAN, Z. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. **Frontiers Plant Science**, 6(1):1-15, 2015.
- ZANDALINAS, S. I. et al. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia Plantarum**, 162(1):2-12, 2018.

[Agrária] Production of cowpea under thermal and water stress



Mário de Andrade Lira Júnior <editorgeral@agraria.pro.br>

Ter, 23/02/2021 10:32



Para: Juliane Rafaela Alves Barros; MIGUEL JULIO MACHADO GUIMARÃES; RODRIGO MOURA SILVA +3 pessoas



Prezado(a) Autor(a) Correspondente

Com a aceitação do artigo para publicação, solicitamos enviar certificado de revisão de língua inglesa realizado por empresa especializada, com custos para os autores.

Nesse sentido, a Empresa Walter Luiz Oliveira do Vale – ME (Byte Systems - walterdovale@bytesystemssd.com.br), responsável pela revisão final diagramação do artigo, oferece este tipo de serviço. No entanto, os autores podem fazer uso de outras empresas especializadas que emitam certificado do serviço, tais como, AJE - American Journal Experts (<http://www.aje.com/br>), enago.com (<https://www.enago.com>), Englishconsulting Brazil (englishconsultingbrazil@gmail.com), Editora Cubo (<http://www.editoracubo.com.br>), Editage (editage.com.br).

Para revisão linguística favor utilizar arquivo corrigido pelo editor em anexo.

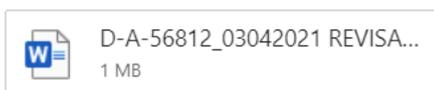
[ActaSciAgron] Decisão editorial



Carlos Alberto Scapim via Portal de Periódicos da UEM <periodicos.uem@uem.br>

Seg, 05/04/2021 17:41

Para: Você; Miguel Guimarães; Welson Simões; Nataniel Melo; Francislene Angelotti



Juliane Barros, Miguel Guimarães, Welson Simões, Nataniel Melo, Francislene Angelotti (Autor),

Foi tomada uma decisão sobre o artigo submetido à revista Acta Scientiarum. Agronomy, "Inglês: Inglês".

A decisão é: Artigo aceito para publicação.

Atenciosamente

Carlos Alberto Scapim
UEM, Maringá
Telefone (44) 2614407 Ramal: 4407
cascapim@uem.br