



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



ROMEU DA SILVA LEITE

ATENUAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO
EM PLANTAS DE FISÁLIS

Feira de Santana-BA

2023

ROMEU DA SILVA LEITE

**ATENUAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO
EM PLANTAS DE FISÁLIS**

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

Orientadora:

Profa. Dra. Marilza Neves do Nascimento Ribeiro
Universidade Estadual de Feira de Santana, Brasil

Coorientadores:

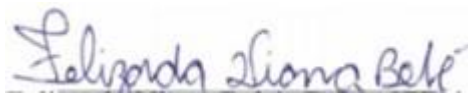
Prof. Dr. Salvador Hernández-Navarro
Universidad de Valladolid, Espanha

Prof. Dr. Norlan Miguel Ruiz Potosme
Universidad Europea Miguel de Cervantes, Espanha

Feira de Santana-BA

2023

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Felizarda Viana Bebé
(Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano)



Profa. Dra. Tamara Torres Tanan
(Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano)



Profa. Dra. Claudinéia Regina Pelacani Cruz
(Universidade Estadual de Feira de Santana)



Profa. Dra. Alone Lima Brito
(Universidade Estadual de Feira de Santana)



Profa. Dra. Marilza Neves do Nascimento Ribeiro
(Universidade Estadual de Feira de Santana)
Orientadora e Presidente da Banca

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadado - UEFS

S555 Leite, Romeu da Silva
Atenuação do déficit hídrico em plantas de fisális / Romeu da Silva
Leite. – 2023.
143 f.: il.

Orientadora: Marilza Neves do Nascimento Ribeiro.
Coorientadores: Salvador Hernández-Navarro, Norlan Miguel Ruiz
Potosme.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa
de Pós-Graduação Recursos Genéticos Vegetais, Feira de Santana, 2023.

1. Solanaceae. 2. Estresse abiótico - plantas. 3. Óxido nítrico. 4. Peróxido
de hidrogênio. 5. *Physalis angulata* L. 6. *Physalis peruviana* L. I. Título.
II. Ribeiro, Marilza Neves do Nascimento, orient. III. Hernández-Navarro,
Salvador, cororient. IV. Ruiz Potosme, Norlan, coorient. Universidade
Estadual de Feira de Santana.

CDU 581.1:582.951.4

Aos agricultores do semiárido, para que possam um dia se beneficiar desta pesquisa!

AGRADECIMENTOS

Ao Ser Supremo do Universo por conceder a oportunidade da vida e a minha família por todo o apoio às minhas decisões.

À minha orientadora, Dra. Marilza Neves do Nascimento Ribeiro, por compartilhar seu conhecimento desde o meu período de graduação, como profissional e pessoa, sempre aberta as novas ideias, muito obrigado.

Aos coorientadores, Dr. Salvador Hernández-Navarro e Dr. Norlan Miguel Ruiz Potosme por acreditarem que uma parceria além-mar é possível, ¡gracias!

Aos amigos científicos que sempre compartilhei minhas dúvidas e anseios. De igual forma agradeço aos demais colegas da turma de doutorado.

Aos amigos do Programa de Doutorado-sanduíche no Exterior, por todo apoio e acolhimento durante a estância na Espanha, em plena pandemia, ¡gracias!

Aos amigos do Horto Florestal e seus funcionários.

Aos amigos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano Campus Xique-Xique, por deixarem a distância de casa muito mais leve!

Ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais por permitir o crescimento intelectual, profissional e pessoal, bem como a Universidade Estadual de Feira de Santana e Universidad de Valladolid pela estrutura para realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 (This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Finance Code 001).

“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o Céu, enquanto as cheias as baixam para a terra, sua mãe.”

Leonardo da Vinci

A fisális vai dominar o mundo!

RESUMO

O déficit hídrico é o principal promotor de estresse abiótico para as plantas, sejam espécies cultivadas ou subexploradas, como as fisálias. A busca por ferramentas que contribuam para a gestão do déficit hídrico e aumento da tolerância das plantas é fundamental para a manutenção da agricultura ao redor do mundo. Somado a isso, é necessária a utilização de análises capazes de mensurar os efeitos do déficit hídrico a nível biomolecular, complementando as demais avaliações fisiológicas. Para isso, duas estratégias de atenuação foram utilizadas: a recuperação das plantas e a aplicação do *priming* químico em plantas submetidas ao déficit hídrico (20% da capacidade de campo do solo do vaso). Na primeira, os tratamentos foram aplicados em plantas sob déficit hídrico no solo, na qual a aplicação tem a finalidade de reversão dos efeitos do estresse. Na segunda forma, a aplicação dos compostos químicos foi realizada previamente ao agente estressor. Em ambas as metodologias os agentes químicos foram aplicados via pulverização foliar. O déficit hídrico influenciou negativamente a maioria das variáveis analisadas em ambas as metodologias. Contudo, o aporte de óxido nítrico foi capaz de atenuar, reverter e atuar na recuperação dos efeitos do estresse em plantas de *Physalis angulata* L., com melhoria nas trocas gasosas, no crescimento e na produtividade. Ao avaliar o *priming* químico com óxido nítrico e prolina, respostas similares foram observadas para as espécies *P. angulata* e *Physalis peruviana* L. Assim, os agentes químicos utilizados foram capazes de atenuar os efeitos do déficit hídrico quando fornecido em pré-tratamento, contribuindo para o aumento da tolerância dessas plantas ao estresse.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Óxido nítrico. Prolina. Peróxido de hidrogênio. *Physalis angulata* L. *Physalis peruviana* L.

ABSTRACT

Water deficit is the main promoter of abiotic stress in plants, whether cultivated or underexploited species, such as physalis. The search for tools that contribute to managing the water deficit and increasing plant tolerance is fundamental for the maintenance of agriculture around the world. Analyzes capable of measuring the effects of water deficit at the biomolecular level, complementing the other physiological assessments has been a demand for researchers. For this, two mitigation strategies were used: plant recovery and chemical priming application against the water deficit (20% of the water storage capacity by soil in vessel). At first, the treatments were applied to plants under water deficit in the soil, in which the application has the purpose of reversing the effects of stress. In a second way, the application of chemical compounds was performed prior to the stressor. In both methodologies the chemical agents were applied via foliar spraying. The water deficit negatively influenced most of the variables analyzed in both methodologies. However, the contribution of nitric oxide was able to attenuate, reverse and act in the recovery of the effects of stress in *Physalis angulata* L. plants, with improvement in gas exchange, growth and yield. When evaluating chemical priming with nitric oxide and proline, similar responses were observed for the species *P. angulata* and *Physalis peruviana* L. Thus, the chemical agents used were able to attenuate the effects of water deficit when supplied in pre-treatment, contributing to the increased plant tolerance to stress.

Keywords: Abiotic stress. Nitric oxide. Proline. Hydrogen peroxide. *Physalis angulata* L. *Physalis peruviana* L.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1. Plantas em condições de déficit hídrico na região do semiárido baiano em ambiente agrícola: (a) *Zea mays* L.; (b) *Phaseolus vulgaris* L.; (c) *Cucurbita moschata* D.; e em ambiente natural: (d) *Physalis* sp. Fonte: autoria própria.....22

Figura 2. Recuperação dos efeitos do déficit hídrico (à esquerda) e aplicação do *priming* químico em plantas (à direita). Na recuperação das plantas sob déficit hídrico (2, esquerda), os agentes químicos são pulverizados em plantas cultivadas na capacidade de campo do vaso (Fc) de 20% (3) e o experimento é finalizado após um determinado tempo t (4). Já no *priming*, a pulverização é realizada em plantas ainda bem hidratadas (2, direita; Fc de 70%), seguida pelo início do déficit hídrico (3) até o final do experimento (4) em um determinado tempo t. Ti=tempo inicial; Tf= tempo final. Fonte: autoria própria.....23

Figura 3. Mapa de distribuição das espécies *Physalis angulata* e *Physalis peruviana* no continente americano. Adaptado do discoverlife.org. Fonte: autoria própria.....27

CAPÍTULO 1

Figura 1. Aplicação do SNP em plantas para a recuperação dos efeitos do déficit hídrico. Fc: capacidade de campo do solo do vaso; Ti: tempo inicial; Tf: tempo final. Fonte: autoria própria.....42

Figura 2. Caracterização climática durante o período experimental: (a) temperatura máxima e mínima do ar; (b) umidade máxima e mínima.....44

Figura 3. Trocas gasosas em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP: assimilação (a); transpiração (b); condutância estomática (c) e eficiência do uso da água (d). Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....47

Figura 4. Clorofila total em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP. Valores são apresentados pela média \pm erro

padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....48

Figura 5. Potencial hídrico foliar em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP. Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....48

Figura 6. Índices de crescimento em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP: taxa de crescimento absoluto (a); taxa de crescimento relativo (b); razão de peso foliar (c) e área foliar específica (d). Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....49

Figura 7. Parâmetros de crescimento em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP: área foliar (a); matéria seca das folhas (b); matéria seca do caule (c); matéria seca da raiz (d); matéria seca da parte aérea (e) e produtividade (f). Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....50

Figura 8. Principais efeitos da aplicação no nitroprussiato de sódio em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas e sob déficit hídrico. Fonte: autoria própria.....52

CAPÍTULO 2

Figura 1. Máximo e mínimo diário de temperatura (a) e umidade (b) durante a condução do experimento.....69

Figura 2. Aplicação de priming químico em plantas de *Physalis angulata*. Fc: capacidade de campo; Ti: tempo inicial; Tf: tempo final. Fonte: autoria própria.....70

Figura 3. Relações hídricas em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH), pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μ M): (a) conteúdo relativo de água e (b) potencial hídrico foliar. Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que

compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....73

Figura 4. Trocas gasosas e pigmentos fotossintéticos em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μ M): (a) assimilação de CO₂; (b) condutância estomática; (c) transpiração; (d) clorofila total. Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....75

Figura 5. Crescimento em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH), pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μ M): (a) altura da planta e (b) diâmetro do caule. Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....76

Figura 6. Crescimento e acúmulo de biomassa em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH), pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μ M): (a) área foliar; (b) número de folhas; (c) matéria seca de folhas; (d) matéria seca do caule; (e) matéria seca de raízes e (f) matéria seca total. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....77

Figura 7. Eficiência do uso da água de irrigação e índice de tolerância em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μ M). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....78

Figura 8. Principais respostas positivas ou negativas de plantas de fisális expostas ao déficit hídrico, pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μ M). Fonte: autoria própria.....79

CAPÍTULO 3

Figura 1. Plantas de *Physalis peruviana* sob déficit hídrico (a), com destaque para a flor (b) e fruto envolto pelo cálice (c). Fonte: autoria própria.....94

Figura 2. Máximas e mínimas de temperatura e umidade durante 30 dias de condução do experimento. O período de sensibilização (*primed state*) e de exposição ao déficit hídrico são indicados no gráfico.....95

Figura 3. Potencial hídrico foliar em plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....99

Figura 4. Assimilação de CO₂ (a), condutância estomática (b) e transpiração (c) de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 μ M). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....100

Figura 5. Taxa de crescimento absoluto (a) e taxa de crescimento relativo (b) de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 μ M). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....101

Figura 6. Área foliar de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 μ M). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....102

Figura 7. Matéria seca da parte aérea (a); matéria seca do caule (b); matéria seca da raiz (c) e matéria seca total (d) de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 μ M). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....103

Figura 8. Coeficiente de tolerância à seca plantas de *Physalis peruviana* expostas ao déficit hídrico (DH) e após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 μ M). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....104

Figura 9. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier de folhas de *Physalis peruviana*: (a) plantas bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH); (b) caracterização da região da impressão digital de plantas BH, DH e após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50).....105

CAPÍTULO 4

Figura 1. Aplicação do priming químico em plantas de fisális: (1) os agentes químicos foram pulverizados em plantas cultivadas na capacidade de campo do vaso (Fc) de 70%, (2) seguido pelo início do déficit hídrico; (3) os agentes químicos promoveram o aumento da tolerância ao déficit hídrico e (4) análises espectrais dos distintos órgãos poderão identificar mudanças biomoleculares responsivas ao priming e à tolerância ao déficit hídrico. Fonte: autoria própria.....118

Figura 2. Sintomas visuais dos efeitos dos tratamentos em plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas e expostas ao déficit hídrico após pulverização com 10 e 20 mM prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μ M nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50).....120

Figura 3. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier em distintos órgãos de *Physalis peruviana*: (a) plantas bem hidratadas e (b) plantas sob déficit hídrico.....122

Figura 4. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier na região dos lipídios em distintos órgãos de *Physalis peruviana* sob condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50): (a) folhas, (b) caule e (c) raízes.....123

Figura 5. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier na região da impressão digital de folhas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH): (a) prolina 10 mM, (b) prolina 20 mM, (c) SNP 25 μ M e (d) SNP 50 μ M.....125

Figura 6. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier na região da impressão digital de caules de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH): (a) prolina 10 mM, (b) prolina 20 mM, (c) SNP 25 μ M e (d) SNP 50 μ M.....126

Figura 7. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier na região da impressão digital de raízes de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH): (a) prolina 10 mM, (b) prolina 20 mM, (c) SNP 25 μ M e (d) SNP 50 μ M.....127

Figura 8. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier região de 900 a 700 cm^{-1} em distintos órgãos de *Physalis peruviana* sob condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50): (a) folhas, (b) caule e (c) raízes: (a) folhas, (b) caule e (c) raízes.....129

Figura 9. Razões de área de banda de lipídio/amida I (a), lipídio/carboidratos (b), oxalato de cálcio (c) e grau de esterificação (d) em plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μ M nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.....130

Figura 10. Análise dos componentes principais de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (T1), sob déficit hídrico sem pré-tratamento (T2) e após pulverização com prolina a 10 mM (T3) e 20 mM (T4) e nitroprussiato de sódio a 25 μ M (T5) e 50 μ M (T6).....131

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Déficit hídrico.....	20
2.2 Ferramentas de tolerância ao déficit hídrico	22
2.3 ATR-FTIR para análises de estresses abióticos.....	25
2.4 Fisális	26
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO 1. O ÓXIDO NÍTRICO MELHORA AS TROCAS GASOSAS E O CRESCIMENTO DE <i>Physalis angulata</i> L. SOB DÉFICIT HÍDRICO.....	37
RESUMO.....	38
ABSTRACT	39
1 INTRODUÇÃO	40
2 MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1 Material vegetal e condições de cultivo	41
2.2 Capacidade de campo do vaso e aplicação dos tratamentos.....	41
2.3 Fertirrigação e caracterização climática	43
2.4 Determinações experimentais.....	43
2.4.1 Mensuração das trocas gasosas e teor de clorofila	43
2.4.2 Mensuração das relações hídricas	44
2.4.3 Parâmetros de crescimento	45

2.5 Análise estatística.....	45
3 RESULTADOS	46
3.1 Trocas gasosas e teor de clorofila.....	46
3.2 Relações hídricas	46
3.4 Crescimento e produtividade.....	47
4 DISCUSSÃO	51
CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS	56

CAPÍTULO 2. CONTROLE DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE *Physalis angulata* L. ATRAVÉS DE PRIMING QUÍMICO..... 63

RESUMO.....	64
ABSTRACT	65
1 INTRODUÇÃO	66
2 MATERIAL E MÉTODOS	68
2.1 Material vegetal, fertilidade do solo e condições de cultivo.....	68
2.2 Estresse hídrico e aplicação do <i>priming</i> químico	69
2.3 Determinações experimentais.....	70
2.3.1 Conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar.....	70
2.3.2 Trocas gasosas e teor de clorofila.....	71
2.3.3 Parâmetros biométricos de crescimento e matéria seca das plantas	71
2.3.4 Eficiência no uso da água de irrigação e índice de tolerância	72
2.4 Análise estatística.....	72
3 RESULTADOS	72
3.1 Conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar	72
3.2 Trocas gasosas.....	74
3.3 Crescimento e acúmulo de biomassa	75

3.4 Eficiência do uso da água de irrigação e índice de tolerância	78
4 DISCUSSÃO	78
5 CONCLUSÃO.....	82
REFERÊNCIAS	83

CAPÍTULO 3. PROLINA E NITROPRUSSIATO DE SÓDIO AUMENTAM A TOLERÂNCIA DE *Physalis peruviana* L. AO DÉFICIT HÍDRICO ATRAVÉS DO PRIMING QUÍMICO..... 89

RESUMO.....	90
ABSTRACT	91
1 INTRODUÇÃO	92
2 MATERIAL E MÉTODOS	94
2.1 Material vegetal e condições de cultivo	94
2.2 Aplicação do <i>priming</i> químico	94
2.3 Determinações experimentais.....	96
2.3.1 Conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar.....	96
2.3.2 Trocas gasosas	96
2.3.3 Parâmetros de crescimento e coeficiente de tolerância a seca.....	97
2.5 Análise estatística.....	97
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
CONCLUSÕES.....	106
REFERÊNCIAS	107

CAPÍTULO 4. USO DA ESPECTROSCOPIA ATR-FTIR PARA ANÁLISE DA TOLERÂNCIA DE *Physalis peruviana* L. AO DÉFICIT HÍDRICO..... 112

RESUMO.....	113
ABSTRACT	114

1 INTRODUÇÃO	115
2 MATERIAL E MÉTODOS	117
2.1 Material vegetal	117
2.2 Análises espectrais	117
2.3 Análise estatística.....	118
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	120
3.1 Sintomas visuais.....	120
3.2 Análises espectrais	121
CONCLUSÕES.....	132
REFERÊNCIAS	133
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	138

1 INTRODUÇÃO

As plantas estão constantemente sujeitas a estímulos ambientais adversos que afetam desde a germinação de sementes ao seu crescimento (TURGUT-KARA; ARIKAN; CELIK, 2020), sendo a seca o principal fator de estresse abiótico limitante da produção agrícola (LIU et al., 2023). Quase metade da área cultivada mundial enfrenta secas frequentes e contínuas que podem resultar em déficit hídrico no solo, o que representa uma ameaça à segurança alimentar para a população que reside nessas áreas (GHOLAMI ZALI; EHSANZADEH, 2018a), bem como potencial restrição de processos ecossistêmicos (LU et al., 2018). Assim, continuamente são desenvolvidas ferramentas para a convivência com o déficit hídrico, que incluem o manejo do solo, a criação de cultivares, seleção de germoplasma tolerantes de espécies cultivadas e potenciais, uso de pré-tratamentos e de substâncias mitigadoras.

O uso de espécies nativas subexploradas também é uma alternativa para a agricultura em áreas com limitações hídricas. Por exemplo, a espécie *Physalis angulata* L. ocorre naturalmente na região semiárida do Brasil (STEHMANN; KNAPP, 2020) e, além de propriedades medicinais, há potencial para a exploração dos seus frutos. Além dos estudos científicos reportados nos últimos anos (LEITE et al., 2018; OZASLAN et al., 2016), não há relatos de cultivos comerciais dessa espécie em áreas sujeitas à seca. Ainda assim, o uso de substâncias mitigadoras dos efeitos do déficit hídrico, como o óxido nítrico, apresentou bons resultados para a espécie (LEITE et al., 2019).

A fisális vem ganhando espaço no Brasil através da espécie exótica *Physalis peruviana* L., que é de origem dos Andes, e se tornou a espécie mais comercializada do gênero no país (LEITE; NASCIMENTO, 2020). Os seus frutos apresentam alta atividade antioxidante e teores de vitamina C (BAZALAR PEREDA; NAZARENO; VITURRO, 2019), além da possibilidade de consumo das suas folhas e demais órgãos em saladas ou refogados. É importante mencionar o alto valor de comercialização dos seus frutos, o que torna essa espécie uma cultura potencial. Embora seja uma planta de clima temperado, a *Physalis peruviana* apresenta rusticidade e já é explorada comercialmente no semiárido baiano, ainda que incipiente, estando o seu cultivo suscetível aos períodos de secas e de déficit hídrico comuns à essa região.

O desenvolvimento e o uso combinado de ferramentas que promovam a tolerância de plantas ao déficit hídrico, como o *priming* químico, pode estabilizar a produção agrícola e contribuir para a segurança alimentar e nutricional em regiões tropicais semiáridas. Essa técnica pode ser empregada em espécies consideradas subexploradas, como a *Physalis angulata*, e é

baseada no pré-tratamento de plantas através da aplicação de compostos químicos, como doadores de óxido nítrico, prolina e peróxido de hidrogênio. O *priming* em plantas consiste na exposição prévia a um agente estressor abiótico, que ativa de maneira mais rápida e melhor as respostas de defesa, tornando a planta mais tolerante caso seja exposta ao mesmo fator de estresse no futuro (BECKERS; CONRATH, 2007; FILIPPOU et al., 2013).

A tolerância à seca induzida pelo *priming* pode ser conferida a partir de distintos mecanismos, que vão desde a homeostase iônica e proteica à osmorregulação (SAVVIDES et al., 2016), o que envolve a expressão de genes responsivos ao estresse, cujos produtos codificados protegem os componentes celulares do impacto adverso do estresse abiótico (SAKO; NGUYEN; SEKI, 2021). É importante mencionar que essas repostas variam em função da espécie em estudo, do agente *priming* utilizado, do modo de aplicação e da concentração empregada. Por exemplo, a aplicação de óxido nítrico promove desde o fechamento estomático (SHAO; WANG; SHANGGUAN, 2010), proteção dos pigmentos fotossintéticos (HASANUZZAMAN et al., 2018) à incrementos na parte aérea da planta (KAUSAR; SHAHBAZ; ASHRAF, 2013). Aumentos da tolerância de plantas ao déficit hídrico e a outros estresses abióticos também foram reportados com o uso da prolina (BHUIYAN et al., 2019; GHAFFARI et al., 2021; SEMIDA et al., 2020) e do peróxido de hidrogênio (JAMALUDIN et al., 2020; SILVA et al., 2019).

Outras respostas são mensuradas objetivando avaliar o grau de aclimatação das plantas ao estresse, como as trocas gasosas, potencial hídrico e o crescimento. Essas análises, embora essenciais, demandam grande quantidade de insumos e mão de obra, tornando o processo demorado, o que faz necessária a busca por outras ferramentas para avaliar os estudos de tolerância aos estresses abióticos. Nesse sentido, a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) aparece como uma tecnologia emergente. A espectroscopia de infravermelho é uma ferramenta versátil para determinar a composição molecular dos órgãos vegetais, com a vantagem da técnica de FTIR examinar respostas a estímulos com alta sensibilidade (CORTE et al., 2010). Os espectros gerados fornecem informações sobre grupos funcionais, identificando os constituintes orgânicos celulares, como lipídios, proteínas e polissacarídeos presentes nas amostras (RIBEIRO DA LUZ, 2006).

As análises FTIR apresentaram resultados promissores em estudos sobre estresses abióticos (LIU et al., 2019, 2020). Trabalhos pioneiros com espécies de fisális empregaram a técnica de refletância total atenuada (ATR) no FTIR para avaliar mudanças biomoleculares na composição dos distintos órgãos vegetais promovidas pela fertilização nitrogenada (LEITE et

al., 2018, 2021), constituindo uma rápida e precisa medida para o manejo dessa adubação. Dessa forma, a tecnologia de espectroscopia de infravermelho também poderá contribuir para a compreensão de mecanismos de tolerância ao déficit hídrico em plantas de fisális, uma vez que trabalhos anteriores mostraram que as espécies *Physalis angulata* e *Physalis peruviana* não são tolerantes ao déficit hídrico (LEITE, 2019; LIMA, 2020; SOUZA; AMORIM, 2009).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso do nitroprussiato de sódio (doador de óxido nítrico), peróxido de hidrogênio e prolina como possíveis agentes indutores da tolerância ao déficit hídrico em plantas de fisális.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Déficit hídrico na planta

As plantas são expostas a uma variedade de fatores de estresse durante o seu ciclo de vida, como a falta de água no solo, salinidade, altas e baixas temperaturas. Desses, a seca é o estresse abiótico de maior ocorrência mundial, sendo definida como uma redução na disponibilidade hídrica em um agro/ecossistema ao longo do tempo, suficiente para resultar em déficit hídrico no solo (KRAMER, 1983). O fenômeno pode ocorrer em aproximadamente 45% da área agricultável mundial (GHOLAMI ZALI; EHSANZADEH, 2018a) e comprometer severamente a produção agrícola.

Essas áreas são caracterizadas por longos períodos de déficit hídrico no solo em função da quantidade reduzida de precipitação e alta evapotranspiração, sendo a principal restrição de processos ecossistêmicos (LU et al., 2018). O que é comum no Semiárido Brasileiro, região caracterizada pelo balanço hídrico negativo, resultante das precipitações médias anuais inferiores a 800 mm, insolação média de 2800 h ano⁻¹, temperaturas médias anuais de 23° a 27° C, evaporação de 2.000 mm ano⁻¹ e umidade relativa do ar média em torno de 50%, o que pode reduzir a produção dos cultivos (MOURA et al., 2007). Contudo, as plantas possuem mecanismos naturais de tolerância ao déficit hídrico, como o fechamento estomático, inibição da expansão foliar, abscisão foliar e modificações na arquitetura radicular (SIMONTACCHI et al., 2015), além de alterações biomoleculares. Todas essas respostas são governadas pela sinalização celular.

Após a percepção do estresse hídrico, moléculas são ativadas e iniciam uma geração de sinais de oxidação-redução (redox), hormonais e químicos (ASKARI-KHORSGANI; FLORES; PESSARAKLI, 2018), cujas interações controlam as respostas de tolerância ao estresse. Para que uma molécula de sinalização seja eficaz, ela precisa ser produzida sob demanda de forma rápida e eficiente, para induzir efeitos dentro da célula e ser removida rapidamente quando não mais for necessária (NEILL; DESIKAN; HANCOCK, 2003). Espécies reativas de oxigênio (EROs), íons de cálcio, óxido nítrico, ácido abscísico, ácido salicílico e etileno são exemplos de mensageiros secundários das plantas em condições de estresse abiótico.

As EROs são moléculas altamente controladas, capazes de transferir os sinais ambientais, com outros intermediários de sinalização, para a maquinaria genética (SEWELAM; KAZAN; SCHENK, 2016). Durante a atividade metabólica normal, e como resultado da

interação das plantas com estresses abióticos, o O_2 (oxigênio molecular) é capaz de originar estados reativos como os radicais livres (AHANGER et al., 2017; PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015). São exemplos de EROs o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH^{\bullet}) (CECHIN et al., 2015).

O acúmulo das EROs é potencialmente prejudicial a todos os componentes celulares (TAIZ et al., 2017). Contudo, a sua toxicidade pode ser evitada a partir da manutenção do equilíbrio entre a sua produção e a capacidade de eliminação a nível intracelular (CAVERZAN et al., 2016). Os efeitos tóxicos das EROs são neutralizados por sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos. O mecanismo enzimático inclui enzimas como a superóxido dismutase (que converte $O_2^{\bullet-}$ em H_2O_2), catalase e peroxidase (que removem H_2O_2) (SEWELAM; KAZAN; SCHENK, 2016). Já a prolina, compostos fenólicos e flavonoides atuam como antioxidantes não-enzimáticos (DEBNATH et al., 2018).

Entre as EROs, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) parece mais adequado para desempenhar a ação de molécula sinalizadora devido à sua maior estabilidade química e meia-vida mais longa (HUNG; KAO, 2005). É importante mencionar que o H_2O_2 possui um duplo papel nas plantas, desde danos às estruturas celulares quando em alta concentração, à atuação na sinalização celular e reguladora do crescimento em baixas concentrações (CHEESEMAN, 2006; JAMALUDIN et al., 2020; PETROV; VAN BREUSEGEM, 2012). Além dos mecanismos antioxidantes apresentados, outros agentes atuam na eliminação das EROs, como a prolina e o óxido nítrico.

A prolina ($C_5H_9NO_2$) é um aminoácido com funções nas plantas sob estresses ambientais, atuando no ajustamento osmótico, na remoção das EROs e na sinalização celular (VERSLUES; SHARMA, 2010). Em plantas superiores, a sua biossíntese ocorre por meio de duas vias, dependendo da disponibilidade relativa dos substratos alternativos, glutamato (Glu) e ornitina (Orn) (EL MOUKHTARI et al., 2020). Contudo, nem todas as plantas são capazes de produzir em quantidade suficiente este aminoácido para atenuar os efeitos dos estresses abióticos (GHOLAMI ZALI; EHSANZADEH, 2018b). Além dos efeitos diretos na planta, o metabolismo da prolina também influencia na produção do óxido nítrico, uma importante molécula de sinalização.

O óxido nítrico (NO) é uma molécula gasosa e espécie altamente reativa do nitrogênio (RNS) produzida nas células vegetais em condições normais e também sob estresses bióticos e abióticos (NABI et al., 2019). O NO possui várias funções no metabolismo vegetal, atuando como regulador do crescimento, na germinação, na biossíntese de pigmentos fotossintéticos, senescência das plantas e aumento da tolerância ao déficit hídrico (ATAÍDE et al, 2015; LEITE

et al., 2019; MISHINA; LAMB; ZEIER, 2007; SANZ et al., 2015;; ZHANG et al., 2006). A síntese do NO pode ser de forma enzimática, através da ação da enzima redutase do nitrato (NR) ou da sintase do NO (NOS), ou não enzimática, através da redução do nitrito em compartimentos acidificados (BETHKE et al., 2004; FORESI et al., 2010; HASANUZZAMAN et al., 2018)

A compreensão dos mecanismos de sinalização e de tolerância das plantas sob estresses abióticos é essencial para a manutenção da agricultura. A fim de atender às demandas alimentares da população mundial, a melhoria da produção agrícola é indispensável (RODRIGUES et al., 2019), principalmente em condições de déficit hídrico frequente (Figura 1). As principais estratégias e ferramentas para a convivência com essa situação incluem a criação de novas cultivares, seleção de germoplasmas tolerantes de espécies potenciais, utilização de culturas geneticamente modificadas, uso de substâncias para o aumento da tolerância ao déficit hídrico (LEITE et al., 2021a) e o manejo do solo e cobertura vegetal.

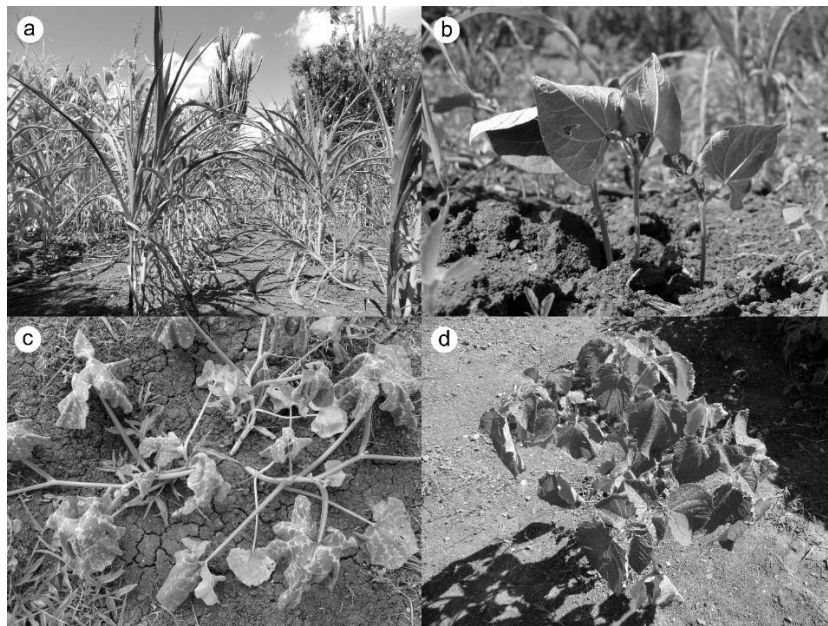


Figura 1. Plantas em condições de déficit hídrico na região do semiárido baiano em ambiente agrícola: (a) *Zea mays* L.; (b) *Phaseolus vulgaris* L.; (c) *Cucurbita moschata* D.; e em ambiente natural: (d) *Physalis* sp. Fonte: autoria própria.

2.2 Ferramentas de tolerância ao déficit hídrico

A busca por ferramentas que promovam o aumento da tolerância das plantas ao déficit hídrico e demais estresses abióticos é fundamental para a manutenção da produção agrícola nestas condições. Nos últimos anos, os melhoristas de plantas têm usado tecnologias, a exemplo

da genômica, para produzir variedades com bom desempenho em condições adversas de cultivo, como o déficit hídrico (LANGRIDGE; REYNOLDS, 2015; MAROK; MAROK-ALIM; REY, 2021). Por outro lado, pesquisadores buscam compreender os efeitos do uso de bioestimulantes e osmoprotetores em plantas cultivadas e não-cultivadas sob estresses abióticos (LEITE et al., 2019; SOURI et al., 2020; SOUSA et al., 2020).

O uso de substâncias para induzir o aumento da tolerância ao déficit hídrico e outros estresses abióticos se destaca na pesquisa e no campo. A aplicação dos bioestimulantes pode ser realizada de duas formas: na primeira, as substâncias são empregadas quando as plantas se encontram em condições de déficit hídrico no solo, na qual a aplicação tem a finalidade de reverter os efeitos do estresse; na segunda forma, de mais recente uso, é caracterizada pela aplicação dos compostos químicos previamente ao agente estressor, técnica denominada de *priming* químico (Figura 2).

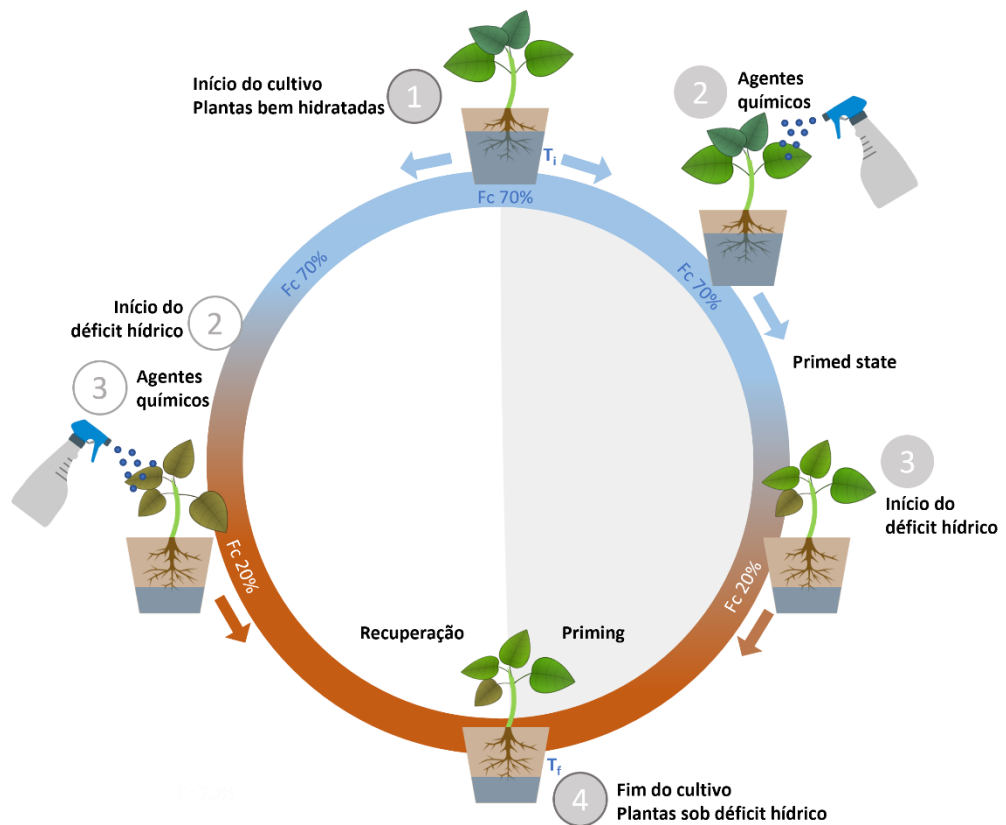


Figura 2. Recuperação dos efeitos do déficit hídrico (à esquerda) e aplicação do *priming* químico em plantas (à direita). Na recuperação das plantas sob déficit hídrico (2, esquerda), os agentes químicos são pulverizados em plantas cultivadas na capacidade de campo do vaso (Fc) de 20% (3) e o experimento é finalizado após um determinado tempo t (4). Já no *priming*, a pulverização é realizada em plantas ainda bem hidratadas (2, direita; Fc de 70%), seguida pelo início do déficit hídrico (3) até o final do experimento (4) em um determinado tempo t . T_i =tempo inicial; T_f = tempo final. Fonte: autoria própria.

O *priming* consiste na exposição prévia a um fator de estresse (BECKERS; CONRATH, 2007), a partir da qual, as plantas são capazes de ativar respostas de defesa de maneira rápida, melhor ou ambas (FILIPPOU et al., 2013). Além disso, as plantas adquirem uma forma de “memória de estresse” em que retêm sua resposta a um estresse inicial, que a prepara para um segundo momento de estresse, permitindo-lhes respostas mais efetivas (*primed state*) (SAVVIDES et al., 2016).

Para Antoniou et al., (2020) é possível fazer uma analogia entre o *priming* e o conceito de vacinação em animais, no qual a administração de material antígeno resulta na estimulação da imunidade adaptativa a uma doença e na prevenção ou melhora dos efeitos da infecção por patógenos. Nas plantas, segundo os mesmos autores, a preparação pode ser realizada pela aplicação de compostos químicos naturais ou sintéticos que atuam como transdutores de sinais, ativando os sistemas de defesa da planta.

O *primed state* pode ser alcançado nas plantas a partir da aplicação de agentes químicos, como doadores de óxido nítrico (NO), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e prolina (C₅H₉NO₂). Assim, passa-se a denominar a técnica como “*priming* químico”. As respostas ao *priming* são moduladas por mecanismos moleculares, como a regulação transcricional e modificações pós-traducionais (SANI et al., 2013; SAVVIDES et al., 2016) e foram demonstradas em diversas espécies, como *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (FLEMING et al., 2019), *Ocimum basilicum* L. (GOHARI et al., 2020), *Triticum aestivum* L. (HAMEED et al., 2020) e *Persea americana* Mill. (JOSHI et al., 2019).

A aplicação de doadores de NO demonstra mitigar os efeitos de estresses abióticos nas plantas, atuando na melhoria de respostas fisiológicas bem como na manutenção do crescimento e do desempenho vegetal. Nestas condições, o aporte de NO exógeno pode promover o fechamento estomático, atuar na proteção dos pigmentos fotossintéticos, melhorar a fotossíntese, aliviar a redução da área foliar e promover incrementos na parte aérea das plantas (FATMA; KHAN, 2014; HASANUZZAMAN et al., 2018; KAUSAR; SHAHBAZ; ASHRAF, 2013; LIU; GUO, 2013; SHAO et al., 2010; SILVEIRA et al., 2016).

O aporte de prolina e de peróxido de hidrogênio também aumenta a tolerância das plantas ao déficit hídrico e outros estresses abióticos. Por exemplo, a aplicação de prolina aliviou os efeitos tóxicos do arsenato em mudas de *Solanum melongena* L. (SINGH et al., 2015), melhorou o crescimento e a fotossíntese em *Allium cepa* L. (SEMIDA et al., 2020) e reduziu os danos oxidativos de *Brassica rapa* L. sob déficit hídrico (BHUIYAN et al., 2019). Semelhantemente, o tratamento de plantas de *Ficus deltoidea* Jack com peróxido de hidrogênio aumentou a altura das plantas, a taxa fotossintética líquida, a condutância estomática e o

conteúdo de clorofila (JAMALUDIN et al., 2020). O uso do H₂O₂ atenuou os efeitos deletérios da salinidade da água sobre a condutância estomática, taxa de assimilação de CO₂ e no teor de clorofila em plantas de *Annona muricata* L. (SILVA et al., 2019).

Está claro que o uso de doadores de óxido nítrico, da prolina e peróxido de hidrogênio melhora as respostas das plantas aos estresses abióticos. Contudo, é fundamental levar em consideração a espécie em avaliação, a forma de aplicação (recuperação ou *priming*, p.ex.) e os doadores utilizados, por isso, buscar ferramentas que possam avaliar o efeito destes pré-tratamentos é essencial para compreensão dos mecanismos empregados pelas plantas no aumento da tolerância ao estresse.

2.3 ATR-FTIR para análises de estresses abióticos

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) oferece uma forma rápida e não destrutiva de obter uma impressão digital bioquímica das amostras, onde os principais grupos funcionais podem ser identificados, fornecendo informações estruturais sobre os compostos químicos presentes (PALACIO et al., 2014). Além disso, parece ser uma ferramenta viável para analisar variações nas proporções dos principais compostos orgânicos das plantas em função das condições ambientais (DURAK; DEPCIUCH, 2020).

Estudos indicam que as análises via FTIR apresentam resultados promissores para plantas em condições de estresses abióticos (LIU et al., 2019, 2020). Espectros de órgãos de plantas de *Physalis* cultivadas em distintas doses de nitrogênio apresentaram alterações em grupos funcionais relacionados à celulose, pectina e demais compostos fenólicos (LEITE et al., 2018a), bem como é possível observar mudanças a nível de carboidratos, lipídios e proteínas (LEITE et al., 2021), constituindo um método preciso para a gestão dessa fertilização e demonstrando a versatilidade das análises FTIR. Contudo, não há relatos de investigações com o uso dessa ferramenta para avaliar a eficiência de pré-tratamentos indutores de tolerância ao déficit hídrico em plantas de *Physalis*.

A caracterização das mudanças biomoleculares que ocorrem nas plantas quando estão sob déficit hídrico é importante para a compreensão dos mecanismos fisiológicos que são ativados e, conseqüentemente, auxilia o manejo adequado em cultivos sob essas condições. Estudos anteriores demonstram que o déficit hídrico promove alterações em níveis de aminoácidos, proteínas, lipídeos, carboidratos e ligninas (ALVAREZ et al., 2008; CHUKWUMA et al., 2017), contudo, essas mensurações quando realizadas de maneira

convencional demandam tempo e maior mão de obra, o que torna essencial a utilização de outras ferramentas que possam auxiliar nas análises, como as análises espectrais.

2.4 Fisális

Fisális é um dos nomes comuns para as espécies do gênero americano *Physalis* L., nome que tem sua origem no grego e faz referência ao cálice (conjunto das sépalas), uma estrutura que envolve o fruto, comum a todas as espécies (VARGAS-PONCE et al., 2016; LEITE; NASCIMENTO, 2020). O gênero surgiu há pelo menos 52 milhões de anos (WILF et al., 2017) e atualmente possui mais de 100 espécies (SILVA et al., 2016) cultivadas ou não ao redor do mundo, com destaque para *Physalis angulata*, *Physalis peruviana* e *Physalis ixocarpa* Brot. que despontam pela produção de frutos utilizados para diversos fins (SOUZA et al., 2017), além de potenciais e usos medicinais (LEITE, 2019).

A *Physalis angulata* é nativa do Brasil (LORENZI; MATOS, 2008) e ocorre naturalmente no semiárido brasileiro, onde é conhecida popularmente por camapú (LEITE et al., 2018a) ou canapú (Figura 3). Além das pesquisas realizadas nos últimos anos, a espécie é um recurso genético subexplorado com distintas funções, como fonte de resistência ou tolerância aos estresses ambientais em genótipos promissores (LEITE; NASCIMENTO, 2020); usos na medicina tradicional e potencial para o mercado da fruticultura de pequenas frutas (LEITE, 2019). Tem sido demonstrado potencial anti-inflamatório de extratos do cálice (RIVERA et al., 2019), potencial leishmanicida (SILVA et al., 2018), atividade citotóxica (GAO et al., 2018) e indicativos de propriedades antioxidantes (LEITE et al., 2018b) em estudos recentes.

A *Physalis peruviana*, nativa da região dos Andes, é a espécie mais amplamente distribuída e comercialmente importante do gênero (PUENTE et al., 2011; TREVISANI et al., 2016) (Figura 3). Conhecida como *goldenberry* (IVANOVA et al., 2019) em países de língua inglesa ou simplesmente fisális, os frutos dessa espécie apresentam alta atividade antioxidante e teores de vitamina C (BAZALAR PEREDA; NAZARENO; VITURRO, 2019), sendo comercializados como frutas finas e produzidos em pequenas escalas no Brasil (RODRIGUES et al., 2018) ou importados. Embora seja uma espécie de clima temperado, a *P. peruviana* já é cultivada com fins comerciais no semiárido baiano.

Algumas das espécies do gênero *Physalis* e variedades locais que têm potencial comercial são de baixo valor econômico e o desenvolvimento dessas culturas subutilizadas ou subvalorizadas depende de fatores relacionados ao aumento da qualidade dos frutos, do uso e

potencial de produção para mercado (VARGAS-PONCE et al., 2016), associado ao estabelecimento das técnicas de cultivo. Somado a isso, em condições semiáridas o grande desafio é selecionar plantas que apresentem tolerância ao déficit hídrico (YU et al., 2013) e desenvolver tratamentos que permitam às plantas melhor tolerar esse estresse abiótico e continuarem produtivas. Para isso, é necessário realizar estudos que avaliem as respostas destas espécies à baixa disponibilidade hídrica, associados com a utilização de técnicas capazes de mensurá-las de maneira rápida e eficiente.

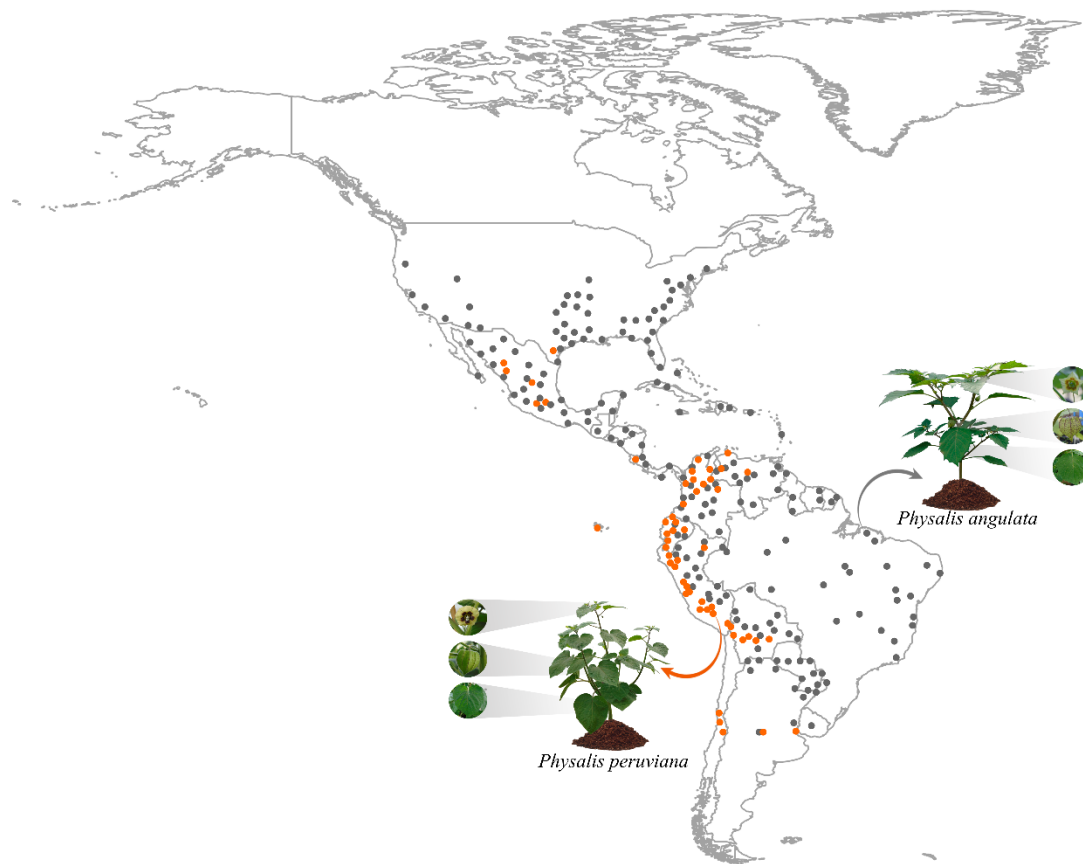


Figura 3. Mapa de distribuição das espécies *Physalis angulata* (cinza) e *Physalis peruviana* (laranja) no continente americano. Adaptado do discoverlife.org. Fonte: autoria própria.

REFERÊNCIAS

- AHANGER, M. A. et al. Plant growth under water/salt stress: ROS production; antioxidants and significance of added potassium under such conditions. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, n. 4, p. 731–744, 2017.
- ALVAREZ, S. et al. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. **Plant, Cell and Environment**, v. 31, n. 3, p. 325–340, 2008.
- ANTONIOU, C. et al. Exploring the potential of nitric oxide and hydrogen sulfide (NOSH)-releasing synthetic compounds as novel priming agents against drought stress in *Medicago sativa* plants. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 120, 2020.
- ASKARI-KHORSGANI, O.; FLORES, F. B.; PESSARAKLI, M. Plant signaling pathways involved in stomatal movement under drought stress conditions. **Advances in Plants & Agriculture Research**, v. 8, n. 3, p. 290-297, 2018.
- ATAÍDE, G. M. et al. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, p. 438-444, 2015.
- BAZALAR PEREDA, M. S.; NAZARENO, M. A.; VITURRO, C. I. Nutritional and antioxidant properties of *Physalis peruviana* L. fruits from the Argentinean Northern Andean Region. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, n. 1, p. 68–75, 2019.
- BECKERS, G. J.; CONRATH, U. Priming for stress resistance: from the lab to the field. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 4, p. 425–431, 2007.
- BETHKE, P. C. et al. Dormancy of *Arabidopsis* seeds and barley grains can be broken by nitric oxide. **Planta**, v. 219, n. 5, p. 847–855, 2004.
- BHUIYAN, T. F. et al. Mitigation of PEG-induced drought stress in rapeseed (*Brassica rapa* L.) by exogenous application of osmolytes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, p. 1–10, 2019.
- CECHIN, I. et al. Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 200–206, 2015.

CHEESEMAN, J. M. Hydrogen Peroxide concentrations in leaves under natural conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 2435–2444, 2006.

CHUKWUMA, C. O. et al. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of maize (*Zea mays*) subjected to progressive drought reveals involvement of lipids, amides and carbohydrates. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 18, p. 1061–1066, 2017.

CORTE, L. et al. Development of a novel, FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) based, yeast bioassay for toxicity testing and stress response study. **Analytica Chimica Acta**, v. 659, n. 1–2, p. 258–265, 2010.

DEBNATH, B. et al. Acid rain deposition modulates photosynthesis, enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities in tomato. **International Journal of Environmental Research**, v. 12, n. 2, p. 203–214, 2018.

DURAK, T.; DEPCIUCH, J. Effect of plant sample preparation and measuring methods on ATR-FTIR spectra results. **Environmental and Experimental Botany**, v. 169, p. 103915, 2020.

EL MOUKHTARI, A. et al. How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development? **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1–16, 2020.

FATMA, M.; KHAN, N. A. Nitric oxide protects photosynthetic capacity inhibition by salinity in indian mustard. **Journal of Functional and Environmental Botany**, v. 4, p. 106–116, 2014.

FLEMING, T. R. et al. Biostimulants enhance growth and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* and exhibit chemical priming action. **Annals of Applied Biology**, v. 174, n. 2, p. 153–165, 2019.

FILIPPOU P. et al. Plant acclimation to environmental stress using priming agents. **In: Plant Acclimation to Environmental Stress**. Springer, New York, p. 1–23, 2013.

FORESI, N. et al. Characterization of a nitric oxide synthase from the plant kingdom: NO generation from the green alga *Ostreococcus tauri* is light irradiance and growth phase dependent. **Plant Cell**, v. 22, p. 3816–3830, 2010.

GAO, C. et al. Cytotoxic withanolides from *Physalis angulata*. **Natural Product Research**, v. 32, n. 6, p. 676-681, 2018.

GHAFFARI, H. et al. Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. **Agricultural Water Management**, v. 243, p. 106448, 2021.

GHOLAMI ZALI, A.; EHSANZADEH, P. Exogenous proline improves osmoregulation, physiological functions, essential oil, and seed yield of fennel. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 133–140, 2018a.

GHOLAMI ZALI, A.; EHSANZADEH, P. Exogenously applied proline as a tool to enhance water use efficiency: Case of fennel. **Agricultural Water Management**, v. 197, p. 138–146, 2018b.

GOHARI, G. et al. Interaction between hydrogen peroxide and sodium nitroprusside following chemical priming of *Ocimum basilicum* L. against salt stress. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 2, p. 361–373, 2020.

HAMEED, A. et al. Alleviation of cadmium toxicity by mercapto-triazole priming in wheat. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 66, n. 11, p. 1467–1480, 2020.

HASANUZZAMAN, M. et al. Nitric oxide-induced salt stress tolerance in plants: ROS metabolism, signaling, and molecular interactions. **Plant Biotechnology Reports**, v. 12, n. 2, p. 77–92, 2018.

HUNG, K. T.; KAO, C. H. Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by hydrogen peroxide. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 46, n. 1, p. 21–28, 2005.

IVANOVA, T. et al. Extracts from physalis leaves (*Physalis peruviana* L.) for prospective application in medicine and cosmetics. **Ukrainian Food Journal**, v. 8, p. 34-44, 2019.

JAMALUDIN, R. et al. Influence of exogenous hydrogen peroxide on plant physiology , leaf anatomy and rubisco gene. **Agronomy**, v. 10, n. 4, p. 497, 2020.

- JOSHI, N. C. et al. 2020. Sodium hydrosulfide priming improves the response of 'photosynthesis to overnight frost and day high-light in avocado (*Persea americana* Mill, cv. "Hass"). **Physiologia Plantarum**, v. 168, p. 394-405, 2020.
- KAUSAR, F.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Protective role of foliar-applied nitric oxide in *Triticum aestivum* under saline stress. **Turkish Journal of Botany**, v. 37, n. 6, p. 1155–1165, 2013.
- KRAMER, P. J. **Water Relations of Plants**. Academic Press, 1983.
- LANGRIDGE, P.; REYNOLDS, M. P. Genomic tools to assist breeding for drought tolerance. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 130–135, 2015.
- LEITE, R. S. et al. Physiological responses of *Physalis angulata* plants to water deficit. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 10, p. 287, 2018.
- LEITE, R. S. **Déficit hídrico e sua atenuação em plantas de fisális (*Physalis angulata* L.)**. 80p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2019.
- LEITE, R. S., NASCIMENTO, M. N. A fisális vai dominar o mundo. **Botânica Pública - Matérias**, p. 9–10, 2020.
- LEITE, R. et al. Nitrogen fertilization affects fourier transform infrared spectra (FTIR) in *Physalis* L. species. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 150, p. 411–417, 2018.
- LEITE, R. et al. Alleviation of water deficit in *Physalis angulata* plants by nitric oxide exogenous donor. **Agricultural Water Management**, v. 216, p. 98–104, 2019.
- LEITE, R. et al. Nitrogen influenced biomolecular changes on *Physalis* L. species studied using 2DCOS spectral analysis coupled with chemometric and Receiver operation characteristics analysis. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 249, p. 119220, 2021.
- LIMA, I. K. F. **Efeito atenuante do óxido nítrico em plantas de *Physalis peruviana* L.** 85p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2020.

- LIU, F.; GUO, F. Q. Nitric oxide deficiency accelerates chlorophyll breakdown and stability loss of thylakoid membranes during dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis*. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, 2013.
- LIU, N. et al. Genotypic and heat stress effects on leaf cuticles of field pea using ATR-FTIR spectroscopy. **Planta**, v. 249, n. 2, p. 601–613, 2019.
- LIU, N. et al. Mid-infrared spectroscopy is a fast screening method for selecting *Arabidopsis* genotypes with altered leaf cuticular wax. **Plant Cell Environment**, v. 43, p. 662-674, 2020.
- LIU, H. et al. Transcription factor ZmNAC20 improves drought resistance by promoting stomatal closure and activating expression of stress-responsive genes in maize. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 5, 4712., 2023.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas** (2nd ed.). Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.
- LU, N. et al. Research advances in ecosystem services in drylands under global environmental changes. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 33, p. 92–98, 2018.
- MAROK, M. A.; MAROK-ALIM, D.; REY, P. Contribution of functional genomics to identify the genetic basis of water-deficit tolerance in barley and the related molecular mechanisms. **Journal of Agronomy and Crop Science**, p. 1–23, 2021.
- MOURA et al. Clima e água de chuva no Semi-Árido. In: BRITO, L. T. de L.; MOURA, M. S. B. de; GAMA, G. F. B. (Ed.). **Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2007. p 37-59. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/159649>>. Acesso em: 20 de mar. 2023.
- NABI, R. B. S. et al. Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 161, p. 120–133, 2019.
- MISHINA, T. E.; LAMB, C.; ZEIER, J. Expression of a nitric oxide degrading enzyme induces a senescence programme in *Arabidopsis*. **Plant Cell Environment**, v. 30, p. 39–52, 2007
- NEILL, S. J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. T. Nitric oxide signalling in plants. **New**

Phytologist, v. 159, n. 1, p. 11–35, 2003.

OZASLAN, C. et al. Invasion potential of two tropical *Physalis* species in arid and semi-arid climates: Effect of water-salinity stress and soil types on growth and fecundity. **PLoS ONE**, v. 11, n. 10, p. e0164369, 2016.

PALACIO, S. et al. Gypsophile chemistry unveiled: Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy provides new insight into plant adaptations to gypsum soils. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, e107285, 2014.

PETROV, V. D.; VAN BREUSEGEM, F. Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. **AoB PLANTS**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2012.

PHANIENDRA, A.; JESTADI, D. B.; PERIYASAMY, L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 11–26, 2015.

PUENTE, L. A. et al. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1733–1740, 2011.

RIBEIRO DA LUZ, B. Attenuated total reflectance spectroscopy of plant leaves: A tool for ecological and botanical studies. **New Phytologist**, v. 172, n. 2, p. 305–318, 2006.

RIVERA, D. E. et al. A screening of plants used in Colombian traditional medicine revealed the anti-inflammatory potential of *Physalis angulata* calyces. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1758–1766, 2019.

RODRIGUES, J. et al. Source–sink regulation in crops under water deficit. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 7, p. 652–663, 2019.

RODRIGUES, M. H. B. S. et al. Phenological characterization and productivity of the *Physalis peruviana* L., cultivated in greenhouse. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 9, p. 234-243, 2018.

SOURI, Z. et al. Nitric oxide improves tolerance to arsenic stress in *Isatis cappadocica* Desv. Shoots by enhancing antioxidant defenses. **Chemosphere**, v. 239, p. 124523, 2020.

- SOUSA, L. F. et al. Improving water use efficiency by changing hydraulic and stomatal characteristics in soybean exposed to drought: the involvement of nitric oxide. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 3, p. 576–589, 2020.
- SOUZA, C. L. M. et al. Biometric characteristics of fruits and physiological characterization of seeds of *Physalis* species (Solanaceae). **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 12, n. 3, 277-282, 2017.
- SOUZA, N. K. R.; AMORIM, S. M. C. Crescimento e desenvolvimento de *Physalis angulata* Lineu submetida ao déficit hídrico. *Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais*, v. 7, n. 1, p. 65-72, 2009.
- SAKO, K.; NGUYEN, H. M.; SEKI, M. Advances in chemical priming to enhance abiotic stress tolerance in plants. **Plant & cell physiology**, v. 61, n. 12, p. 1995–2003, 2021.
- SANI, E. et al. Hyperosmotic priming of Arabidopsis seedlings establishes a long-term somatic memory accompanied by specific changes of the epigenome. **Genome Biology**, v. 14, n. 6, p. R59, 2013.
- SANZ, L. et al. Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n.10, p. 2857–2868, 2015.
- SAVVIDES, A. et al. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 4, p. 329–340, 2016.
- SHAO, R.; WANG, K.; SHANGGUAN, Z. Cytokinin-induced photosynthetic adaptability of *Zea mays* L. to drought stress associated with nitric oxide signal: Probed by ESR spectroscopy and fast OJIP fluorescence rise. **Journal of plant physiology**, v. 167, n. 6, p. 472-479, 2010
- SEMIDA, W. M. et al. Exogenously applied proline enhances growth and productivity of drought stressed onion by improving photosynthetic efficiency, water use efficiency and up-regulating osmoprotectants. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109580, 2020.
- SEWELAM, N.; KAZAN, K.; SCHENK, P. M. Global plant stress signaling: Reactive oxygen species at the cross-road. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–21, 2016.

SHAO, R.; WANG, K.; SHANGGUAN, Z. Cytokinin-induced photosynthetic adaptability of *Zea mays* L. to drought stress associated with nitric oxide signal: Probed by ESR spectroscopy and fast OJIP fluorescence rise. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 6, p. 472–479, 2010.

SILVA, A. A. R. et al. Salt stress and exogenous application of hydrogen peroxide on photosynthetic parameters of soursoy TT - Estresse salino e aplicação exógena de peróxido de hidrogênio nos parâmetros fotossintéticos da gravioleira. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 4, p. 257–263, 2019.

SILVA, B. J. M. D. et al. O. In vitro antileishmanial effects of *Physalis angulata* root extract on *Leishmania infantum*. **Journal of Integrative Medicine**, v. 16, n. 6, p. 404–410, 2018.

SILVA, D.F. et al. The production of *Physalis* spp. seedlings grown under different colored shade nets. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 38, n. 2, 257-263, 2016.

SILVEIRA, N. M. et al. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, v. 244, n. 1, p. 181–190, 2016.

SIMONTACCHI, M. et al. Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1–19, 2015.

SINGH, M. et al. Exogenous proline application ameliorates toxic effects of arsenate in *Solanum melongena* L. seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 117, p. 164–173, 2015.

STEHMANN, J. R.; KNAPP, S. *Physalis* in Flora do Brasil. **Flora do Brasil**, 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB14697>>. Acesso em: 11 de agosto de 2021.

TAIZ, L., et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**, sixth ed. Artmed, Porto Alegre, 2017.

TREVISANI, N. et al. Selection of *Physalis* populations for hybridizations, based on fruit traits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, p. 1–8, 2016

TURGUT-KARA, N.; ARIKAN, B.; CELIK, H. Epigenetic memory and priming in plants.

Genetica, v. 148, n. 2, p. 47–54, 2020.

VARGAS-PONCE, O. et al. Traditional management of a small-scale crop of *Physalis angulata* in Western Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 63, n. 8, p. 1383–1395, 2016.

VERSLUES, P. E., SHARMA, S. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. **Arabidopsis Book**, v. 8, p. e0140, 2010.

WILF, P. et al. Eocene lantern fruits from Gondwanan Patagonia and the early origins of Solanaceae. **Science**, v. 355, n. 6320, p. 71–75, 2017.

YU, L. et al. Arabidopsis enhanced drought tolerance1/HOMEODOMAIN GLABROUS11 confers drought tolerance in transgenic rice without yield penalty. **Plant Physiology**, v. 162, n. 3, p. 1378-1391, 2013.

ZHANG, L. et al. Involvement of nitric oxide in light-mediated greening of barley seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v. 63, p. 818–826, 2006.

CAPÍTULO 1

O ÓXIDO NÍTRICO MELHORA AS TROCAS GASOSAS E O CRESCIMENTO DE *Physalis angulata* L. SOB DÉFICIT HÍDRICO

Artigo publicado com o título “Nitric oxide improves gas exchange and growth in *Physalis angulata* plants under water deficit” na revista Australian Journal of Crop Science, v. 15, p. 1238-1245, 2021. <https://10.21475/ajcs.21.15.10.p2930>.

RESUMO

A sensibilização de plantas com doadores de óxido nítrico (NO) pode melhorar a tolerância à estresses abióticos, como o déficit hídrico. A *Physalis angulata* L. é um recurso genético subexplorado de ocorrência em zonas semiáridas do Brasil, possuindo potencial para fruticultura e usos medicinais. Neste experimento, o nitroprussiato de sódio (SNP), um doador de NO, foi pulverizado em três concentrações (0, 50 e 100 μM) aos 25 e 49 dias após o transplante em plantas bem hidratadas e sob déficit hídrico, com o objetivo de avaliar o papel mitigador do NO. Para isso, foram avaliadas as trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, relações hídricas, parâmetros de crescimento e produtividade. O déficit hídrico influenciou negativamente a maioria das variáveis analisadas. No entanto, a pulverização do SNP foi capaz de atenuar, reverter ou atuar na recuperação dos efeitos do estresse. Houve uma melhoria nas trocas gasosas, especialmente na assimilação de carbono, condutância estomática e transpiração; bem como aumento no teor de clorofila total. O NO doado foi capaz de influenciar no *status* hídrico das plantas. Além disso, promoveu o incremento nos parâmetros e índices de crescimento, sobretudo na incorporação de fotoassimilados e produtividade. No entanto, o fornecimento de NO em plantas sob condições bem hidratadas parece não atuar na sua fisiologia e/ou crescimento. O fornecimento de NO em concentrações micromolares é uma importante ferramenta para a promoção da tolerância ao déficit hídrico em plantas de *Physalis angulata*.

Palavras-chave: Incorporação de biomassa. Fotossíntese. Nitroprussiato de sódio. Relações hídricas. Mitigação do déficit hídrico.

ABSTRACT

Plant sensitization with nitric oxide (NO) donors may improve the tolerance to abiotic stresses such as water deficit. *Physalis angulata* L. is a genetic resource growing in semiarid areas of Brazil, with the potential for fruit growing and medicinal uses. In this experiment sodium nitroprusside, a NO donor was sprayed at three concentrations (0, 50 and 100 μ M) at 25 and 49 days after transplantation in well-watered plants and under water deficit to evaluate the NO mitigating role. The gas exchange, photosynthetic pigments, water relations, growth and productivity parameters were evaluated. The water deficit negatively influenced most of the variables analyzed. However, the SNP spray was able to attenuate, reverse or act in the recovery of stress effects. There was an improvement in gas exchange, especially carbon assimilation, stomatal conductance and transpiration; as well as an increase in total chlorophyll content. The donated NO was able to influence the plant water status. Besides, it promoted an increase in growth parameters, especially in photoassimilates incorporation and yield. However, the NO supply to plants under well-watered conditions does not seem to affect the physiology parameters. The NO supply in micromolar concentrations can attenuate or even reverse the water deficit effects on this species, being an important tool for promoting tolerance to this abiotic stress.

Keywords: Biomass incorporation. Photosynthesis. Sodium nitroprusside. Water relations. Water stress mitigation.

1 INTRODUÇÃO

Os frutos de *Physalis* L. têm sido tradicionalmente usados para o consumo humano desde a antiguidade (VARGAS-PONCE et al., 2016), o que, provavelmente, contribuiu para a seleção de plantas mais produtivas e adaptadas às condições ambientais desfavoráveis, como aos longos períodos de déficit hídrico observados no semiárido brasileiro, região de ocorrência natural da espécie *Physalis angulata* L. Essa espécie é nativa do Brasil e ocorre nas áreas tropicais e subtropicais ao redor do mundo (SUN et al., 2011). No entanto, é um recurso genético ainda subexplorado, com usos na medicina tradicional e com potencial para o mercado da fruticultura de pequenas frutas, tornando esta espécie uma alternativa alimentar.

A produção de alimentos nutritivos suficientes em um cenário de mudanças climáticas intensificado, rápido crescimento populacional e urbanização, é um dos grandes desafios enfrentados pela sociedade neste século (ROA et al., 2016). Nesse sentido, é necessário desenvolver tecnologias que viabilizem a produção agrícola em condições edafoclimáticas desfavoráveis, como a seca. A seca é um dos fatores mais limitantes para a produção agrícola em todo o mundo (HUSSAIN et al., 2018).

As plantas podem superar temporariamente o déficit hídrico através de respostas rápidas, por meio do fechamento estomático e de algumas mudanças morfofisiológicas que incluem a inibição da expansão foliar, abscisão foliar e mudanças na arquitetura radicular (SIMONTACCHI et al., 2015). Essas respostas podem provocar reduções no crescimento e produtividade das culturas, em virtude da redução na assimilação de CO₂. No entanto, técnicas modernas vêm possibilitando a melhoria da tolerância aos efeitos dos estresses abióticos, como o déficit hídrico, através da sensibilização de plantas com doadores de óxido nítrico.

O óxido nítrico (NO) é uma molécula gasosa produzida por células vegetais cujas pesquisas recentes mostram que o NO exógeno pode atenuar os efeitos do déficit hídrico em várias espécies (BATISTA et al., 2018; SILVEIRA et al., 2016), embora os mecanismos de ação não estejam completamente esclarecidos. Nos últimos anos, além das grandes culturas, estudos envolvendo o papel do óxido em estresses abióticos foram realizados com espécies subexploradas, como *Isatis cappadocica* Desv. (SOURI et al., 2020) e *Physalis angulata* (LEITE et al., 2019).

Não há dúvidas que o NO é um importante participante do metabolismo e sinalização das células vegetais, no entanto, ainda existem algumas perguntas a serem respondidas,

sobretudo os seus efeitos em culturas subexploradas. A hipótese é que o NO é capaz de melhorar a tolerância ao déficit hídrico em plantas de *Physalis angulata*. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar como o óxido nítrico doado pelo nitroprussiato de sódio pode mitigar os efeitos do déficit hídrico ou melhorar a tolerância em plantas de *P. angulata*, além de compreender o seu papel em plantas sem restrição hídrica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e condições de cultivo

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Unidade Experimental Horto Florestal, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia (12°16'7.99"S, 38°56'21.63"O", 258 m asl), no período de julho a setembro de 2019 (Figura 1). A casa de vegetação utilizada possuía as seguintes características: 3,5 m de pé-direito; 8 m de largura; 24 m de comprimento; lona com 50% de retenção da luminosidade e fotoperíodo natural.

Foram produzidas mudas da espécie *Physalis angulata* a partir da coleção de sementes coletadas no semiárido baiano (FREITAS, 2004) e multiplicadas pelo grupo de pesquisa. As sementes foram semeadas em bandeja de poliestireno preenchidas com substrato comercial e aos 20 dias após a semeadura foi realizado o transplante para os vasos individuais, espaçados 0,6 m entre fileiras e 0,3 m entre plantas. Os vasos foram dispostos sobre suporte a 15 cm do solo. O solo utilizado foi coletado da camada de 0-20 cm de profundidade, com as seguintes características físicas e químicas: pH= 4,7; em g kg⁻¹: areia=851; argila=90; silte=59; em g dm⁻³: M.O.= 16; em mmol_c dm⁻³: Al³⁺=1; K=1,8; Ca=11; Mg=5; H+Al=23; em mg.dm⁻³: P=1; S= 6; B=0,06; Cu=0,8; Fe=49; Mn=2,1 e Zn=2,6. Para a correção do solo foi realizada a calagem com calcário dolomítico por três meses, elevando a saturação por bases para 70%.

2.2 Capacidade de campo do vaso e aplicação dos tratamentos

Para aplicar o déficit hídrico, a capacidade máxima de armazenamento de água pelo solo no vaso (Fc) foi determinada a partir de um ensaio segundo as especificações de Leite et al. (2019). Os vasos de 8 dm³ foram preenchidos com 8,00 kg de solo seco ao ar. Em seguida, foram saturados, vedados com uma película de policloreto de vinila (PVC) e suspensos para drenagem do excesso de água. Ao cessar a drenagem (24 horas), os vasos foram novamente pesados e por diferença de peso foi obtida a máxima capacidade de retenção de água no solo

do vaso. A reposição com água foi realizada de acordo com o método gravimétrico através de pesagens diárias, desprezando-se o acréscimo diário de peso das plantas.

A disponibilidade hídrica inicial do solo foi mantida em 60% da máxima capacidade de retenção de água (Fc) no vaso (plantas bem hidratadas) até o estabelecimento do dossel das plantas, quando foram aplicados os tratamentos. O valor de 60% da Fc foi considerado ideal para o cultivo da espécie de acordo com estudo prévio (LEITE et al., 2018). Em seguida, aos 25 dias após o transplanta (DAT), as plantas foram separadas em dois grupos distintos: plantas bem hidratadas e plantas sob déficit hídrico, ambos pulverizados com uma solução aquosa de nitroprussiato de sódio (SNP, $\text{Na}^2 [\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Êxodo Científica, São Paulo, Brasil) nas concentrações de 0 μM (controle), 50 μM e 100 μM SNP (Figura 1). As plantas bem hidratadas e sob déficit hídrico com 0 μM de SNP foram pulverizadas com água destilada (H_2O). O volume de calda utilizado nas pulverizações foi equivalente a 100 $\text{mL} \cdot \text{m}^{-2}$ e realizadas durante o início da floração (25 DAT) e do enchimento dos frutos (49 DAT), totalizando duas aplicações (LEITE et al., 2019).

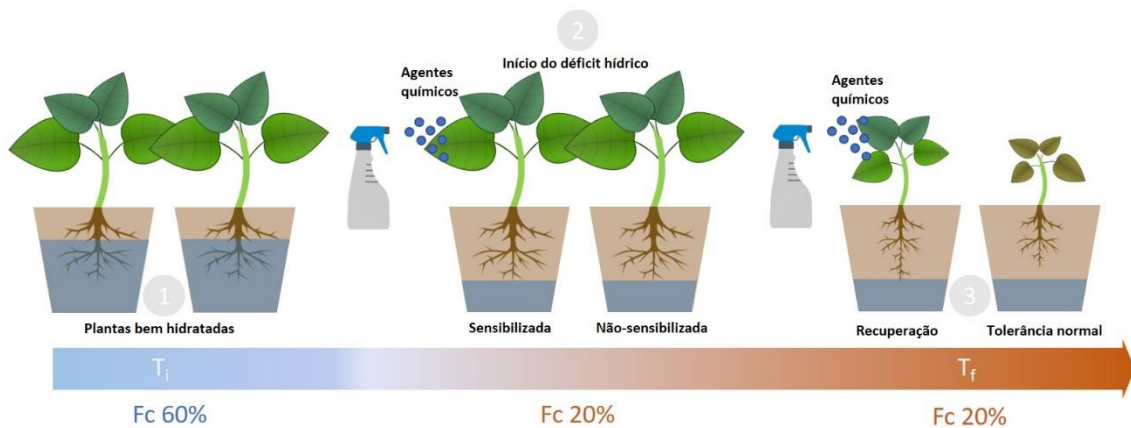


Figura 1. Aplicação do nitroprussiato de sódio (SNP) em plantas para a recuperação dos efeitos do déficit hídrico. Fc: capacidade de campo do solo do vaso; Ti: tempo inicial; Tf: tempo final. Fonte: Autoria própria.

A disponibilidade hídrica para as plantas bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) foi mantida em 60% e 20% da máxima capacidade de retenção de água no solo, respectivamente. O déficit hídrico foi iniciado simultaneamente com a primeira aplicação de SNP, com os seguintes tratamentos: BH + H_2O (0 μM SNP); DH + H_2O (0 μM SNP); BH + 50 μM (50 μM SNP); DH + 50 μM (50 μM SNP); BH + 100 μM (100 μM SNP); DH + 100 μM (100 μM SNP).

2.3 Fertirrigação e caracterização climática

Foi realizada a fertirrigação das plantas a partir do monitoramento da condutividade elétrica do extrato de saturação (OLIVEIRA et al., 2016), utilizando 50% da força iônica da solução nutritiva (pH 6,5) recomendada para o cultivo hidropônico de *Physalis angulata* (LEITE et al., 2017) até o estágio anterior à floração (LEITE et al., 2018). Para caracterização climática das condições experimentais foram realizadas medições diárias de temperatura e umidade relativa do ar com termohigrômetro digital instalado à altura do dossel da cultura no interior do viveiro (Figura 2).

2.4 Determinações experimentais

As determinações experimentais foram realizadas após 25 dias sob déficit hídrico, aos 50 dias após o transplante (DAT) para os vasos individuais.

2.4.1 Mensuração das trocas gasosas e teor de clorofila

As trocas gasosas foram determinadas através de um sistema de fotossíntese portátil - InfraRed Gas Analyzer (IRGA, model CIRAS-3, PPSystems, Amesbury, USA). Foram avaliadas três plantas por tratamento e realizadas duas leituras em cada planta durante 60 segundos. Os parâmetros avaliados foram: a assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); a condutância estomática (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); a taxa de transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e eficiência no uso da água (WUE , $\text{mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$). As medidas foram realizadas entre as 09:00 e 10:00 horas com fluxo de fótons de $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, CO₂ de referência de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e temperatura constante ($\sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

Para a determinação do teor de clorofila total (clorofila $\alpha + \beta$) foram utilizados discos foliares de $0,785 \text{ cm}^2$. Os discos foram imersos em 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO, C₂H₆OS) em tubos vedados e envoltos em papel alumínio. Os teores de clorofila foram expressos em $\mu\text{g.cm}^{-2}$ de acordo com as equações propostas por Wellburn (1994) para extratos em DMSO.

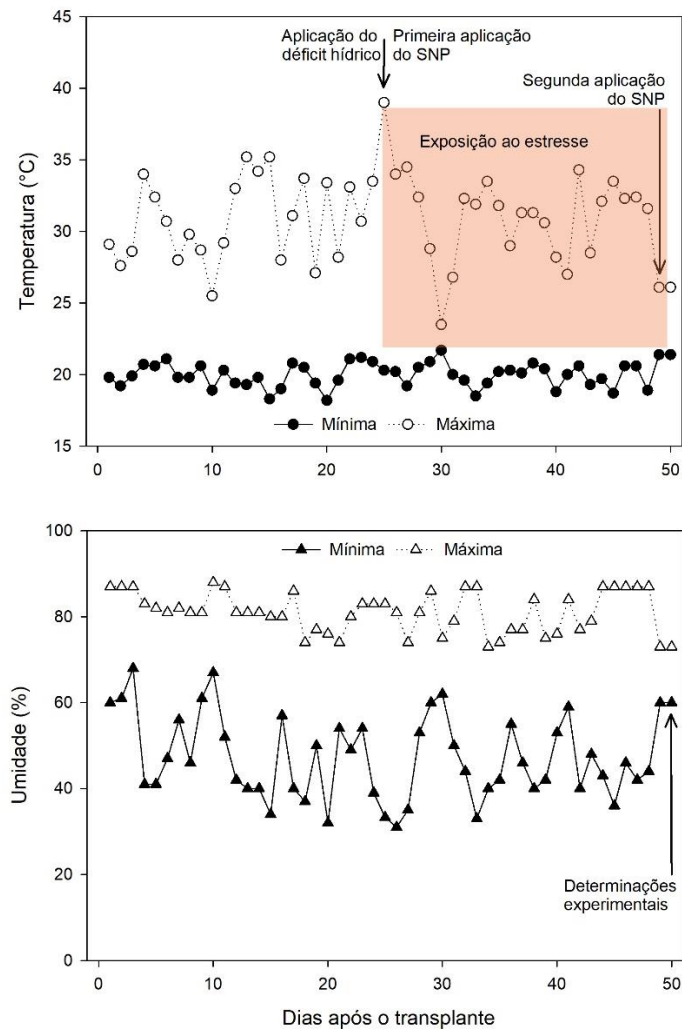


Figura 2. Caracterização climática durante o período experimental: (a) temperatura máxima e mínima do ar; (b) umidade máxima e mínima.

2.4.2 Mensuração das relações hídricas

A determinação do conteúdo relativo de água (CRA) foi feita com base no peso de nove discos foliares (Matéria Fresca - MF, Matéria Túrgida - MT e Matéria Seca - MS) de acordo com a metodologia de Weatherley (1950), utilizando-se a seguinte fórmula: $CRA = [(MF - MS)/(MT - MS)] \times 100$. Os discos foram retirados de folhas localizadas no terço médio de três plantas de cada tratamento e pesados em balança analítica (0,0001 g de precisão). Neste trabalho, o tempo de hidratação em água destilada foi de seis horas e de 24 horas em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C para determinação da matéria seca.

O potencial hídrico foliar ($\psi_{w \text{ foliar}}$) foi determinado no período de antemanhã com auxílio de uma câmara de Scholander (PMS 1000, PMS Instrument, Corvallis, USA) em folhas coletadas no terço médio das plantas e imediatamente foi realizada a leitura. Para ambas as variáveis foram avaliadas três plantas por tratamento.

2.4.3 Parâmetros de crescimento

Para as avaliações de crescimento foram utilizadas cinco plantas por tratamento definidas de forma aleatória. Foram avaliados os seguintes parâmetros: área foliar (cm^2), mensurada através de medidor de área foliar (modelo LI-3100C, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA); produtividade dos frutos, calculada a partir da equação: produtividade = produção por planta (g) x área ocupada por planta ($0,18 \text{ m}^2$). As plantas foram separadas em folhas, caules e raízes para obtenção da matéria seca após a secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C até atingir o peso constante. As seguintes taxas de crescimento foram determinadas: taxa de crescimento absoluto, taxa de crescimento relativo, razão de peso foliar e área foliar específica (CAIRO; OLIVEIRA; MESQUITA, 2008).

2.5 Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com 15 repetições, considerando cada vaso uma unidade experimental. Inicialmente foi realizada a análise da estatística descritiva dos dados, com medidas de tendência central e de dispersão. Após a análise inicial, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância para verificar possível diferença entre os tratamentos. Foram verificados os pressupostos (independência, normalidade e homocedasticidade) da ANOVA. Os resultados foram expressos com a média \pm erro padrão (SE). Foram utilizados os testes de Tukey e Kruskal-Wallis, e os dados obtidos dos parâmetros analisados foram avaliados estatisticamente utilizando o *software* estatístico R (R CORE TEAM, 2015).

3 RESULTADOS

3.1 Trocas gasosas e teor de clorofila

O déficit hídrico reduziu a assimilação de carbono (A), condutância estomática (g_s) e a transpiração (E) em plantas de *Physalis angulata* (Figura 3). A aplicação de nitroprussiato de sódio a 50 μM manteve a A acima de 14 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, contribuindo para a atenuação dos efeitos do déficit hídrico, ao passo que plantas pulverizadas com 100 μM apresentaram o menor valor médio (8,57 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para esta variável nas mesmas condições hídricas do solo (Figura 3 a). Semelhantemente à assimilação de carbono, a aplicação de SNP a 50 μM reverteu os efeitos do déficit hídrico em relação à g_s . Nas plantas pulverizadas com essa concentração, houve um aumento de 33,4 % da g_s (126,33 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em relação às plantas não tratadas (0 μM de SNP + DH, 94,67 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Para a E , não houve melhora com a aplicação de NO em plantas sob restrição hídrica. Plantas bem hidratadas quando pulverizadas com ambas as doses avaliadas apresentaram reduções na E e g_s (Figura 3 b, c), embora não tenha havido diferenças estatísticas. O maior valor médio da eficiência do uso da água (WUE , 5,40 $\text{mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) foi observado em plantas sob déficit hídrico pulverizadas com 50 μM (Figura 3 d). O SNP promoveu o aumento do teor de clorofila total ($\text{Chl}_{\text{total}}$) em plantas sob déficit hídrico (Figura 4). Plantas pulverizadas com 50 μM de SNP + DH apresentaram um incremento médio de 27,4% no teor de clorofila total (40,54 $\mu\text{g.cm}^2$), já para plantas com 100 μM + DH, o aumento foi de 32,4% (42,15 $\mu\text{g.cm}^2$), em comparação às plantas pulverizadas com 0 μM de SNP + DH (31,82 $\mu\text{g.cm}^2$), respectivamente.

3.2 Relações hídricas

O déficit hídrico reduziu o potencial hídrico foliar ($\Psi_{\text{w foliar}}$) em plantas de *Physalis angulata*, no entanto, o fornecimento de NO através do SNP foi capaz de atenuar os seus sintomas (Figura 5). Plantas sob déficit hídrico tratadas com 50 μM de SNP apresentaram aumento no $\Psi_{\text{w foliar}}$ (-0,55 MPa) em comparação às plantas que não foram tratadas com óxido nítrico nas mesmas condições de disponibilidade hídrica (-0,93 MPa). No entanto, a aplicação de SNP não foi capaz de atenuar os efeitos do déficit hídrico em plantas pulverizadas à 100 μM . Não houve diferenças estatísticas para o conteúdo relativo de água nas folhas ($p=0,2489$).

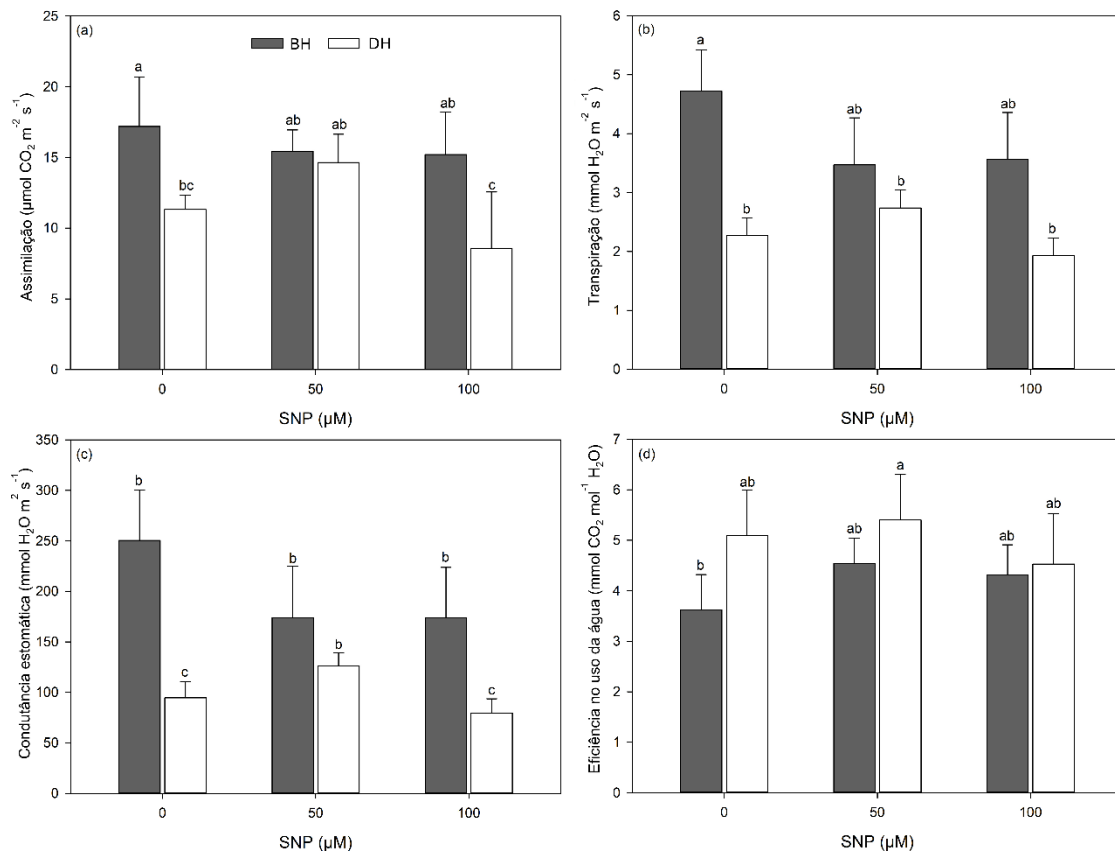


Figura 3. Trocas gasosas em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP: assimilação (a); transpiração (b); condutância estomática (c) e eficiência do uso da água (d). Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

3.4 Crescimento e produtividade

A aplicação de SNP influenciou nos parâmetros de crescimento e produtividade de plantas de *Physalis angulata* em condições de déficit hídrico (Figuras 6 e 7). Plantas sob déficit hídrico tratadas com 50 µM de SNP apresentaram um aumento da taxa de crescimento absoluto (TCA), sendo incorporado 0,10 g.dia⁻¹, o que corresponde um aumento de 66,6% em comparação com plantas não pulverizadas com SNP (0,06 g.dia⁻¹) (Figura 6 a). A pulverização com SNP não influenciou na taxa de crescimento relativo (TCR) em plantas sob déficit hídrico, com as médias variando de 0,08 g g⁻¹ dia⁻¹ a 0,09 g g⁻¹ dia⁻¹ (Figura 6 b). Plantas pulverizadas com 100 µM de SNP apresentaram o maior valor médio da razão de peso foliar (RPF), com 0,28 g⁻¹ g⁻¹ (Figura 6 c). O déficit hídrico reduziu a área foliar específica (AFE) das plantas de *P. angulata* e o fornecimento de SNP não foi capaz de atenuar os seus efeitos (Figura 6 d). No

geral, a aplicação de SNP em ambas as doses não influenciou estes índices de crescimento em plantas bem hidratadas.

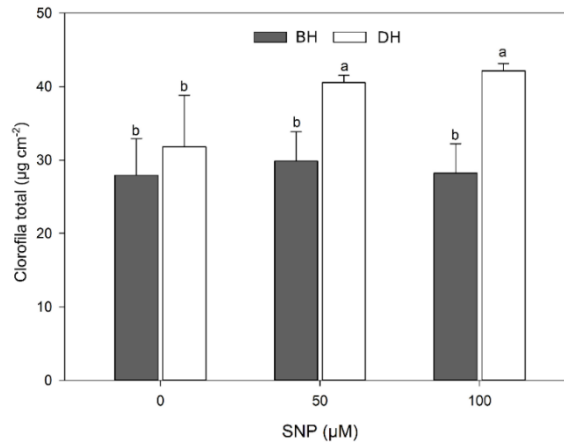


Figura 4. Clorofila total em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP. Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

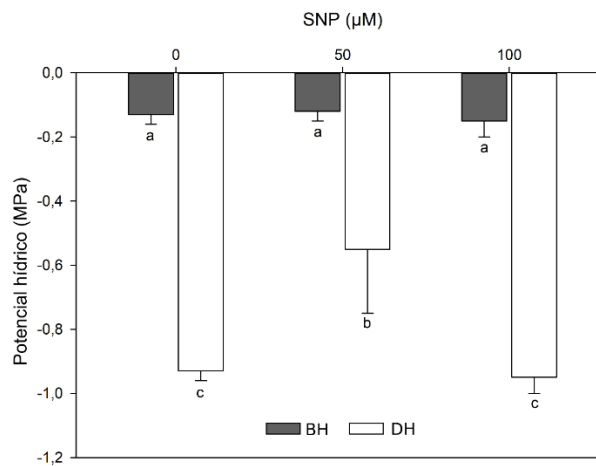


Figura 5. Potencial hídrico foliar em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP. Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

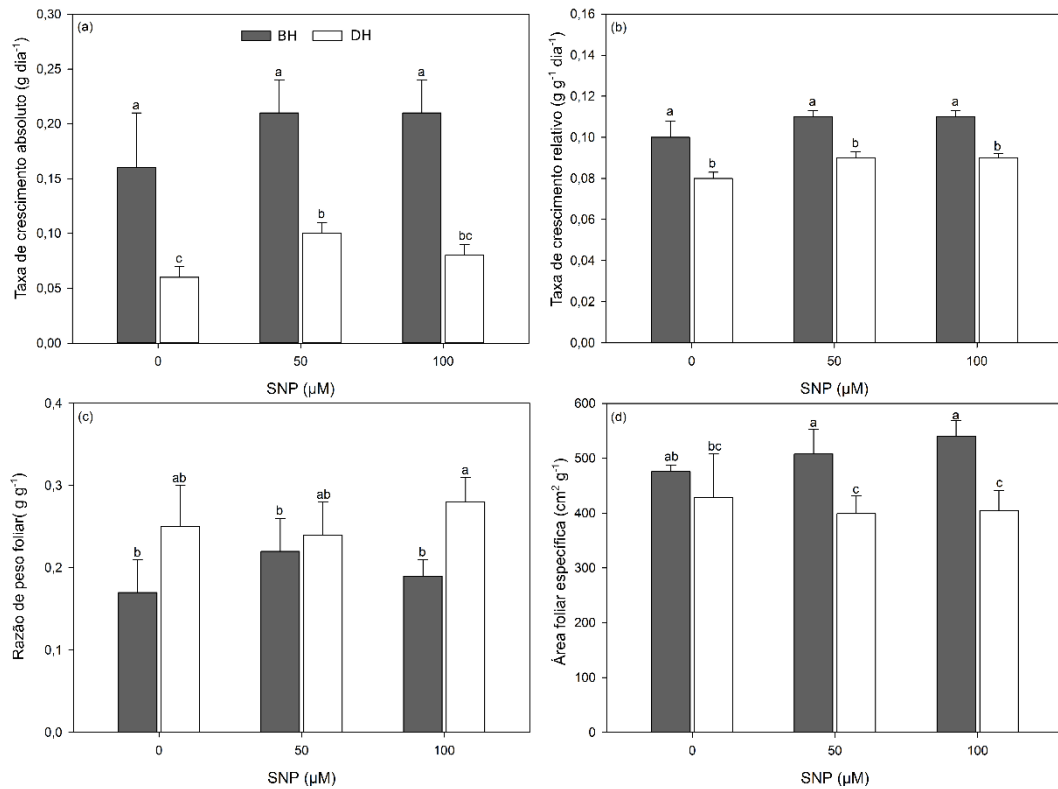


Figura 6. Índices de crescimento em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP: taxa de crescimento absoluto (a); taxa de crescimento relativo (b); razão de peso foliar (c) e área foliar específica (d). Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

A área foliar (AF) foi reduzida com a imposição do déficit hídrico (valores médios variaram de 335,89 cm² a 465,57 cm²), no entanto, foi observado em plantas pulverizadas com ambas as doses de SNP valores semelhantes estatisticamente às plantas bem hidratadas não tratadas com o doador de óxido nítrico (Figura 7 a). Foi observado desempenho semelhante para a massa de matéria seca das folhas (MSF) (Figura 7 b). A massa de matéria seca do caule (MSC) foi reduzida com o déficit hídrico, no entanto, as aplicações de SNP promoveram um incremento de 34,2 % e 12,3 %, para 50 µM e 100µM de SNP, respectivamente (Figura 7 c). Em plantas submetidas apenas ao déficit hídrico, houve redução 37,8% da massa de matéria seca da raiz (MSR), contudo, a aplicação de SNP a 50 µM reverteu os efeitos do déficit hídrico, mantendo a MSR acima de 1,44 g (Figura 7 d). Semelhantemente, a mesma dosagem atenuou os efeitos do déficit hídrico para a massa de matéria seca da parte aérea (MSPA; Figura 7 e).

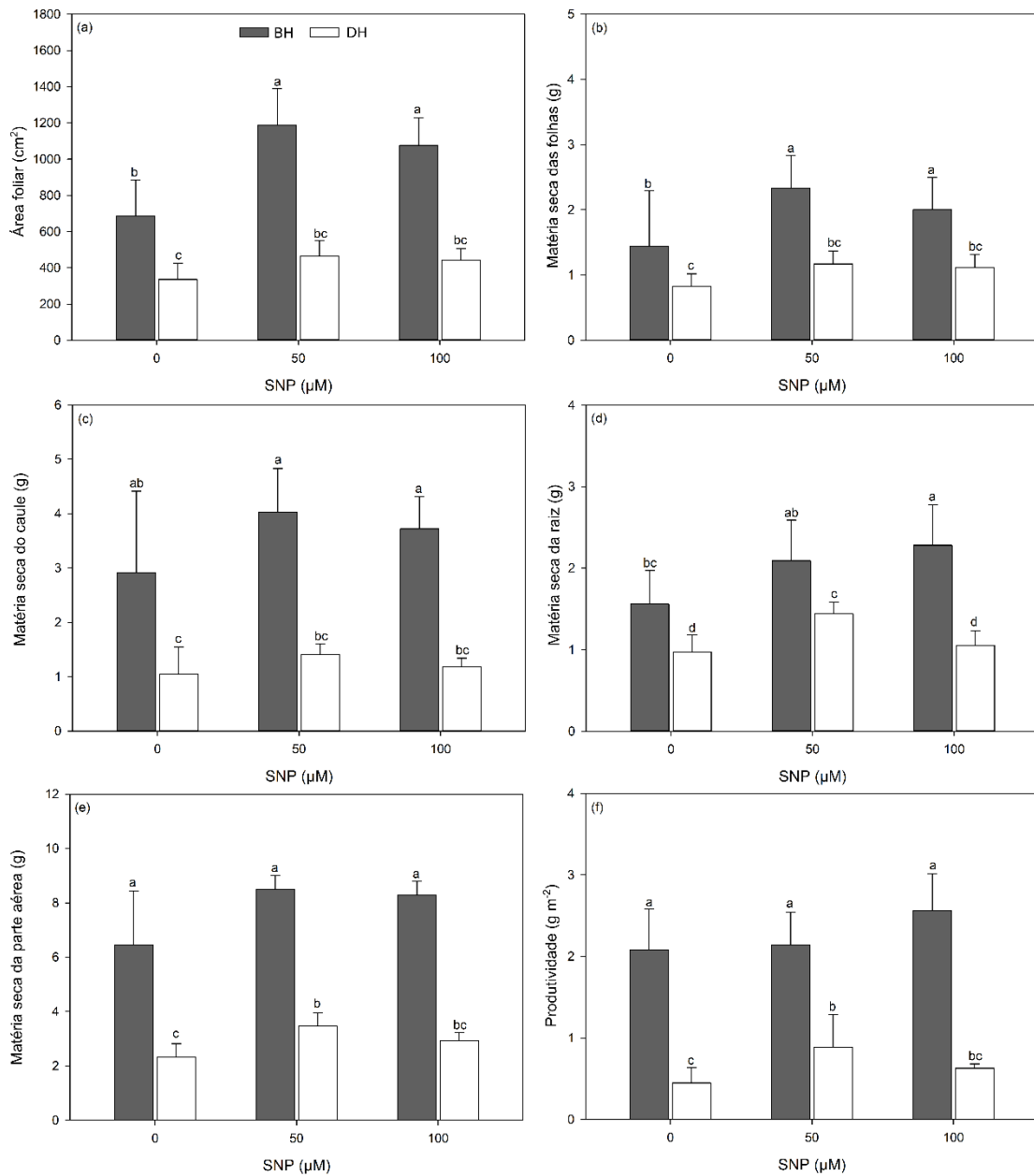


Figura 7. Parâmetros de crescimento em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e sob déficit hídrico (DH) pulverizadas com SNP: área foliar (a); matéria seca das folhas (b); matéria seca do caule (c); matéria seca da raiz (d); matéria seca da parte aérea (e) e produtividade (f). Valores são apresentados pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

Plantas sob déficit hídrico tratadas com 50 µM de SNP apresentaram aumento na MSPA (3,46 g) em comparação às plantas que não foram tratadas com óxido nítrico nas mesmas condições de disponibilidade hídrica (2,32 g). No entanto, a aplicação de SNP não foi capaz de atenuar os efeitos do déficit hídrico em plantas pulverizadas à 100 µM. Quando fornecido,

ambas as doses de SNP promoveram o aumento da área foliar, matéria seca das folhas e matéria seca das raízes em plantas bem hidratadas.

O déficit hídrico também reduziu a produtividade de frutos (Figura 7 f). Ainda assim, o fornecimento de SNP a 50 μM promoveu um incremento de 80,9 % na produtividade comparado às plantas não tratadas, com valor médio de 1,23 g m^{-2} . Plantas bem hidratadas com ou sem o fornecimento de NO apresentaram desempenhos semelhantes, com valores superiores a 2,92 g m^{-2} .

Nesse artigo, mostramos que baixas concentrações micromolares de nitroprussiato de sódio (um doador de óxido nítrico) são capazes de atenuar os efeitos negativos do déficit hídrico em plantas de *Physalis angulata* e promover a melhoria nas taxas fotossintéticas, manutenção do potencial hídrico foliar e parâmetros de crescimento, mas tem pouca influência nos aspectos fisiológicos e de crescimento de plantas em condições de boa irrigação.

4 DISCUSSÃO

Espécies cultivadas em regiões áridas e semiáridas são constantemente confrontadas com o déficit hídrico, resultando em reduções na produtividade (SANTISREE; BHATNAGAR-MATHUR; SHARMA, 2015). Assim, torna-se importante a utilização de novas ferramentas que promovam a tolerância ao déficit hídrico, seja para espécies tradicionalmente cultivadas ou para aquelas subexploradas, ao promover melhoria em rendimento e ao agregar informações sobre mudanças fisiológicas frente às condições ambientais adversas. Pesquisas recentes mostram que o suprimento de óxido nítrico (NO) pode melhorar a tolerância das plantas ao déficit hídrico. Nesse experimento, a pulverização de plantas com nitroprussiato de sódio (SNP), um doador de óxido nítrico, promoveu a atenuação e ou reversão dos efeitos do déficit hídrico em plantas de *Physalis angulata*, em variáveis de trocas gasosas, relações hídricas e índices de crescimento e produtividade (Figura 8).

A baixa disponibilidade hídrica reduziu as trocas gasosas em plantas de *Physalis angulata*, sobretudo a assimilação de CO_2 (*A*) e a transpiração (*E*). Essa redução é um indicativo dos efeitos deletérios do déficit hídrico e de aclimatação da espécie, semelhantemente a outras culturas, como *Crambe abyssinica* Hoechst (BATISTA et al., 2018) e cana-de-açúcar (SILVEIRA et al., 2019), uma vez que a redução da transpiração foliar é um importante mecanismo para evitar a perda de água em condições de déficit hídrico. Consequentemente, essa resposta diminui a disponibilidade de CO_2 para a fotossíntese e

incorporação de biomassa pelas plantas de *P. angulata* (LEITE et al., 2019). Ainda assim, a aplicação de SNP foi capaz de atenuar os efeitos do déficit hídrico sobre a *A*, mesmo sob reduzidos níveis de transpiração (Figura 3).

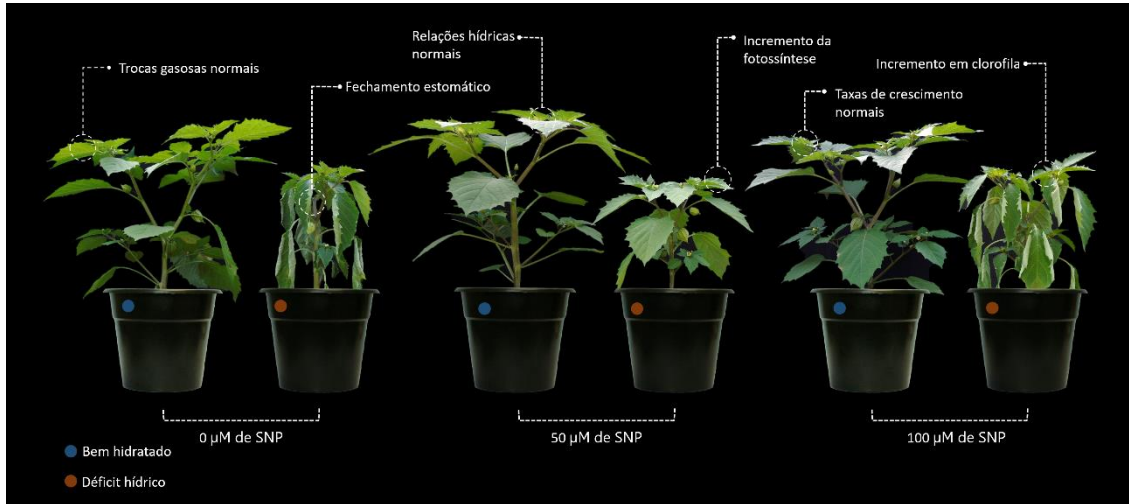


Figura 8. Principais efeitos da aplicação do nitroprussiato de sódio em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas e sob déficit hídrico. Fonte: Autoria própria.

Como a aplicação de NO melhorou a fotossíntese em condições de déficit hídrico? O déficit hídrico reduz a síntese de RNA mensageiros (mRNAs) e promove a degradação de proteínas do fotossistema (PS) II (YUAN et al., 2005), e um mecanismo de regulação da fotossíntese mediada por NO foi parcialmente atribuído à proteção de proteínas funcionais críticas no complexo PS II durante o déficit hídrico (SANTISREE; BHATNAGAR-MATHUR; SHARMA, 2015). Além disso, o doador de NO utilizado neste trabalho, o SNP, é o único capaz de estimular o transporte de elétrons através do PS II (PROCHÁZKOVÁ et al., 2013). A melhora da fotossíntese pelo fornecimento de NO em condições de déficit hídrico foi reportada para outras espécies (SILVEIRA et al., 2016). Somado a isso, tratamentos com óxido nítrico promovem o aumento do teor de pigmentos fotossintéticos em diversas espécies sob estresses abióticos.

Neste estudo, a aplicação de NO promoveu o incremento no teor de clorofila total (Chl total) em plantas de *Physalis angulata* sob déficit hídrico, o que também pode contribuir com a melhora da fotossíntese, uma vez que a Chl participa de processos essenciais, como a captação de energia luminosa e a transferência de elétrons. Além de regular negativamente os níveis de expressão dos genes da via catabólica de Chl, o NO desempenha um papel positivo na manutenção da estabilidade das membranas tilacóides (LIU; GUO, 2013). Sob déficit hídrico, o encapsulamento de S-nitrosoglutationa, um doador de NO, em nanopartículas de

quitosana aumentou o teor de clorofila em plantas de cana-de-açúcar (SILVEIRA et al., 2019). A aplicação foliar de SNP melhorou significativamente o teor de clorofila *a* e clorofila *b* de plantas de brócolis sob estresse hídrico (MUNAWAR et al., 2019).

A aplicação do SNP demonstrou regular as repostas estomáticas em condições bem hidratadas e de déficit hídrico. É comum observar a redução da condutância estomática em plantas submetidas ao déficit hídrico (BATISTA et al., 2018; CASTRO; PUERTOLAS; DODD, 2019), uma vez que a *g_s* está associada ao estado osmótico das células vegetais, no entanto, o fornecimento de NO afeta a sua regulação e induz a abertura estomática (HASANUZZAMAN et al., 2018). As plantas de *Physalis angulata* pulverizadas com SNP a 50 µM + DH apresentaram o maior valor médio da *g_s*, ao mesmo tempo em que a *E* manteve-se igual estatisticamente aos demais tratamentos sob déficit hídrico. Dessa forma, em consonância à A, o fornecimento de NO em plantas sob déficit hídrico promoveu uma melhoria da eficiência do uso da água (*WUE*) (Figura 3), contribuindo para a manutenção hídrica celular (Figura 5).

A observação que aplicações de SNP atenuam as relações hídricas de plantas de *Physalis angulata*, mostra que o NO doado atuou também na manutenção do potencial hídrico foliar. Sob déficit hídrico é comum a variação do potencial hídrico foliar em algumas espécies, acompanhando as flutuações ambientais (MARTÍNEZ-VILALTA et al., 2014). Comparativamente, concentrações micromolares de SNP resultaram no aumento do Ψ_w foliar em plantas de *P. angulata* sob déficit hídrico (LEITE et al., 2019). Ainda assim, essas aplicações não influenciaram no conteúdo relativo de água nas folhas (CRA). No entanto, outros trabalhos verificaram que o fornecimento de NO por diferentes doadores melhora o CRA sob déficit hídrico em plantas de pepino (ARASIMOWICZ-JELONEK; FLORYSZAK-WIECZOREK; KUBIŚ, 2009), tomateiro (JANGID; DWIVEDI, 2017) e canola (AKRAM et al., 2018).

A exposição ao déficit hídrico promoveu uma redução significativa nos parâmetros de crescimento (Figura 6 e 7). Nessas condições, os maiores valores da taxa de crescimento absoluto, que representa a velocidade de crescimento da planta (LEITE et al., 2017), foram observados em plantas pulverizadas com SNP. Semelhantemente à razão de peso foliar (RPF). A RPF é um componente fisiológico que representa a razão entre a matéria seca retida nas folhas e a matéria seca acumulada em toda a planta, refletindo o quanto do que a planta investiu em sua produção (via fotossíntese) permaneceu na folha (COSTA et al., 2006). Dessa forma, esses dados reforçam o papel do óxido nítrico na melhoria do sistema assimilatório das plantas sob déficit hídrico, desde a fotossíntese até a incorporação de fotoassimilados.

Reduções no crescimento em espécies herbáceas sob restrição hídrica, como em plantas de *Physalis angulata*, são comumente relatadas (LIMA et al., 2016; OZASLAN et al., 2016). Nestas condições adversas são comumente observados alguns transtornos fisiológicos, como a redução da expansão celular e morte celular (TAIZ et al., 2017), bem como a redução da assimilação de carbono (Figura 3), o que pode reduzir o crescimento e a produtividade da planta (Figura 6 e 7). É interessante notar que apesar de reduções acentuadas no crescimento, o fornecimento de óxido nítrico foi capaz de atenuar os sintomas do déficit hídrico sobre a área foliar, massa de matéria seca da raiz, foliar e da parte aérea, bem como na produtividade.

Aumentos na incorporação de matéria seca e produtividade induzidos pelo óxido nítrico exógeno em plantas de *Physalis angulata* sob déficit hídrico estão relacionados à fatores já apresentados, como a melhora da assimilação de CO₂, proteção dos pigmentos fotossintéticos e aumento do potencial hídrico foliar. Somado a esses fatores, o NO tem um papel importante no crescimento radicular, como evidenciado neste trabalho (Figura 7), pois medeia a resposta da auxina e modula a expressão de genes reguladores do ciclo celular durante a formação de raízes laterais (CORREA-ARAGUNDE et al., 2006; PAGNUSSAT et al. 2002;). Assim, o NO pode ser utilizado para promover maior tolerância ao déficit hídrico em plantas de *P. angulata*.

CONCLUSÕES

O óxido nítrico doado pelo nitroprussiato de sódio tem pouca influência nas características fisiológicas e de crescimento de plantas de *Physalis angulata* cultivadas sem restrição hídrica. Por outro lado, o uso de 50 μM de SNP pode atenuar ou até mesmo reverter os efeitos do déficit hídrico, sendo uma importante ferramenta para a promoção da tolerância a esse estresse abiótico.

As aplicações de nitroprussiato de sódio são capazes de atenuar os efeitos do déficit hídrico em *Physalis angulata*, atuando na melhoria das trocas gasosas, proteção de pigmentos fotossintéticos e crescimento das plantas.

REFERÊNCIAS

- AHANGER, M. A. et al. Plant growth under water/salt stress: ROS production; antioxidants and significance of added potassium under such conditions. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, n. 4, p. 731–744, 2017.
- ALVAREZ, S. et al. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. **Plant, Cell and Environment**, v. 31, n. 3, p. 325–340, 2008.
- ANTONIOU, C. et al. Exploring the potential of nitric oxide and hydrogen sulfide (NOSH)-releasing synthetic compounds as novel priming agents against drought stress in *Medicago sativa* plants. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 120, 2020.
- ASKARI-KHORSGANI, O.; FLORES F.B.; PESSARAKLI, M. Plant signaling pathways involved in stomatal movement under drought stress conditions. **Advances in Plants & Agriculture Research**, v. 8, n. 3, p. 290-297, 2018.
- ATAÍDE, G. M. et al. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**. v. 38, p. 438-444, 2015.
- BAZALAR PEREDA, M. S.; NAZARENO, M. A.; VITURRO, C. I. Nutritional and antioxidant properties of *Physalis peruviana* L. fruits from the Argentinean Northern Andean Region. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, n. 1, p. 68–75, 2019.
- BECKERS, G. J., CONRATH, U. Priming for stress resistance: from the lab to the field. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, p. 425–431, 2007.
- BETHKE, P. C. et al. Dormancy of Arabidopsis seeds and barley grains can be broken by nitric oxide. **Planta**, v. 219, n. 5, p. 847–855, 2004.
- BHUIYAN, T. F. et al. Mitigation of PEG-induced drought stress in rapeseed (*Brassica rapa* L.) by exogenous application of osmolytes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, p. 1–10, 2019.
- CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genetics and Molecular Biology**, vol. 39, n. 1, p. 1-6, 2016.
- CECHIN, I. et al. Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 200–206, 2015.
- CHEESEMAN, J. M. Hydrogen Peroxide concentrations in leaves under natural conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 2435–2444, 2006.

- CHUKWUMA, C. O. et al. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of maize (*Zea mays*) subjected to progressive drought reveals involvement of lipids, amides and carbohydrates. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 18, p. 1061–1066, 2017.
- CORTE, L. et al. Development of a novel, FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) based, yeast bioassay for toxicity testing and stress response study, **Analytica Chimica Acta**, v. 659, p. 258–265, 2010.
- DEBNATH, B. et al. Acid rain deposition modulates photosynthesis, enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities in tomato. **International Journal of Environmental Research**, v. 12, n. 2, p. 203–214, 2018.
- DURAK, T.; DEPCIUCH, J. Effect of plant sample preparation and measuring methods on ATR-FTIR spectra results. **Environmental and Experimental Botany**, v. 169, p. 103915, 2020.
- EL MOUKHTARI, A. et al. How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development? **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1–16, 2020.
- FATMA, M.; KHAN, N. A. Nitric oxide protects photosynthetic capacity inhibition by salinity in indian mustard. **Journal of Functional and Environmental Botany**, v. 4, p. 106-116, 2014.
- FILIPPOU, P. et al. **Plant acclimation to environmental stress using priming agents**. In: Tuteja, N., Singh Gill, S. (Eds.), *Plant Acclimation to Environmental Stress*. Springer, New York, p. 1-27, 2013.
- FLEMING, T. R. et al. Biostimulants enhance growth and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* and exhibit chemical priming action. **Annals of Applied Biology**, v. 174, n. 2, p. 153–165, 2019.
- FORESI, N. et al. Characterization of a nitric oxide synthase from the plant kingdom: NO generation from the green alga *Ostreococcus tauri* is light irradiance and growth phase dependent. **Plant Cell**, v. 22, p. 3816–3830, 2010.
- GAO, C. et al. Cytotoxic withanolides from *Physalis angulata*. **Natural Product Research**, v. 32, n. 6, p. 676-681, 2018.
- GHAFFARI, H. et al. Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. **Agricultural Water Management**, v. 243, p. 106448, 2021.

GHOLAMI ZALI, A.; EHSANZADEH, P. Exogenous proline improves osmoregulation, physiological functions, essential oil, and seed yield of fennel. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 133–140, 2018a.

GHOLAMI ZALI, A.; EHSANZADEH, P. Exogenously applied proline as a tool to enhance water use efficiency: Case of fennel. **Agricultural Water Management**, v. 197, p. 138–146, 2018b.

GOHARI, G. et al. Interaction between hydrogen peroxide and sodium nitroprusside following chemical priming of *Ocimum basilicum* L. against salt stress. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 2, p. 361–373, 2020.

HAMEED, A. et al. Alleviation of cadmium toxicity by mercapto-triazole priming in wheat. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 66, n. 11, p. 1467–1480, 2020.

HASANUZZAMAN, M. et al. Nitric oxide-induced salt stress tolerance in plants: ROS metabolism, signaling, and molecular interactions. **Plant Biotechnology Reports**, v. 12, n. 2, p. 77–92, 2018.

HUNG, K. T.; KAO, C. H. Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by hydrogen peroxide. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 46, n. 1, p. 21–28, 2005.

IVANOVA, T. et al. Extracts from physalis leaves (*Physalis peruviana* L.) for prospective application in medicine and cosmetics. **Ukrainian Food Journal**, v.8, p. 34-44, 2019.

JAMALUDIN, R. et al. Influence of exogenous hydrogen peroxide on plant physiology, leaf anatomy and rubisco gene expression of the *Ficus deltoidea* Jack var. *Deltoidea*. **Agronomy**, v. 10, p. 497, 2020.

JOSHI, N. C. et al. Sodium hydrosulfide priming improves the response of photosynthesis to overnight frost and day high-light in avocado (*Persea americana* Mill, cv. “Hass”). **Physiologia plantarum**, v. 168, p. 394-405, 2020.

KAUSAR, F.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Protective role of foliar-applied nitric oxide in *Triticum aestivum* under saline stress. **Turkish Journal of Botany**, v. 37, n. 6, p. 1155–1165, 2013.

KRAMER, P. J. **Water Relations of Plants**. Academic Press, 1983.

LANGRIDGE, P.; REYNOLDS, M. P. Genomic tools to assist breeding for drought tolerance. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 130–135, 2015.

- LEITE, R. et al. Alleviation of water deficit in *Physalis angulata* plants by nitric oxide exogenous donor. **Agricultural Water Management**, v. 216, p. 98–104, 2019.
- LEITE, R. S. et al. Nitrogen influenced biomolecular changes on *Physalis* L. species studied using 2DCOS spectral analysis coupled with chemometric and Receiver operation characteristics analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 249, p. 119220, 2021b.
- LEITE, R. S. et al. Physiological responses of *Physalis angulata* plants to water deficit. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 10, p. 287, 2018a.
- LEITE, R. S. et al. Nitrogen fertilization affects Fourier Transform Infrared spectra (FTIR) in *Physalis* L. species. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 150, p. 411-417, 2018b.
- LEITE, R. S., NASCIMENTO, M. N. A fisális vai dominar o mundo. **Botânica Pública - Matérias**. Goiânia, p. 9 - 10, 2020.
- LEITE, R. S. **Déficit hídrico e sua atenuação em plantas de fisális (*Physalis angulata* L.)**. 80p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2019.
- LEITE, R. et al. Alleviation of water deficit in *Physalis angulata* plants by nitric oxide exogenous donor. **Agricultural Water Management**, v. 216, p. 98–104, 2019.
- LIU, F.; GUO, F. Q. Nitric oxide deficiency accelerates chlorophyll breakdown and stability loss of thylakoid membranes during dark-induced leaf senescence in Arabidopsis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, 2013.
- LIU, N. et al. Genotypic and heat stress effects on leaf cuticles of field pea using ATR-FTIR spectroscopy. **Planta**, v. 249, n. 2, p. 601–613, 2019.
- LIU, N. et al. Mid-infrared spectroscopy is a fast screening method for selecting Arabidopsis genotypes with altered leaf cuticular wax. **Plant Cell Environment**, v. 43, p. 662-674, 2020.
- LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.
- LU, N. et al. Research advances in ecosystem services in drylands under global environmental changes. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 33, p. 92–98, 2018.
- MAROK, M. A.; MAROK-ALIM, D.; REY, P. Contribution of functional genomics to identify the genetic basis of water-deficit tolerance in barley and the related molecular

- mechanisms. **Journal of Agronomy and Crop Science**, p. 1–23, 2021.
- MISHINA, T. E., LAMB, C., ZEIER, J. Expression of a nitric oxide degrading enzyme induces a senescence programme in Arabidopsis. **Plant, cell & environment**, v. 30, p. 39–52, 2007.
- NABI, R. B. S. et al. Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 161, p. 120–133, 2019.
- NEILL, S. J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. T. Nitric oxide signalling in plants. **New Phytologist**, v. 159, n. 1, p. 11–35, 2003.
- OLIVEIRA, F. A. et al. Eficiência da fertirrigação nitrogenada e potássica na produção de pimentão cultivado em ambiente protegido. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 59, n.3, p. 293-301, 2016.
- OZASLAN, C. et al. Invasion potential of two tropical *Physalis* species in arid and semi-arid climates: Effect of water-salinity stress and soil types on growth and fecundity. **PLoS ONE**, v. 11, n. 10, p. e0164369, 2016.
- PALACIO, S. et al. Gypsophile chemistry unveiled: Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy provides new insight into plant adaptations to gypsum soils. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, p. e107285, 2014.
- PEREDA, M. S. B., NAZARENO, M. A., VITURRO, C. I. Nutritional and antioxidant properties of *Physalis peruviana* L. fruits from the argentinean northern Andean Region. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, p. 68–75, 2019.
- PETROV, V. D.; VAN BREUSEGEM, F. Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. **AoB PLANTS**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2012.
- PHANIENDRA, A.; JESTADI, D. B.; PERIYASAMY, L. Free Radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 11–26, 2015.
- PUENTE, L. A. et al. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1733–1740, 2011.
- RIBEIRO DA LUZ, B. Attenuated total reflectance spectroscopy of plant leaves: a tool for ecological and botanical studies. **New Phytologist**, v. 172, p. 305–318, 2006.
- RIVERA, D. E. et al. A screening of plants used in Colombian traditional medicine revealed

the anti-inflammatory potential of *Physalis angulata* calyces. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1758–1766, 2019.

RODRIGUES, J. et al. Source–Sink Regulation in Crops under Water Deficit. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 7, p. 652–663, 2019.

RODRIGUES, M. H. B. S. et al. Phenological characterization and productivity of the *Physalis peruviana* L., cultivated in greenhouse. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 9, p. 234-243, 2018.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015.

SAKO, K.; NGUYEN, H. M.; SEKI, M. Advances in Chemical Priming to Enhance Abiotic Stress Tolerance in Plants. **Plant & cell physiology**, v. 61, n. 12, p. 1995–2003, 2021.

SANI, E. et al. Hyperosmotic priming of Arabidopsis seedlings establishes a long-term somatic memory accompanied by specific changes of the epigenome. **Genome Biology**, v. 14, n. 6, R59, 2013.

SANZ, L. et al. Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 2857–2868, 2015.

SAVVIDES, A. et al. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: Mission possible? **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 4, p. 329–340, 2016.

SEMIDA, W. M. et al. Exogenously applied proline enhances growth and productivity of drought stressed onion by improving photosynthetic efficiency, water use efficiency and up-regulating osmoprotectants. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109580, 2020.

SEWELAM, N.; KAZAN, K.; SCHENK, P. M. Global plant stress signaling: Reactive oxygen species at the cross-road. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–21, 2016.

SHAO, R.; WANG, K.; SHANGGUAN, Z. Cytokinin-induced photosynthetic adaptability of *Zea mays* L. to drought stress associated with nitric oxide signal: Probed by ESR spectroscopy and fast OJIP fluorescence rise. **Journal of plant physiology**, v. 167, n. 6, p. 472-479, 2010

SILVA, A. A. R. et al. Salt stress and exogenous application of hydrogen peroxide on photosynthetic parameters of soursop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, p. 257-263, 2019.

- SILVA, B. J. M. D. et al. In vitro antileishmanial effects of *Physalis angulata* root extract on *Leishmania infantum*. **Journal of Integrative Medicine**, v.16, n. 6, p. 404-410, 2018.
- SILVA, D.F. et al. The production of *Physalis* spp. seedlings grown under different colored shade nets. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 38, n. 2, p. 257-263, 2016.
- SILVEIRA, N. M. et al. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, v. 244, n. 1, p. 181–190, 2016.
- SIMONTACCHI, M. et al. Plant survival in a changing environment: the role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 977, 2015.
- SINGH, M. et al. Exogenous proline application ameliorates toxic effects of arsenate in *Solanum melongena* L. seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 117, p. 164–173, 2015.
- SOUZA, C. L. M. et al. Biometric characteristics of fruits and physiological characterization of seeds of *Physalis* species (Solanaceae). **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 12, n. 3, p. 277-282, 2017.
- TAIZ, L., et al. Fisiologia e desenvolvimento vegetal, sixth ed. Artmed, Porto Alegre, 2017.
- TREVISANI, N. et al. Selection of *Physalis* populations for hybridizations, based on fruit traits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, p. 1–8, 2016
- TURGUT-KARA, N.; ARIKAN, B.; CELIK, H. Epigenetic memory and priming in plants. **Genetica**, v. 148, n. 2, p. 47–54, 2020.
- VARGAS-PONCE, O. et al. Traditional management of a small-scale crop of *Physalis angulata* in Western Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 63, n. 8, p. 1383–1395, 2016.
- VERSLUES, P. E., SHARMA, S. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. **Arabidopsis Book**, 8, p. e0140, 2010.
- YU, L. et al. Arabidopsis enhanced drought tolerance1/HOMEODOMAIN GLABROUS11 confers drought tolerance in transgenic rice without yield penalty. **Plant Physiology**, v. 162, p. 1378-1391, 2013.
- ZHANG, L. et al. Involvement of nitric oxide in light-mediated greening of barley seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v. 63, p. 818–826, 2006.

CAPÍTULO 2**CONTROLE DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE *Physalis angulata* L. ATRAVÉS DE *PRIMING* QUÍMICO**

RESUMO

Apesar do uso do *priming* químico como uma ferramenta promissora para o estudo da fisiologia do estresse de plantas e o manejo de culturas de campo, pouco se sabe sobre sua utilização em espécies subexploradas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o uso da nitroprussiato de sódio (SNP), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e prolina (Pro) como possíveis agentes indutores do *priming* químico em plantas de *Physalis angulata* L. expostas ao déficit hídrico. Para isso, plantas em condições bem hidratadas foram pulverizadas com distintas concentrações de SNP (25 e 50 µM), H₂O₂ (10 e 20 mM) e Pro (10 e 20 mM) e avaliadas após a exposição ao déficit hídrico. Os parâmetros de relações hídricas, trocas gasosas, crescimento e acúmulo de matéria seca foram reduzidos com a imposição do déficit hídrico, no entanto, plantas pré-tratadas apresentaram incrementos significantes para essas variáveis. As plantas sensibilizadas com Pro e SNP apresentaram melhoria no conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar, contribuindo para a manutenção do status hídrico vegetal quando expostas ao déficit hídrico. A atenuação dos efeitos da reduzida disponibilidade hídrica sobre as trocas gasosas foi promovida com o uso do SNP, notadamente assimilação de carbono, condutância estomática e transpiração, além de incrementar o teor de pigmentos fotossintéticos. O pré-tratamento também influenciou o crescimento (com Pro 10 e 20 mM; SNP 50 µM) e o acúmulo de biomassa em plantas expostas ao déficit hídrico (especialmente com SNP 50 µM), contribuindo para o aumento da tolerância da espécie. O pré-tratamento com H₂O₂ promoveu efeito *priming* reduzido. O pré-tratamento das plantas com nitroprussiato de sódio e prolina contribuem para a atenuação dos efeitos do déficit hídrico em *Physalis angulata*, agindo como potenciais agentes do *priming* químico.

Palavras-chave: Atenuação do déficit hídrico. Nitroprussiato de sódio. Peróxido de hidrogênio. Prolina. Espécie subexplorada.

ABSTRACT

Despite the use of chemical priming as a promising tool for the study of plant stress physiology and the management of field crops, little is known of its importance when studying adult plants, especially in unexploited species. The aim of this work was to evaluate the use of sodium nitroprusside (SNP), hydrogen peroxide (H₂O₂) and proline (Pro) as possible chemical priming inducing agents in *Physalis angulata* L. plants exposed to water deficit. For this, plants in well-watered conditions were sprayed with different concentrations of SNP (25 and 50 µM), H₂O₂ (10 and 20 mM) and Pro (10 and 20 mM) and evaluated after exposure to water deficit. Although the parameters of water relations, gas exchange, growth and dry matter accumulation were reduced with the imposition of water deficit, pretreated plants showed significant improvements in the same variables. Plants sensitized with Pro and SNP doses showed improvement in relative water content and water leaf potential, contributing to the maintenance of plant water status when exposed to water deficit. The attenuation of the effects of reduced water availability on gas exchange was significantly promoted with SNP spraying, notably carbon assimilation, stomatal conductance and transpiration, parallel to an increasing in the photosynthetic pigment content. The pretreatment also influenced the growth (with Pro 10 and 20 mM; SNP 50 µM) and biomass accumulation of plants exposed to water deficit (especially with SNP 50 µM), contributing to tolerance increase to this abiotic stress. Pretreatment with hydrogen peroxide had a reduced priming effect. The pretreatment of plants with sodium nitroprusside and proline contribute to the attenuation of water deficit effects in *Physalis angulata* plants, acting as potential chemical priming.

Keywords: Water deficit attenuation. Sodium nitroprusside. Hydrogen peroxide. Proline. Unexploited species.

1 INTRODUÇÃO

A seca é o principal estresse abiótico responsável pela redução da produtividade nos agroecossistemas ao redor do mundo. Aproximadamente 45% da área cultivada mundial enfrenta secas frequentes e contínuas, o que representa uma ameaça à segurança alimentar para a população que reside nessas áreas (GHOLAMI ZALI; EHSANZADEH, 2018). As principais estratégias e ferramentas para a convivência com essa situação incluem a criação de novas cultivares, seleção de germoplasmas tolerantes de espécies potenciais, utilização de culturas geneticamente modificadas e o uso exógeno de osmoprotetores e bioestimulantes.

Nos últimos anos, estudos a nível molecular em diferentes espécies apresentaram resultados promissores na compreensão de mecanismos de tolerância ao déficit hídrico (SANI et al., 2013; SARAZIN et al., 2017), bem como pesquisas enfatizaram a indução da tolerância ou atenuação do estresse em culturas potenciais com o uso de substâncias exógenas, como a exposição de plantas de *Isatis cappadocica* Desv. e *Physalis angulata* L. ao óxido nítrico (LEITE et al., 2019; SOURI et al., 2020). Dessa forma, torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas concentradas em aspectos fisiológicos e metabólicos da tolerância aos estresses abióticos, bem como facilitar o desenvolvimento de culturas com capacidade intrínseca de suportar as tensões abióticas.

Qualquer substância aplicada às plantas com o objetivo de aumentar a tolerância durante estresses abióticos, é definida como bioestimulantes (DU JARDIN, 2015) e, quando estas substâncias são altamente solúveis, orgânicas e capazes de agir na osmorregulação celular, são definidas como osmoprotetores (ZULFIQAR; AKRAM; ASHRAF, 2020). Como uma alternativa às metodologias usuais de aplicação de osmoprotetores e bioestimulantes, as plantas podem ser pré-tratadas ou sensibilizadas através do *priming*. A terminologia “*priming*” em plantas envolve a exposição prévia a um agente estressor abiótico, de maneira natural ou induzida, que ativa mais rapidamente e melhor as respostas de defesa, tornando a planta mais tolerante caso seja exposta ao mesmo estresse no futuro (BECKERS; CONRATH, 2007; FILIPPOU et al., 2013). O uso de compostos químicos como agentes *primings* pode aumentar significativamente a tolerância de plantas em várias espécies, cultivadas ou não, contra diferentes estresses abióticos (ANTONIOU et al., 2020). A aplicação dessa técnica é denominada de *priming* químico, e apresenta-se como uma ferramenta eficaz nos estudos de fisiologia do estresse vegetal e no gerenciamento de culturas em campo.

Após sensibilizadas, as plantas podem entrar no estado “sensibilizado” (*primed state*), no qual são capazes de ativar as respostas de defesa ao estresse abiótico de maneira mais rápida,

melhor ou ambas (FILIPPOU et al., 2013). Essas respostas são moduladas por diferentes mecanismos moleculares, como a regulação transcricional (SANI et al., 2013) e modificações pós-traducionais (SAVVIDES et al., 2016), e atuam desde a osmoproteção (HASANUZZAMAN et al., 2014), melhora da fotossíntese (JOSHI et al., 2020) ao aumento de propriedades antioxidantes (GOHARI et al., 2020).

Várias moléculas podem ser utilizadas como agentes indutores do estado “*sensibilizado*” em plantas, como doadores de óxido nítrico (NO), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e prolina (C₅H₉NO₂). O NO é uma molécula gasosa que possui várias funções no metabolismo vegetal, desde regulador do crescimento, germinação, biossíntese de pigmentos fotossintéticos à senescência das plantas (ATAÍDE et al., 2015; MISHINA; LAMB; ZEIER, 2007; SANZ et al., 2015; ZHANG et al., 2006). Além disso, quando fornecido, demonstra atuar na mitigação dos efeitos do déficit hídrico em várias espécies (JANGID; DWIVEDI, 2017; LEITE et al., 2019; SILVEIRA et al., 2019).

Aumento da tolerância ao déficit hídrico e a outros estresses abióticos também são reportados com o uso de prolina (BHUIYAN et al., 2019; DESOKY; RADY, 2018; MERWAD SINGH et al., 2015). A prolina é um aminoácido com diversas funções na interação planta-ambiente, como ajustamento osmótico, proteção da estrutura celular durante a desidratação, remoção de espécies reativas de oxigênio, além de molécula sinalizadora (VERSLUES; SHARMA, 2010). No entanto, nem todas as plantas são capazes de produzir em capacidade suficiente este aminoácido para evitar ou atenuar os efeitos negativos do ambiente (GHOLAMI ZALI; EHSANZADEH, 2018), o que torna necessário avaliar o seu uso exógeno.

O uso de H₂O₂ na mitigação dos efeitos do déficit hídrico é o menos estudado dentre as moléculas já apresentadas. O H₂O₂ ocorre naturalmente nas plantas e possui um duplo papel; em altas concentrações pode causar danos à estruturas celulares e, quando em baixas concentrações, atua como uma potente molécula de sinalização e reguladora do crescimento (CHEESEMAN, 2006; JAMALUDIN et al., 2020; PETROV; VAN BREUSEGEM, 2012), contribuindo para desencadeamento de tolerância contra estresses abióticos. No entanto, a maioria dos estudos de mitigação dos efeitos do déficit hídrico utilizam SNP, H₂O₂ ou a Pro com o objetivo de reversão dos efeitos negativos. Em outras palavras, a sua aplicação é realizada quando a planta já está sob o estresse, não sendo caracterizado o seu uso como *priming* químico. Somando a isso, são escassas as pesquisas que verifiquem o efeito *priming* em plantas subexploradas, como a *Physalis angulata*.

O uso de espécies nativas subexploradas é uma alternativa para a agricultura em áreas com limitações hídricas, uma vez que já são adaptadas e podem melhor tolerar o déficit hídrico. A espécie *Physalis angulata* ocorre naturalmente na região semiárida do Brasil (LEITE et al., 2019) que, além de propriedades medicinais (GAO et al., 2018; RIVERA et al., 2019), tem os seus frutos consumidos em comunidades tradicionais. Além dos estudos científicos reportados nos últimos anos (LEITE et al., 2018; OZASLAN et al., 2016), não há relatos de cultivos comerciais ou particulares dessa espécie em área sujeitas à seca. O desenvolvimento e uso de ferramentas que promovam a tolerância ao déficit hídrico, como o *priming* químico, poderá estabilizar a produção agrícola e contribuir para a segurança alimentar e nutricional em regiões tropicais semiáridas. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso do nitroprussiato de sódio (um doador de óxido nítrico), peróxido de hidrogênio e prolina como possíveis agentes indutores do *priming* químico em plantas de fisális sob déficit hídrico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal, fertilidade do solo e condições de cultivo

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Unidade Experimental Horto Florestal, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia (12°16'7.99"S, 38°56'21.63"O" W, 258 m asl), no período de janeiro a abril de 2020. A casa de vegetação utilizada possuía as seguintes características: 3,5 m de pé-direito; 8 m de largura; 24 m comprimento; lona com 50% de retenção da luminosidade e fotoperíodo natural. Durante a condução do experimento foi realizada a caracterização meteorológica com termohigrômetro instalado na altura do dossel das plantas para determinação da temperatura e umidade (Figura 1). Nesse período, a temperatura e umidade média foi de 31,1 °C e 55,5%, respectivamente.

Foram utilizadas plantas de *Physalis angulata* da coleção de pesquisa da UEFS. As condições de cultivo, fertirrigação, tratos culturais e produção de mudas foram descritas em estudos prévios (LEITE et al., 2018; LEITE et al., 2019). Os vasos foram dispostos sobre suporte a 15 cm do solo. O solo utilizado foi coletado da camada de 0-20 cm de profundidade, com as seguintes características físicas e químicas: pH=6,67; M.O.(%)=1,13; em mg dm⁻³: P=24; K=77; em cmol_c dm⁻³: Al³⁺=0,0; Ca=5,0; Mg=2,0; S=7,37; H+Al=0,96; CTC=8,15; V(%)=87,89.

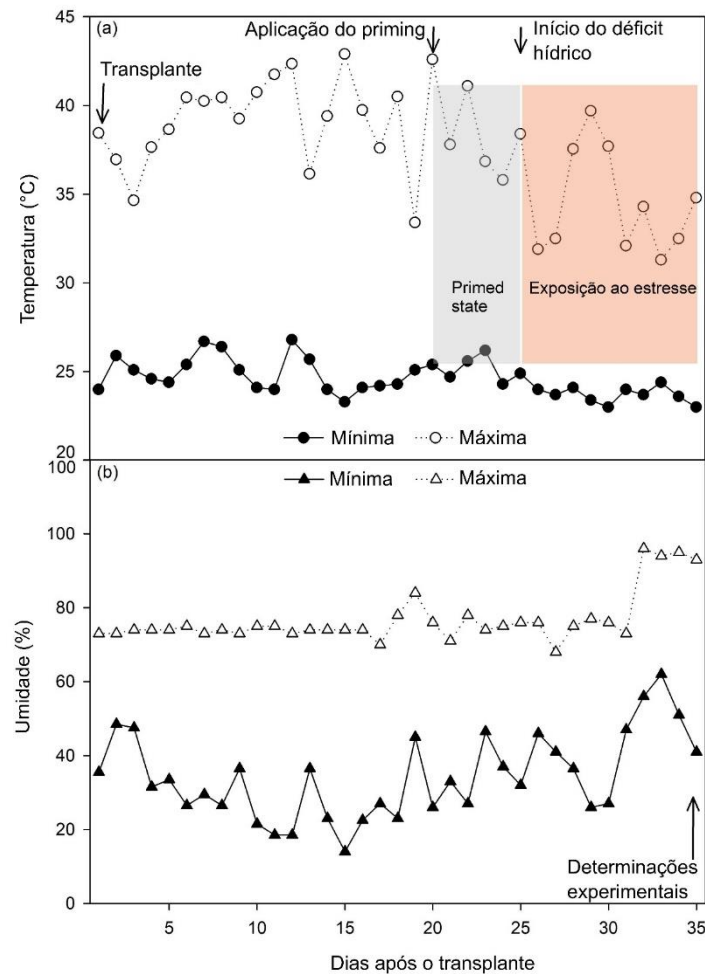


Figura 1. Máximo e mínimo diário de temperatura (a) e umidade (b) durante a condução do experimento.

2.2 Estresse hídrico e aplicação do *priming* químico

Para aplicar o déficit hídrico, a capacidade máxima de armazenamento de água (F_c) pelo solo no vaso foi determinada a partir de um ensaio segundo as especificações de Leite et al. (2019) e Bonfim-Silva et al. (2011). Os vasos de 8 dm^3 foram preenchidos com $8,00 \text{ kg}$ de solo seco ao ar. Em seguida, foram saturados, vedados com uma película de policloreto de vinila (PVC) e suspensos para drenagem do excesso de água. Ao cessar a drenagem (48 horas), os vasos foram novamente pesados em balança digital de 5 g de precisão (BP 15, Filizola, São Paulo, Brasil) e por diferença de peso, foi obtida a máxima capacidade de retenção de água no solo do vaso. A reposição com água foi realizada de acordo com o método gravimétrico através de pesagens diárias às 11:00, desprezando-se o acréscimo diário de peso das plantas.

A disponibilidade hídrica inicial do solo foi mantida em $70 \pm 5\%$ da máxima F_c no vaso (plantas bem hidratadas) até o estabelecimento do dossel das plantas (20 dias após o transplante,

DAT), quando foram aplicados os tratamentos (Figura 2). Para a aplicação do *priming* químico, as plantas ainda em condições bem hidratadas foram pulverizadas em dose única com prolina ($C_5H_9NO_2$) a 10 mM e 20 mM; peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 10 mM e 20 mM; nitroprussiato de sódio ($Na^2 [Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$) a 25 μM e 50 μM ; e água destilada (H_2O) como controle. O volume de calda utilizado nas pulverizações foliares foi equivalente a 100 mL.m⁻² (LEITE et al., 2019), com pulverizador manual a 20 cm de altura das folhas.

Após a sensibilização química, o solo foi mantido com Fc de 70±5% por 5 dias. Em seguida, a irrigação foi suspensa em metade das plantas e monitorada a disponibilidade hídrica até atingir a Fc de 20±5%, quando foi verificado qualquer efeito *priming* sobre as plantas expostas ao déficit hídrico. Foram avaliados os seguintes tratamentos: Fc de 70% + H₂O; Fc de 20% + H₂O; Fc de 20% + SNP a 25 μM ; Fc de 20% + SNP a 50 μM ; Fc de 20% + Prolina a 10 mM; Fc de 20% + Prolina a 20 mM; Fc de 20% + H₂O₂ a 10 mM; Fc de 20% + H₂O₂ a 20 mM.

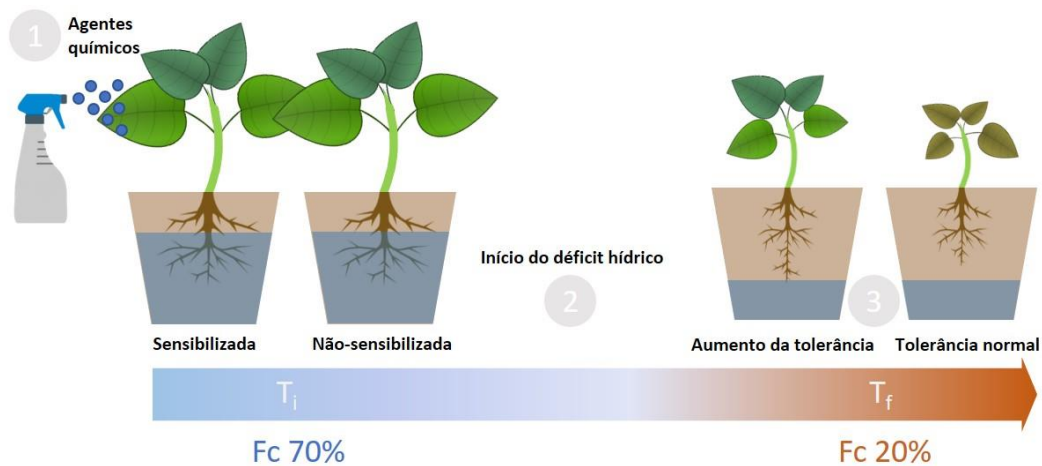


Figura 2. Aplicação de *priming* químico em plantas de *Physalis angulata*. Fc: capacidade de campo do solo do vaso; T_i: tempo inicial; T_f: tempo final. Fonte: autoria própria.

2.3 Determinações experimentais

As determinações experimentais foram realizadas após 10 dias sob déficit hídrico.

2.3.1 Conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar

O conteúdo relativo de água (CRA) foi calculado com base no peso de secções foliares de acordo com Weatherley (1950). O CRA expressa a porcentagem de água presente no momento da amostragem, relativa à quantidade de água em uma folha saturada (TANENTZAP;

STEMPEL; RYSER, 2015). Os discos foram retirados de folhas totalmente expandidas localizadas no terço médio das plantas e imediatamente selados em embalagens herméticas. O tempo de hidratação em água destilada foi de seis horas à temperatura ambiente; e de 24 horas em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C para determinação da matéria seca. Para ambas as variáveis foram avaliadas três plantas por tratamento.

O potencial hídrico foliar (ψ_w foliar), cujos gradientes explicam todo o status hídrico na planta e a manutenção de alto ψ_w foliar está associada a mecanismos de prevenção da desidratação (REDDY, 2019), foi determinado no período de antemã com auxílio de uma câmara de Scholander (PMS 1000, PMS Instrument, Corvallis, USA). Para isso, foram utilizadas folhas coletadas no terço médio das plantas e imediatamente realizada a leitura da pressão de equilíbrio (MPa) após a pressurização com N₂ comprimido, até a saída da seiva na extremidade aberta do pecíolo.

2.3.2 Trocas gasosas e teor de clorofila

As trocas gasosas foram determinadas através de um sistema de fotossíntese portátil - InfraRed Gas Analyzer (IRGA, model CIRAS-3, PPSsystems, Amesbury, USA). Os parâmetros avaliados foram: assimilação de CO₂ (*A*); a condutância estomática (*g_s*) e a taxa de transpiração (*E*). As medidas foram realizadas entre as 09:00 e 10:00 horas com fluxo de fótons de 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, CO₂ de referência de 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e temperatura constante (~ 25 °C). Foram avaliadas três plantas por tratamento, sendo realizado duas leituras em cada planta durante 60 segundos.

Para a determinação do teor de clorofila total (clorofila $\alpha + \beta$) foram utilizados discos de 0,785 cm². Os discos foram imersos em 5 mL de etanol a 95% (TANAN et al., 2017) e 24 horas após a extração, as absorvâncias das amostras foram determinadas nos comprimentos de onda (λ)= 649 e 665 nm em espectrofotômetro (Modelo Femto 800XI, São Paulo, Brasil). Os teores de clorofila foram expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ de acordo com equações propostas por Lichtenthaler (1987) para extratos com etanol.

2.3.3 Parâmetros biométricos de crescimento e matéria seca das plantas

A altura da planta foi determinada utilizando trena graduada (cm), medida entre o colo da planta e a extremidade terminal do ramo principal. O diâmetro do caule foi obtido com paquímetro digital com 0,01 mm de precisão e medido no colo da planta, onde o caule encontra o sistema radicular. A área foliar foi determinada através do método dos discos foliares (LEITE et al., 2019) e o número de folhas através de contagem manual. Para determinação do conteúdo

de matéria seca, as plantas foram seccionadas em frações de folhas, caules e raízes e transferidas para estufa de circulação forçada de ar a 60 °C até atingir peso constante. Para as variáveis de crescimento foram avaliadas cinco plantas por tratamento.

2.3.4 Eficiência no uso da água de irrigação e índice de tolerância

A eficiência no uso da água de irrigação foi determinada pela divisão entre a massa seca total (g) e o total de água aplicada (L) durante o período experimental. Para o cálculo do coeficiente de tolerância à seca (CS) (BLUM; JORDAN, 1985), foram utilizados os dados de matéria seca total de plantas (MSTO) dos tratamentos de déficit hídrico em comparação com plantas bem hidratadas, de acordo com a seguinte equação: $CS = \frac{MSTO_{\text{tratamento sob déficit}}}{MSTO_{\text{tratamento bem hidratado}}}$.

2.4 Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com dez repetições, considerando cada vaso uma unidade experimental. Após a análise inicial, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância para verificar possível diferença entre os tratamentos. Os resultados foram expressos com a média \pm erro padrão (SE) e teste de média de Tukey. Os dados obtidos dos parâmetros analisados foram avaliados estatisticamente utilizando o *software* estatístico Sisvar.

3 RESULTADOS

3.1 Conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar

O déficit hídrico e o pré-tratamento com agentes químicos influenciaram significativamente o conteúdo relativo de água ($p < 0,001$) e o potencial hídrico foliar ($p < 0,0001$; Figura 3). A análise dos parâmetros das relações hídricas indicou que há redução da disponibilidade de água livre celular em plantas de *fenoloxil* sob déficit hídrico sem pré-tratamento, evidenciado pelo baixo conteúdo relativo de água (CRA=68,6%) e o potencial hídrico foliar mais negativo ($\Psi_{w \text{ foliar}} = -0,71$ MPa) quando comparado com plantas bem hidratadas (CRA=93,3%; $\Psi_{w \text{ foliar}} = -0,11$ MPa; Figura 3). Contudo, a sensibilização dessas plantas com prolina (Pro) e nitroprussiato de sódio (SNP) antes do início do estresse promoveu a atenuação dos efeitos negativos durante o déficit hídrico, caracterizando o efeito *priming* ao promover incrementos na CRA (Figura 3 a). As plantas pré-tratadas com Pro e SNP, em ambas

as doses, mantiveram o CRA a níveis semelhantes estatisticamente àqueles mensurados em plantas bem hidratadas. O uso de 10 mM de Pro foi responsável pelo maior valor médio do CRA (87,9%) em plantas sob déficit hídrico, seguido da pulverização com SNP 25 μM (86,1%), Pro 20 mM (81,1%) e SNP 50 μM (79,9%) e, por fim, com o uso de H_2O_2 , que apresentou o menores valores em ambas as doses (H_2O_2 10 mM=73,3% e H_2O_2 20 mM=63,0%).

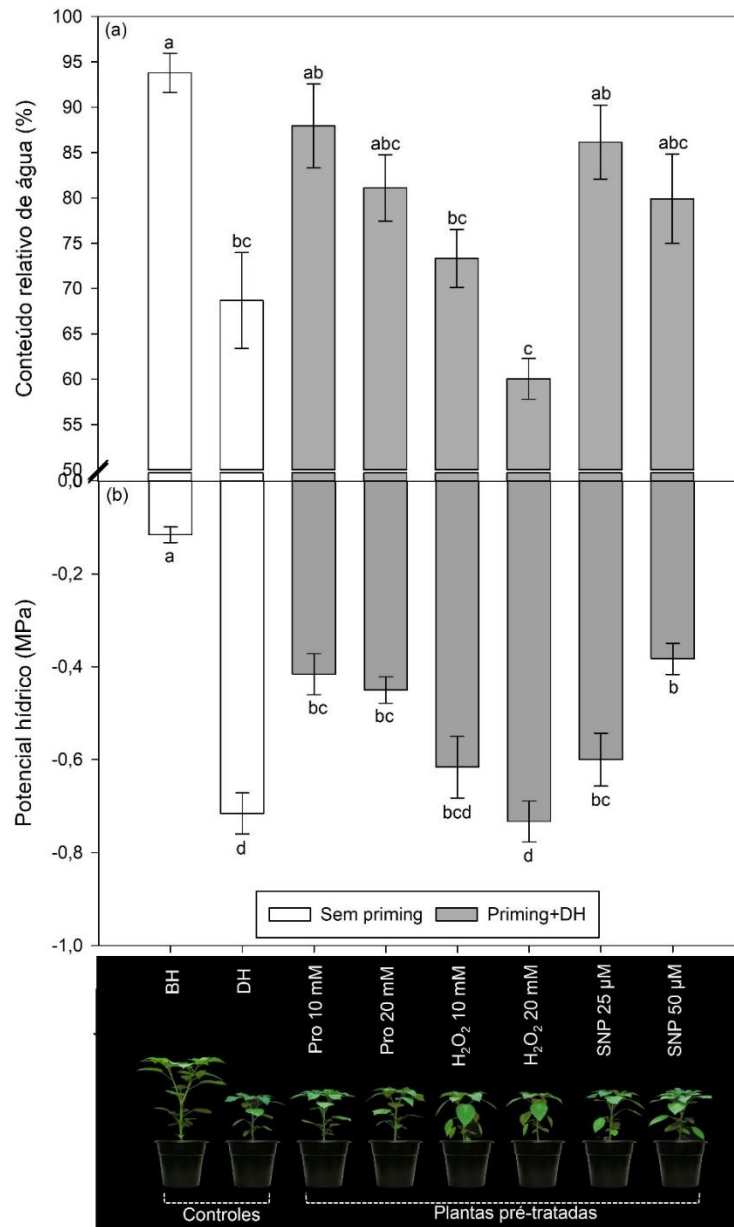


Figura 3. Relações hídricas em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH), pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μM): (a) conteúdo relativo de água e (b) potencial hídrico foliar. Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância

Os agentes químicos foram capazes de atenuar os efeitos do déficit hídrico sobre o potencial hídrico foliar (Ψ_w foliar). Semelhante aos resultados do CRA, o uso de Pro e SNP em pré-tratamento foram mais eficazes na manutenção do Ψ_w foliar menos negativo em comparação com plantas não-tratadas expostas ao déficit hídrico (Figura 3 b). Plantas submetidas ao déficit hídrico após a sensibilização com 50 μ M de SNP apresentaram o maior valor médio para o Ψ_w foliar (-0,38 MPa), seguido das plantas pulverizadas com Pro 10 mM (-0,41 MPa), Pro 20 mM (-0,45 MPa) e SNP 25 μ M (-0,60 MPa) (Figura 3 b). A aplicação de H_2O_2 não apresentou efeito *priming* para a melhora do Ψ_w foliar (H_2O_2 10 mM=-0,61 MPa e H_2O_2 20 mM= -0,73 MPa), com valores semelhantes a plantas não-tratadas sob restrição hídrica (Fc de 20% + H_2O).

3.2 Trocas gasosas

Todas as variáveis de trocas gasosas foram influenciadas pelo déficit hídrico e pré-tratamentos ($p < 0,0001$; Figura 4). O déficit hídrico reduziu a assimilação de carbono (A), condutância estomática (g_s) e a transpiração (E) em plantas de fisális. No entanto, o uso de agentes químicos em pré-tratamento foi capaz de atenuar e até mesmo reverter os efeitos do déficit hídrico. Plantas pulverizadas com 10 mM de H_2O_2 , 25 μ M e 50 μ M de SNP mantiveram a A acima de 10,76 μ mol CO_2 $m^{-2} s^{-1}$ e estatisticamente iguais às plantas bem hidratadas (Fc de 70% + H_2O), contribuindo para a atenuação dos efeitos do déficit hídrico, ao passo que plantas pulverizadas com 20 mM de H_2O_2 apresentaram o menor valor médio (4,15 μ mol CO_2 $m^{-2} s^{-1}$) semelhante àquelas plantas não-tratadas sob déficit hídrico (4,37 μ mol CO_2 $m^{-2} s^{-1}$; Figura 4 a). Ainda sobre esta variável, o uso de prolina em pré-tratamento promoveu a redução dos efeitos do déficit hídrico, ainda que pouco pronunciado (Pro 10 mM= 8,15 μ mol CO_2 $m^{-2} s^{-1}$; Pro 20 mM=9,07 μ mol CO_2 $m^{-2} s^{-1}$). O efeito *priming* em plantas expostas ao déficit hídrico foi evidenciado pelos aumentos na g_s e E , sobretudo com o uso do SNP, onde foram mensurados os maiores valores para estas variáveis ($g_s=922,0$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$, $E=7,34$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$ para SNP 50 μ M; $g_s=837,0$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$, $E=7,32$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$ para SNP 25 μ M), seguido do uso de H_2O_2 10 mM ($g_s=440,0$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$, $E=5,27$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$) e Pro 20 mM ($g_s=278,7$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$, $E=4,21$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$; Figura 4 b, c). No entanto, plantas tratadas com Pro 10 mM (para a $g_s=201,25$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$) e H_2O_2 20 mM ($g_s=180$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$ e $E=2,96$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$) não apresentaram melhoria ou atenuação dos efeitos negativos do déficit hídrico (Figura 4 b, c). O conteúdo de clorofila foi afetado significativamente pelos tratamentos ($p < 0,001$). A imposição do déficit hídrico promoveu

incrementos sobre o conteúdo de clorofila em plantas sob déficit hídrico (Figura 4 d). Esse aumento foi pronunciado em plantas pré-tratadas com SNP 25 μM (86,11 $\mu\text{g cm}^{-2}$) e SNP 50 μM (84,59 $\mu\text{g cm}^{-2}$), os demais tratamentos tiveram pouco ou nenhum efeito *priming* sobre o teor de $\text{Chl}_{\text{total}}$.

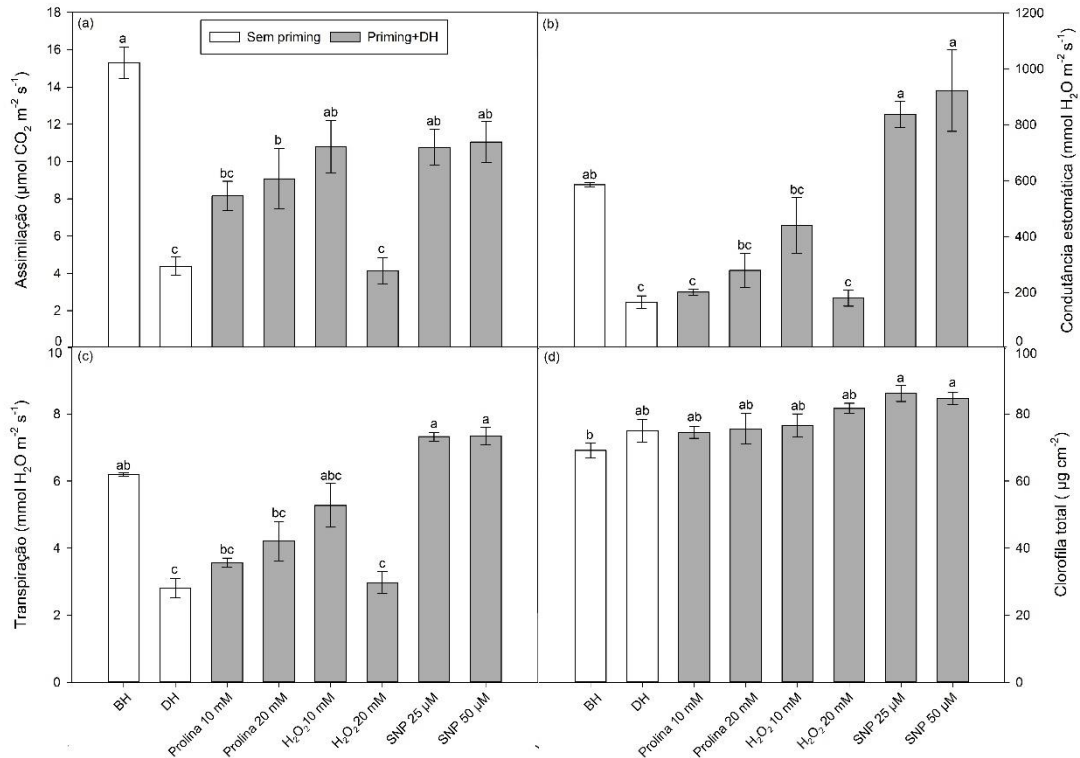


Figura 4. Trocas gasosas e pigmentos fotossintéticos em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μM): (a) assimilação de CO_2 ; (b) condutância estomática; (c) transpiração; (d) clorofila total. Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

3.3 Crescimento e acúmulo de biomassa

Todas as variáveis de crescimento e matéria seca foram influenciadas pelo déficit hídrico e pré-tratamentos ($p < 0,0001$; Figura 5 e 6). A imposição do déficit hídrico reduziu significativamente o crescimento das plantas de *Physalis angulata*. O pré-tratamento em plantas subsequentemente expostas ao déficit hídrico aliviou os seus efeitos negativos sobre a altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas, massa de matéria seca de folhas, raízes e total. As plantas pré-tratadas com Pro promoveram os maiores valores para altura (Pro 10 mM= 33,62 cm; Pro 20 mM= 31,95 cm) e diâmetro do caule (Pro 0 mM= 10,58 mm; Pro 20

mM= 10,43 mm) das plantas sob déficit hídrico (Figura 5). As demais substâncias e suas concentrações empregadas promoveram pouca influência sobre estas variáveis.

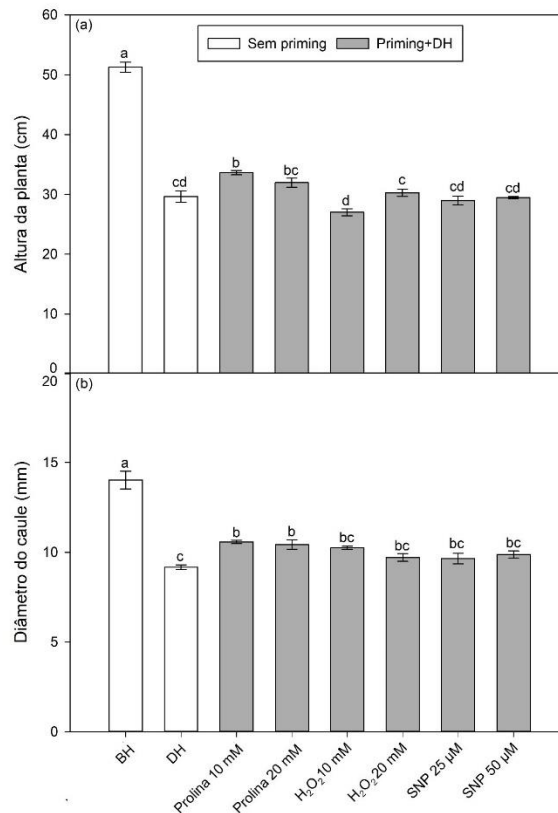


Figura 5. Crescimento em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH), pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 µM): (a) altura da planta e (b) diâmetro do caule. Os dados são expressos pela média ± erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

A análise do parâmetro área foliar indicou que o uso de Pro e H₂O₂ aliviaram a sua redução com a imposição do déficit hídrico, contudo, a aplicação de 50 µM de SNP promoveu a maior média (1074,08 cm²) em plantas sob déficit hídrico (Figura 6 a), correspondendo a um aumento de 72% em comparação com as plantas sem pré-tratamento (Fc de 20% + H₂O), sugerindo um papel fundamental do óxido nítrico na melhoria dos danos induzidos pelo estresse (Figura 6 a). Semelhantemente para o número de folhas, onde a mesma dosagem de SNP (50 µM) foi responsável pelo seu aumento (70,25), seguido de plantas sensibilizadas com 20 mM de Pro (69,75; Figura 6 b). Acúmulos de massa de matéria seca foram promovidos com o uso da Pro, H₂O₂ e SNP, variando com a concentração e o parâmetro avaliado, no entanto, não houve efeitos aparentes sobre a matéria seca do caule (Figura 6 d, e, f). Para a matéria seca de folhas, houve aumento nas plantas pulverizadas com ambas as substâncias químicas, ainda que

o maior valor médio tenha sido mensurado em plantas pré-tratadas com 50 μM de SNP (2,02 g), equivalente a um incremento de 65% em comparação com as plantas sem pré-tratamento (Fc de 20% + H_2O). Essa dosagem também estimulou o acúmulo de matéria seca em raízes (0,58 g), sendo igual estatisticamente às plantas sem restrições hídricas (0,72 g), e, além disso, foi responsável pelo maior valor médio da matéria seca total (4,06 g), seguida do uso de H_2O_2 a 20 mM (3,54 g) e Pro a 10 mM (3,50 g) em plantas expostas ao déficit hídrico.

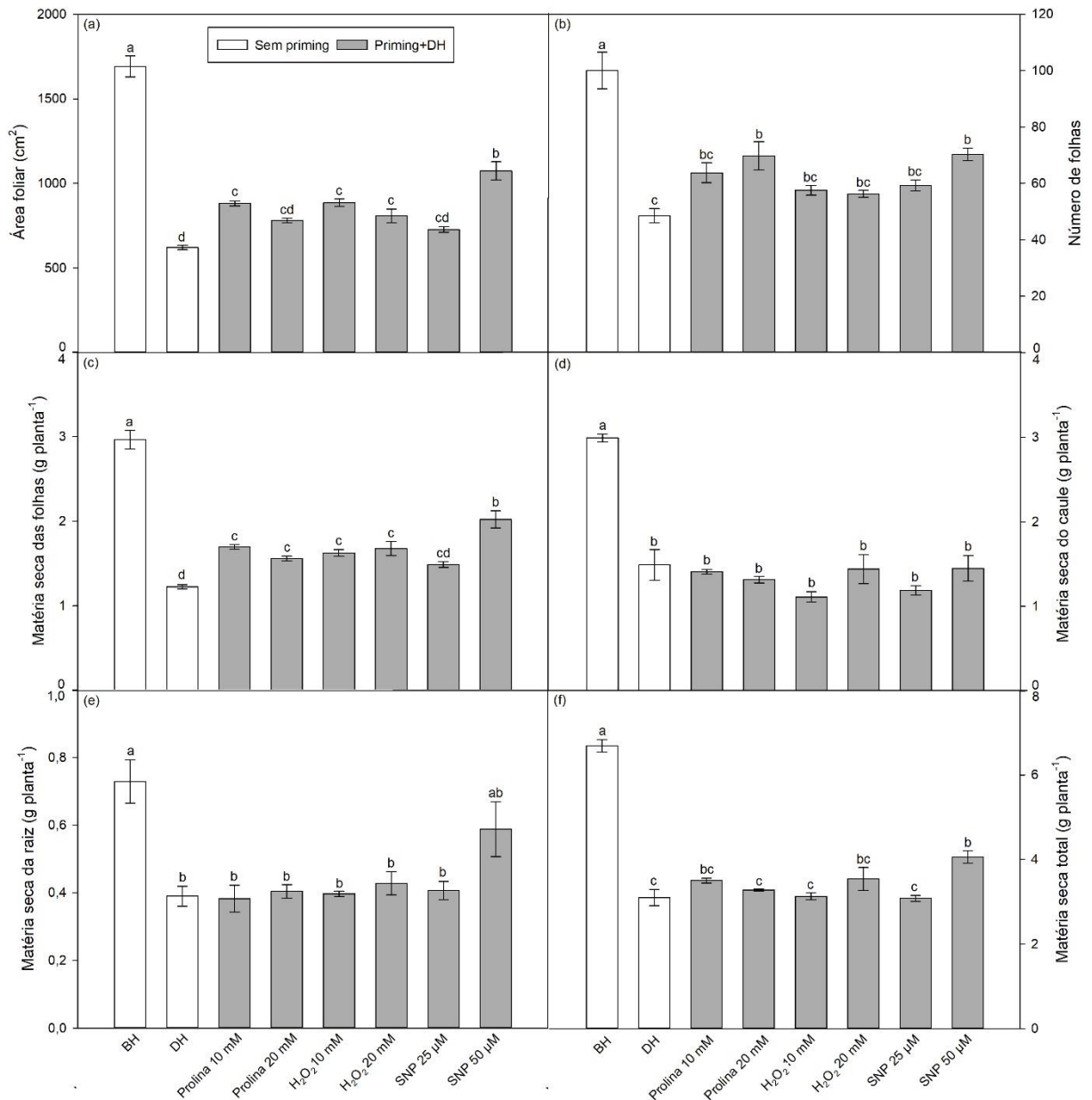


Figura 6. Crescimento e acúmulo de biomassa em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH), pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μM): (a) área foliar; (b) número de folhas; (c) matéria seca de folhas; (d) matéria seca do caule; (e) matéria seca de raízes e (f) matéria seca total. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

3.4 Eficiência do uso da água de irrigação e índice de tolerância

O déficit hídrico e o pré-tratamento com agentes químicos influenciaram significativamente a eficiência do uso da água ($p < 0,01$) e índice de tolerância ($p < 0,05$; Figura 7). O déficit hídrico reduziu a eficiência do uso da água de irrigação em plantas de *Physalis angulata* não sensibilizadas pelas substâncias químicas (Figura 7 a). No entanto, o uso de SNP a 50 μM , H_2O_2 a 20 mM e SNP a 25 μM promoveram incrementos para esta variável em plantas expostas a essas substâncias antes do início do déficit hídrico, com valores de 1,477, 1,166, 1,162 g planta L^{-1} , respectivamente. Não houve diferenças estatísticas entre esses tratamentos e plantas sem restrição hídrica (Fc de 70 % + H_2O) em relação à eficiência no uso da água de irrigação. É interessante notar que não apenas esses tratamentos apresentaram os maiores coeficientes de tolerância à seca (Fig. 7b). O maior coeficiente de tolerância à seca foi observado em plantas pré-tratadas com SNP 50 μM (0,60), seguido do uso de Pro 10 mM (0,52), Pro 20 mM (0,49) e H_2O_2 20 mM (0,48).

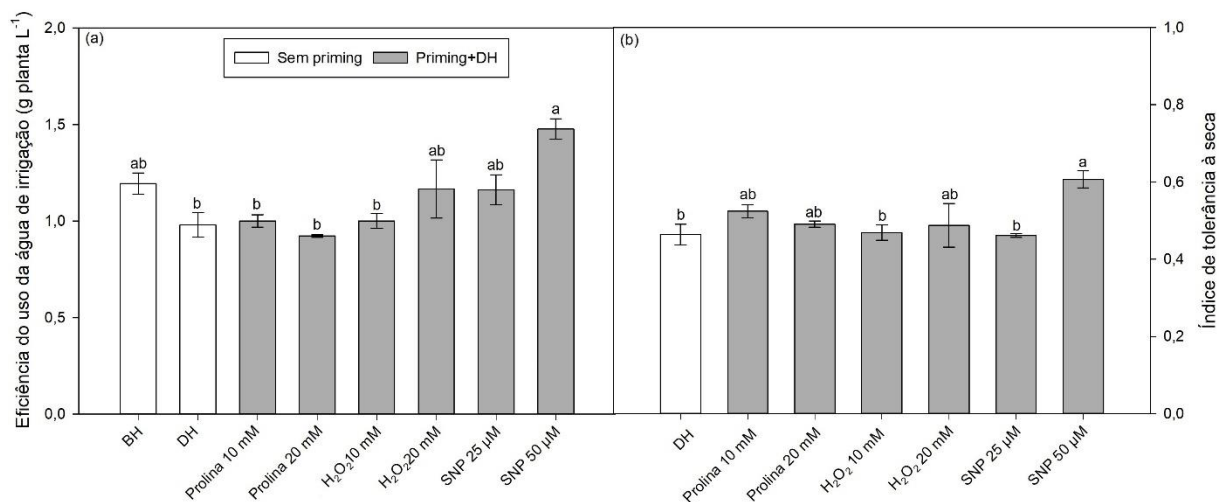


Figura 7. Eficiência do uso da água de irrigação e índice de tolerância em plantas de *Physalis angulata* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 μM). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

4 DISCUSSÃO

Distintas ferramentas e metodologias são utilizadas para indução da tolerância ao déficit hídrico em plantas tradicionalmente cultivadas e subexploradas (LEITE et al., 2019; MARCOS et al., 2018; SILVEIRA et al., 2019). Essa tolerância envolve mecanismos que operam em

diferentes escalas espaciais e temporais, do fechamento estomático rápido à manutenção do rendimento das culturas (TARDIEU; SIMONNEAU; MULLER, 2018) em condições ambientais adversas. Nos últimos anos, estudos indicam que o uso de compostos químicos previamente ao déficit hídrico, através da técnica do *priming* químico, melhora a tolerância de distintas espécies (ANTONIOU et al., 2020; YIN et al., 2022) e torna-se uma alternativa para o manejo de culturas em condições edafoclimáticas desfavoráveis. Nesse experimento, o pré-tratamento de plantas com prolina, peróxido de hidrogênio e nitroprussiato de sódio, um doador de óxido nítrico, apresentou efeito *priming* em plantas de *Physalis angulata* sobre as variáveis de relações hídricas (Figura 3), trocas gasosas (Figura 4), crescimento e acúmulo de biomassa (Figura 5 e 6). Os principais efeitos positivos ou negativos dos tratamentos aplicados e respostas das plantas ao déficit hídrico encontram-se resumidos na Figura 8.

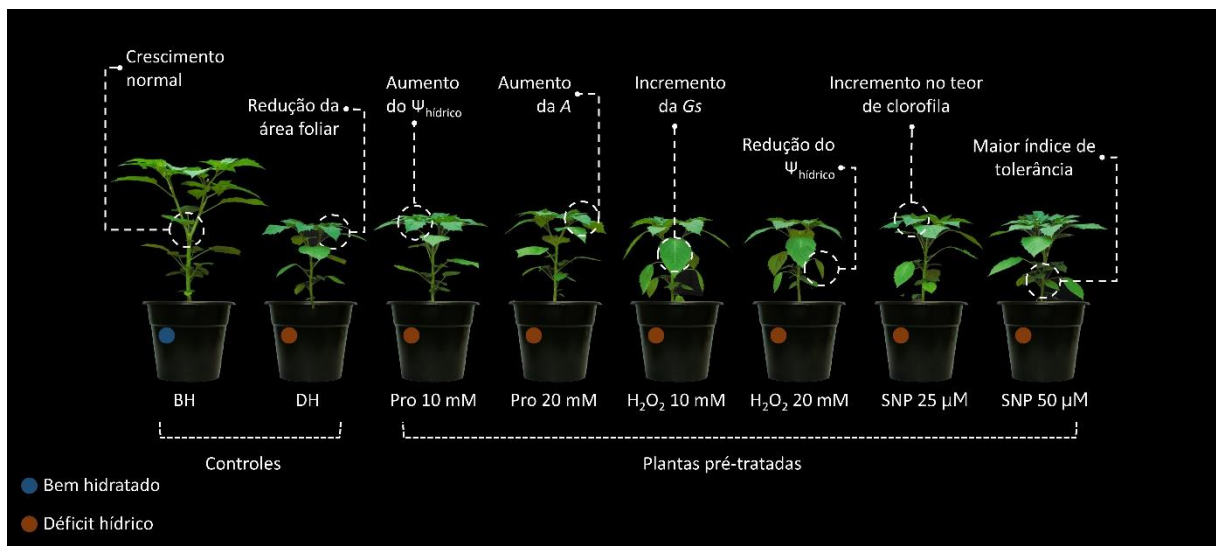


Figura 8. Principais respostas positivas ou negativas de plantas de fisális expostas ao déficit hídrico, pré-tratadas com prolina (10 e 20 mM), peróxido de hidrogênio (10 e 20 mM) e nitroprussiato de sódio (25 e 50 µM). Fonte: autoria própria.

As plantas desenvolveram mecanismos adaptativos morfológicos e fisiológicos para melhor tolerar o déficit hídrico, como o fechamento estomático e mudanças nas relações hídricas. Esses mecanismos podem ser melhorados, como o aumento do conteúdo relativo de água e potencial hídrico nas folhas de *Physalis angulata* (Figura 3). O uso da prolina e do SNP foi capaz de mitigar os efeitos negativos do déficit hídrico sobre o conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar em *P. angulata* (Figura 3), o que pode ser atribuído às propriedades de solubilidade e de difusão dessas moléculas através das membranas biológicas, uma vez que um aporte exógeno de prolina, além de outras funções, atua no ajustamento osmótico e na proteção da estrutura celular (LESHEM, 1996; VERSLUES; SHARMA, 2010). Somado a isso, o NO é

um fator de regulação da expressão de enzimas da síntese e catabolismo da prolina (ZHAO et al., 2009). Outros trabalhos, com distintas formas de aplicação, verificaram que o fornecimento de prolina e NO melhora as relações hídricas em outras culturas, como tomate (JANGID; DWIVEDI, 2017) e funcho (GHOLAMI ZALI; EHSANZADEH, 2018).

Em associação com as mudanças nas relações hídricas, as trocas gasosas foram reduzidas com o déficit hídrico, notadamente a assimilação de carbono. Esta redução é amplamente demonstrada em estudos sobre a fisiologia do estresse hídrico (LEITE et al., 2019; PAZZAGLI; WEINER; LIU, 2016), devido limitações estomáticas e baixa eficiência de carboxilação; ainda assim, o uso dos agentes químicos amenizou esse sintoma (Figura 4). O uso dessas substâncias em pré-tratamento assemelha-se a aclimação, promovendo maior tolerância (SAVVIDES et al., 2016) ou mitigação dos efeitos negativos. Nesse sentido, estudos indicam que o SNP, H₂O₂ e Pro mantêm o transporte de elétrons no fotossistema II (ANTONIOU et al., 2020; CHRISTOU; MANGANARIS; FOTOPOULOS, 2014; SINGH et al., 2016) na etapa fotoquímica da fotossíntese, o que pode aumentar a assimilação de carbono em plantas de *Physalis angulata* quando expostas ao déficit hídrico.

O fechamento estomático é uma resposta secundária das plantas ao déficit hídrico (TAIZ et al., 2017) e a aplicação do *priming* químico demonstrou atuar sobre a condutância estomática (*g_s*) e transpiração (*E*) neste estudo (Figura 4). O NO exógeno promoveu os maiores valores para *g_s* e *E*, igualando-se às plantas bem hidratadas, pois o NO induz a abertura estomática (HASANUZZAMAN et al., 2018). Também houve aumentos dessas variáveis com o uso de Pro 20 mM e H₂O₂ 10 mM, ainda que menos pronunciados. Isso porque a pulverização de prolina atua na regulação da condutância estomática e no desempenho fotossintético, provavelmente em função do acúmulo de K⁺ e Ca⁺ em folhas (FREITAS et al., 2019; ZOUARI et al., 2016). Resultados similares foram reportados por Silva et al. (2019) e Jamaludin et al. (2020) com o uso do peróxido de hidrogênio na melhoria das trocas gasosas, sobretudo para a *g_s*.

A degradação da clorofila em plantas sob déficit hídrico é amplamente relatada na literatura (DEVECI; CELIK, 2016; GARCIA et al., 2019; YOOYONGWECH et al., 2013). Diferentemente, a imposição do déficit hídrico aumentou o conteúdo de Chl em *Physalis angulata*, como observado em trabalho prévio (LEITE et al., 2019), e o pré-tratamento com SNP incrementou ainda mais esta variável (Figura 4 a). Aumentos dos teores dos pigmentos fotossintéticos em plantas tratadas com NO foram relatados para outras espécies (AHMAD et al., 2016; MUNAWAR et al., 2019; SILVEIRA et al., 2019). O NO atua na manutenção da

estabilidade das membranas tilacóides (LIU; GUO, 2013) e inibição da expressão dos genes da via catabólica de Chl (SHI et al., 2016), o que pode contribuir para a melhoria do aparato fotossintético durante condições de baixa disponibilidade hídrica. Não foi observado efeito *priming* expressivo com uso dos outros agentes para o teor de clorofila.

A melhora sistemática promovida pelo uso dos agentes químicos nas relações hídricas, trocas gasosas e pigmentos fotossintéticos nas plantas quando expostas ao déficit hídrico, também influenciou no crescimento e acúmulo de matéria seca de *Physalis angulata* (Figura 5 e 6). O crescimento das plantas é consideravelmente prejudicado sob déficit hídrico leve, principalmente pela redução da pressão de turgor celular (SEVANTO, 2018), que além de outros processos, influencia na expansão celular (PASSIOURA; FRY, 1992). O uso de solutos compatíveis, como a prolina, pode propiciar a melhoria desses efeitos, como relatado para as culturas de feijão-caupi (MERWAD; DESOKY; RADY, 2018) e canola (BHUIYAN et al., 2019). As plantas possuem outras estratégias de aclimatação para a tolerância à seca, como a abscisão e inibição da expansão foliar (SIMONTACCHI et al., 2015), às custas da redução da área disponível para a fotossíntese, como observado neste estudo. Ainda assim, o pré-tratamento, sobretudo com SNP, estimulou o aumento da área foliar e do número de folhas (Figura 6 a, b).

O acúmulo de matéria seca na parte aérea e radicular foi estimulado pelo tratamento prévio das plantas expostas ao déficit hídrico (Figura 6 c, d, e, f), demonstrando o efeito atenuante das substâncias utilizadas sobre a alocação de biomassa. São relatadas alterações no acúmulo de biomassa em plantas do gênero *Physalis* sob déficit hídrico, como redução da matéria seca de raízes (OZASLAN et al., 2016) e de frutos (ÁLVAREZ-HERRERA; FISCHER; VÉLEZ-SANCHEZ, 2015), o que pode ser resultado de um conjunto de respostas fisiológicas anteriores, como o fechamento estomático e consequente redução da assimilação de carbono. A atenuação desses efeitos foi observada sobre a matéria seca de folhas e de raízes de plantas sensibilizadas com SNP, principalmente. Além de influenciar o crescimento da parte aérea (KAUSAR; SHAHBAZ; ASHRAF, 2013), o NO atua no crescimento de raízes primárias (FERNÁNDEZ-MARCOS et al., 2011), pois medeia a resposta da auxina e modula a expressão de genes reguladores do ciclo celular durante a formação de raízes laterais (PAGNUSSAT et al., 2002; CORREA-ARAGUNDE et al., 2006). Dessa forma, o acúmulo de biomassa promovido pelo *priming* químico contribuiu para a melhoria na eficiência do uso da água e, consequentemente, aumento da tolerância da espécie ao déficit hídrico (Figura 7).

5 CONCLUSÃO

O nitroprussiato de sódio e prolina demonstram ser agentes promissores para a indução do efeito *priming* em plantas de *Physalis angulata* quando expostas ao déficit hídrico. A aplicação foliar dessas substâncias em pré-tratamento contribui para a melhoria ou atenuação dos efeitos do déficit hídrico sobre o conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar, bem como nas trocas gasosas, no crescimento e acúmulo de biomassa das plantas. O uso do nitroprussiato de sódio e da prolina é uma ferramenta eficaz para a melhora da tolerância desta espécie ao déficit hídrico. O peróxido de hidrogênio em pré-tratamento possui efeito *priming* reduzido em plantas de *P. angulata* expostas ao déficit hídrico.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, P. et al. Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–11, 2016.
- ÁLVAREZ-HERRERA, J. G.; FISCHER, G.; VÉLEZ-SANCHEZ, J. E. Producción de frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) bajo diferentes láminas de riego, frecuencias de riego y dosis de calcio. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v. 9, p. 222–233, 2015.
- ANTONIOU, C. et al. Exploring the potential of nitric oxide and hydrogen sulfide (NOSH)-releasing synthetic compounds as novel priming agents against drought stress in *Medicago sativa* plants. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 120, 2020.
- ATAÍDE, G. M. et al. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, p. 438-444, 2015.
- BECKERS, G. J.; CONRATH, U. Priming for stress resistance: from the lab to the field. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 4, p. 425–431, 2007.
- BHUIYAN, T. F. et al. Mitigation of PEG-induced drought stress in rapeseed (*Brassica rapa* L.) by exogenous application of osmolytes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, p. 101197, 2019.
- BLUM, A., JORDAN, W. R. Breeding crop varieties for stress environments. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 2, p. 199–238, 1985.
- CHEESEMAN, J.M. Hydrogen Peroxide concentrations in leaves under natural conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 2435–2444, 2006.
- BONFIM-SILVA, E. M. et al. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 2, p. 180–186, 2011.
- CHRISTOU, A.; MANGANARIS, G. A.; FOTOPOULOS, V. Systemic mitigation of salt stress by hydrogen peroxide and sodium nitroprusside in strawberry plants via transcriptional regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 107, p. 46–54, 2014.
- CORREA-ARAGUNDE, N. et al. Nitric oxide modulates the expression of cell cycle regulatory genes during lateral root formation in tomato. **Journal of Experimental Botany**,

v. 57, n. 3, p. 581–588, 2006.

DEVECI, M., CELIK, A. The effect of different water deficiency on physiological and chemical changes in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) which were grown in greenhouse conditions. **Scientia Agriculturae**, v.14, p. 260-265, 2016.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3–14, 2015.

Fernández-Marcos, M. et al. Nitric oxide causes root apical meristem defects and growth inhibition while reducing PIN-FORMED 1 (PIN1)-dependent acropetal auxin transport. **PNAS USA**. v. 108, p. 18506-18506, 2011.

FILIPPOU, P. et al. Plant acclimation to environmental stress using priming agents. In: Tuteja, N., Singh Gill, S. (Eds.), **Plant Acclimation to Environmental Stress**. Springer, New York, p. 1-27, 2013.

FREITAS, P. A. F. et al. Salt acclimation in sorghum plants by exogenous proline: physiological and biochemical changes and regulation of proline metabolism. **Plant Cell Reports**, v. 38, n. 3, p. 403–416, 2019.

GAO, C. et al. Cytotoxic withanolides from *Physalis angulata*. **Natural Product Research**, v. 32, p. 676-681, 2018.

GARCIA, F. H. S. et al. Water deficit tolerance in sugarcane is dependent on the accumulation of sugar in the leaf. **Annals of Applied Biology**, v. 176, p. 65-74, 2020.

GHOLAMI ZALI, A.; EHSANZADEH, P. Exogenous proline improves osmoregulation, physiological functions, essential oil, and seed yield of fennel. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 133–140, 2018.

GOHARI, G. et al. Interaction between hydrogen peroxide and sodium nitroprusside following chemical priming of *Ocimum basilicum* L. against salt stress. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 2, p. 361–373, 2020.

HASANUZZAMAN, M. et al. Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced

oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **BioMed Research International**, p. 757219, 2014.

HASANUZZAMAN, M. et al. Nitric oxide-induced salt stress tolerance in plants: ROS metabolism, signaling, and molecular interactions. **Plant Biotechnology Reports**, v. 12, n. 2, p. 77–92, 2018.

JAMALUDIN, R. Influence of exogenous hydrogen peroxide on plant physiology, leaf anatomy and rubisco gene expression of the *Ficus deltoidea* Jack var. Deltoidea. **Agronomy**, v. 10, p. 497, 2020.

JANGID, K. K.; DWIVEDI, P. Physiological and biochemical changes by nitric oxide and brassinosteroid in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, n. 3, 2017.

JOSHI, N. C. et al. Sodium hydrosulfide priming improves the response of photosynthesis to overnight frost and day high-light in avocado (*Persea americana* Mill, cv. “Hass”). **Physiologia Plantarum**, v. 168, p. 394-405, 2020.

KAUSAR, F.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Protective role of foliar-applied nitric oxide in *Triticum aestivum* under saline stress. **Turkish Journal of Botany**, v. 37, n. 6, p. 1155–1165, 2013.

LEITE, R. S. et al. Physiological Responses of *Physalis angulata* Plants to Water Deficit. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 10, p. 287, 2018.

LEITE, R. et al. Alleviation of water deficit in *Physalis angulata* plants by nitric oxide exogenous donor. **Agricultural Water Management**, v. 216, p. 98–104, 2019.

LESHEM, Y. Y. Nitric oxide in biological systems. **Plant Growth Regulation**, v. 18, n. 3, p. 155–159, 1996.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350–382, 1987.

LIU, F.; GUO, F. Q. Nitric oxide deficiency accelerates chlorophyll breakdown and stability loss of thylakoid membranes during dark-induced leaf senescence in Arabidopsis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, p. e56345, 2013.

MARCOS, F. C. C. et al. Drought tolerance of sugarcane is improved by previous exposure to

water deficit. **Journal of Plant Physiology**, v. 223, p. 9–18, 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, p. 132–144, 2018.

MISHINA, T. E., LAMB, C., ZEIER, J. Expression of a nitric oxide degrading enzyme induces a senescence programme in *Arabidopsis*. **Plant Cell Environment**, v. 30, p. 39–52, 2007.

MUNAWAR, A. et al. Nitric oxide regulates oxidative defense system, key metabolites and growth of broccoli (*Brassica oleracea* L.) plants under water limited conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 254, p. 7–13, 2019.

OZASLAN, C. et al. Invasion potential of two tropical *Physalis* species in arid and semi-arid climates: Effect of water-salinity stress and soil types on growth and fecundity. **PLoS ONE**, v. 11, n.10, p. e0164369, 2016.

PAGNUSSAT, G. C. et al. Nitric oxide is required for root organogenesis. **Plant Physiology**, v. 129, p. 954–956, 2002.

PASSIOURA, J., FRY, S. Turgor and cell expansion: beyond the lockhart equation. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 19, p. 565-576, 1992.

PAZZAGLI, P. T.; WEINER, J.; LIU, F. Effects of CO₂ elevation and irrigation regimes on leaf gas exchange, plant water relations, and water use efficiency of two tomato cultivars. **Agricultural Water Management**, v. 169, p. 26–33, 2016.

PETROV, V. D.; VAN BREUSEGEM, F. Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. **AoB PLANTS**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2012.

REDDY, P. S. Breeding for abiotic stress resistance in sorghum, in: Aruna, C., Visarada, K.B.R.S., Bhat, B.V., Tonapi, V.A., (Eds.), **Breeding sorghum for diverse end uses**. Woodhead Publishing, Sawston, p. 325–340, 2019.

RIVERA, D. E. et al. A screening of plants used in Colombian traditional medicine revealed the anti-inflammatory potential of *Physalis angulata* calyces. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1758–1766, 2019.

- SANI, E. et al. Hyperosmotic priming of *Arabidopsis* seedlings establishes a long-term somatic memory accompanied by specific changes of the epigenome. **Genome Biology**, v. 14, n. 6, p. R59, 2013.
- SANZ, L. et al. Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 2857–2868, 2015.
- SARAZIN, V. et al. Water-stressed sunflower transcriptome analysis revealed important molecular markers involved in drought stress response and tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 142, p. 45–53, 2017.
- SAVVIDES, A. et al. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 4, p. 329–340, 2016.
- SEVANTO, S. Drought impacts on phloem transport. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 43, p. 76–81, 2018.
- SHI, J. et al. Exogenous sodium nitroprusside treatment of broccoli florets extends shelf life, enhances antioxidant enzyme activity, and inhibits chlorophyll-degradation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 116, p. 98–104, 2016.
- SILVA, A. A. R. et al. Salt stress and exogenous application of hydrogen peroxide on photosynthetic parameters of soursop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, p. 257-263, 2019.
- SILVEIRA, N. M. et al. Encapsulation of S-nitrosoglutathione into chitosan nanoparticles improves drought tolerance of sugarcane plants. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, v. 84, p. 38–44, 2019.
- SIMONTACCHI, M. et al. Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1–19, 2015.
- SINGH, M. et al. Exogenous proline application ameliorates toxic effects of arsenate in *Solanum melongena* L. seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 117, p. 164–173, 2015.
- SOURI, Z. et al. Nitric oxide improves tolerance to arsenic stress in *Isatis cappadocica* desv. Shoots by enhancing antioxidant defenses. **Chemosphere**, v. 239, p. 124523, 2020.
- TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**, sixth ed. Artmed, Porto Alegre, 2017.

- TANAN, T.T. et al. Spectrophotometric determinations of chloroplastidic pigments in *Physalis angulata* L. leaves using different methodologies. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, p. 117–122, 2017.
- TANENTZAP, F. M., STEMPEL, A., RYSER, P. Reliability of leaf relative water content (RWC) measurements after storage: Consequences for in situ measurements. **Botany**, v. 93, p. 535-541, 2015.
- TARDIEU, F.; SIMONNEAU, T.; MULLER, B. The physiological basis of drought tolerance in crop plants: a scenario-dependent probabilistic approach. **Annual Review of Plant Biology**, v. 69, p. 733–759, 2018.
- VERSLUES, P. E., SHARMA, S. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. **Arabidopsis Book**, v. 8, p. e0140, 2010.
- WEATHERLEY, P.E. Studies in the water relations of the cotton plant I. The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, v. 49, p. 81–87, 1950.
- YOOYONGWECH, S. et al. Water-deficit tolerant identification in sweet potato genotypes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) in vegetative developmental stage using multivariate physiological indices. **Scientia Horticulturae**, v. 162, p. 242–251, 2013.
- YIN, M. H. et al. Chemical priming with brassinosteroids to mitigate responses of avocado (*Persea americana*) trees to flooding stress. **Horticulturae**, v. 8, n.12, 1115, 2022.
- ZHANG, L. et al. Involvement of nitric oxide in light-mediated greening of barley seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v. 63, p. 818–826, 2006.
- ZHAO, M. G. et al. Nitric reductase-dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 151, n. 2, p. 755–767, 2009.
- ZOUARI, M. et al. Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 100–108, 2016.
- ZULFIQAR, F., AKRAM, N. A., ASHRAF, M. Osmoprotection in plants under abiotic stresses: new insights into a classical phenomenon. **Planta**, v. 251, 3, p. 1-17, 2020.

CAPÍTULO 3**PROLINA E NITROPRUSSIATO DE SÓDIO AUMENTAM A
TOLERÂNCIA DE *Physalis peruviana* L. AO DÉFICIT HÍDRICO
ATRAVÉS DO *PRIMING* QUÍMICO**

Artigo publicado com o título “Proline and sodium nitroprusside increase the tolerance of *Physalis peruviana* L. plants to water deficit through chemical priming” na revista *Ciência e Agrotecnologia*, v. 46, e004622, 2022. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202246004622>.

RESUMO

O déficit hídrico é o principal promotor de estresse abiótico ao qual as plantas estão suscetíveis, sejam as cultivadas ou aquelas subexploradas, como as fisálias. A busca por ferramentas que contribuam para a gestão do déficit hídrico em plantas é fundamental para a manutenção da agricultura, sobretudo em zonas áridas e semiáridas ao redor do mundo. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do *priming* químico com prolina e nitroprussiato de sódio como promotores do aumento da tolerância ao déficit hídrico em plantas de *Physalis peruviana* L. Assim, plantas cultivadas em condições bem hidratadas (Fc de $70\pm 5\%$) foram pulverizadas com prolina (10 e 20 mM) ou nitroprussiato de sódio (25 e 50 μM) e avaliadas após a exposição ao déficit hídrico (Fc de $20\pm 5\%$). Plantas cultivadas sob déficit hídrico sem pré-tratamento apresentaram reduções para as variáveis de relações hídricas, trocas gasosas e de crescimento. O uso de prolina e nitroprussiato de sódio foram eficazes na manutenção do potencial hídrico menos negativo, contribuindo para melhorias nas trocas gasosas, como assimilação de CO_2 , condutância estomática e transpiração. Dessa forma, foi possível mensurar maior tolerância ao déficit hídrico nas plantas pré-tratadas e, conseqüentemente, maior acúmulo de biomassa. O uso de prolina e nitroprussiato de sódio em pré-tratamento apresenta efeito *priming* contra o déficit hídrico em plantas de fisálias.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Atenuação do déficit hídrico. Fisálias.

ABSTRACT

Water deficit is the main promoter of abiotic stress to which plants are susceptible, whether cultivated or underexploited, such as physalis. The search for tools that contribute to management of water deficit in plants is essential for the maintenance of agriculture, especially in arid and semi-arid areas around the world. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of chemical priming with proline and sodium nitroprusside as promoters of increased tolerance to water deficit in *Physalis peruviana* L. plants. Thus, plants grown under well-watered conditions (Fc 70±5%) were sprayed with proline (10 and 20 mM) or sodium nitroprusside (25 and 50 µM) and evaluated after exposure to water deficit (Fc de 20±5%). Plants cultivated under water deficit without pretreatment presented reductions for the variables of water relations, gas exchange and growth. The use of proline and sodium nitroprusside were effective in maintaining a less negative water potential, contributing to improvements in gas exchange, such as CO₂ assimilation, stomatal conductance and transpiration. Thus, it was possible to measure greater tolerance to water deficit in pretreated plants and, consequently, greater accumulation of biomass. The use of proline and sodium nitroprusside in pretreatment has a priming effect against water deficit in physalis plants.

Keywords: Abiotic stress. Water deficit attenuation. Goldenberry.

1 INTRODUÇÃO

Para atender às demandas alimentares de uma população mundial crescente, é necessário melhorar a produção agrícola; uma tarefa indispensável frente às mudanças climáticas (RODRIGUES et al., 2019), sobretudo por intensificar os estresses abióticos. As plantas terrestres são expostas a uma variedade de fatores desfavoráveis, como extremos de temperatura, salinidade elevada e água deficiente ou excessiva (HE; HE; DING, 2018). Desses fatores, o déficit hídrico é o principal responsável pela redução da produtividade em agroecossistemas ao redor do mundo (LEITE et al., 2021).

Algumas plantas podem superar temporariamente o déficit hídrico através de respostas conjuntas ou não, como o fechamento estomático e mudanças morfofisiológicas, que incluem a inibição da expansão foliar, abscisão foliar e modificações na arquitetura radicular (SIMONTACCHI et al., 2015), além de alterações biomoleculares e nas relações hídricas. Contudo, essas respostas podem comprometer a produção vegetal em função da duração e intensidade do estresse, tornando um grande desafio a manutenção do desempenho das plantas nessas condições.

A busca por ferramentas que contribuam para a gestão do déficit hídrico em plantas é fundamental para a manutenção da agricultura, sobretudo em zonas áridas e semiáridas. Nas últimas décadas, as pesquisas buscaram destacar o uso de espécies e genótipos tolerantes a seca, bem como a utilização de bioestimulantes e osmoprotetores para reversão dos efeitos negativos do estresse (NAZARI; PAKNIYAT, 2010; TERRA et al., 2015; IRANI; VALIZADEHKJI; NAEINI, 2021). E, mais recentemente, a técnica do *priming* químico demonstrou ser eficiente para o aumento da tolerância a estresses abióticos em diversas culturas (FLEMING et al., 2019; GOHARI et al., 2020; HAMEED et al., 2020). Nessa estratégia, antes da exposição ao estresse, as plantas são tratadas com compostos químicos naturais ou sintéticos, que atuam como transdutores de sinal, ativando os sistemas de defesa da planta (*primed state*) e promovendo maior tolerância ao fator estressante em comparação com plantas não tratadas (ANTONIOU et al., 2020; SAKO; NGUYEN; SEKI, 2021).

Diferentes moléculas são utilizadas para a realização do *priming*, dentre elas, destacam-se o óxido nítrico e a prolina. O óxido nítrico (NO) é um gás que atua como uma molécula sinalizadora nas plantas sob condições de estresse abiótico (RAHIMIAN BOOGAR; SALEHI; JOWKAR, 2014). O papel do NO na mitigação dos efeitos do estresse hídrico foi observado em várias espécies de plantas, incluindo grãos, leguminosas, árvores frutíferas, plantas medicinais e espécies subexploradas (LAU et al., 2021; LEITE et al., 2021), e seus efeitos estão relacionados com o doador de NO utilizado, tempo de exposição e a espécie avaliada. O fornecimento de outros

compostos, como a prolina, são estudados como potenciais promotores do aumento da tolerância nas plantas.

A prolina é um aminoácido com diversas funções na interação planta-ambiente (VERSLUES; SHARMA, 2010). Ainda que produzido pela própria planta, pesquisas recentes mostram o papel benéfico do aporte de prolina em diversas espécies em condições de déficit hídrico e outros estresses abióticos (HANIF et al., 2021; MERWAD; DESOKY; RADY, 2018; TONHATI et al., 2020). O acúmulo de prolina induzido pelo déficit hídrico, observado em muitas espécies de plantas, levou à hipótese de que aumentos adicionais no acúmulo de prolina promoveriam a tolerância à seca (BHASKARA; YANG; VERSLUES, 2015). Por exemplo, a aplicação da prolina melhora o crescimento e a eficiência fotossintética em cebola (SEMIDA et al., 2020) e a produtividade em beterraba (GHAFARI et al., 2021) sob déficit hídrico. Dessa forma, a sua aplicação também foi proposta nesse trabalho como possível agente *priming* em plantas de fisális.

Physalis L. é um gênero americano de importância agrícola, tendo a *Physalis peruviana* L. (Figura 1) como principal espécie cultivada (LEITE et al., 2021b; VARGAS-PONCE et al., 2016). Além da comercialização dos seus frutos, a *P. peruviana*, ou simplesmente fisális, é uma planta medicinal, com capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio (ROS) e aumentar o sistema antioxidante no corpo humano (EL-BELTAGI et al., 2019), atuando como um produto natural com potencial anticâncer (YU et al., 2021). Somado a isso, os cálices dos frutos podem ser usados como fitoterápicos, nutracêuticos ou como ingredientes cosméticos de baixo custo (MEDINA et al., 2019).

O cultivo de fisális no Brasil é subexplorado. Somado a isso, estudos que avaliem o desempenho da espécie em condições de déficit hídrico são escassos no país, com destaque para as pesquisas realizadas com a espécie nativa não-cultivada *Physalis angulata* L. (LEITE et al., 2018; LEITE et al., 2019). Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da prolina e do nitroprussiato de sódio como promotores do aumento da tolerância ao déficit hídrico através do *priming* químico em plantas de fisális.

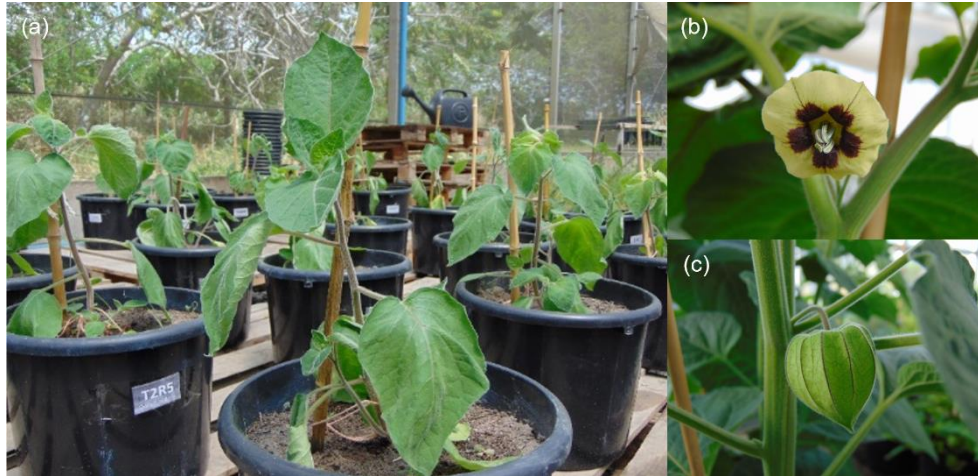


Figura 1. Plantas de *Physalis peruviana* sob déficit hídrico (a), com destaque para a flor (b) e fruto envolto pelo cálice (c). Fonte: Autoria própria.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e condições de cultivo

Plantas de *Physalis peruviana* foram cultivadas em casa de vegetação da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Brasil, (12°16'7.99"S, 38°56'21.63"O" W, 258 m asl), no período de janeiro a abril de 2020. Durante o experimento foram realizadas mensurações das máximas e mínimas diárias de temperatura e umidade relativa do ar através de termohigrômetro instalado dentro da estufa (Figura 2) e as plantas mantidas sob 50% de retenção da luminosidade em fotoperíodo natural. As mudas utilizadas foram obtidas de sementes oriundas da coleção de pesquisa da UEFS e cultivadas em solo com as seguintes características físicas e químicas: pH=6,67; M.O.(%)=1,13; em mg dm⁻³: P=24; K=77; em cmol_c dm⁻³: Al³⁺=0,0; Ca=5,0; Mg=2,0; S=7,37; H+Al=0,96; CTC=8,15; V(%)=87,89. Demais condições de cultivos, tratos culturais e fertirrigação foram realizadas de acordo com estudos prévios (LEITE et al., 2019).

2.2 Aplicação do *priming* químico

A capacidade de armazenamento de água no solo do vaso (Fc) foi calculada a partir de ensaio descrito por de Leite et al. (2019) e Bonfim-Silva et al. (2011). Os vasos utilizados possuíam o volume de 8 dm³ e foram preenchidos com 8 kg de solo seco ao ar, os quais foram saturados, vedados com uma película de policloreto de vinila (PVC) e suspensos para drenagem do excesso de água. O tempo de drenagem foi de 48 horas e, pela diferença dos pesos, foi

determinada a máxima capacidade de armazenamento de água. A irrigação foi realizada pelo método gravimétrico através de pesagens diárias dos vasos de cada tratamento e desprezado o acréscimo de peso das plantas.

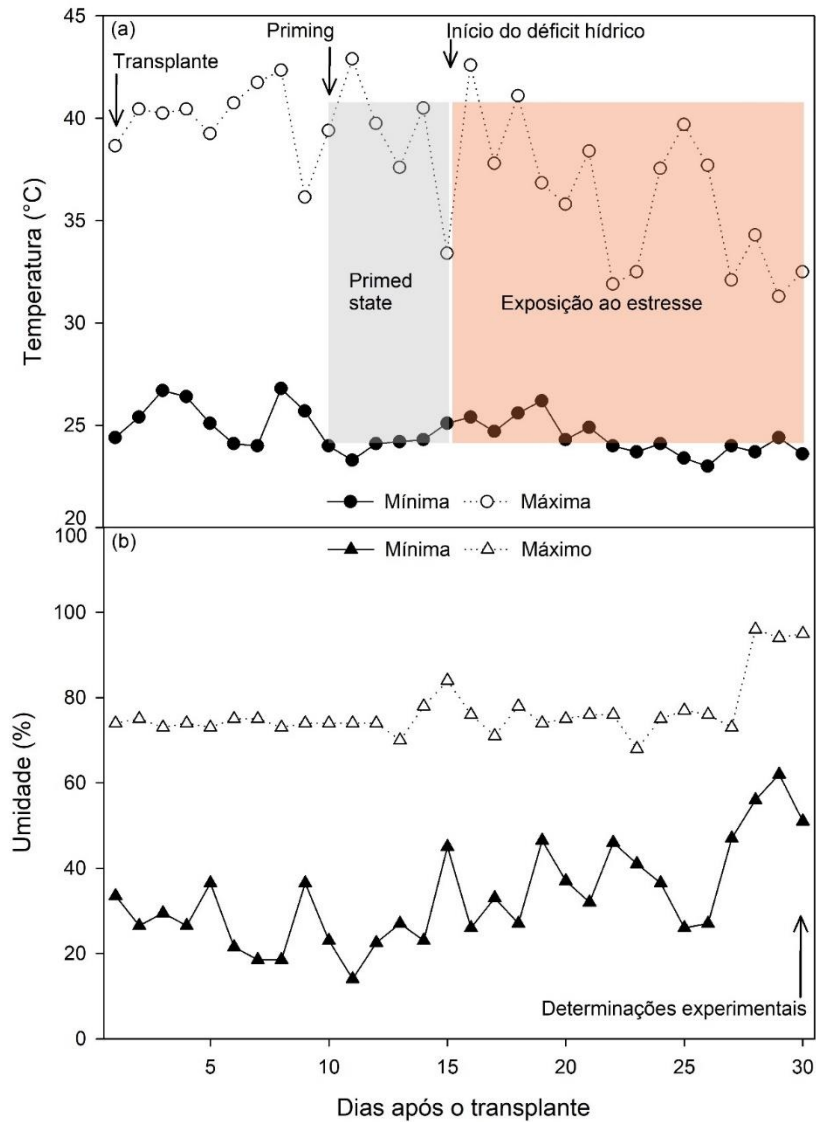


Figura 2. Máximas e mínimas de temperatura e umidade durante 30 dias de condução do experimento. O período de sensibilização (*primed state*) e de exposição ao déficit hídrico são indicados no gráfico.

Todas as plantas foram mantidas em condições hidratadas com Fc de $70\pm 5\%$ durante a aplicação do *priming* químico aos 10 dias após o transplante. As plantas foram separadas em distintos tratamentos e pulverizadas com $100 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-2}$ de prolina – Pro ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$) a 10 mM e 20 mM, nitroprussiato de sódio – SNP ($\text{Na}^2 [\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a 25 μM e 50 μM ; e água destilada (H_2O) como controle. Após a sensibilização química, o solo foi mantido com Fc de $70\pm 5\%$ por 5 dias. Em seguida, a irrigação foi suspensa nas plantas sensibilizadas e monitorada a disponibilidade hídrica até atingir a Fc de $20\pm 5\%$ após 15 dias, quando foi verificado qualquer

efeito *priming* sobre as plantas expostas ao déficit hídrico. Foram avaliados os seguintes tratamentos nas plantas de fisális: Fc de 70% + H₂O; Fc de 20% + H₂O; Fc de 20% + Prolina a 10 mM; Fc de 20% + Prolina a 20 mM; Fc de 20% + SNP a 20 μM; Fc de 20% + SNP a 50 μM.

2.3 Determinações experimentais

2.3.1 Conteúdo relativo de água e potencial hídrico foliar

O potencial hídrico foliar (ψ_w foliar) foi determinado no período de antemanhã com auxílio de uma câmara de Scholander (PMS 1000, PMS Instrument, Corvallis, USA). Para isso, foram utilizadas folhas coletadas no terço médio das plantas e imediatamente realizada a leitura da pressão de equilíbrio (MPa) após a pressurização com N₂ comprimido, até a saída da seiva na extremidade aberta do pecíolo.

O conteúdo relativo de água (CRA) foi calculado com base no peso de secções foliares de acordo com Weatherley (1950). Os discos foram retirados de folhas totalmente expandidas localizadas no terço médio das plantas e imediatamente selados em embalagens herméticas. O tempo de hidratação em água destilada foi de seis horas à temperatura ambiente, e de 24 horas em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C para determinação da matéria seca. Para ambas as variáveis foram avaliadas três plantas por tratamento.

2.3.2 Trocas gasosas

As trocas gasosas foram mensuradas em folhas completamente expandidas localizadas no terço médio das plantas com um sistema de fotossíntese portátil – InfraRed Gas Analyzer (IRGA, model CIRAS-3, PPSystems, Amesbury, USA). Os parâmetros avaliados foram: assimilação de CO₂ (A , μmol CO₂ m⁻² s⁻¹); a condutância estomática (g_s , mmol H₂O m⁻² s⁻¹) e a taxa de transpiração (E , mmol H₂O m⁻² s⁻¹); concentração de carbono interno (C_i , μmol mol⁻¹) e eficiência no uso da água (WUE , mmol CO₂ mol⁻¹ H₂O). As medidas foram realizadas em quatro plantas por tratamento entre as 09:00 e 10:00 horas, com as seguintes configurações: fluxo de fótons de 800 μmol m⁻² s⁻¹; CO₂ de referência de 400 μmol mol⁻¹; e temperatura constante (~25 °C).

2.3.3 Parâmetros de crescimento e coeficiente de tolerância a seca

As plantas foram seccionadas em frações de folhas, caules e raízes e transferidas para estufa de circulação forçada de ar a 60 °C até atingir o peso constante, para obtenção da massa de matéria seca. A taxa de crescimento absoluto e taxa de crescimento relativo foram determinadas de acordo com Cairo et al. (2008). A área foliar foi determinada através do método dos discos foliares (LEITE et al., 2019). Para as variáveis de crescimento foram avaliadas cinco plantas por tratamento.

Para o cálculo do coeficiente de tolerância à seca (CS) (BLUM; JORDAN, 1985), foram utilizados os dados de massa seca total de plantas (MSTO) dos tratamentos de déficit hídrico em comparação com plantas bem hidratadas, de acordo com a seguinte equação: $CS = (\text{MSTO tratamento sob déficit} / \text{MSTO tratamento bem hidratado})$.

2.3.4 Análises espectrais

Amostras da matéria seca de folhas foram trituradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em peneira de 0,5 mm. As amostras foram caracterizadas através da espectroscopia de Refletância Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR-FTIR) utilizando espectrofotômetro Thermo Nicolet iS50 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Os espectros foram registrados na gama de infravermelhos médios (4000-400 cm^{-1}) a uma resolução espectral de 4 cm^{-1} , tendo 64 varreduras por amostra. As análises espectrais foram realizadas no Laboratório de Técnicas Instrumentales, Universidad de Valladolid, Espanha.

2.5 Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com 8 repetições, considerando cada vaso uma unidade experimental. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância. Os resultados foram expressos com a média \pm erro padrão (SE) e teste de média de Tukey. Os dados obtidos dos parâmetros analisados foram avaliados estatisticamente utilizando o *software* estatístico Sisvar.

Os dados vibratórios foram analisados com o software SIGMAPLOT 14.0 (Systat Software Inc., Chicago, USA). A comparação foi feita com relação aos picos espectrais FTIR e análise dos grupos funcionais correspondentes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O déficit hídrico reduziu o potencial hídrico foliar das plantas avaliadas, no entanto, o pré-tratamento atenuou esse efeito (Figura 3; $p < 0,001$). Apesar disso, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos para o conteúdo relativo de água ($p = 0,2311$). Os potenciais mais negativos foram mensurados em plantas sob déficit hídrico sem tratamento ($-0,56$ MPa) e pré-tratadas com Pro 10 mM ($-0,56$ MPa). O pré-tratamento com Pro 20 mM ($-0,38$ MPa), SNP 25 μ M ($-0,41$ MPa) e SNP 50 μ M ($-0,35$ MPa) foram os mais eficazes na manutenção do potencial hídrico menos negativo, indicando efeito *priming* das substâncias empregadas nessas concentrações. Comparativamente a estudos recentes, concentrações micromolares de SNP e milimolares de prolina resultaram no aumento do $\Psi_{w \text{ foliar}}$ em plantas de *Physalis angulata* sob déficit hídrico (LEITE et al., 2019, 2021a) bem como para outras espécies, como tomate e funcho (GHOLAMI ZALI; EHSANZADEH, 2018; JANGID; DWIVEDI, 2017). O aporte dessas substâncias pode estimular o acúmulo de prolina e promover o ajustamento osmótico (VERSLUES; SHARMA, 2010), contribuindo para a manutenção da turgescência e mantendo estáveis os demais processos fisiológicos, como as trocas gasosas.

O déficit hídrico e o pré-tratamento com os agentes químicos influenciaram significativamente a assimilação de CO_2 (A , $p < 0,0001$), condutância estomática (g_s , $p < 0,05$) e transpiração (E , $p < 0,001$). No entanto, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis de carbono interno ($p = 0,9564$) e eficiência no uso da água ($p = 0,1119$). A imposição do déficit hídrico reduziu severamente a assimilação de CO_2 nas plantas de fisális, provocando uma redução de 64,4% em comparação com as plantas em condições bem hidratadas ($17,95 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Figura 4a). Ainda assim, o pré-tratamento com ambas as doses de SNP foi capaz de manter os níveis de assimilação estatisticamente iguais às plantas bem hidratadas. Essas plantas apresentaram valores médios de A iguais a 17,30 e 16,85 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, para o uso de 25 e 50 μ M de SNP, respectivamente. Aumentos para essa variável também foram observados em plantas sensibilizadas com prolina (Figura 4a).

A redução da assimilação de CO_2 nas plantas em condições de déficit hídrico ocorre, dentre outros fatores, em função do fechamento estomático. Essa constatação foi demonstrada em diversos estudos na literatura recente (LEITE et al., 2018; PAZZAGLI; WEINER; LIU, 2016; WANG; WANG; SHANGGUAN, 2016). Contudo, o uso do SNP em pré-tratamento atenuou os efeitos negativos do déficit hídrico para a assimilação de CO_2 . Isso porque o SNP é considerado o único doador de NO capaz de estimular o transporte de elétrons durante a etapa

fotoquímica da fotossíntese (ANTONIOU et al., 2020; PROCHÁZKOVÁ et al., 2013), somado a isso, o aporte exógeno de NO promove aumentos na atividade da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase / oxigenase - RuBisCo (SIDDIQUI et al., 2020), contribuindo para a melhoria da assimilação de CO₂.

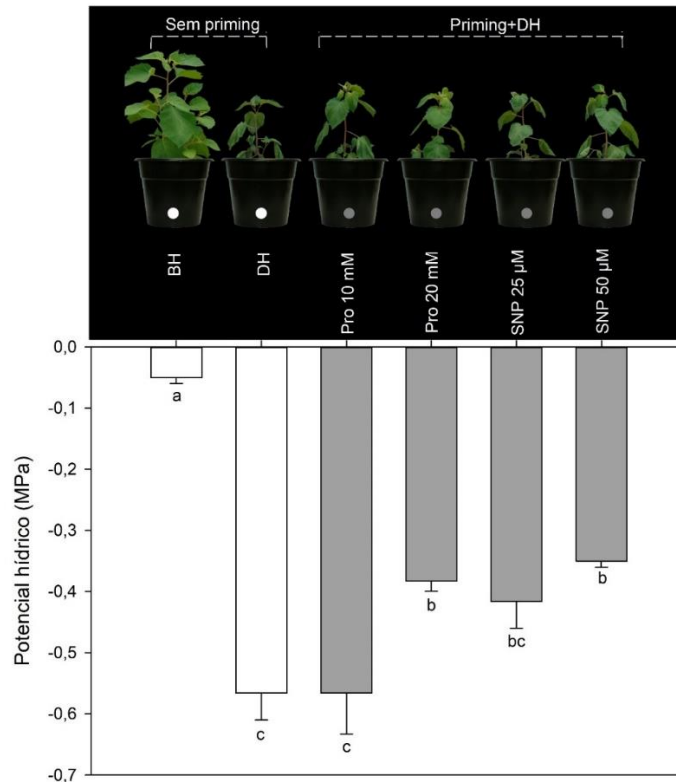


Figura 3. Potencial hídrico foliar em plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 µM nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50). Os dados são expressos pela média ± erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

A média da condutância estomática mensurada em plantas bem hidratadas foi 68,1% maior do que em plantas não tratadas sob déficit hídrico, o que indica o estado de estresse para este segundo grupo. Ainda assim, ambos os tratamentos *primings* utilizados estimularam o aumento da condutância estomática, atuando na manutenção da *gs* a níveis estatisticamente iguais às plantas em condições bem hidratadas, variando de 352,25 a 525 mmol H₂O m⁻² s⁻¹ (Figura 4b). Desempenho semelhante para o uso do agentes químicos foi observado para a transpiração foliar, a qual foi mantida a níveis entre 5,37 e 5,65 mmol H₂O m⁻² s⁻¹ (Figura 4c). Embora os resultados evidenciem que os agentes químicos estimularam a abertura estomática, é importante ressaltar que também houve melhoria no status hídrico das plantas (Figura 3). O uso de prolina e de SNP são reportados para a melhoria das trocas gasosas em plantas sob

estresses abióticos, como o aumento da condutância estomática (FARAJI; SEPEHRI, 2020) e da transpiração em plantas (ZOUARI et al., 2016)

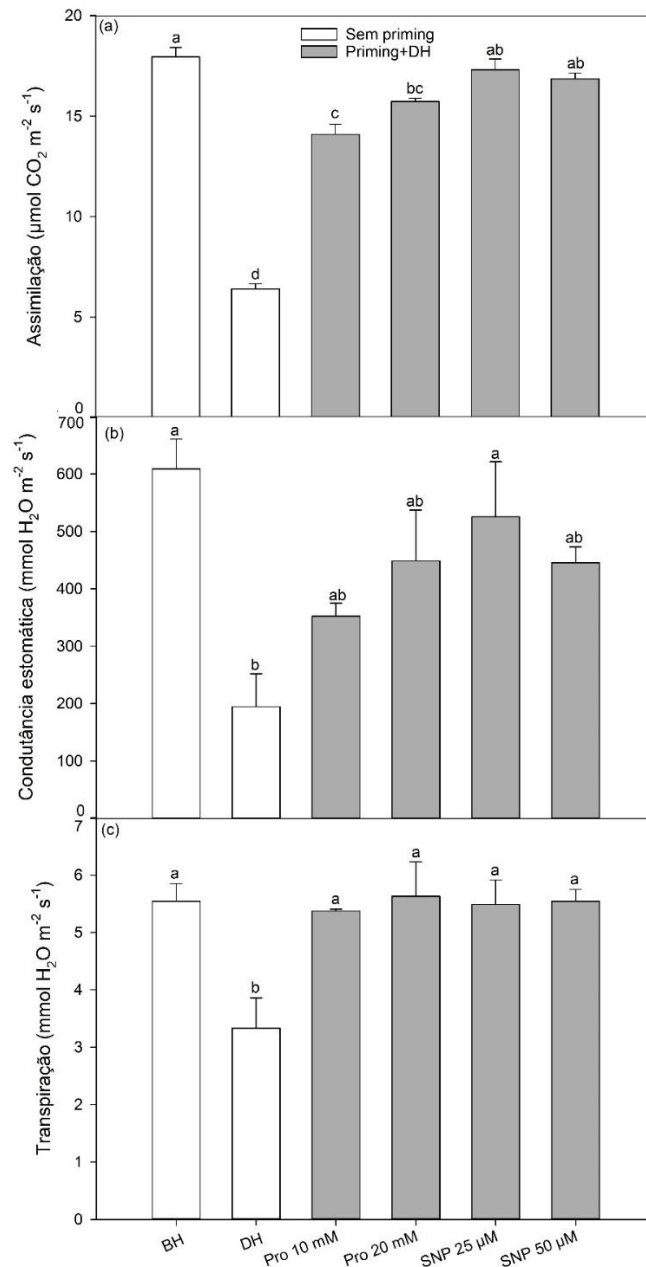


Figura 4. Assimilação de CO₂ (a), condutância estomática (b) e transpiração (c) de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 µM de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 µM). Os dados são expressos pela média ± erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

Os tratamentos *primings* estimularam o crescimento das plantas de fisális quando expostas ao déficit hídrico (Figuras 5, 6 e 7). Não houve diferença estatística para as médias da

taxa de crescimento absoluto (TCA) entre as plantas que foram expostas ao déficit hídrico e sensibilizadas com os agentes químicos (Figura 5a). Ainda assim, plantas pré-tratadas com 25 e 50 μM de SNP apresentaram um aumento da TCA, sendo incorporado 0,14 e 0,15 $\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, respectivamente, correspondendo a um aumento de 31% e 36% em comparação com plantas não tratadas sob déficit hídrico ($p < 0,0001$; Figura 5a). O pré-tratamento com prolina e SNP manteve a taxa de crescimento relativo (TCR) com valores médios acima de 0,19 $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$ ($p < 0,0001$). Assim, a melhoria dos processos fisiológicos promovida pelos pré-tratamentos, como nas relações hídricas e trocas gasosas, contribuiu para a manutenção do crescimento das plantas sob déficit hídrico, ainda que em níveis inferiores às plantas em condições bem hidratadas.

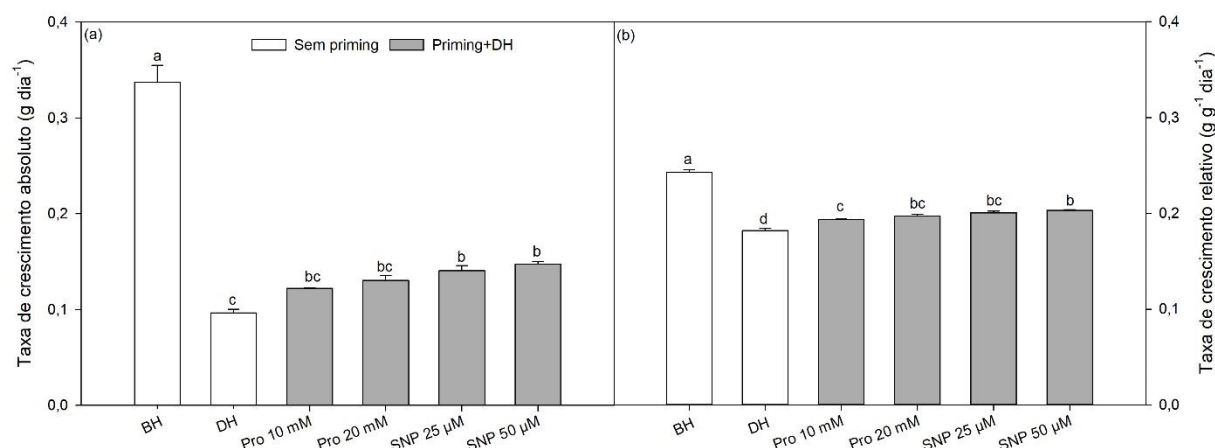


Figura 5. Taxa de crescimento absoluto (a) e taxa de crescimento relativo (b) de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 μM de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 μM). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

O déficit hídrico reduziu a área foliar (AF) de plantas não sensibilizadas em 81,9%, em comparação com as plantas bem hidratadas (Figura 6), sendo essa uma resposta comum às plantas sob esse estresse (LEITE et al., 2021a; SHAWON et al., 2020). O pré-tratamento com ambas as doses de prolina não foi capaz de atenuar os efeitos do déficit hídrico para esta variável, já as plantas pré-tratadas com 25 e 50 μM de SNP apresentaram incrementos na AF em 46,2% e 34,4%, respectivamente, em comparação com as plantas não sensibilizadas, indicando eficiência na aplicação do priming ($p < 0,0001$; Figura 6).

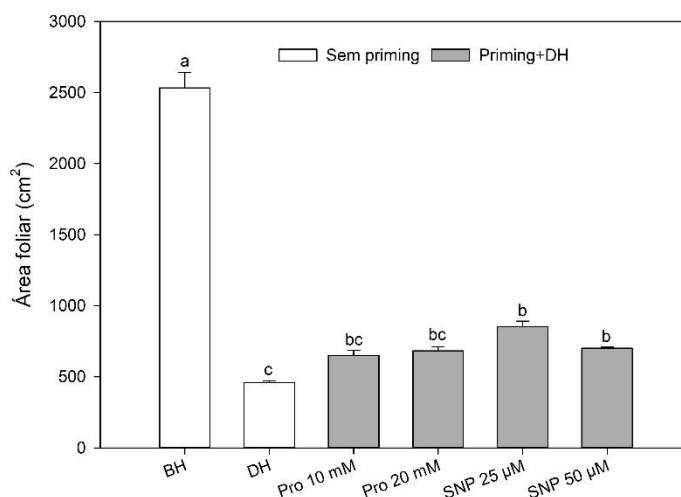


Figura 6. Área foliar de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 µM de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 µM). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

O acúmulo de biomassa foi reduzido pelo déficit hídrico nas plantas de fisális (Figura 7), como reportado em outros estudos (LEITE et al., 2019; OZASLAN et al., 2016). A matéria seca das folhas apresentou drástica redução com a imposição do déficit hídrico, havendo uma redução de 72,9% em comparação com plantas bem hidratadas. Esse efeito foi atenuado nas plantas pré-tratadas com ambas as doses de SNP e Pro 20 mM ($p < 0,0001$; figura 7a). No entanto, o uso dessas substâncias não foi capaz de aliviar os efeitos do déficit hídrico para a matéria seca do caule das plantas avaliadas, diferindo apenas daquelas bem hidratadas ($p < 0,0001$; figura 7b). Para a matéria seca da raiz, o pré-tratamento com SNP 25 mM foi o mais eficaz para acúmulo de biomassa nas plantas sob déficit hídrico ($p < 0,0001$; figura 7c). A matéria seca total em plantas pulverizadas com SNP 25 µM e 50 µM diferiram daquelas sem pré-tratamentos sob déficit hídrico e mantiveram valores médios acima de 2,86 g, demonstrando o efeito *priming* ($p < 0,0001$; figura 7 d).

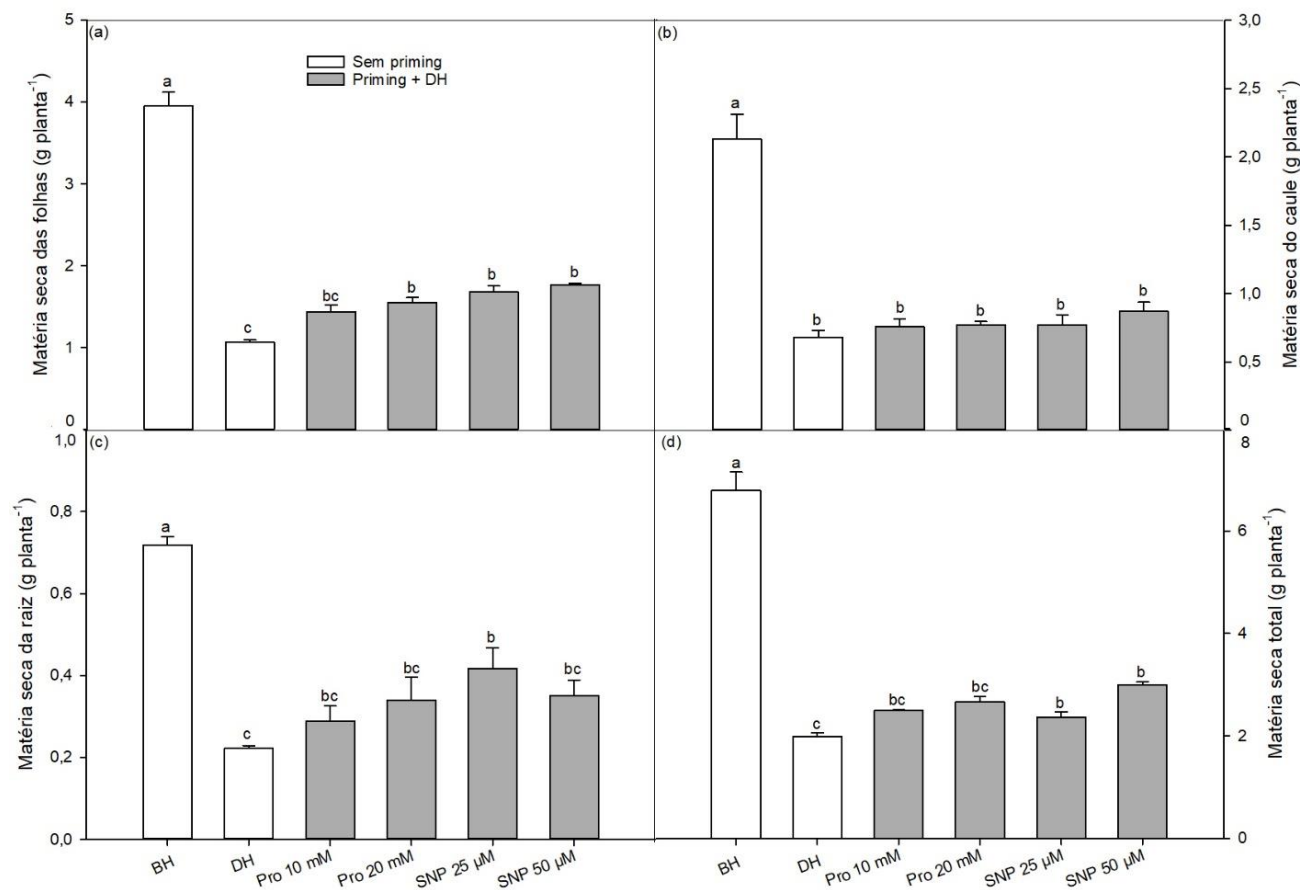


Figura 7. Matéria seca da parte aérea (a); matéria seca do caule (b); matéria seca da raiz (c) e matéria seca total (d) de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 μM de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 μM). Os dados são expressos pela média ± erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

A diminuição no crescimento das plantas é um dos principais processos afetados pelo déficit hídrico, ao reduzir a expansão celular (SALISBURY; ROSS, 2013). A manutenção ou melhoria nas taxas de crescimento das plantas, de forma natural ou induzida, quando cultivadas em condições adversas é uma característica que pode representar maior tolerância ao fator estressante. O uso de pré-tratamentos com doador de NO (25 e 50 μM) e prolina (20 mM) foram capazes de melhorar a hidratação nas plantas sob déficit hídrico, atuando na manutenção do processo fotossintético e, conseqüentemente, estimularam o acúmulo de biomassa nas plantas sob déficit hídrico (Figura 7) e aumentaram a tolerância ao estresse (Figura 8).

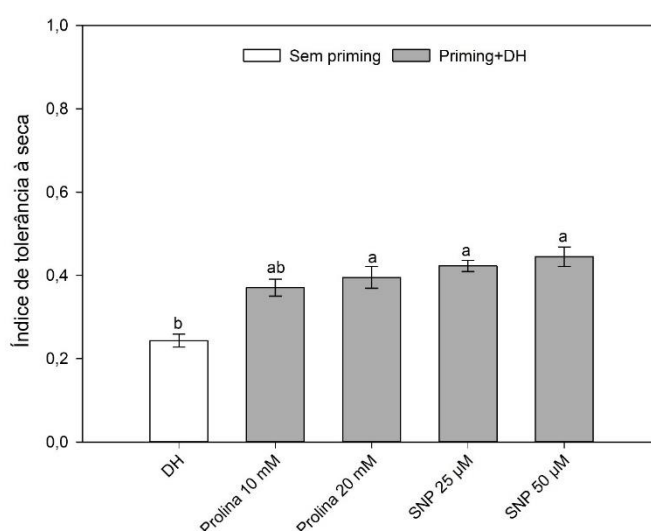


Figura 8. Coeficiente de tolerância à seca plantas de *Physalis peruviana* expostas ao déficit hídrico (DH) e após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20 mM) e 25 e 50 μM de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50 μM). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

O déficit hídrico e a aplicação de pré-tratamentos também alteraram os espectros de infravermelho em folhas de *Physalis peruviana* (Figura 9). A figura 9a mostra o espectro FTIR na região de 4000 a 400 cm^{-1} típico das folhas de plantas fisálicas cultivadas em condições bem hidratadas e sob déficit hídrico sem pré-tratamento. Fortes absorções foram observadas nos espectros de plantas sob déficit hídrico, com picos comuns às plantas bem hidratadas. Na região de 3500-3000 cm^{-1} , os picos encontrados foram associados ao estiramento de bandas O-H (JONES, 2012); as bandas de lipídios devido à vibração de alongamento C-H ocorreram na região de 3000-2800 cm^{-1} (SKOTTI et al., 2014), com pico em 2914 cm^{-1} ; e na faixa de 1800-800 cm^{-1} , que é a região de impressão digital, na qual ocorre a maioria das variações de absorção infravermelha (CARRIÓN-PRIETO et al., 2017) (Figura 9b).

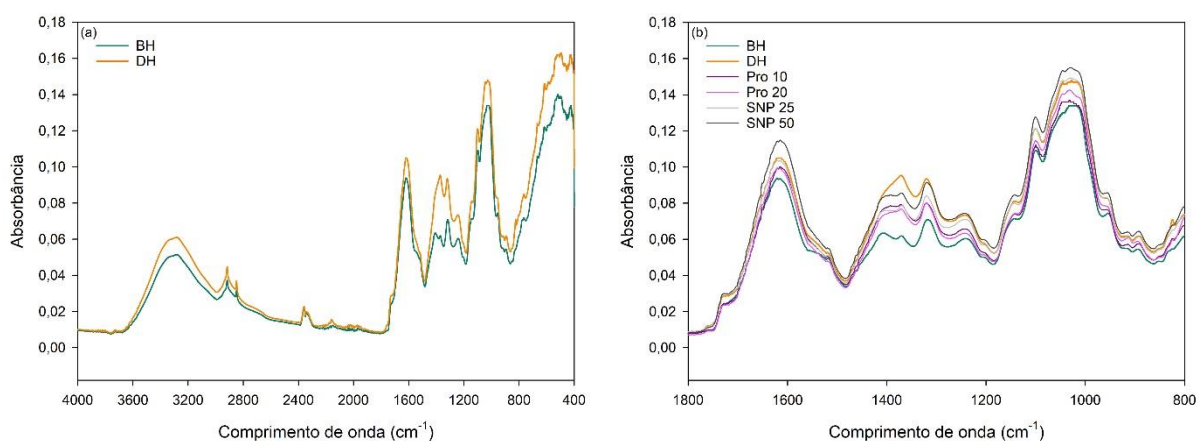


Figura 9. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier de folhas de *Physalis peruviana*: (a) plantas bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH); (b) caracterização da região da impressão digital de plantas BH, DH e após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μM de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50).

Analisando a região da impressão digital, as bandas de 1750 a 1250 cm^{-1} e de 1250 a 900 cm^{-1} correspondem às amidas e carboidratos (OGBAGA et al., 2017), respectivamente, que apresentaram maiores absorções em plantas sob déficit hídrico e demais pré-tratamentos (Figura 9b). Assim, variações induzidas no metabolismo das plantas por fatores ambientais, como o déficit hídrico, ou quaisquer situações estressantes podem refletir nos picos espectrais (KUMAR et al., 2016). É possível notar que entre as plantas submetidas a pré-tratamentos, o uso de ambas as doses de SNP induziu maiores absorções nos espectros correspondentes às amidas e carboidratos, o que pode indicar maior acúmulo dessas substâncias em processos fisiológicos como a osmorregulação. Os espectros das folhas de plantas pré-tratadas com prolina apresentaram absorções intermediárias entre plantas sob déficit hídrico sem pré-tratamento e plantas em condições bem hidratadas, indicando que essa substância reduziu os efeitos do estresse.

CONCLUSÕES

O uso de prolina e nitroprussiato de sódio apresenta efeito *priming* em plantas de *Physalis peruviana* cultivadas sob déficit hídrico, sendo indicado para o aumento da tolerância a esse fator de estresse. A pulverização foliar dessas substâncias em pré-tratamento, nas condições indicadas neste trabalho, promovem melhorias nas relações hídricas, trocas gasosas, taxas de crescimento, biomassa e na composição biomolecular.

REFERÊNCIAS

- ANTONIOU, C. et al. Exploring the potential of nitric oxide and hydrogen sulfide (NOSH)-releasing synthetic compounds as novel priming agents against drought stress in *Medicago sativa* plants. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, 2020.
- BHASKARA, G. B.; YANG, T. H.; VERSLUES, P. E. Dynamic proline metabolism: Importance and regulation in water limited environments. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1–7, 2015.
- BLUM, A., JORDAN, W. R. Breeding crop varieties for stress environments. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 2, p. 199–238, 1985.
- BONFIM-SILVA, E. M. et al. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 2, p. 180–186, 2011.
- CAIRO, P. A. R.; OLIVEIRA, L. E. M.; MESQUITA, A. C. **Análise de crescimento de plantas**. Editora UESB, Vitória da Conquista, 2008, 72 p.
- CARRIÓN-PRIETO, P. et al. Mediterranean shrublands as carbon sinks for climate change mitigation: new root-to-shoot ratios. **Carbon Management**, v. 8, p. 1–11, 2017.
- EL-BELTAGI, H. S. et al. Chemical composition and biological activity of *Physalis peruviana* L. **Gesunde Pflanzen**, v. 71, p. 113–122, 2019.
- FARAJI, J.; SEPEHRI, A. Exogenous nitric oxide improves the protective effects of tio₂ nanoparticles on growth, antioxidant system, and photosynthetic performance of wheat seedlings under drought stress. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, p. 703–714, 2020.
- FLEMING, T. R. et al. Biostimulants enhance growth and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* and exhibit chemical priming action. **Annals of Applied Biology**, v. 174, n. 2, p. 153–165, 2019.
- GHAFFARI, H. et al. Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. **Agricultural Water Management**, v. 243, p. 106448, 2021.

GHOLAMI ZALI, A.; EHSANZADEH, P. Exogenous proline improves osmoregulation, physiological functions, essential oil, and seed yield of fennel. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 133–140, 2018.

GOHARI, G. et al. Interaction between hydrogen peroxide and sodium nitroprusside following chemical priming of *Ocimum basilicum* L. against salt stress. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 2, p. 361–373, 2020.

HAMEED, A. et al. Alleviation of cadmium toxicity by mercapto-triazole priming in wheat. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 66, n. 11, p. 1467–1480, 2020.

HANIF, S. et al. Biochemically triggered heat and drought stress tolerance in rice by proline application. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 1, p. 305–312, 2021.

HE, M.; HE, C. Q.; DING, N. Z. Abiotic stresses: General defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1771, 2018.

IRANI, H.; VALIZADEHKJI, B.; NAEINI, M. R. Biostimulant-induced drought tolerance in grapevine is associated with physiological and biochemical changes. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 8, p. 5, 2021

JANGID, K. K.; DWIVEDI, P. Physiological and biochemical changes by nitric oxide and brassinosteroid in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, n. 3, 2017.

JONES, F. Infrared investigation of barite and gypsum crystallization: evidence for an amorphous to crystalline transition. **CrystEngComm**, v. 14, p. 8374–8381, 2012

KUMAR, V.S.A. et al. FTIR spectroscopy data as a fingerprint of *Withania somnifera* root tissues: a case study with accessions of the species from Kerala, South India. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, v. 6, p. 5748–5756, 2016.

LAU, S. E. et al. Plant nitric oxide signaling under drought stress. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 1–30, 2021.

LEITE, R. S. et al. Physiological responses of *Physalis angulata* plants to water deficit.

Journal of Agricultural Science, v. 10, n. 10, p. 287, 2018.

LEITE, R. et al. Alleviation of water deficit in *Physalis angulata* plants by nitric oxide exogenous donor. **Agricultural Water Management**, v. 216, p. 98–104, 2019.

LEITE, R. et al. Chemical priming agents controlling drought stress in *Physalis angulata* plants. **Scientia Horticulturae**, v. 275, p. 109670, 2021a.

LEITE, R. et al. Nitrogen influenced biomolecular changes on *Physalis* L. species studied using 2DCOS spectral analysis coupled with chemometric and Receiver operation characteristics analysis. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 249, p. 119220, 2021b.

MEDINA, S. et al. Potential of *Physalis peruviana* calyces as a low-cost valuable resource of phytoprostanes and phenolic compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 5, p. 2194–2204, 2019.

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, p. 132–144, 2018.

NAZARI, L.; PAKNIYAT, H. Assessment of drought tolerance in barley genotypes. **Journal of Applied Sciences**, v. 10, n. 2, p. 151-156, 2010.

OGBAGA, C. C. et al. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of maize (*Zea mays*) subjected to progressive drought reveals involvement of lipids, amides and carbohydrates. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 18, p. 1061-1066, 2017.

PAZZAGLI, P. T.; WEINER, J.; LIU, F. Effects of CO₂ elevation and irrigation regimes on leaf gas exchange, plant water relations, and water use efficiency of two tomato cultivars. **Agricultural Water Management**, v. 169, p. 26–33, 2016.

PROCHÁZKOVÁ, D. et al. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis. **Photosynthetica**, v. 51, n. 4, p. 483–489, 2013.

RAHIMIAN BOOGAR, A.; SALEHI, H.; JOWKAR, A. Exogenous nitric oxide alleviates oxidative damage in turfgrasses under drought stress. **South African Journal of Botany**, v.

92, p. 78–82, 2014.

RODRIGUES, J. et al. Source–sink regulation in crops under water deficit. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 7, p. 652–663, 2019.

SAKO, K.; NGUYEN, H. M.; SEKI, M. Advances in chemical priming to enhance abiotic stress tolerance in plants. **Plant & cell physiology**, v. 61, n. 12, p. 1995–2003, 2021.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Fisiologia das Plantas**. 4ª Edição, Cengage Learning, 2013. 774p

SEMIDA, W. M. et al. Exogenously applied proline enhances growth and productivity of drought stressed onion by improving photosynthetic efficiency, water use efficiency and up-regulating osmoprotectants. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109580, 2020.

SHAWON, R. A. et al. Influence of drought stress on bioactive compounds, antioxidant enzymes and glucosinolate contents of Chinese cabbage (*Brassica rapa*). **Food Chemistry**, v. 308, p. 125657, 2020.

SIDDIQUI, M. H. et al. Exogenous nitric oxide alleviates sulfur deficiency-induced oxidative damage in tomato seedlings. **Nitric Oxide**, v. 94, p. 95-107, 2020.

SIMONTACCHI, M. et al. Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1–19, 2015.

SKOTTI, E. et al. FTIR spectroscopic evaluation of changes in the cellular biochemical composition of the phytopathogenic fungus *Alternaria alternata* induced by extracts of some Greek medicinal and aromatic plants. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 127, p. 463–472, 2014.

TERRA et al. Características de tolerância à seca em genótipos de uma coleção nuclear de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 9, p. 788- 796, 2015.

TONHATI, R. et al. L-proline alleviates heat stress of tomato plants grown under protected environment. **Scientia Horticulturae**, v. 268, p. 109370, 2020.

VARGAS-PONCE, O. et al. Traditional management of a small-scale crop of *Physalis*

angulata in Western Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 63, n. 8, p. 1383–1395, 2016.

VERSLUES, P. E., SHARMA, S. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. **Arabidopsis Book**, v. 8, p. e0140, 2010.

WANG, X.; WANG, L.; SHANGGUAN, Z. Leaf gas exchange and fluorescence of two winter wheat varieties in response to drought stress and nitrogen supply. **PLoS ONE**, v. 11, n. 11, p. e0165733, 2016.

YU, T.-J et al. *Physalis peruviana*-derived physapruin A (PHA) inhibits breast cancer cell proliferation and induces oxidative-stress-mediated apoptosis and DNA damage. **Antioxidants**, v. 10, n.3, 393, 2021.

ZOUARI, M. et al. Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 100–108, 2016.

CAPÍTULO 4**USO DA ESPECTROSCOPIA ATR-FTIR PARA ANÁLISE DA
TOLERÂNICA DE *Physalis peruviana* L. AO DÉFICIT HÍDRICO**

Artigo publicado com o título “Use of ATR-FTIR spectroscopy for analysis of water deficit tolerance in *Physalis peruviana* L.” na revista Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 280, 121551, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121551>

RESUMO

Tratamentos que permitam às plantas melhor tolerar o déficit hídrico tornam-se essenciais, como a aplicação do *priming* químico. Somado a isso, é fundamental a utilização de análises capazes de mensurar esses efeitos a nível biomolecular, complementando as demais avaliações fisiológicas. Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo avaliar o uso da refletância total atenuada em espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) para análises de tolerância ao déficit hídrico em plantas de *Physalis peruviana* L. Para isso, foram avaliadas amostras de folhas, caules e raízes de plantas submetidas a distintos pré-tratamentos com prolina (10 mM e 20 mM), nitroprussiato de sódio (SNP 25 μ M e 50 μ M) e H₂O como controle, visando o aumento da tolerância ao déficit hídrico. Os agentes químicos utilizados promoveram a atenuação do déficit hídrico nas plantas de *P. peruviana*, influenciando na caracterização fenotípica e nas análises espectrais. A análise dos espectros FTIR indica que distintos grupos funcionais presentes nas folhas, caules e raízes foram influenciados pelo déficit hídrico e tratamentos *priming*. Alterações a nível de lipídios contribuíram para manutenção do status hídrico através do aumento da espessura da cera cuticular. O acúmulo de proteínas e carboidratos promoveram a osmorregulação e manutenção do status hídrico das plantas. Assim, o déficit hídrico promove alterações nos grupos funcionais presentes nos órgãos de *P. peruviana*, sendo a técnica ATR-FTIR capaz de detectar essas mudanças biomoleculares, auxiliando na seleção de tratamentos *priming* para o aumento da tolerância ao déficit hídrico.

Palavras-chave: Estresse hídrico. Mitigação do déficit hídrico. *Priming* químico. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. *Physalis peruviana*.

ABSTRACT

Treatments that allow plants to better tolerate water deficit become essential, such as the application of chemical priming. In addition, it is essential to use analyzes capable of measuring these effects at the biomolecular level, complementing other physiological assessments. In view of the above, this study aimed to evaluate the use of attenuated total reflectance in Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) for analysis of water deficit tolerance in *Physalis peruviana* L. plants. For this, samples of leaves, stems and roots of plants submitted to different pre-treatments with proline (10 mM and 20 mM), sodium nitroprusside (SNP 25 μ M and 50 μ M) and H₂O as control were evaluated, aiming to increase the water deficit tolerance. The chemical agents used promoted the attenuation of the water deficit in *P. peruviana* plants, influencing the phenotypic characterization and the spectral analysis. The analysis of FTIR spectra indicates that different functional groups present in leaves, stems and roots were influenced by water deficit and priming treatments. Changes in the lipid level contributed to maintenance of water status by increasing the thickness of the cuticular wax. The accumulation of proteins and carbohydrates promoted osmoregulation and maintenance of water status in plants. Thus, water deficit promotes changes in the functional groups present in *P. peruviana* organs, and the ATR-FTIR technique is able to detect these biomolecular changes, helping to select priming treatments to increase tolerance to water deficit.

Keywords: Water stress. Water deficit mitigation. Chemical priming. Fourier transform infrared spectroscopy. *Physalis peruviana*.

1 INTRODUÇÃO

As plantas são organismos sésseis e, como tal, precisam responder e se adaptar às severas condições ambientais para sobreviver (TAKAHASHI; SHINOZAKI, 2019). Os principais estresses abióticos que afetam o desempenho das plantas cultivadas e em seus ambientes naturais são as condições salinas, metais pesados, deficiência nutricional, temperatura, poluição e o excesso ou falta de água. Desses, o déficit hídrico é o principal fator limitante da produção agrícola no mundo, sobretudo em um cenário de mudanças climáticas constante (HUSSAIN et al., 2018; LANGRIDGE; REYNOLDS, 2015).

Um dos mecanismos de proteção às condições adversas é a capacidade das plantas de captar os fatores de estresses e responder adequadamente, através da ativação de vias de sinalização (SEWELAM; KAZAN; SCHENK, 2016). Como resposta final a um determinado estresse, como o déficit hídrico, pode ocorrer o fechamento estomático (SIMONTACCHI et al., 2015) e acúmulo de osmoprotetores (PINTÓ-MARIJUAN; MUNNÉ-BOSCH, 2013). Contudo, a redução da fotossíntese (LEITE et al., 2019) e o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P., 2016) nas plantas estressadas comprometem o seu desempenho final.

Tecnologias foram desenvolvidas para aumentar a tolerância das plantas e/ou reduzir os efeitos do déficit hídrico, como o *priming* químico. A técnica, que pode ser empregada em espécies consideradas subexploradas, como a *Physalis angulata* L. (LEITE et al., 2021a), é baseada no pré-tratamento de plantas através da aplicação de compostos químicos, como prolina e doadores de óxido nítrico. O *priming* em plantas consiste na exposição prévia a um agente estressor abiótico, natural ou induzido, que ativa de maneira mais rápida e melhor as respostas de defesa, tornando a planta mais tolerante caso seja exposta ao mesmo estresse no futuro (BECKERS; CONRATH, 2007).

A atenuação dos efeitos do déficit hídrico promovida pelo *priming* pode ser conferida a partir de distintos mecanismos, que vão desde a homeostase iônica e proteica à osmorregulação (SAVVIDES et al., 2016). Outras respostas são mensuradas objetivando avaliar o grau de aclimação das plantas ao estresse, como as trocas gasosas, potencial hídrico e o acúmulo de biomassa. Essas análises, embora essenciais, demandam grande quantidade de insumos e mão de obra, o que torna o processo demorado e gera a necessidade de busca por outras ferramentas para avaliar ou complementar os estudos de tolerância aos estresses abióticos. Nesse sentido, a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

(FTIR) é uma alternativa viável pois permite indicar a variabilidade química nos órgãos da planta em resposta ao déficit hídrico.

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier é uma ferramenta versátil que determina de forma rápida e não destrutiva a composição molecular dos órgãos vegetais, onde os principais grupos funcionais podem ser identificados, fornecendo informações estruturais sobre os compostos químicos presentes, como lipídios, proteínas e polissacarídeos (CORTE et al., 2010; RIBEIRO DA LUZ, 2006). É importante mencionar que a refletância total atenuada (ATR) com FTIR tem sido amplamente utilizada para avaliar a composição química de amostras biológicas a partir de uma pequena quantidade de material (BERTHOMIEU; HIENERWADEL, 2009).

Não há relatos do uso da técnica FTIR para avaliar o efeito do *priming* químico contra o déficit hídrico em plantas. Pesquisas demonstram que as análises FTIR podem ser utilizadas em estudos sobre estresses abióticos (LIU et al., 2019, 2020a). Além disso, já foi possível avaliar mudanças na composição biomolecular em órgãos vegetais de plantas de *Physalis angulata* cultivadas em distintas doses de nitrogênio (LEITE et al., 2018, 2021b). As plantas do gênero *Physalis* L. são subexploradas no Brasil, das quais destaca-se a *Physalis peruviana* L., com o cultivo e comercialização dos frutos em crescimento no país, além de potenciais medicinais (EL-BELTAGI et al., 2019).

A hipótese é que as plantas de fisális respondem de maneira diferente aos distintos tratamentos *primings* e parte dessas respostas pode estar relacionada à composição química e estrutural em seus distintos órgãos. Se essas diferenças podem ser detectadas pela ATR-FTIR, será possível utilizar a técnica para investigar os efeitos do estresse hídrico nas plantas e identificar tratamentos eficientes para aumento da tolerância ao déficit hídrico. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o uso da espectroscopia ATR-FTIR para análises de tolerância ao déficit hídrico em plantas de *Physalis peruviana*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As análises foram realizadas no Laboratorio de Técnicas Instrumentales da Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrárias da Universidad de Valladolid, Campus Palencia, Espanha. Para isso, amostras vegetais de um experimento realizado na Universidade Estadual de Feira de Santana foram enviadas para a universidade de destino seguindo os protocolos de envio de material vegetal para o exterior (art. 24, Decreto 8.772/2016, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade).

Foram avaliadas amostras de um experimento realizado durante o ano de 2020 com a espécie *Physalis peruviana*, instalado na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana. Nesse experimento, avaliou-se o uso do nitroprussiato de sódio (SNP) e da prolina (Pro) como possíveis agentes indutores do *priming* químico contra o déficit hídrico, além de água destilada como controle (H₂O). Foram avaliados os seguintes tratamentos nas plantas de *P. peruviana*: plantas cultivadas na capacidade de campo do vaso (Fc) de 70% + pulverização foliar com H₂O (T1); Fc de 20% + H₂O (T2); Fc de 20% + Prolina a 10 mM (T3); Fc de 20% + Prolina a 20 mM (T4); Fc de 20% + SNP a 25 µM (T5); Fc de 20% + SNP a 50 µM (T6), totalizando 6 tratamentos. As técnicas de cultivo e déficit hídrico foram reportadas em estudo prévio (LEITE et al., 2021a).

As plantas foram pulverizadas com 100 mL.m⁻² das distintas substâncias aos 10 dias após o transplante (DAT) e foram mantidas sob Fc de 70±5% por mais cinco dias (Figura 1). Em seguida, a reposição de água foi suspensa até o solo atingir a Fc de 20±5% após 15 dias, quando foi avaliado os efeitos do *priming* sobre as plantas expostas ao déficit hídrico e realizada a coleta dos distintos órgãos (folhas, caule e raízes). As amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C até atingir o peso constante.

2.2 Análises espectrais

As amostras dos diferentes órgãos vegetais de plantas submetidas aos tratamentos foram trituradas em nitrogênio líquido, homogeneizadas em peneira de 0,5 mm e analisadas por Refletância Total Atenuada em Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

(ATR FTIR) usando o espectrofotômetro ThermoNicolet iS50 (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, EUA). Os espectros 1D foram registrados no infravermelho médio (4000-400 cm^{-1}) com resolução espectral de 4 cm^{-1} (LEITE et al., 2018) e 64 varreduras por amostra. Os espectros 1D foram analisados individualmente a fim de identificar os distintos picos de absorção dos grupos funcionais presentes nos órgãos vegetais e a influência dos tratamentos avaliados.

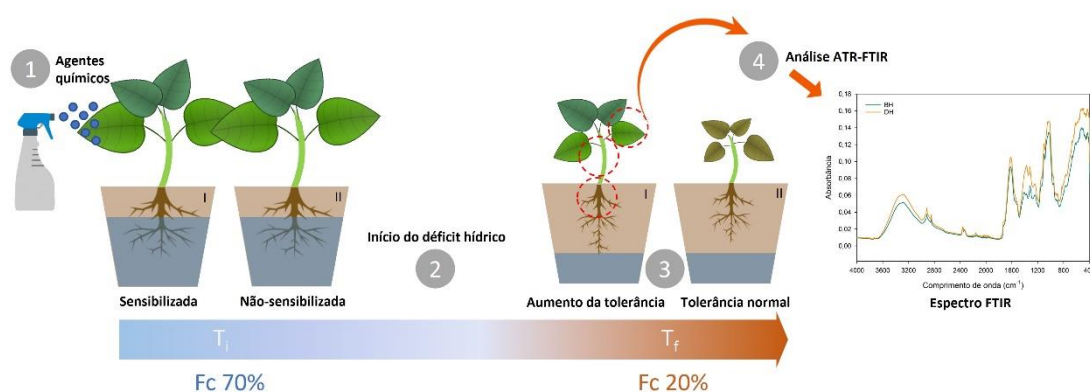


Figura 1. Aplicação do *priming* químico em plantas de fisalis: (1) os agentes químicos foram pulverizados em plantas cultivadas na capacidade de campo do vaso (Fc) de 70%, (2) seguido pelo início do déficit hídrico; (3) os agentes químicos promoveram o aumento da tolerância ao déficit hídrico e (4) análises espectrais dos distintos órgãos poderão identificar mudanças biomoleculares responsivas ao *priming* e à tolerância ao déficit hídrico. Fonte: Autoria própria.

Para as amostras de folhas foi calculado o grau de esterificação metílica e oxalato de cálcio a partir da área de banda de acordo com Lionetti; Cervone; Bellincampi (2012). Para as razões de área de banda de lipídios, amida I e carboidratos, foram utilizadas os seguintes valores: lipídio (3000-2800)/amida I (1705-1575), lipídio (3000-2800)/carboidratos (1200-900).

2.3 Análise estatística

Foram avaliadas quatro repetições dos órgãos vegetais (raiz, caule e folha) para cada tratamento utilizado. Os dados vibratórios foram analisados através do software SIGMAPLOT 14.0 (Systat Software Inc., Chicago, EUA). A comparação foi realizada em relação aos picos espectrais e análise ao grupo funcional correspondente.

Para as razões de banda de área, os dados foram submetidos a análise de variância a 5% de significância e expressos com a média \pm erro padrão (SE). Foi utilizado o teste de Tukey, e os dados obtidos dos parâmetros analisados foram avaliados estatisticamente utilizando o *software* estatístico Sisvar 5.6.

A análise dos componentes principais (PCA) foi realizada com o software SPSS 16.0. Os dados de FTIR foram centrados na média, com segunda derivada e vetor normalizados antes de serem submetidos à análise de PCA. A saída do PCA resultou como pontuações e carregamentos e explica a variação máxima dos dados presentes nas amostras. As pontuações foram plotadas para mostrar a variação dos espectros de FTIR.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Sintomas visuais

Os agentes químicos utilizados promoveram a atenuação do déficit hídrico nas plantas de *Physalis peruviana*, influenciando na caracterização fenotípica. Nas plantas não-sensibilizadas pelos agentes químicos, o déficit hídrico resultou em murcha e abscisão foliar, evidenciando os efeitos negativos característicos desse estresse. Não obstante, efeitos mitigadores foram observados nas plantas pré-tratadas com Pro 20 mM, SNP 25 μ M e SNP 50 μ M, evidentes pela manutenção do turgor e coloração foliar. É importante mencionar que não houve a expressão de características fenotípicas de toxicidade das substâncias nas concentrações utilizadas (Figura 2).



Figura 2. Sintomas visuais dos efeitos dos tratamentos em plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas e expostas ao déficit hídrico após pulverização com 10 e 20 mM prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μ M nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50). Fonte: autoria própria.

A manutenção da hidratação dos tecidos vegetais em condições de déficit hídrico é uma característica desejada para o aumento da eficiência das culturas agrícolas. Pesquisas recentes demonstram que o uso de SNP atua no potencial hídrico foliar e no acúmulo de açúcares em folhas (LEITE et al., 2019), elevando a tolerância das plantas ao déficit hídrico através da osmorregulação e do sistema antioxidante (FAROUK; AL-HUQAIL, 2020). De igual modo, a aplicação de prolina atua na melhoria da eficiência do uso da água (GHOLAMI ZALI; EHSANZADEH, 2018) e da atividade fotossintética (ZOUARI et al., 2016). Somado a isso, a

pulverização de SNP promove aumento nos teores de clorofila em plantas de *Physalis angulata* (LEITE et al., 2021a), o que subsidia as observações fenotípicas.

3.2 Análises espectrais

A análise dos espectros FTIR indica que distintos grupos funcionais presentes nas folhas, caules e raízes foram influenciados pelo déficit hídrico e pré-tratamentos. Na Figura 3 são apresentados os espectros dos órgãos de plantas bem hidratadas e sob déficit hídrico sem pré-tratamentos. Os maiores picos de absorção para folhas, caules e raízes ocorreram entre os comprimentos de ondas de 3500 cm^{-1} a 3000 cm^{-1} , relacionado ao trecho OH e NH (TÜRKER-KAYA; HUCK, 2017), entre 2920 cm^{-1} e 2800 cm^{-1} , correspondendo aos polissacarídeos e lipídios (CAO et al., 2017; OGBAGA et al., 2017) e entre 1800 cm^{-1} e 800 cm^{-1} , referente a região da impressão digital (LEITE et al., 2018). Estes picos foram observados tanto nas plantas bem hidratadas (Figura 3a) quanto sob déficit hídrico (Figura 3b).

O uso de espectros de infravermelho para avaliar as mudanças biomoleculares em plantas sob déficit hídrico ainda é escasso. Contudo, a espectroscopia FTIR é uma ferramenta analítica sensível e útil para investigar a composição química de sistemas biológicos (AGATONOVIC-KUSTRIN et al., 2020) como dos distintos órgãos das plantas. É possível notar variações na absorbância entre os espectros de folhas, caules e raízes, bem como entre as condições de disponibilidade de água no solo (Figura 3). A técnica também foi empregada em outros estudos com estresses abióticos, como em diferentes doses de nitrogênio no cultivo de *Physalis angulata* L. e *Physalis peruviana* L. (LEITE et al., 2021b), déficit hídrico em genótipos de *Arabidopsis thaliana* L. (LIU et al., 2020) e salinidade em *Glycine max* L. (AKYUZ et al., 2018).

Menores picos de absorbância nos comprimentos de onda de 2916 cm^{-1} e 2849 cm^{-1} foram observados em folhas de plantas bem hidratadas e são atribuídas às vibrações de alongamento assimétricas e simétricas de CH_2 (DUBIS; DUBIS; MORZYCKI, 1999), correspondendo aos lipídios (Figura 4 a). Por outro lado, houve aumento na absorbância média dos espectros de plantas sob déficit hídrico e quando submetidas aos pré-tratamentos, o que pode indicar maior espessura da cera cuticular foliar (MIHAELA TOPALĂ; RUSEA, 2018) e, conseqüentemente, menor possibilidade de perdas hídricas. Ambos tratamentos com prolina (10 mM e 20 mM) mantiveram-se com níveis intermediários de absorbância entre as plantas

bem hidratadas e sob déficit hídrico sem pré-tratamento. As plantas pulverizadas com SNP (25 μM e 50 μM) apresentaram maiores picos de absorbância para essa região espectral.

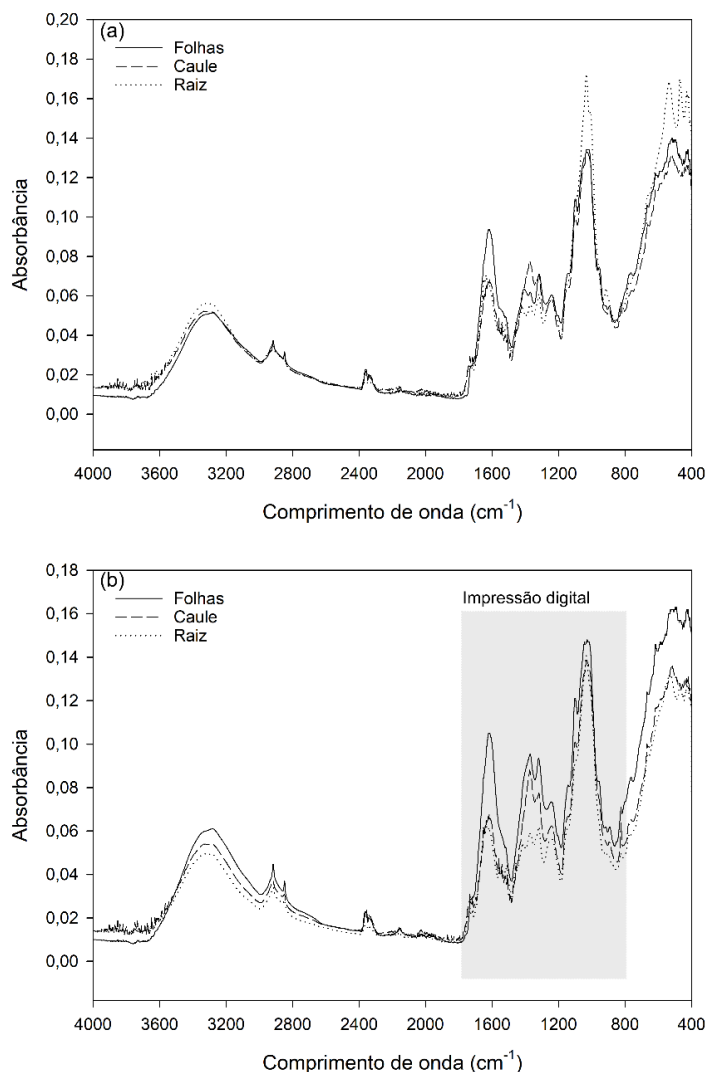


Figura 3. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier em distintos órgãos de *Physalis peruviana*: (a) plantas bem hidratadas e (b) plantas sob déficit hídrico.

Ambas as doses de prolina e a dose de SNP 50 μM promoveram alterações nos espectros de caules (2917 cm^{-1} e 2849 cm^{-1}), ao apresentar as menores absorções médias (Figura 4 b) para a região dos lipídios. Os maiores picos de absorção foram observados em plantas pulverizadas com SNP 25 μM . Para os espectros das raízes (2917 cm^{-1} e 2849 cm^{-1}), as maiores absorbâncias foram observadas em plantas pulverizadas com SNP 25 μM e 50 μM (Figura 4 c). Alterações espectrais a nível de lipídios foram reportados em plantas de *Zea mays* L. (OGBAGA et al., 2017) e de *Triticum aestivum* L. (LIU et al., 2021a) em condições de déficit hídrico.

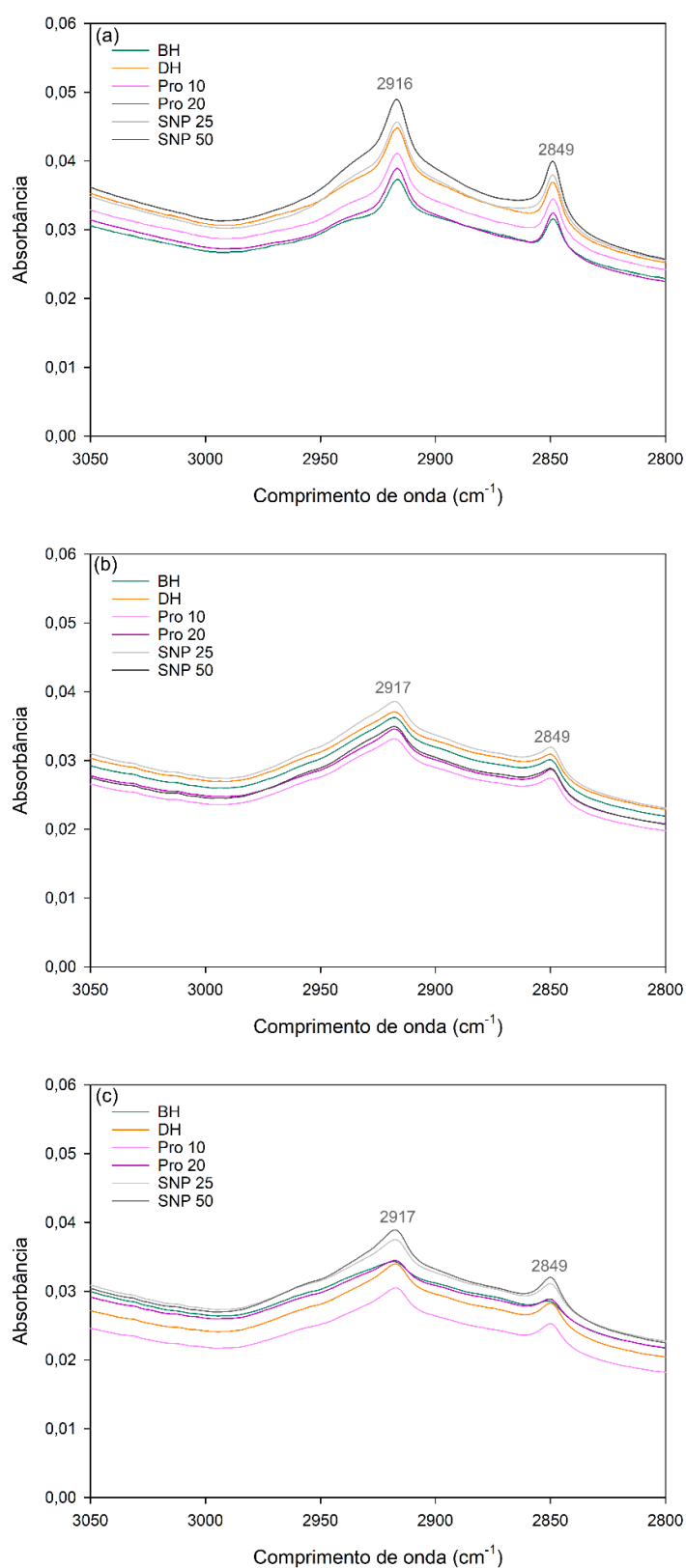


Figura 4. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier na região dos lipídios em distintos órgãos de *Physalis peruviana* sob condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μ M de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50): (a) folhas, (b) caule e (c) raízes.

O uso dos distintos tratamentos *priming* alteraram os espectros de folhas na região da impressão digital, entre 1800 cm^{-1} e 800 cm^{-1} (Figura 5). Na região do grupo funcional amida I (1614 cm^{-1}) (LEITE et al., 2021b) foram observados fortes picos para os valores de absorvância para os tratamentos Pro 10 mM, Pro 20 mM e SNP 25 μM , os quais permaneceram intermediários entre os valores para plantas bem hidratadas e plantas sob déficit hídrico sem pré-tratamento. O maior pico de absorvância foi observado para plantas pulverizadas com SNP 50 μM (Figura 5 d). Em espectros de infravermelho médio, o modo amida I (trecho C=O) é atribuído às proteínas (TÜRKER-KAYA; HUCK, 2017).

Os picos observados nos comprimentos de ondas 1370 cm^{-1} , 1318 cm^{-1} , 1242 cm^{-1} , ou próximos deles, são atribuídos ao grupo carboxilato e pectinas (LEITE et al., 2021b) e os espectros apresentaram desempenho semelhante ao grupo funcional da amida I. Outros picos relacionados à pectina apareceram próximos a 956 cm^{-1} , correspondendo à galactose (ALONSO-SIMÓN et al., 2004). Picos localizados próximos a 1099 cm^{-1} (vibração do alongamento C-O) são característicos de todos os carboidratos (CHYLÍŇSKA; SZYMAŇSKA-CHARGOT; ZDUNEK, 2016). O maior pico de absorvância para esse grupo funcional foi observado em espectro de plantas pulverizadas com SNP 50 μM , o que pode indicar maior acúmulo de carboidratos nas folhas (Figura 5 d).

Os polissacarídeos exibem uma banda em torno de 1030 cm^{-1} , devido ao alongamento O-H e C-OH, como a celulose (MIHAELA TOPALĂ; RUSEA, 2018; TÜRKER-KAYA; HUCK, 2017). Picos fracos foram observados no comprimento de onda 893 cm^{-1} , também característico de celulose (LIU et al., 2021b) (Figura 5). O acúmulo de solutos dentro da célula, como carboidratos e aminoácidos, diminui o componente osmótico do potencial da água e, conseqüentemente, mantém a pressão de turgor (GUICHERD et al., 1997), em um processo fisiológico denominado de osmorregulação. Os carboidratos se acumulam nas plantas na forma de moléculas solúveis, como sacarose, hexoses, álcoois, oligossacarídeos (TARDIEU; GRANIER; MULLER, 2011) e, além disso, se acumulam carboidratos estruturais, como celulose e lignina (ZHANG et al., 2014).

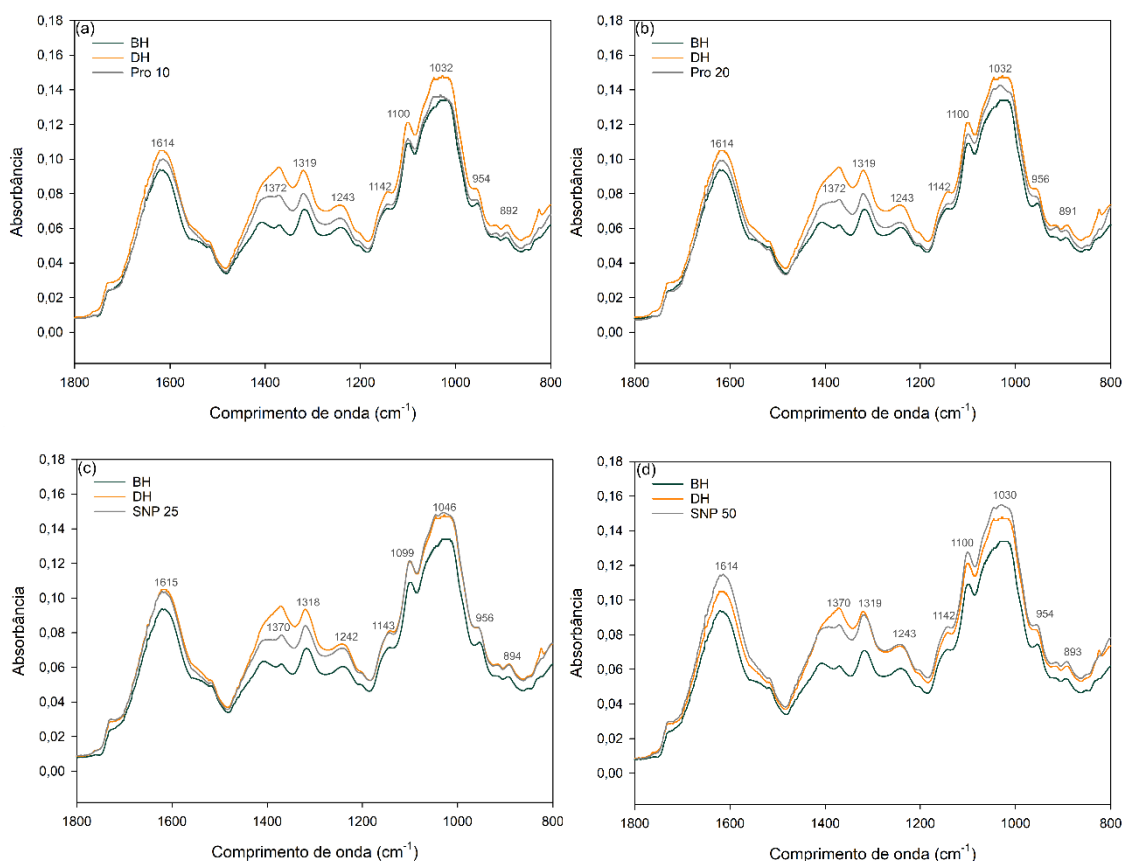


Figura 5. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier na região da impressão digital de folhas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH): (a) prolina 10 mM, (b) prolina 20 mM, (c) SNP 25 μ M e (d) SNP 50 μ M.

A celulose e a lignina são os dois principais carboidratos estruturais das paredes celulares em plantas vasculares, e são componentes responsáveis pela resistência do caule (WU et al., 2017). A aplicação dos tratamentos priming também alteraram os espectros de infravermelho de caules (Figura 6). Os picos observados nos comprimentos de ondas 1732-1733 cm^{-1} são atribuídos ao estiramento éster C=O, como fosfolipídios, hemicelulose, pectina, lignina, ésteres de suberina e cutina (TÜRKER-KAYA; HUCK, 2017), com maiores absorvância para as plantas tratadas com SNP 25 μ M e SNP 50 μ M (Figuras 6 c; 6 d). Resultados semelhantes aos observados para o pico em 1506 cm^{-1} é atribuído à lignina.

Os picos nos comprimentos de ondas de 1374 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} e 893 cm^{-1} são característicos de celulose (LIU et al., 2021b; MIHAELA TOPALĂ; RUSEA, 2018; TÜRKER-KAYA; HUCK, 2017). Os maiores valores de absorvância foram observados para plantas sob déficit hídrico e para aquelas pré-tratadas com SNP 25 μ M (Figura 6 c). Os demais tratamentos apresentaram espectros com absorvância intermediária entre plantas sob déficit hídrico e plantas bem hidratadas, ou inferior a elas. Picos próximos a 1242 cm^{-1} foram atribuídos ao

estiramento C=O, relativo às substâncias pécnicas, lignina, hemicelulose, suberina e ésteres de cutina (TÜRKER-KAYA; HUCK, 2017). Assim, mesmo em condições de déficit hídrico, o genótipo utilizado de *Physalis peruviana* foi capaz de alocar carbono (C) estrutural, evidenciando uma possível característica de tolerância.

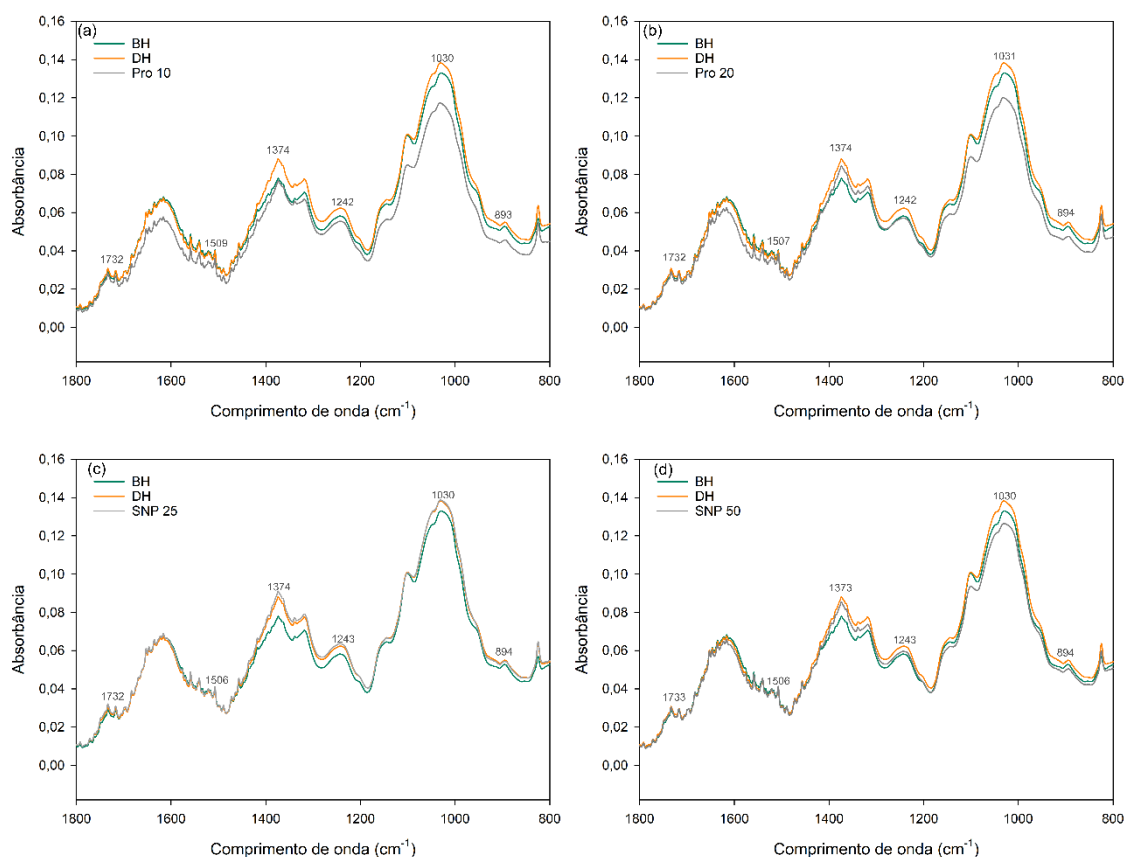


Figura 6. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier na região da impressão digital de caules de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH): (a) prolina 10 mM, (b) prolina 20 mM, (c) SNP 25 μ M e (d) SNP 50 μ M.

Os espectros de infravermelho obtidos das amostras de raízes apresentaram respostas diferentes das avaliadas em folhas e caules (Figura 7). As maiores absorvâncias foram observadas em raízes de plantas bem hidratadas ou naquelas sob déficit hídrico com aplicação dos tratamentos *primings*. Para os picos de intensidade média na região de 1733 cm^{-1} , 1507 cm^{-1} e 1241 cm^{-1} ou próximos deles, que são característicos de lignina, os maiores valores de absorvância foram observados em raízes de plantas tratadas com Pro 20 mM, SNP 25 μ M e SNP 50 μ M, havendo redução desses valores em Pro 10 mM e plantas sob déficit hídrico sem pré-tratamento.

Picos fortes no comprimento de onda de 1032 cm^{-1} são responsivos à celulose, com maiores valores para as plantas cultivadas em condições bem hidratadas (Figura 7). Os menores valores de absorbância foram registrados para plantas sob déficit hídrico sem priming e quando pulverizadas com Pro 10 mM (Figura 7 a). Os tratamentos Pro 20 mM, SNP 25 μM e SNP 50 μM permaneceram com valores intermediários, indicando que atuaram na melhoria da tolerância ao déficit hídrico (Figuras 7 b; 7 c; 7 d). Uma vez que a redução na absorbância relativa às ligninas e celulose pode estar relacionada com a redução da alocação de C para o crescimento estrutural, como redução do comprimento dos órgãos da planta (PERRIER et al., 2017). A redução do crescimento radicular foi reportada em estudos com plantas em condições de déficit hídrico (DURAND et al., 2016; NXELE; KLEIN; NDIMBA, 2017).

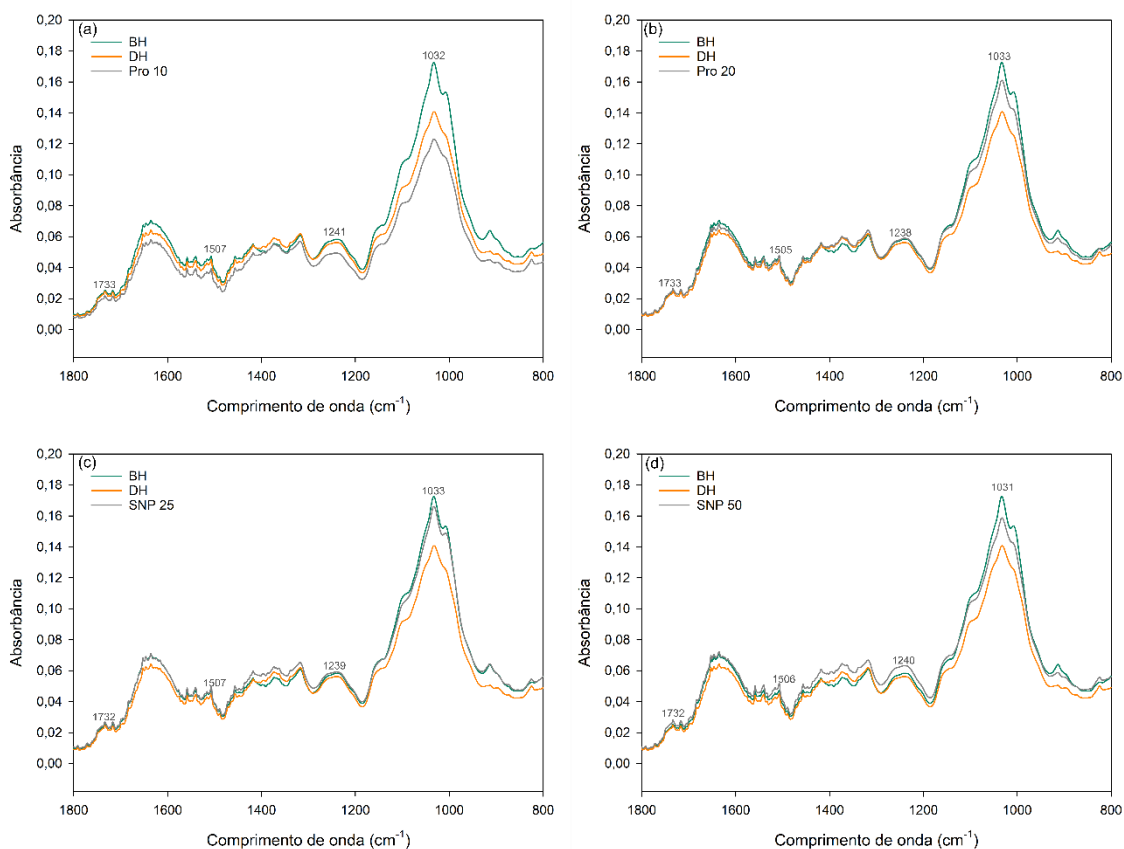


Figura 7. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier na região da impressão digital de raízes de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH): (a) prolina 10 mM, (b) prolina 20 mM, (c) SNP 25 μM e (d) SNP 50 μM .

Os picos encontrados para os distintos órgãos de *Physalis peruviana* a 780 cm^{-1} podem ser atribuídos à oscilação N-H, amida primária e secundária e grupo nitrato (MURUGANANTHAM; ANBALAGAN; RAMAMURTHY, 2009) (Figura 8). Os picos dos

nitratos alternaram em picos fracos para as folhas e médios para caule e raízes. Para as raízes, os valores de absorvância de plantas pré-tratadas com Pro 20 mM, SNP 25 μ M e SNP 50 μ M foram intermediários entre plantas bem hidratadas, de maior valor médio de absorvância, e plantas sob déficit hídrico sem pré-tratamento (Figura 8 c). Os picos médios para o grupo do nitrato nas raízes podem estar relacionados ao fato desse órgão ser o principal sítio da atividade da enzima redutase do nitrato (aRN), como observado em plantas de *Physalis angulata* (TANAN et al., 2019).

O déficit hídrico aumentou a relação lipídio/amida I em folhas, quando comparado com plantas cultivadas em condições bem hidratadas (Figura 9 a). A aplicação de SNP 25 μ M apresentou o maior valor médio para essa relação, seguido do pré-tratamento com SNP 50 μ M, indicando que o uso dessa substância nas concentrações mencionadas em pré-tratamento afeta a produção de lipídios e de proteínas (como a amida I) sob condição de déficit hídrico, provavelmente como produtos de armazenamento de energia (JIANG; YOSHIDA; QUIGG, 2012). Já a para a razão Lipídio/Carboidratos não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos avaliados ($p=0,1769$) (Figura 9 b).

Os maiores valores médios para a área de banda do oxalato de cálcio foram observados em plantas bem hidratadas e em plantas pulverizadas com Pro 20 mM (Figura 9 c). A absorção de cálcio e a síntese de ácido oxálico é importante para o equilíbrio de íons na planta e para a osmorregulação, através da regulação do excesso de íons de cálcio por precipitação com ácido oxálico, na forma de cristais de oxalato de cálcio (GOUVEIA et al., 2018), esses cristais fornecem um reservatório interno de Ca, pois podem ser reabsorvidos (GABERŠČIK et al., 2020). Alterações a nível de oxalato de cálcio a partir de espectros FTIR foram reportados em outros estudos (KAYABAŞ; YILDIRIM, 2022; LEITE et al., 2021d). Para o grau de esterificação, as plantas submetidas aos tratamentos priming apresentaram maiores valores em comparação com plantas cultivadas em condições bem hidratadas (Figura 9 d).

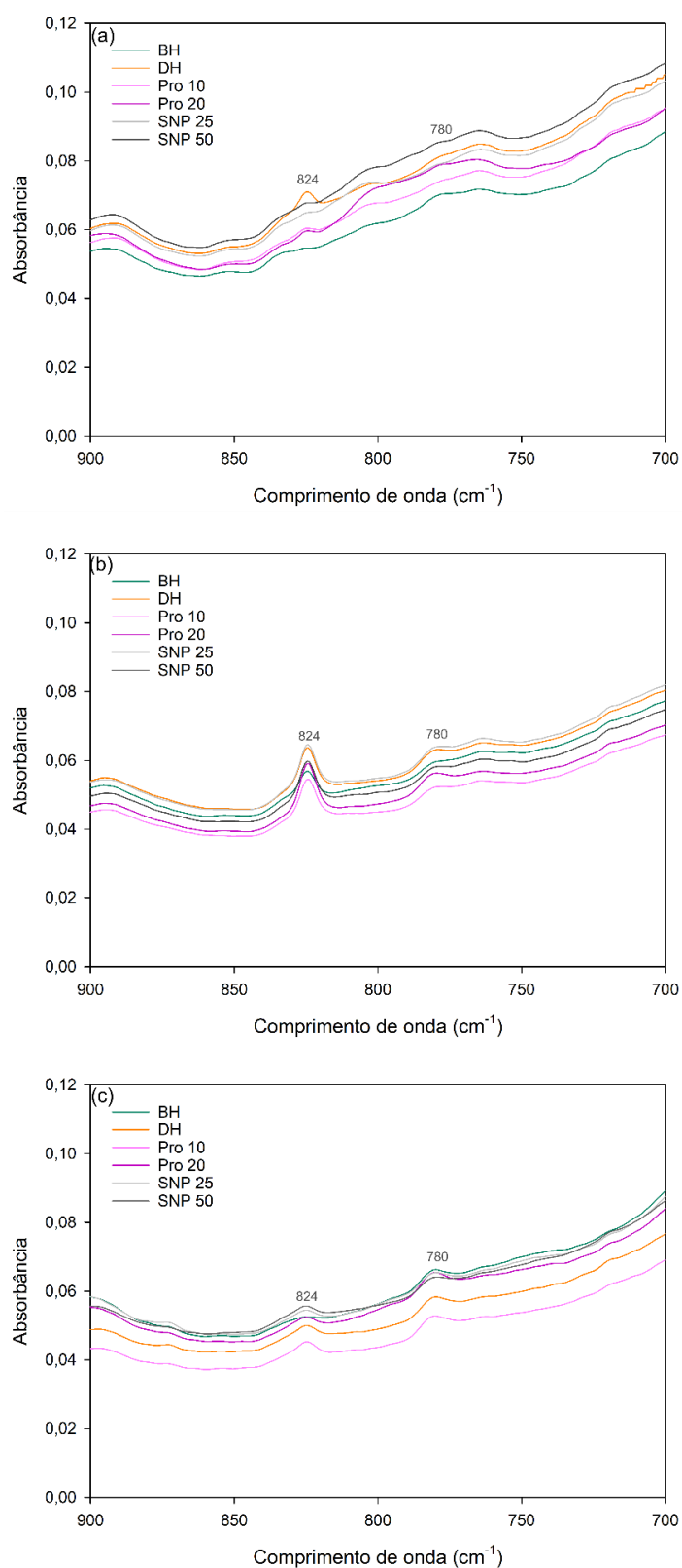


Figura 8. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier região de 900 a 700 cm^{-1} em distintos órgãos de *Physalis peruviana* sob condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM de prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μM de nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50): (a) folhas, (b) caule e (c) raízes: (a) folhas, (b) caule e (c) raízes.

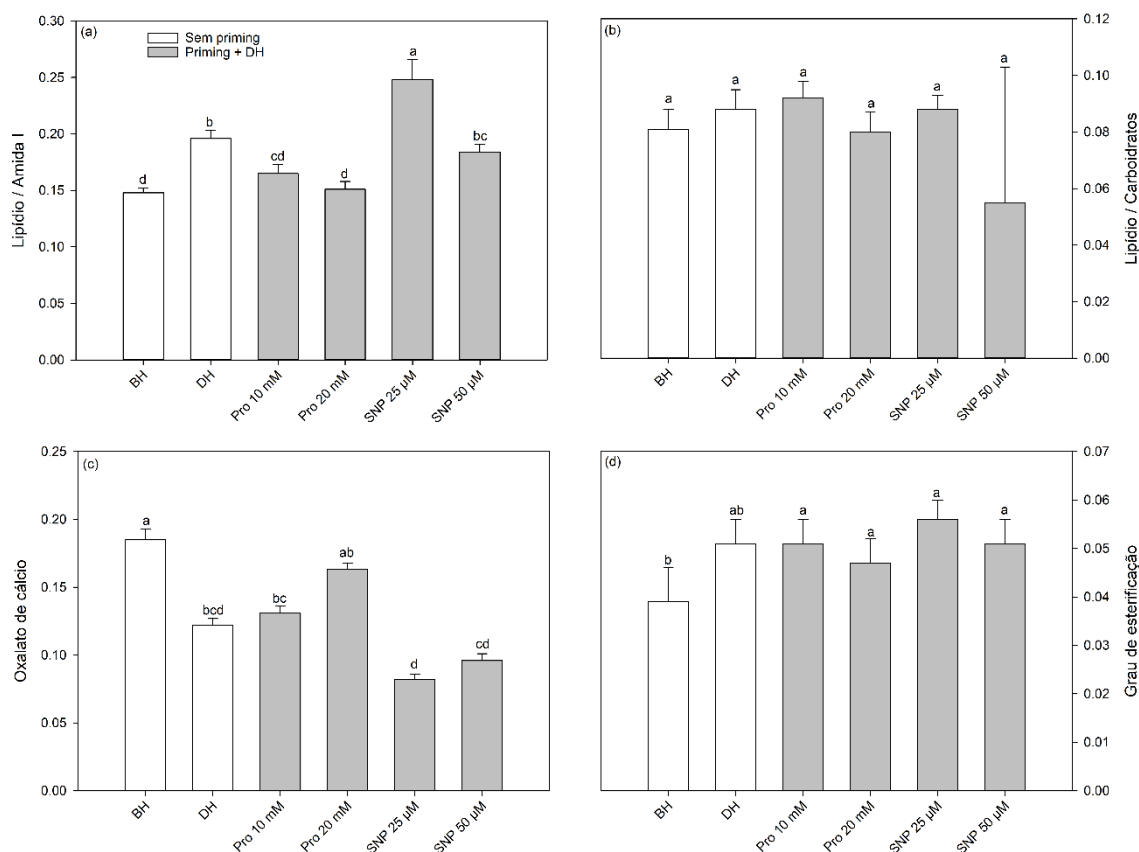


Figura 9. Razões de área de banda de lipídio/amida I (a), lipídio/carboidratos (b), oxalato de cálcio (c) e grau de esterificação (d) em plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (BH) e expostas ao déficit hídrico (DH) após pulverização com 10 e 20 mM prolina (Pro 10 e Pro 20) e 25 e 50 μM nitroprussiato de sódio (SNP 25 e SNP 50). Os dados são expressos pela média \pm erro padrão. As médias que compartilham as mesmas letras não apresentam diferenças significativas a 5% de significância.

A Figura 10 apresenta os resultados da análise dos componentes principais (PCA) obtidos para plantas cultivadas em condições bem hidratadas e os tratamentos de déficit hídrico com plantas de *Physalis peruviana*. A saída dos resultados da PCA teve três componentes principais. O primeiro componente (PC1) correspondeu à variação de 56%, o segundo componente (PC2) teve 43% de variação e o terceiro componente (PC3) teve ao menos 2% de variação. Os resultados do gráfico mostram que o maior valor foi obtido para o tratamento T1 (plantas bem hidratadas) seguido pelo tratamento T5 (déficit hídrico + SNP 25 μM). Os menores valores foram obtidos para os tratamentos T3 (déficit hídrico + Pro 10 mM) e T4 (déficit hídrico + Pro 20 mM). A diferença mostra que as amostras foram separadas devido a alterações bioquímicas das plantas de fisalis em resposta aos tratamentos *priming* contra o déficit hídrico.

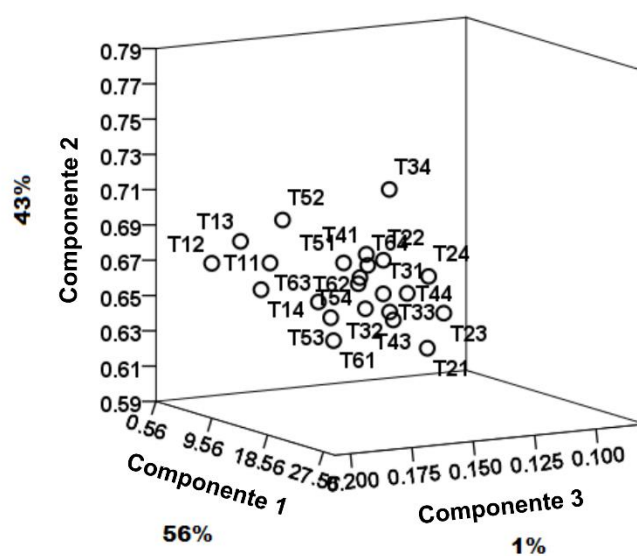


Figura 10. Análise dos componentes principais de plantas de *Physalis peruviana* em condições bem hidratadas (T1, repetições T11, T12, T13 e T14), sob déficit hídrico sem pré-tratamento (T2, repetições T21, T22, T23, T24) e após pulverização com prolina a 10 mM (T3, repetições T31, T32, T33 e T34) e 20 mM (T4, repetições T41, T42, T43 e T44) e nitroprussiato de sódio a 25 μM (T5, repetições T51, T52, T53, T54) e 50 μM (T6, repetições T61, T62, T63 e T64).

CONCLUSÕES

O déficit hídrico promove alterações nos grupos funcionais presentes nos distintos órgãos de *Physalis peruviana*, principalmente lipídios, proteínas e carboidratos. O uso de nitroprussiato de sódio a 25 μM e 50 μM é eficiente para atenuar os efeitos negativos do déficit hídrico.

A técnica ATR-FTIR é capaz de detectar mudanças na composição química de folhas, caules e raízes de plantas de *Physalis peruviana*, auxiliando na seleção de tratamentos *priming* para o aumento da tolerância ao déficit hídrico.

REFERÊNCIAS

- AGATONOVIC-KUSTRIN, S. et al. High-performance thin-layer chromatography linked with (bio)assays and FTIR-ATR spectroscopy as a method for discovery and quantification of bioactive components in native Australian plants. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 184, p. 113208, 2020.
- AKYUZ, S. et al. FTIR Spectroscopy of protein isolates of salt-tolerant soybean mutants. **Journal of Applied Spectroscopy**, v. 84, n. 6, p. 1019–1023, 2018.
- ALONSO-SIMÓN, A. et al. FTIR spectroscopy monitoring of cell wall modifications during the habituation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) callus cultures to dichlobenil. **Plant Science**, v. 167, n. 6, p. 1273–1281, 2004.
- BECKERS, G. J.; CONRATH, U. Priming for stress resistance: from the lab to the field. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 4, p. 425–431, 2007.
- BERTHOMIEU, C.; HIENERWADEL, R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Photosynthesis Research**, v. 101, p. 157-170, 2009.
- CAO, Z. et al. Classification and identification of *Rhodobryum roseum* Limpr. and its adulterants based on Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and chemometrics. **PLoS One**, 12, p. 1-14, 2017.
- CARVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genetic and Molecular Biology**, v. 39, n. 1, p. 1-6, 2016.
- CHYLIŃSKA, M.; SZYMAŃSKA-CHARGOT, M.; ZDUNEK, A. FT-IR and FT-Raman characterization of non-cellulosic polysaccharides fractions isolated from plant cell wall. **Carbohydrate Polymers**, v. 154, p. 48–54, 2016.
- CORTE, L. et al. Development of a novel, FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) based, yeast bioassay for toxicity testing and stress response study. **Analytica Chimica Acta**, v. 659, n. 1–2, p. 258–265, 2010.
- DUBIS, E. N.; DUBIS, A. T.; MORZYCKI, J. W. Comparative analysis of plant cuticular waxes using HATR FT-IR reflection technique. **Journal of Molecular Structure**, v. 511-512, p. 173–179, 1999.

- DURAND, M. et al. Water deficit enhances C export to the roots in *Arabidopsis thaliana* plants with contribution of sucrose transporters in both shoot and roots. **Plant Physiology**, v. 170, n. 3, p. 1460–1479, 2016.
- EL-BELTAGI, H. S. et al. Chemical composition and biological activity of *Physalis peruviana* L. **Gesunde Pflanzen**, v. 71, p. 113-122, 2019.
- FAROUK, S.; AL-HUQAIL, A. A. Sodium nitroprusside application regulates antioxidant capacity, improves phytopharmaceutical production and essential oil yield of marjoram herb under drought. **Industrial Crops and Products**, v. 158, p. 113034, 2020.
- GABERŠČIK, A. et al. Water shortage strongly alters formation of calcium oxalate druse crystals and leaf traits in fagopyrum esculentum. **Plants**, v. 9, n. 7, p. 1–19, 2020.
- GHOLAMI ZALI, A.; EHSANZADEH, P. Exogenously applied proline as a tool to enhance water use efficiency: Case of fennel. **Agricultural Water Management**, v. 197, p. 138–146, 2018b.
- GOUVEIA, C. S. S. et al. Quantitation of oxalates in corms and shoots of *Colocasia esculenta* (L.) Schott under drought conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 12, 2018.
- GUICHERD, P. et al. Osmotic adjustment in *Fraxinus excelsior* L.: malate and mannitol accumulation in leaves under drought conditions. **Trees**, v. 11, n. 3, p. 155–161, 1997.
- HUSSAIN, M. et al. Drought stress in sunflower: Physiological effects and its management through breeding and agronomic alternatives. **Agricultural Water Management**, v. 201, p. 152–166, 2018.
- JIANG, Y.; YOSHIDA, T.; QUIGG, A. Photosynthetic performance, lipid production and biomass composition in response to nitrogen limitation in marine microalgae. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 70–77, 2012.
- KAYABAŞ, A.; YILDIRIM, E. New approaches with ATR-FTIR, SEM, and contact angle measurements in the adaptation to extreme conditions of some endemic *Gypsophila* L. taxa growing in gypsum habitats. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 270, p. 120843, 2022.
- LANGRIDGE, P.; REYNOLDS, M. P. Genomic tools to assist breeding for drought tolerance. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 130–135, 2015.

- LEITE, R. et al. Alleviation of water deficit in *Physalis angulata* plants by nitric oxide exogenous donor. **Agricultural Water Management**, v. 216, p. 98–104, 2019.
- LEITE, R. et al. Chemical priming agents controlling drought stress in *Physalis angulata* plants. **Scientia Horticulturae**, v. 275, p. 109670, 2021a.
- LEITE, R. et al. Nitrogen fertilization affects Fourier Transform Infrared spectra (FTIR) in *Physalis* L. species. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 150, p. 411–417, 2018a.
- LEITE, R. et al. Nitrogen influenced biomolecular changes on *Physalis* L. species studied using 2DCOS spectral analysis coupled with chemometric and Receiver operation characteristics analysis. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 249, p. 119220, 2021b.
- LIONETTI, V.; CERVONE, F.; BELLINCAMPI, D. Methyl esterification of pectin plays a role during plant-pathogen interactions and affects plant resistance to diseases. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 16, p. 1623–1630, 2012.
- LIU, J. et al. Effects of water deficit and high N fertilization on wheat storage protein synthesis, gluten secondary structure, and breadmaking quality. **Crop Journal**, v. 10, n. 1, p. 216-223, 2021a.
- LIU, X. et al. Revisiting the contribution of ATR-FTIR spectroscopy to characterize plant cell wall polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 262, 2021b.
- LIU, N. et al. Genotypic and heat stress effects on leaf cuticles of field pea using ATR-FTIR spectroscopy. **Planta**, v. 249, n. 2, p. 601–613, 2019.
- LIU, N. et al. Mid-infrared spectroscopy is a fast screening method for selecting Arabidopsis genotypes with altered leaf cuticular wax. **Plant Cell and Environment**, v. 43, n. 3, p. 662–674, 2020.
- MURUGANANTHAM, S.; ANBALAGAN, G.; RAMAMURTHY, N. FT-IR and SEM-EDS comparative analysis of medicinal plants, *Eclipta alba* Hassk and *Eclipta prostrata* Linn. **Romanian Journal of Biophysics**, v. 19, p. 285-294, 2009.
- NXELE, X.; KLEIN, A.; NDIMBA, B. K. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 261–266, 2017.

- OGBAGA, C. C. et al. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of maize (*Zea mays*) subjected to progressive drought reveals involvement of lipids, amides and carbohydrates. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 18, p. 1061-1066, 2017.
- PINTÓ-MARIJUAN, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Ecophysiology of invasive plants: Osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 12, p. 660–666, 2013.
- RIBEIRO DA LUZ, B. Attenuated total reflectance spectroscopy of plant leaves: A tool for ecological and botanical studies. **New Phytologist**, v. 172, n. 2, p. 305–318, 2006.
- SAVVIDES, A. et al. chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 4, p. 329–340, 2016.
- SEWELAM, N.; KAZAN, K.; SCHENK, P. M. Global plant stress signaling: Reactive oxygen species at the cross-road. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 187, 2016.
- SIMONTACCHI, M. et al. Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1–19, 2015.
- TAKAHASHI, F.; SHINOZAKI, K. Long-distance signaling in plant stress response. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 47, p. 106–111, 2019.
- TANAN, T. T. et al. Characterization of nitrate reductase activity (NR) in foliar and radicular tissues of *Physalis angulata* L.: Diurnal variations and protocol optimization. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 7, p. 1120–1125, 2019.
- TARDIEU, F.; GRANIER, C.; MULLER, B. Water deficit and growth. Co-ordinating processes without an orchestrator? **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 283–289, 2011.
- PERRIER, L. et al. Plasticity of sorghum stem biomass accumulation in response to water deficit: a multiscale analysis from internode tissue to plant level. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 1516, 2017.
- TOPALĂ, C. M.; RUSEA, I. Analysis of leaves using ftir spectroscopy and principal component analysis discrimination of different plant samples. **Current Trends in Natural Sciences**, v. 7, p. 286-291, 2018.

TÜRKER-KAYA, S.; HUCK, C. W. A review of mid-infrared and near-infrared imaging: Principles, concepts and applications in plant tissue análisis. **Molecules**, v. 22, p. 168, 2017.

WU, L. et al. Shading contributes to the reduction of stem mechanical strength by decreasing cell wall synthesis in japonica rice (*Oryza sativa* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 30 maio 2017.

ZHANG, J. et al. Lodging resistance characteristics of high-yielding rice populations. **Field Crops Research**, v. 161, p. 64–74, 2014.

ZOUARI, M. et al. Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 100–108, 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho trouxe contribuições para o gênero *Physalis* L. ao caracterizar os efeitos do déficit hídrico nas espécies *Physalis angulata* L. e *Physalis peruviana* L., bem como as respostas dessas plantas ao uso das seguintes substâncias mitigadoras: nitroprussiato de sódio, prolina e peróxido de hidrogênio. Esta pesquisa também reportou de maneira pioneira que a técnica de espectroscopia por Refletância Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier é capaz de detectar mudanças na composição química de folhas, caules e raízes em função da aplicação de *priming* químico, auxiliando na seleção de tratamentos para o aumento da tolerância ao déficit hídrico.

Foram testadas duas ferramentas de mitigação dos efeitos do déficit hídrico, recuperação e *priming* químico, as quais apresentaram respostas positivas para o aumento da tolerância em ambas as espécies de fisális avaliadas. Contudo, algumas informações ainda são necessárias, como o tempo ideal para análises após o fornecimento dos agentes químicos ou a combinação desses, a fim de melhor caracterizar o aumento da tolerância. Somado a isso, é essencial a determinação de concentrações ideais de prolina e peróxido de hidrogênio que promovam efeitos de mitigação do déficit hídrico para as espécies em estudo, uma vez que essas substâncias são menos tóxicas ao meio ambiente e de mais baixo custo. Diante dos resultados deste trabalho e do impacto ambiental das substâncias aqui analisadas, indica-se o uso da prolina como agente mitigador.

Assim, recomenda-se o uso da técnica do *priming* químico como uma ferramenta de mitigação dos efeitos do déficit hídrico para as espécies *Physalis angulata* e *Physalis peruviana*, uma vez que essa ferramenta prepara as plantas antecipadamente ao estresse abiótico e promove a melhoria dos índices de crescimento, o que pode contribuir para a exploração desses recursos genéticos. Além disso, pode-se vislumbrar o uso dessa técnica não somente nas espécies do gênero, como também em outras culturas agrícolas em áreas sujeitas ao déficit hídrico.

