



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARINA MORAIS NÓBREGA

**Influência da adição de NPK no crescimento, respostas bioquímicas e
estresse oxidativo em *Pavonia humifusa* A.St.-Hil. (Malvaceae) sob estresse
hídrico**

RECIFE
2024

MARINA MORAIS NÓBREGA

Influência da adição de NPK no crescimento, respostas bioquímicas e estresse oxidativo em *Pavonia humifusa* A.St.-Hil. (Malvaceae) sob estresse hídrico

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Loss Sperandio

**RECIFE
2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M337ii Nóbrega, Marina Morais Nóbrega
Influência da adição de NPK no crescimento, respostas bioquímicas e estresse oxidativo em Pavonia
humifusa A.St.-Hil. (Malvaceae) sob estresse hídrico / Marina Morais Nóbrega Nóbrega. - 2024.
43 f.
- Orientador: Marcus Vinicius Loss Sperandio.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife,
2024.
1. Suspensão hídrica. 2. Estresse Abiótico. 3. Osmorregulação. I. Sperandio, Marcus Vinicius Loss,
orient. II. Título

CDD

MARINA MORAIS NÓBREGA

Influência da adição de NPK no crescimento, respostas bioquímicas e estresse oxidativo em *Pavonia humifusa* A.St.-Hil. (Malvaceae) sob estresse hídrico

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas

Aprovado em 27/09/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcus Vinícius Loss Sperandio (orientador)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Msc. Henarmmany Cristina Alves de Oliveira (Examinador Interno)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Msc. Rodrigo José da Silva (Examinador Externo)

AGRADECIMENTO

Para a finalização deste trabalho, quero agradecer a diversas pessoas que fizeram parte de forma direta ou indireta dessa jornada. Sem os nomes e referências abaixo esse trabalho não poderia ser concluído.

Agradeço ao meu orientador Prof. Marcus por ter nutrido essa admiração pela botânica em mim que cresce a cada descoberta e conhecimento. Obrigado pela paciência, orientação e acolhimento.

À banca examinadora, agradeço por aceitarem meu convite e avaliarem este trabalho.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, agradeço por tornar possível meu crescimento profissional e acadêmico.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de iniciação científica durante todo o ano.

A toda a equipe do Laboratório de Fisiologia de Plantas, por terem me acolhido e me ensinado tudo o que sei hoje. A Lari, Nanny, Fran que ajudaram essa pequena PAVI no laboratório, sou grata a vocês. Um agradecimento especial ao irmãozinho mais velho que o LFP me deu, Matheus, obrigado por todas as palavras de carinho, puxões de orelha, piadas, brincadeiras, músicas de kpop e por sempre me levantar e me ajudar quando estive mais perdida, você foi meu norte em muitos momentos do meu trabalho (como as mensagens respondidas às 3 da manhã).

Aos meus manos, Afonso, Anderson, Brenda, Bruna, Duda, Gabriel, Lay, Luci e João. Acreditem quando digo que sem vocês esse curso nem chegaria ao fim, sou grata por ter conhecido vocês. Não consigo imaginar como viveria sem nossos surtos, conversas loucas, gritarias nas salas do DB e almoços coletivos. Obrigado por fazerem parte desse curso comigo.

As minhas irmãs, que não são de sangue, mas sim de alma. Becky, Jessy, Clara, Joyse, Bel e Malu. Não consigo imaginar uma realidade em que vocês não existam em minha vida, sem vocês eu nem estaria aqui. Quero passar mais 10, 20, 30 anos ao lado de vocês. Posso viver sem um relacionamento mas não sem minhas meninas. Obrigado por estarem ao meu lado em cada etapa da minha vida, quero caminhar com vocês ao meu lado para sempre.

Quero agradecer a Dra. Rita por ter me ajudado nessa jornada por mais de um ano, por melhorar a cada consulta um pouco dessa loucura na minha cabeça. Como a senhora me pede em toda sessão, prometo que vou acreditar mais em mim!

A minha família, obrigado pelo apoio e ajuda na maioria dos momentos. E por fim, ao meu filho de 4 patas Max, por estar sempre ao meu lado e reconhecer todos os ataques de ansiedade que tive durante o curso, para sempre meu príncipe.

"I cry a lot but I am so productive, it's an art. You know you're good when you can even do it with a broken heart. Try and come for my job" - T.S

RESUMO

O estresse hídrico pode desencadear uma série de mudanças metabólicas nas plantas, afetando sua bioquímica e morfologia. A variabilidade dos ciclos de precipitação torna essa adaptação desafiadora. No entanto, a suplementação com nitrogênio (NPK) pode desempenhar um papel crucial nesse contexto, pois esses nutrientes são fundamentais para a manutenção do metabolismo, especialmente sob condições de estresse. Este estudo avaliou os efeitos da suplementação nutricional nas respostas bioquímicas e morfológicas de plantas da espécie *Pavonia humifusa* submetidas ao estresse hídrico. Após 21 dias de suplementação, o estresse hídrico foi induzido por 29 dias. O experimento incluiu dois tratamentos de NPK: com e sem NPK associado a duas condições de disponibilidade hídrica: controle e estresse. Foram analisados parâmetros biométricos (biomassa seca da parte aérea e radicular), fisiológicos (teor relativo de água e índice SPAD), do metabolismo primário (teores de pigmentos e prolina), marcadores de estresse (malondialdeído e peróxido de hidrogênio) e atividades enzimáticas (superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase). Os dados foram analisados por ANOVA a 5% e as médias comparadas pelo teste SNK usando o software R. As análises realizadas indicam que após aplicação nutricional com NPK, a *P. humifusa* demonstrou uma melhor taxa de crescimento, além de apresentar maior teor de clorofila total *in vivo*. As plantas suplementadas com NPK também apresentaram melhor adaptação ao estresse hídrico com diminuição do estresse oxidativo. Adicionalmente, com suplementação de NPK a *P. humifusa* respondeu ser menos suscetível ao estresse hídrico pelo aumento da atividade enzimática da SOD e Prolina, sendo o principal aminoácido osmorregulador em condições de estresse hídrico. Os resultados obtidos sugerem que a suplementação nutricional com NPK desempenha função importante na regulação bioquímica e fisiológica contra o estresse hídrico na *P. humifusa*.

Palavras-chaves: Suspensão hídrica, Estresse Abiótico, Osmorregulação, Suplementação.

ABSTRACT

Water stress can trigger a series of plant metabolic changes, affecting their biochemistry and morphology. The variability of rainfall cycles creates challenges to adaptation. However, nitrogen supplementation (NPK) can play a crucial role in this context, as these nutrients are fundamental for maintaining metabolism, especially under stress conditions. The present study evaluated the effects of nutritional supplementation on the biochemical and morphological responses of *Pavonia humifusa* plants under water stress. After 21 days of supplementation, water stress was induced for 29 days. The experiment included two NPK treatments: with and without NPK associated with two conditions of water availability: control and stress. Biometric parameters (aerial and root dry biomass), physiological parameters (relative water content and SPAD index), primary metabolism parameters (pigment and proline content), stress markers (malondialdehyde and hydrogen peroxide) and enzyme activities (superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase) were analyzed. ANOVA analyzed the data at 5% and the means were compared by the SNK test using the R software. The analyses carried out indicate that after nutritional application with NPK, *P. humifusa* showed a better growth rate, as well as a higher total chlorophyll content in vivo. The plants supplemented with NPK also showed better adaptation to water stress with a reduction in oxidative stress. In addition, with NPK supplementation, *P. humifusa* responded to be less susceptible to water stress by increasing the enzymatic activity of SOD and Proline, the main osmoregulatory amino acid in water stress conditions. The results obtained suggest that nutritional supplementation with NPK plays an important role in biochemical and physiological regulation against water stress in *P. humifusa*.

Keyword: Water stress, Abiotic Stress, Osmoregulation, Supplementation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Plantas de *P. humifusa* no dia da coleta do experimento. A: sem aplicação de NPK sem restrição hídrica; B: aplicação de NPK sem restrição hídrica; C: sem aplicação de NPK com restrição hídrica; D: aplicação de NPK com restrição hídrica. Escala (A-D): 24cm.....23

Figura 2. Representação do Teor Relativo de água (TRA) nas plantas de *P. humifusa* no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.....23

Figura 3. Estatísticas de Biomassa da *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.....24

Figura 4. Parâmetros biométricos de *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.....25

Figura 5. Índice SPAD de *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.....25

Figura 6. Concentração de MDA e H₂O₂ nos exemplares de *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK

($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.....26

Figura 7. Quantificação de Proteínas totais solúveis na folha (A), quantificação de proteínas totais solúveis na raiz (B) e teor de prolina (C) no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas de *P. humifusa* com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.....27

Figura 8. Atividade enzimática da Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX) em exemplares de *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.....28

Figura 9. Análise hierárquica de cluster (AHC) de parâmetros de crescimento, fisiológicos e bioquímicos de *P. humifusa* no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. As chaves dos tratamentos a direita são: T1 - estresse com NPK; T2 - estresse sem NPK; T3 - controle com NPK; T4 - controle sem NPK; NF = Número de folhas; MSPA = Massa seca da parte aérea; MSFolha = Massa seca da folha; MSCaule = Massa seca do caule; R_PA = Razão parte aérea; TRA = Teor relativo de água; Ca = Clorofila a; Cb = Clorofila b; Ct = Clorofila Total; Car = Carotenoides; MDA = Malondialdeído; H^2O^2 = Peróxido de Hidrogênio; Proteína_F = Proteína da folha; Proteína_R = Proteína da Raiz; Prolina = Prolina; SOD = Superóxido Dismutase; CAT = Catalase; APX = Ascorbato Peroxidase.....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise de variância (ANOVA). H = Hídrico; N = Nutrição; H*N = Interação entre os dois tratamentos NF = Número de folhas; MSPA = Massa seca da parte aérea; MSFolha = Massa seca da folha; MSCaule = Massa seca do caule; R_PA = Razão parte aérea; TRA = Teor relativo de água; Ca = Clorofila a; Cb = Clorofila b; Ct = Clorofila Total; Car = Carotenóides; MDA = Malondialdeído; H₂O₂ = Peróxido de Hidrogênio; Proteína_F = Proteína da folha; Proteína_R = Proteína da Raiz; Prolina = Prolina; SOD = Superóxido Dismutase; CAT = Catalase; APX = Ascorbato Peroxidase; ns = nenhuma significância; p<0,05 = *; p<0,01 = **; p<0,001 = ***.

.....22

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 DÉFICIT HÍDRICO	14
2.2 IMPORTÂNCIA DO NITROGÊNIO (N), FÓSFORO (P) E POTÁSSIO (K) PARA O CRESCIMENTO VEGETAL	15
2.3 PLANTAS DA CAATINGA.....	17
3. OBJETIVOS.....	18
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	18
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
4.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	18
4.2 ANÁLISE E MEDIDAS	20
4.2.1 Análise de crescimento (Biometria).....	20
4.2.2 Teor Relativo de Água (TRA).....	20
4.2.3 Análises Bioquímicas	20
4.3 ANÁLISE DE DADOS	23
5. RESULTADOS	23
5.1 TEOR RELATIVO DE ÁGUA (TRA).....	25
5.2 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO.....	26
5.3 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS.....	28
5.4 ANÁLISE DE MALONDIALDEÍDO (MDA) E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H ₂ O ₂)	28
5.5 ANÁLISE METABÓLICA (PROLINA E PROTEÍNA).....	29
5.6 ANÁLISE DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA	30
5.7 ANÁLISE MULTIVARIADA.....	31
6. DISCUSSÃO.....	33
7. CONCLUSÕES.....	36
8. REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

A Caatinga é caracterizada como uma Floresta e Arbustos Tropicais Sazonalmente Secos (FATSS), com variação vegetal indo de vegetações arbóreas até xerófilas. No bioma, já foi registrado mais de 900 espécies de plantas vasculares, onde 318 são espécies endêmicas pertencentes a 42 famílias, destacando-se: Fabaceae, Poaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae, Malvaceae. A grande diversidade presente na caatinga se dá devido ao conjunto de adaptações decorrentes das temperaturas elevadas e distribuição irregular de chuvas. Algumas modificações morfológicas como redução da área foliar, hábitos suculentos e espinhos foram desenvolvidas pelas plantas da caatinga para diminuir sua evapotranspiração (Fernandes & Queiroz, 2018; Leal, 2005).

A maior parte do bioma possui o clima semiárido, com temperaturas na média de 25° a 30° e com uma baixa precipitação anual entre 400 a 1200 mm (Tabarelli, 2018). Somado a isso, com períodos longos de estiagem, o solo poroso e arenoso do bioma acaba diminuindo a taxa de absorção de água pelas plantas (Santos & Carlesso, 1998). Como resultado, a planta acaba por entrar em estágio de déficit hídrico, que ocorre pela pouca água no ambiente, altas temperaturas (aumentando a taxa de evapotranspiração), e salinidade elevada do solo (Moreno, 2009). Quando a planta se encontra em situações de estresse, ocorrem algumas modificações bioquímicas e fisiológicas em resposta, como a produção excessiva de ERO (Espécies Reativas de Oxigênio) (Barbosa, 2014). O acúmulo desses compostos na planta resulta em um estresse oxidativo, em que componentes da célula vegetal são danificados e perdem seu funcionamento, afetando diretamente o metabolismo da planta (Barbosa, 2023).

Para o desenvolvimento de mecanismos de defesa especializados contra as espécies reativas de oxigênio (EROs), certos nutrientes tornam-se fundamentais para que a planta mantenha um bom estado fisiológico e seja capaz de sintetizar essas defesas antioxidantes, como os macronutrientes (Barbosa et al., 2010). Os macronutrientes são elementos essenciais que a planta necessita em altas quantidades por possuírem papéis essenciais em diversos processos metabólicos (Fernandes, Matos e Carvalho, 2013). O nitrogênio (N) é considerado o principal macronutriente e está presente em todas as proteínas e enzimas, como também nas

clorofilas (processo fotossintético). Já o fósforo (P) é o principal constituinte da membrana celular, estando presente no DNA, RNA e ATP, sendo necessário para a geração de energia e crescimento da planta. O potássio (K) é um macronutriente móvel e presente nas partes mais novas da planta, além de estar ligado a processos essenciais como relações hídricas, ativação enzimática, crescimento entre outros. (Tripathi, 2014).

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo analisar as respostas morfológicas, bioquímicas e fisiológicas com a aplicação de Nitrogênio, Fósforo e Potássio em uma espécie de planta da caatinga (*Pavonia humifusa*) quando submetida a estresse hídrico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DÉFICIT HÍDRICO

Entre os recursos essenciais para o desenvolvimento e a reprodução das plantas, a água desempenha um papel fundamental, pois participa ativamente da transpiração e, conseqüentemente, da fotossíntese, sendo absorvida e distribuída por todo o organismo (Souza, 2023). Alterações nesse processo podem resultar na perda excessiva de água para a atmosfera, levando ao déficit hídrico e ao comprometimento de diversos ciclos celulares (Taiz e Zeiger, 2017).

A vegetação da caatinga é caracterizada como uma FATSS (Florestas e Arbustais Tropicais Sazonalmente Secos), e plantas dessa região desenvolveram determinadas adaptações para sobreviver às adversidades climáticas como a precipitação irregular longos períodos de seca, assim como o tipo de solo em que está inserido. (Fernandes e Queiroz, 2018). A caatinga apresenta um solo rico em minerais, pedregoso e raso, sendo caracterizado também como um solo de fraca capacidade de retenção de água (Alves, Araújo e Nascimento, 2009). Tais aspectos se relacionam com a capacidade da planta em tolerar o déficit hídrico elevado e sua capacidade de suportar a desidratação imposta pelo ambiente (Al-Turki, 2023).

O estresse por restrição hídrica ocorre quando a água disponível no solo é insuficiente para atender as necessidades fisiológicas no organismo vegetal, afetando diversos processos metabólicos. A transpiração é uma das principais vias

de perda de água da planta para o ambiente através da abertura dos estômatos, portanto quando o organismo está sob estresse hídrico, ocorre o fechamento parcial dessas estruturas para reduzir a perda de água (De Moraes Campos, Santos e Nacarath, 2021). Ademais, quando a planta se encontra inserida em regiões com precipitações irregulares, a perda de água supera a taxa de absorção de água pelas raízes, gerando um déficit hídrico (Geilfus, 2019). Segundo Taiz e Zeiger (2017) as respostas mais perceptíveis que a planta demonstra em déficit hídrico são os fechamentos estomáticos, aceleração da senescência e a abscisão foliar, onde todos os métodos visam a maior conservação de água possível. Outro mecanismo que auxilia na manutenção da turgência celular é o ajustamento osmótico, que permite a abertura estomática e fotossíntese mesmo a planta estando em solo com baixo potencial hídrico (Chaves e Stacciarini-seraphin, 2001).

A redução da condutância estomática impacta o equilíbrio do processo fotossintético, limitando o acesso aos elementos essenciais, como água e CO_2 , ocasionando na desregulação da atividade fotossintética (De Moraes Campos, Santos e Nacarath, 2021). Pela redução da condução estomática, ocorre o desequilíbrio da produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais superóxidos (O_2^-), sendo altamente reativos e tóxico para o organismo, que em acúmulo podem degradar membranas celulares, causar oxidação de proteínas, danos ao DNA, resultando em posterior morte celular (Hasanuzzaman e Fujita, 2022). Nas condições de estresse oxidativo gerado, o mecanismo de defesa antioxidante desenvolve enzimas e moléculas especializadas, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a peroxidase de escorbuto (APX) (Qamer et al., 2021). Esse sistema enzimático antioxidante atua na neutralização das EROs convertendo, catalisando ou reduzindo as moléculas para equilibrar os níveis de EROs e proteger as células vegetais de danos estruturais e metabólicos (Dumanović et al, 2021).

2.2 IMPORTÂNCIA DO NITROGÊNIO (N), FÓSFORO (P) E POTÁSSIO (K) PARA O CRESCIMENTO VEGETAL

Os nutrientes são elementos químicos que contribuem para o desenvolvimento vegetal quando absorvidos pelo organismo da planta, impactando diretamente o crescimento, produção e qualidade das plantas (Ohkama-ohtsu, 2010).

Atualmente, são conhecidos 17 elementos essenciais para o desenvolvimento adequado das plantas, sendo divididos em macronutrientes (Nitrogênio, Fósforo, Potássio, Cálcio, Enxofre e Magnésio), necessários em maior quantidade, e micronutrientes (Ferro, Zinco, Cobre, Boro, Manganês, Molibdênio, Cloreto), necessários em menor quantidade (Kumar, Kumar e Mohapatra, 2021).

Do grupo de macronutrientes existente, o nitrogênio (N) é o elemento principal para a planta pois faz parte da constituição de proteínas e nucleotídeos (Moreau, 2019). Segundo Yuan (2023), a maior concentração de N se encontra na atmosfera e para que o nitrogênio encontrado no ar, torne-se disponível para as plantas no solo, ele deve passar por processos de fixação, decomposição dos microrganismos e nitrificação, ficando presente nas formas de NH_4^+ (amônio), NO_2^- (dióxido de nitrogênio) e NO_3^- (nitrato), formas essas que participam da biossíntese de proteínas e clorofilas, sendo necessário a água para que seja absorvido pela planta. Quando a planta se encontra sob estresse hídrico a taxa de transpiração e permeabilidade da membrana diminui, com isso, o nitrato e amônio não conseguem ser transportados para a parte aérea e consequentemente não metabolizados (Iqbal et al., 2020). Zhang et al. (2017) observaram que a deficiência de nitrogênio em cultivares de arroz induziu o acúmulo de H_2O_2 e aumento nos teores de MDA, constituindo um estresse oxidativo nessas plântulas.

O fósforo (P) também é um importante macronutriente para a planta por fazer parte de componentes importantes na célula vegetal como a membrana celular, ácidos nucleicos, carboidratos e moléculas essenciais como ATP, ADP e NADP (Taiz & Zeiger, 2017). De acordo com Broggi et al. (2011), as plantas podem apresentar redução na fotossíntese quando a deficiência hídrica atua em conjunto com a baixa disponibilidade de P. Outros estudos, como os de Kuwahara e Souza (2009), relatam que o fósforo teve uma boa influência quanto ao crescimento do vegetal, principalmente no número de perfilhos e área foliar. A suplementação de fósforo aumenta atividades enzimáticas, como a SOD e CAT, além de acumular osmólitos orgânicos, como a prolina, mitigando o estresse oxidativo por déficit hídrico (Khan et al., 2023)

Ativação enzimática, fotossíntese, síntese de proteínas, osmorregulação, são alguns dos papéis fundamentais que o potássio (K) desempenha no metabolismo

vegetal. K é outro macronutriente que desenvolve uma função importante para o metabolismo da planta, principalmente quando esta se encontra sob situação de estresse biótico ou abiótico. (Wang et al., 2013). No estresse hídrico, ocorre o fechamento estomático e consequentemente a diminuição da fixação de CO₂, devido a isso, ocorre a formação de EROs (espécies reativas de oxigênio). A necessidade por K pela planta aumenta, pois ele se relaciona com a manutenção da fixação fotossintética de CO₂, com o objetivo de manter a fotossíntese e proteger os cloroplastos de possíveis danos oxidativos (Mengel, 2021).

2.3 PLANTAS DA CAATINGA

O Bioma da Caatinga ocupa cerca de 862.818 Km² do território brasileiro, sendo Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba, Sergipe, Piauí e o norte de Minas Gerais os estados em que está presente (Turra, 2024). Sendo um bioma exclusivamente brasileiro, a caatinga oferece diversas atividades econômicas, principalmente em áreas de cosméticos, alimentos e ramos farmacêuticos (Brasil, 2022). A Caatinga é uma zona semiárida que se caracteriza por possuir longos períodos de estiagem e má distribuição das chuvas em seu território, isso resulta numa vegetação característica de plantas que possuem atributos adaptados às condições da região, com espécies de tipo lenhosas, herbáceas, caducifólia e árvores de pequeno porte em grande maioria (Lima, 2010). De forma geral, o bioma possui mais de 5.000 espécies de fungos e plantas (Forzza, 2010), com cerca de 950 gêneros e 152 famílias de angiospermas (Fernandes, 2018). Desse total, 53% da flora equivale a 10 famílias com maior número de espécies no bioma como as Fabaceae, Poaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae, Malvaceae (Forzza, 2010).

A família Malvaceae no Brasil possui em torno de 80 gêneros com 400 espécies, sendo arbustos, ervas e árvores de pequeno porte (Souza & Lorenzi, 2005) estando distribuída por regiões tropicais e temperadas, com uma maior predominância de riqueza na América do Sul (Fryxell, 1997). O gênero Pavonia, que pertence à família Malvaceae, possui cerca de 250 espécies ao todo, sendo um dos gêneros mais abundantes dessa família (Grings, 2011). Quanto a sua distribuição, o gênero é amplamente disperso no continente americano com 224 espécies por todo o território, tendo apenas o Chile como exceção (Fryxell, 1999). 46 espécies de

pavonia são encontradas na África e somente 2 na Ásia (Grings, 2013). Segundo Esteves (1998, 2001) existem 134 espécies de Pavonia no Brasil, e 78 dessas espécies são encontradas na Mata Atlântica, cerrado, caatinga e algumas áreas de campo do Nordeste e Sudeste.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Analisar as respostas fisiológicas, morfológicas e bioquímicas das plantas de *Pavonia humifusa* em resposta à suplementação nutricional de nitrogênio, fósforo e potássio quando submetidas a condições de estresse hídrico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar como a suplementação nutricional afeta parâmetros morfofisiológicos das plantas de *P. humifusa* sob estresse hídrico.
- Investigar as variações nas atividades de enzimas antioxidantes em plantas sob diferentes níveis de suplementação nutricional e estresse hídrico.
- Quantificar a produção de compostos relacionados ao estresse em resposta à suplementação dos nutrientes em condições de estresse hídrico.
- Analisar como irá se estabelecer o ajustamento bioquímico (primário e antioxidativo) de *Pavonia humifusa* quando suplementada com doses nutricionais de NPK e submetidas a estresse por retenção hídrica;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Foram coletadas plantas da espécie nativa *Pavonia humifusa* em ambiente de caatinga, no Parque Nacional do Catimbau (PARNA Catimbau – 8°34' 0.43"S 37°14' 22.78"W) em Pernambuco/BR, região semiárida com clima Tropical Sazonalmente Seco. Foram selecionados indivíduos jovens, livres de doenças, sem sinais de predação e com 10-20 cm de parte aérea. O material foi transportado em recipientes com solo umedecido até o local onde o experimento foi conduzido

O experimento foi instalado na casa de vegetação na área de Botânica do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizada nas coordenadas 8°00'45.7" S 34°57'03.8" W. As medidas biométricas e análises bioquímicas foram feitas e avaliadas no Laboratório de Fisiologia de Plantas (LFP).

As plantas foram transplantadas individualmente para vasos de 1,7L, contendo uma mistura de areia lavada, substrato vegetal (BIOPLANT PLUS®, composto por MM 14-16-18, calcário agrícola, turfa de Sphagnum, fibra de coco, casca de arroz e casca de pinus) e substrato comercial (TERRA NOVA MAXXI®, contendo composto orgânico, calcário, casca processada e decomposta e vermiculita, expandida), respectivamente, na seguinte proporção 3,5:1,5:1, deixando 2 cm de borda sem preenchimento em cada saco. As plantas passaram por um processo de estabelecimento e aclimação com irrigação manual diária durante os primeiros 30 dias após o transplante, foi monitorando uma umidade de 70% nas unidades experimentais para padronização. Durante a restrição hídrica, foi registrada uma temperatura média máxima de 32,55 °C. A umidade relativa média teve um registro diário de 59,28% para o mesmo período, registrando assim uma umidade relativa de 37% na casa de vegetação.

O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com X repetições, em dois regimes hídricos (1 - manutenção da irrigação a 70% e 2 - suspensão da irrigação) e dois níveis nutricionais (1 - com suplementação de NPK e 2 - sem suplementação de NPK)

O dia zero (0) marcou o início dos tratamentos, que foi determinado pela aplicação da 1ª de 4 doses (40 ml) de suplementação com 6 mM de Nitrogênio (N), 2 mM de Fósforo (P) e 6 mM de Potássio (K). Como fonte, foi utilizado fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4), fosfato de potássio monobásico ($KHPO_4$) e nitrato de potássio (KNO_3). A outra metade das unidades experimentais permaneceram sem suplementação de NPK. Essa configuração foi mantida até o dia 21, logo após a aplicação da 4ª e última dose de suplementação no dia 20.

Após a aplicação nutricional, foi realizada a separação de dois grupos de unidades experimentais, contendo números equivalentes de plantas com e sem

suplementação de NPK. Foi então iniciada a restrição hídrica com a suspensão da irrigação em um dos grupos, enquanto as unidades experimentais do segundo grupo permaneceram irrigadas. A suspensão permaneceu até que as plantas apresentassem sinais de estresse por meio do enrolamento de folhas ou murcha foliar, sendo realizado então a coleta, marcando o fim do experimento no dia 50

4.2 ANÁLISE E MEDIDAS

4.2.1 Análise de crescimento (Biometria)

O crescimento dos exemplares foi avaliado com base no Número de Folhas expandidas e fotossinteticamente ativas durante o experimento, Massa Seca de raízes, caule, parte aérea e Relação Raiz/Folhas. A massa seca do caule, raiz e folhas foi determinada após a secagem em estufa a 70°C por uma semana em envelopes de papel

4.2.2 Teor Relativo de Água (TRA)

Para determinar o Teor Relativo de Água (TRA) foi retirado discos foliares de aproximadamente 1 cm das folhas coletadas, utilizando um perfurador e evitando a nervura central. Os discos foram pesados para obtenção do peso fresco. Após a pesagem foram colocados em placas de petri contendo água destilada por 24h. Decorridas as 24 horas, os discos foram retirados do contato com a água e pesados novamente para obter o peso túrgido. Em sequência, os discos foram secos em estufa a 70 °C para obtenção de massa constante (peso seco) (BARRS e WEATHERLEY, 1962; GOMES JUNIOR et al., 2021N). O TRA foi calculado de acordo com a equação 1.

$$TRA = \frac{MF - MS}{MT - MS} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

MF – Massa Fresca

MS – Massa Seca

MT – Massa Túrgida

4.2.3 Análises Bioquímicas

4.2.3.1 Metabolismo Primário: Teores de pigmentos fotossintéticos, proteínas solúveis totais e prolina livre totais

Os procedimentos para determinação dos teores de Clorofila *a*, Clorofila *b* e Carotenoides, foram realizados conforme descrito por Bezerra Neto e Barreto (2011) e Lichtenthaler (1987). Após a coleta do material vegetal, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer para a posterior análise. O material vegetal foi macerado utilizando-se acetona 80% (como agente extrator). O extrato formado pela maceração passou por uma filtragem em uma tela de nylon de malha fina para em seguida ser submetido à centrifugação por 5 minutos a 10.000 rpm. Por fim, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro com comprimento de onda 645 nm e 663 nm para Clorofila *a* e *b*, respectivamente, e 470 nm para Carotenoides. A concentração de Clorofila *a*, Clorofila *b* e Carotenoides foi expressa pelas seguintes equações:

$$\text{Clorofila } a \text{ (mg } L^{-1}) = 12,72 A_{663} - 2,59 A_{645}$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (mg } L^{-1}) = 22,88 A_{645} - 4,67 A_{663}$$

$$\text{Carotenoides (xantofilas+carotenos) (mg } L^{-1}) = \frac{1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,2 C_b}{198}$$

Onde A_{470} , A_{645} e A_{663} são as absorbâncias para os comprimentos de onda 470 nm, 645 nm e 663 nm, respectivamente. Foi aferido também o índice de clorofila, depois da suplementação com NPK, utilizando-se o clorofilômetro portátil SPAD-502 (Konika Minolta)

Para a determinação de Proteína Total foi realizado o método de Bradford (1976), adicionando 3 ml do reagente Bradford em 60 µl do extrato obtido pela atividade enzimática. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro usando 595 nm de comprimento de onda.

A atividade de Prolina Livre foi determinada pela preparação de extratos das amostras que foram obtidas pela maceração de material vegetal fresco em ácido sulfosalicílico 3%, tendo uma posterior separação na centrífuga por 10 minutos a 10.000. Foi adicionado ácido ninidrina e ácido acético glacial ao sobrenadante obtido, sendo submetidos a banho maria (100 °C por 1 hora), e banho de gelo. Na sequência,

foi acrescentado tolueno e aplicada agitação vigorosa com repouso em seguida, ocorrendo a separação de fases. As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 520 nm.

4.2.3.2 Marcadores de estresse: Malondialdeído (MDA) e Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

Para determinar o teor de Malondialdeído (MDA) de folhas e raízes, foram macerados 200 mg de material vegetal em 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. Em seguida, o material foi centrifugado a 10.000 rpm por 5 minutos a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após a centrifugação, 250 μL do sobrenadante foi coletado e transferido para um tubo de vidro contendo 1,5 ml de ácido tiobarbitúrico 0,5 em TCA 20%. O composto foi mantido em banho-maria por 30 minutos a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após esse período, as amostras foram submetidas a um rápido resfriamento com gelo e centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos. A absorbância foi lida em espectrofotômetro nos comprimentos de onda 535 e 600 nm (HEATH & PACKER, 1968).

A determinação de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) foi realizada utilizando o mesmo extrato de MDA. Coletou-se 200 μL do sobrenadante do microtubo, com a adição de 800 μL de Iodeto de potássio e 200 μL de tampão fosfato. As leituras foram efetuadas no espectrofotômetro com comprimento de onda 390 nm (LORETO & VELIKOVA, 2001). Para análise das amostras de raiz, o mesmo procedimento foi replicado.

4.2.3.3 Atividades enzimáticas: Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato Peroxidase (APX)

Para essas análises, foi utilizado material vegetal fresco (folhas e raízes) que foram coletados e armazenados no nitrogênio líquido. No laboratório, ficaram armazenadas em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da extração e leitura.

O material foliar e radicular foi coletado e macerado individualmente até a formação de uma farinha para então ser adicionado 20% de PVPP (Polivinilpolipirrolidona), tendo evitado a oxidação do material durante o manuseio. O extrato bruto foi processado com auxílio de um cadinho com pistilo, numa proporção de 1:3 através da homogeneização de 0,1 g do material macerado em 3 ml de tampão

fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) adicionando EDTA (1 mM) e DTT (3 mM). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 30 minutos a 4 °C. Por fim, o sobrenadante coletado em gelo foi mantido sobre refrigeração a -20 °C para ser realizado as análises enzimáticas.

A atividade do Superóxido Dismutase (SOD) foi avaliada pela capacidade da enzima de inibir a fotorregulação do azul de nitrotetrazólio (NBT), com leituras realizadas a 560 nm no espectrofotômetro (Giannopolitis & Ries, 1977)

A atividade da Catalase (CAT) foi estimada conforme descrita por Havir e Mchale (1987), com adaptações de Azevedo et al. (1998), acompanhando o decréscimo na absorbância, a 240 nm por 1 minuto (primeira e última leitura).

A atividade da Ascorbato Peroxidase (APX) foi avaliada segundo Nakano e Asada (1981), sendo feito o monitoramento no espectrofotômetro da taxa de oxidação do ascorbato a uma absorbância de 290 m, por 1 minuto.

4.3 ANÁLISE DE DADOS

Os resultados foram submetidos a análises de homogeneidade (Shapiro-Wilk) e análise de variância (ANOVA), usando o programa R (R Core Team, 2023). O teste SNK foi usado para diferenciar os tratamentos aplicados. Todas as análises estatísticas foram feitas no software R, incluindo a análise de Cluster.

5. RESULTADOS

De acordo com a variância, observou-se que não houve diferença significativa no número de folhas entre os tratamentos sob restrição hídrica. No entanto, a nutrição apresentou um efeito significativo ($p < 0,05$), indicando que as plantas mantiveram a tolerância ao déficit hídrico sem perda de folhas (tabela 1). Quanto à massa seca das folhas, foram observadas respostas significativas em decorrência do estresse hídrico, da suplementação de NPK e da interação entre esses dois tratamentos. Em contraste, a massa seca das raízes não apresentou diferenças significativas (Tabela 1). Todos os pigmentos fotossintéticos medidos mostraram valores sem diferenças estatísticas relevantes entre si. O malondialdeído demonstrou um valor significativo ($p < 0,01$) apenas nos tratamentos de estresse hídrico e nutrição, sem significância na interação

entre ambos. O peróxido, por sua vez, apresentou diferença apenas sob condições de restrição hídrica. Em relação às proteínas, apenas os tratamentos de nutrição e a interação mostraram significância ($p < 0,01$) nas folhas. A prolina apresentou um efeito significativo ($p < 0,05$) em todos os tratamentos analisados; no entanto, a análise de variância não detectou variações significativas nas atividades enzimáticas, exceto para a superóxido dismutase (SOD) no tratamento de interação.

Tabela 1. Resumo da análise de variância (ANOVA). H = Hídrico; N = Nutrição; H*N = Interação entre os dois tratamentos NF = Número de folhas; MSPA = Massa seca da parte aérea; MSF = Massa seca da folha; MSC = Massa seca do caule; MSR = Massa seca da raiz; R_PA = Razão parte aérea; TRA = Teor relativo de água; Ca = Clorofila a; Cb = Clorofila b; Ct = Clorofila Total; Car = Carotenoides; MDA = Malondialdeído; H_2O_2 = Peróxido de Hidrogênio; P_F = Proteína da folha; P_R = Proteína da Raiz; Prolina = Prolina; SOD = Superóxido Dismutase; CAT = Catalase; APX = Ascorbato Peroxidase; ns = não significativo; $p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$; $p < 0,001 = ***$.

Variável	H	N	H*N
NF	ns	*	ns
MSPA	ns	***	*
MSF	**	**	***
MSC	ns	**	ns
MSR	ns	ns	ns
R_PA	ns	*	*
TRA	**	ns	ns
Ca	ns	ns	ns
Cb	ns	ns	ns
Ct	ns	ns	ns
Car	ns	ns	ns
MDA	**	**	ns

H ₂ O ₂	*	ns	ns
P_F	ns	***	***
P_R	ns	ns	ns
Prolina	*	*	*
SOD	ns	ns	*
CAT	ns	ns	ns
APX	ns	ns	ns

As variações de crescimento da *P. humifusa* se diferenciam pelos tratamentos de estresse hídrico e aplicação de nutrientes. As diferenças observadas demonstram que o efeito da aplicação de NPK pode ter influenciado no crescimento da planta, sendo possível observar a presença de clorose em indivíduos que não receberam a aplicação de nutrientes e foram submetidos ao estresse hídrico.

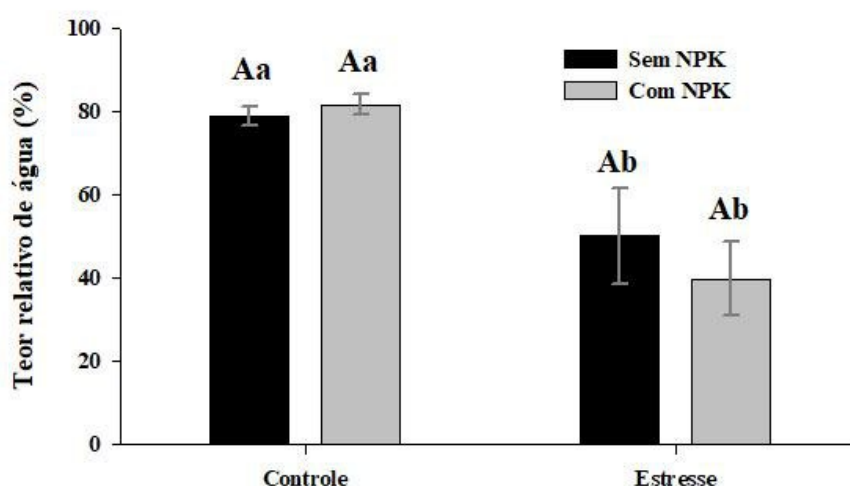
Figura 1. Plantas de *P. humifusa* aos 29 dias de estresse hídrico. A: sem aplicação de NPK e sem restrição hídrica; B: aplicação de NPK sem restrição hídrica; C: sem aplicação de NPK com restrição hídrica; D: aplicação de NPK com restrição hídrica. Escala (A-D): 24cm.



5.1 TEOR RELATIVO DE ÁGUA (TRA)

O teor relativo de água (TRA) indicou que a restrição hídrica reduziu o conteúdo de água nas folhas de *Pavonia humifusa* (Figura 2). No entanto, não foram observadas diferenças significativas no tratamento nutricional, independente do tratamento hídrico.

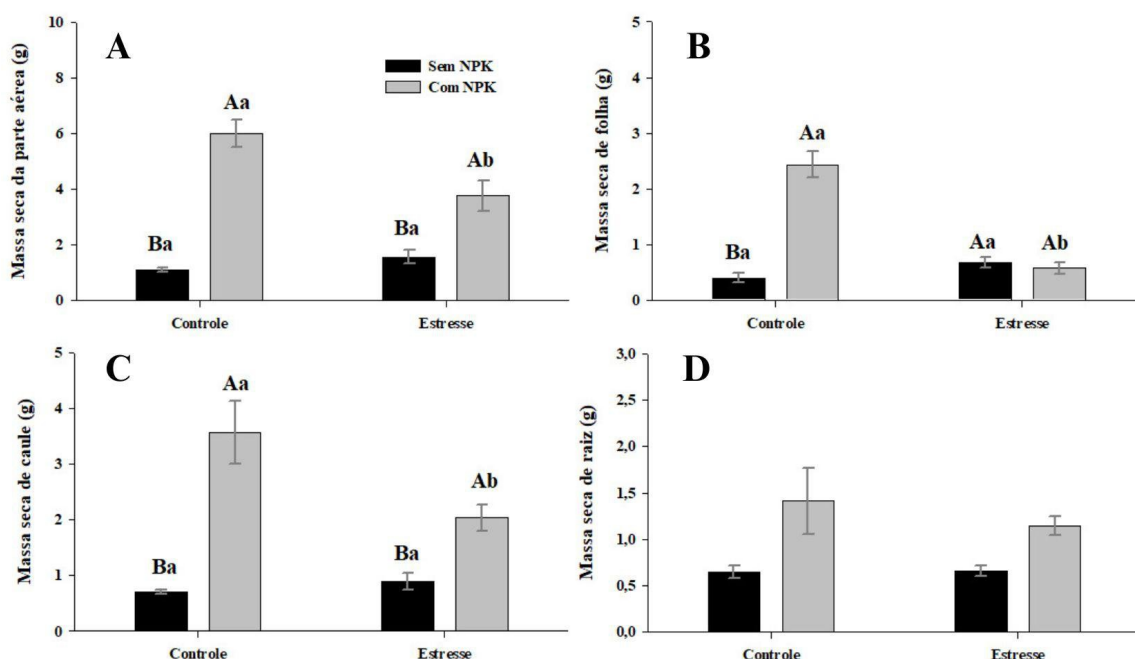
Figura 2. Teor Relativo de água (TRA) nas plantas de *Pavonia humifusa* submetidas a diferentes regimes hídricos, com suplementação nutricional e sem suplementação nutricional. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.



5.2 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

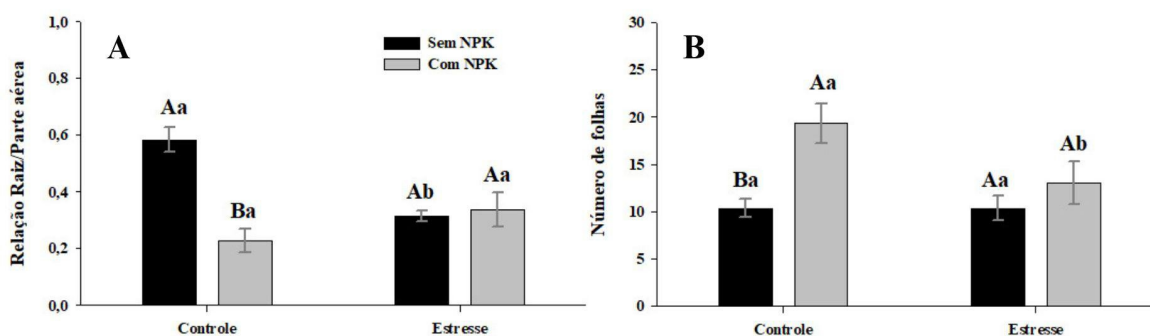
Pavonia humifusa apresentou um desenvolvimento superior da biomassa quando suplementada com nutrientes. No entanto, observou-se que as plantas não suplementadas com NPK mantiveram parâmetros de crescimento estáveis em relação à massa seca da parte aérea, massa seca das folhas e massa seca dos caules (Figura 3 A, B e C). A massa seca das folhas não apresentou diferenças estatísticas entre as plantas sob estresse hídrico com e sem suplementação de NPK (Figura 4B). No entanto, os demais tratamentos mostraram uma redução na biomassa em condições de estresse hídrico. Da mesma forma, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na massa seca das raízes em nenhum dos tratamentos (Figura 3D).

Figura 3. Biomassa das plantas de *Pavonia humifusa*, submetidas a diferentes regimes hídricos e suplementação de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.



Houve decréscimo na relação raiz/parte aérea no tratamento com adição de NPK no controle, contudo no estresse não houve diferença estatística entre os dois tratamentos (Figura 4A). Quanto ao número de folhas, é possível observar que as plantas sem NPK não mostraram diferenças significativas, entretanto, as plantas submetidas ao estresse hídrico e que receberam NPK produziram um maior número de folhas, quando comparadas a aquelas sem suplementação e sem estresse hídrico (Figura 4B).

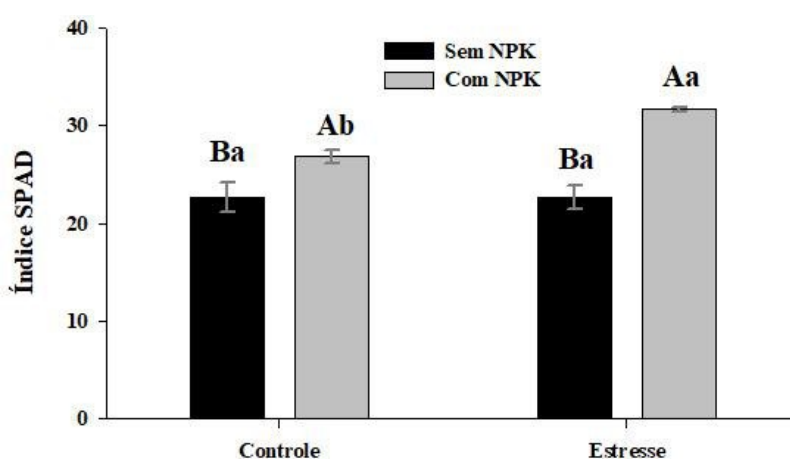
Figura 4. Parâmetros biométricos de *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.



5.3 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Não houve diferenças significativas nos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides) realizado após os tratamentos com suplementação de nutrientes ou estresse por restrição hídrica ($p>0,05$) (Tabela 1). O menor índice SPAD foi obtido nas folhas de plantas sem suplementação com NPK, independente do tratamento hídrico (Figura 5).

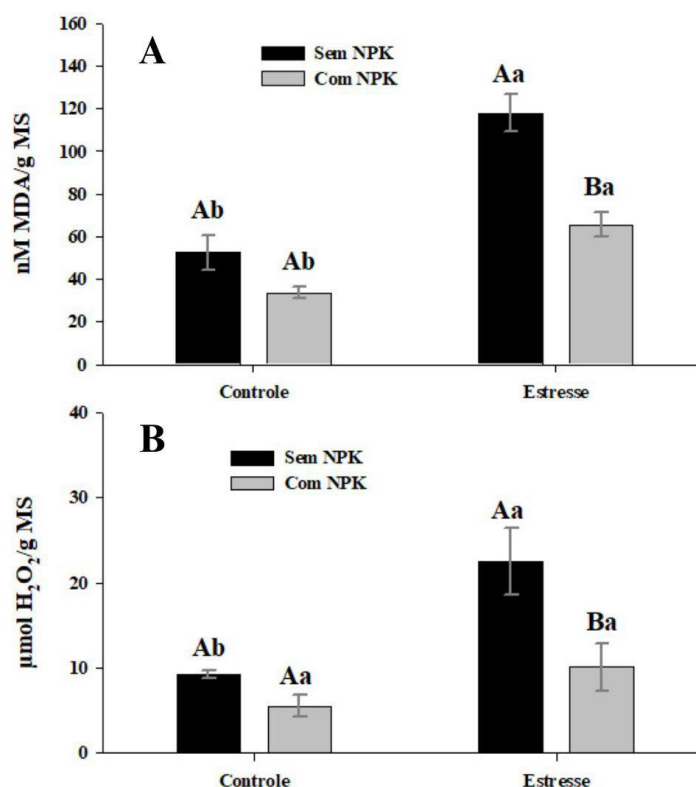
Figura 5. Índice SPAD de *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p<0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.



5.4 ANÁLISE DE MALONDIALDEÍDO (MDA) E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H₂O₂)

O estresse hídrico em plantas sem suplementação com NPK aumentou o teor de MDA em comparação com os tratamentos que tiveram aplicação nutricional sob restrição (Figura 5A). Corroborando com o aumento dos teores de MDA no estresse sem suplementação, os níveis de H₂O₂ foram maiores em plantas deste mesmo tratamento (Figura 5B).

Figura 6. Concentração de MDA e H_2O_2 nos exemplares de *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.



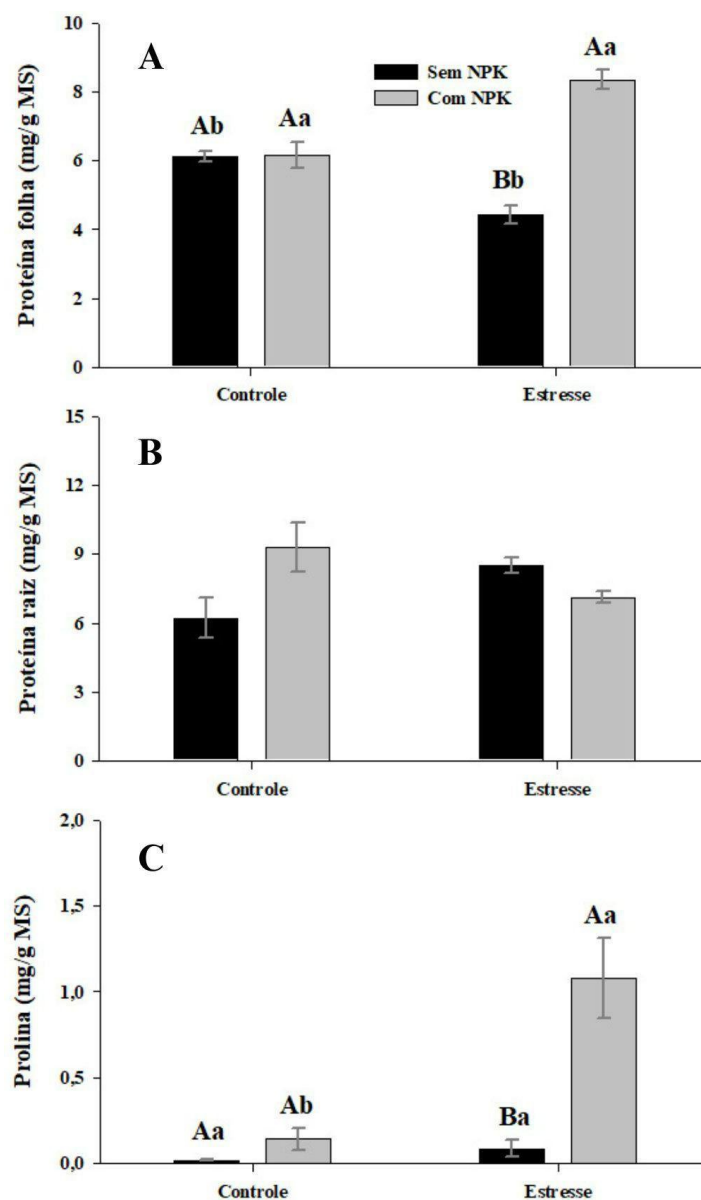
5.5 ANÁLISE METABÓLICA (PROLINA E PROTEÍNA)

As plantas submetidas ao estresse hídrico que foram suplementadas com NPK, apresentaram uma produção significativa de proteína nas folhas, em comparação com as plantas que não receberam suplementação e também estavam sob estresse hídrico (Figura 6A). Entretanto, nas raízes não apresentou diferenças significativas pelos tratamentos (Figura 6B).

É possível observar que os níveis de Prolina na *P. humifusa* aumentaram significativamente com a aplicação de NPK em plantas no estresse hídrico em comparação com os demais tratamentos que não sofreram alteração (Figura 6C).

Figura 7. Quantificação de Proteínas totais solúveis na folha (A), quantificação de proteínas totais solúveis na raiz (B) e teor de prolina (C) no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas de *P. humifusa* com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de

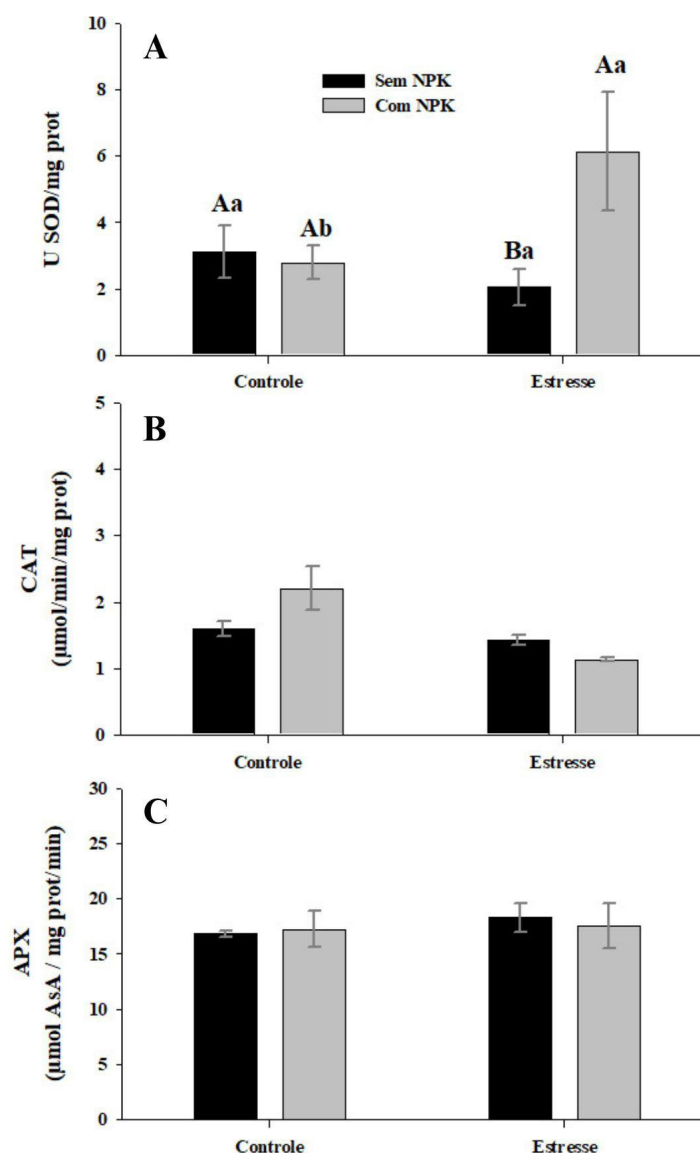
acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.



5.6 ANÁLISE DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A aplicação de NPK aumentou a atividade enzimática da SOD em condições de estresse hídrico (Figura 7A). Entretanto as enzimas CAT e APX não demonstraram diferenças significativas ($p > 0,05$) (Figura 7 B e C).

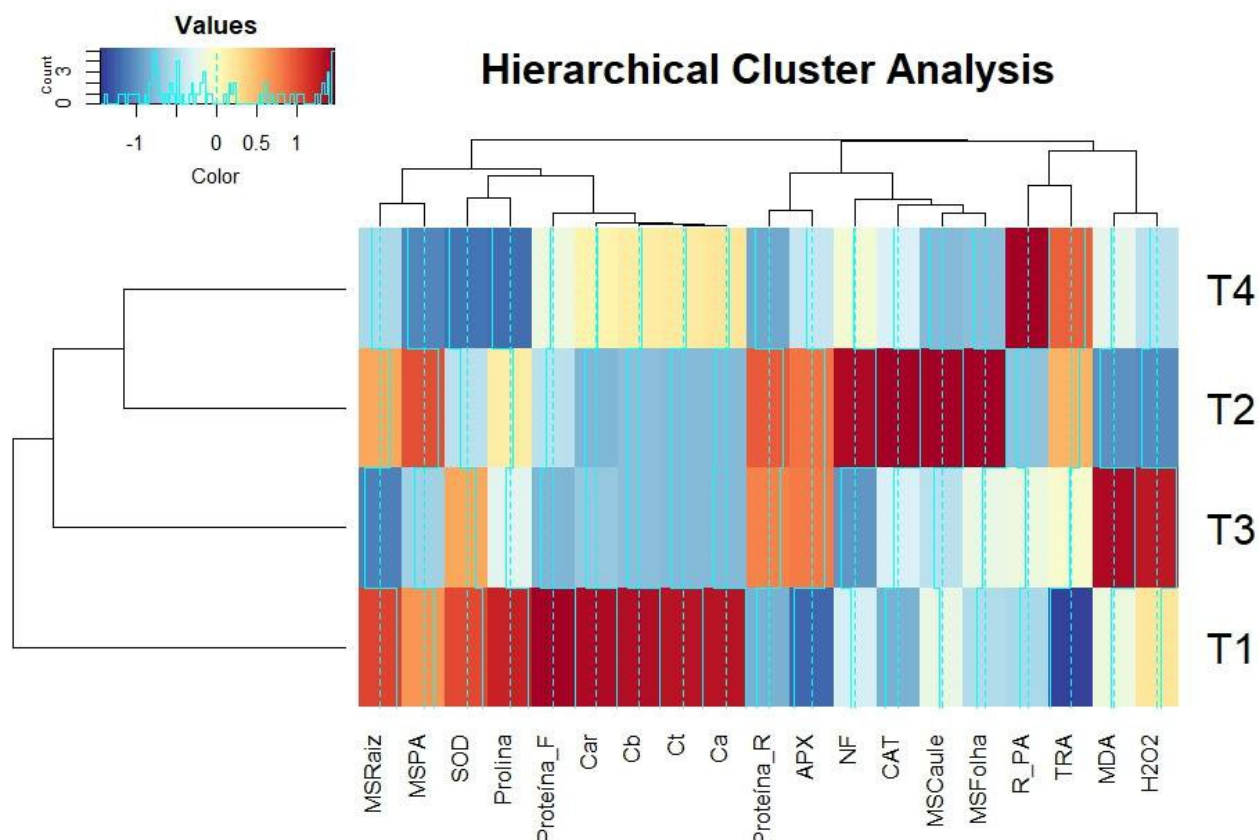
Figura 8. Atividade enzimática da Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX) em exemplares de *P. humifusa*, no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. Letras diferentes mostram diferença estatística de acordo com teste SNK ($p < 0,05$), letras maiúsculas demonstram diferença pelo NPK e minúscula pelo estresse hídrico.



5.7 ANÁLISE MULTIVARIADA

Por meio da Análise Hierárquica de Cluster (ACH) foi possível verificar o desempenho da suplementação nutricional com NPK em plantas de *P. humifusa* em resposta à restrição hídrica, separando os grupos de acordo com a aplicação de NPK (com ou sem suplementação) (Figura 8). Evidenciando a similaridade nas respostas, os tratamentos com estresse hídrico associados a não suplementação com NPK, representados por T2 e T4 respectivamente, foram agrupados por um dos clusters criados na análise. Consequentemente, as plantas suplementadas com NPK e mantidas sob estresse hídrico representadas por T1, demonstraram um comportamento diferente das plantas que receberam suplementação com NPK e que foram mantidas com 70% de umidade do substrato (tratamento T3), (Figura 8).

Figura 9. Análise hierárquica de cluster (ACH) de parâmetros de crescimento, fisiológicos e bioquímicos de *P. humifusa* no tratamento de controle e após o estresse hídrico em plantas com e sem a adição de nutrientes. As chaves dos tratamentos a direita são: T1 - estresse com NPK; T2 - estresse sem NPK; T3 - controle com NPK; T4 - controle sem NPK; NF = Número de folhas; MSPA = Massa seca da parte aérea; MSFolha = Massa seca da folha; MSCaule = Massa seca do caule; R_PA = Razão parte aérea; TRA = Teor relativo de água; Ca = Clorofila a; Cb = Clorofila b; Ct = Clorofila Total; Car = Carotenoides; MDA = Malondialdeído; H₂O₂ = Peróxido de Hidrogênio; Proteína_F = Proteína da folha; Proteína_R = Proteína da Raiz; Prolina = Prolina; SOD = Superóxido Dismutase; CAT = Catalase; APX = Ascorbato Peroxidase



Fonte: Autoral

Outros agrupamentos foram formados pela ACH com base nas variáveis obtidas nas análises, seguindo a mesma similaridade e diferenças estatísticas, com os dados dos clusters em horizontal no gráfico (Figura 8). Foram formados três grandes agrupamentos com subdivisões em sequência. O primeiro agrupamento englobou o teor de MDA com concentração de peróxido e TRA com razão raiz/parte aérea. O segundo grupo teve proteína da raiz, APX, CAT, número de folhas, massa seca de caule e massa seca de folha. No último grupo estão os pigmentos fotossintéticos (Clorofila a, Clorofila b, Clorofila total e Carotenoides) com proteína de folha, massa seca da raiz com massa seca da parte aérea e prolina com SOD.

6. DISCUSSÃO

Regiões áridas como o domínio da Caatinga oferecem desafios para as espécies vegetais como alta incidência solar, longos períodos de estiagem, altas temperaturas e consequentemente baixa disponibilidade hídrica (Silva et al. 2017). Dessa forma, a flora da região encontra dificuldades em acessar os nutrientes do solo podendo afetar o desenvolvimento de diversas espécies (Oliveira et al. 2021). A alteração da concentração de nutrientes no solo prejudica diretamente a capacidade de resposta à aclimação ao estresse hídrico das plantas, influenciando a taxa de crescimento, atividade enzimática, teor de clorofila e danos às membranas (Ru et al. 2023). Na caatinga, as espécies presentes na região podem responder de formas independentes a restrição hídrica e nutrientes como NPK podem afetar essas respostas. No presente estudo, avaliamos a resposta da espécie nativa *Pavonia humifusa* (presente em áreas de regeneração) em situação de estresse hídrico e controle com e sem suplementação de nutrientes.

A *P. humifusa* é uma espécie nativa da Caatinga, um bioma caracterizado pelo clima semiárido com longos períodos de estiagem, má distribuição das chuvas e alta incidência solar (Marques et al. 2020). Tendo em vista esses fatores, espera-se que a *P. humifusa*, assim como as demais espécies do bioma, apresentem adaptações que visam diminuir a evaporação e perda excessiva de água (Fernandes e Queiroz, 2018; Leal, 2005). Por meio do presente estudo, foi possível demonstrar que a restrição hídrica por 29 dias foi capaz de gerar murcha foliar ocasionada pela perda de água dos tecidos e sintoma visual de clorose nas folhas (Figura 1C), principalmente em plantas que não receberam suplementação com NPK. Essa tendência foi observada na manutenção dos parâmetros de crescimento, que foram influenciados pela redução da disponibilidade hídrica, afetando a massa seca da parte aérea, massa seca de folhas, massa seca de caule e o número de folhas. Além disso, o decréscimo na relação raiz/parte aérea indicou que *P. humifusa* alocou mais recursos de crescimento para as raízes sob condições de estresse hídrico (Figueirôa et al. 2004; Taiz & Zeiger 2002). No entanto, a planta mostrou resultados positivos com a aplicação de NPK pelo aumento do crescimento, quando comparadas com plantas que não receberam nutrientes, além de não apresentarem influência quanto ao teor de água na planta.

No metabolismo da *P. humifusa*, foi observado uma resposta mais efetiva ao estresse com aplicação de NPK pelo aumento no acúmulo de prolina, um importante aminoácido que atua na defesa oxidativa contra as espécies reativas de oxigênio (EROs) e osmorregulador, auxiliando no estado hídrico das células apresentando uma função essencial no ajuste osmótico, além de estimular a atividade enzimática e fornecer uma proteção molecular (Furlan et al., 2020; Moreno-Galván et al., 2020; Saddique et al., 2020). Adicionalmente, a biossíntese de prolina a partir do aminoácido glutamato usa o cofator NADPH ($\text{NADPH} \rightarrow \text{NADP}^+ + \text{e}^- + \text{H}^+$), no qual o NADP^+ liberado pode voltar a receber elétrons (e^-) e diminuir a formação de O_2^- em condições de restrição hídrica (Ru et al., 2023). Em condições ambientais extremas, como o estresse hídrico, a planta aumenta a expressão de genes como a P5CS (delta 1-pirrolina-5-carboxilato sintase) responsáveis pela biossíntese da prolina. Esse estresse desencadeia uma série de modificações metabólicas que ajudam a planta a tolerar as condições adversas. Um dos recursos utilizados pela planta é o aumento da expressão de genes que façam parte da biossíntese de prolina, como a P5CS (delta 1-pirrolina-5-carboxilato sintase) (Zulfiqar, 2023; Rai, 2013). O presente estudo constata que a aplicação de NPK pode ter afetado o metabolismo de aminoácidos em *P. humifusa* e/ou regulado a enzima regulatória da biossíntese de prolina P5CS (delta 1-pirrolina-5-carboxilato sintase), sendo a enzima P5CS altamente responsiva a estresse hídrico em plantas (Silva, 2024).

Dos macronutrientes utilizados na suplementação, o Nitrogênio possui um papel de destaque por ser um elemento essencial na estrutura de moléculas primordiais para o desenvolvimento da planta, como o ATP, NADP, NADPH, clorofila e proteínas (Song et al. 2019). Ademais, o nitrogênio está presente em diversos processos fisiológicos foliares, como a fotossíntese, e as proteínas são um dos principais constituintes bioquímicos que possui o nitrogênio em sua constituição com a enzima rubisco (Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase) contendo 30-50% de N nas folhas (Féret et al. 2021). Corroborando com o resultado obtido no presente estudo, a suplementação de NPK no estresse hídrico auxiliou de forma positiva com aumentou o teor de proteína nas folhas da *P. humifusa*.

A variação na quantidade de água nos tecidos foliares (TRA) com o estresse hídrico pode promover variações nos teores de pigmentos, dessa forma, foi feita a

análise do índice de clorofilas totais usando o clorofilômetro SPAD antes da restrição hídrica, no qual quantifica *in vivo* o teor de clorofila total. Adicionalmente, o SPAD fornece indicativo do status de N em plantas (Yuan et al. 2016). Não foi possível detectar um efeito deletério nos pigmentos pelo estresse hídrico, sendo possível uma retomada da fotossíntese em condições de reidratação (Dinakar, Djilianov e Bartels, 2012). Os resultados indicam o aumento dos teores de clorofila após a aplicação de NPK, mas com o estímulo ao crescimento e posterior aplicação do estresse hídrico, o teor de pigmentos tende a entrar em homeostase em *P. humifusa*.

A restrição hídrica promove o fechamento estomático, redução da taxa de assimilação de CO₂ e aumento da produção de EROs (De Moraes Campos, Santos e Nacarath, 2021; Barbosa, De Souza e Nascimento, 2023). O aumento da produção de EROs em plantas pode levar ao aumento da concentração de ânion superóxido (O₂⁻) com consequente aumento de danos de membrana e peroxidação lipídica, no qual foi determinado no presente trabalho pela quantificação de Malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Adicionalmente, o aumento na produção de EROs pode gerar aumento na produção de H₂O₂ pelo aumento da produção de O₂⁻ e detoxificação dessa radical pela atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) (Sun et al. 2020). A aplicação de NPK pode modular o estresse oxidativo por afetar a atividade de enzimas antioxidativas, prolina, aminoácidos, carboidratos e regular o potencial hídrico vegetal (Ru et al., 2023, Khan et al. 2023). Os resultados indicam que a *Pavonia humifusa* demonstrou uma adaptação significativa ao estresse hídrico após a suplementação com NPK. As plantas submetidas ao estresse sem a suplementação apresentaram maior teor de MDA, sugerindo que a ausência de NPK intensificou o dano oxidativo. Esse aumento de MDA pode estar relacionado à menor capacidade antioxidante, evidenciando que a suplementação com NPK favoreceu a modulação enzimática e o acúmulo de metabólitos compatíveis, como a prolina, contribuindo para a manutenção da integridade celular e a tolerância ao estresse hídrico. Ademais, os resultados de MDA e H₂O₂ sugerem que a suplementação com NPK diminuiu o estresse oxidativo em *P. humifusa* em condições de restrição hídrica.

A atividade antioxidante nas plantas ocorre pela presença natural de EROs no organismo, mas cenários de estresse acarretam um aumento dessas moléculas se tornando uma problemática (Zandi e Schnug, 2022). Como mecanismo de defesa enzimático, a planta aumenta a produção de enzimas como a superóxido dismutase (SOD) que atua sobre o ânion superóxido (O₂⁻) formando peróxido de hidrogênio

(H₂O₂), no qual é posteriormente catalisado a oxigênio molecular (O₂) pela ação da catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (SOUZA et al., 2020). Foi verificado que na presença de nutrientes, a *P. humifusa* pareceu ser menos suscetível ao estresse hídrico pelo aumento da atividade enzimática da SOD (Figura 8). A presença do nitrogênio na suplementação pode promover uma expressão de genes de resposta contra o estresse hídrico, relacionando a relevância da suplementação para a ativação da atividade da SOD (You e Chan, 2015). O H₂O₂ também pode ser considerado uma ERO, mas causando menor dano oxidativo comparado com O₂⁻, além de possuir função sinalizadora por regular a atividade de proteínas fatores de transcrição (Ru et al. 2023). As atividades da CAT e APX não foram afetadas pelo tratamento hídrico ou nutrientes (p>0,05) (Figura 8), evidenciando o controle não enzimático de H₂O₂ que pode ocorrer em *P. humifusa*, além de outras vias enzimáticas não analisadas no presente estudo.

A importância da suplementação de NPK para as respostas das plantas de *P. humifusa* em regime de restrição hídrica foi destacada pela Análise Hierárquica de Cluster (ACH), quando comparadas com as plantas sem restrição hídrica, mostrando respostas agrupadas de acordo com a suplementação nutricional (com e sem aplicação de NPK). Os tratamentos de controle e restrição que não receberam suplementação nutricional, obtiveram respostas semelhantes quando comparados aos demais tratamentos com suplementação que responderam positivamente. Destacando o tratamento com NPK em estresse hídrico, a *P. humifusa* apresentou ser menos suscetível ao estresse hídrico pelo aumento da atividade enzimática.

7. CONCLUSÕES

A restrição hídrica é um desafio enfrentado por espécies da Caatinga, causado pelo ambiente semiárido e pela alteração na concentração de nutrientes do solo, o que pode afetar o crescimento e a abundância das plantas. No presente estudo com plantas de *P. humifusa*, foi observado que exemplares suplementados com NPK apresentaram melhor crescimento sob estresse hídrico. Não houve efeito negativo nos pigmentos, e a fotossíntese pode ser possivelmente retomada após reidratação. A suplementação com NPK reduziu o estresse oxidativo, evidenciado pela diminuição de MDA e H₂O₂, e aumento dos níveis de SOD e prolina, promovendo uma melhor

adaptação da planta. Assim, o NPK mostrou ter um papel positivo no combate ao estresse hídrico em *P. humifusa*.

8. REFERÊNCIAS

ALVES, J. J. A.; ARAÚJO, M. A.; NASCIMENTO, S. S. Degradação da Caatinga: uma investigação ecogeográfica. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p. 126-135, 2009.

AL-TURKI, Ahmad et al. Recent advances in PGPR-mediated resilience toward interactive effects of drought and salt stress in plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1214845, 2023.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280–292, 1998.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.

BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453-460, 2014.

BARBOSA, M. R.; DE SOUZA, L. M.; NASCIMENTO, K. R. P. Ros e o estresse oxidativo por seca em plantas. **Multidisciplinary Sciences Reports**, v. 3, n. 3, 2023.

BARRS, H.; WEATHERLEY, P. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 15, p. 413-428, 1962.

BATAGLIA O. C.; FURLANI A. M. C.; TEIXEIRA J. P.; *et al.* Métodos de análise química de plantas. **Boletim Técnico do Instituto Agrônômico**, Campinas, Brasil 78:1–48, 1983.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. Recife: UFRPE, 2011.APA

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Caatinga**. Senado. 1085. 2012. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/ecossistemas/biomas/caatinga>. Acesso em: 04 fev. 2024

BROGGI, F. et al. Fator capacidade de fósforo em solos de Pernambuco mineralogicamente diferentes e influência do pH na capacidade máxima de adsorção. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, p. 77-83, 2011.

BRUNINI, O.; CARDOSO, M. Efeito do déficit hídrico no solo sobre o comportamento estomático e potencial da água em mudas de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 7, p. 1053-1060, 1998.

CAKMAK, I. **The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants.** Journal of Plant Nutrition and Soil Science, v. 168, n. 4, p. 521-530, 2005.

CHAVES, F. J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E.. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, p. 199-204, 2001.

DE MORAES CAMPOS, A. J.; SANTOS, S. M.; NACARATH, I. R. F. F.. Estresse hídrico em plantas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e311101523155-e311101523155, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/23155>. Acesso em: 17 apr. 2024

DETMANN, E.; COSTA E SILVA, L.F.; ROCHA, G.C.; PALMA, M.N.N.; RODRIGUES, J.P.P. Métodos para análise de alimentos. **Métodos para análise de alimentos-INCT-Ciência Animal**, Visconde do Rio Branco: Suprema, 2ª ed., 350p, 2021.

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

DUMANOVIĆ, J. et al. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 552969, 2021.

ESTEVEZ, G.L. 2001. O gênero *Pavonia* Cav. (Malvaceae) na região sudeste do Brasil. **Boletim do Instituto de Botânica** 15: 125-194.

FÉRET, J.-B. et al. PROSPECT-PRO for estimating content of nitrogen-containing leaf proteins and other carbon-based constituents. **Remote Sensing of Environment**, v. 252, p. 112173, 2021.

FERNANDES, A. R.; MATOS, G. S. B. de; CARVALHO, J. G. de. Deficiências nutricionais de macronutrientes e sódio em mudas de pupunheira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 1178-1189, 2013.

FERNANDES, M. M. M. de S.. **Estudo fitoquímico pioneiro de *Pavonia cancellata* (L.) - Malvaceae**. 2013. 95 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013. Disponível em: < <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/6826> >. Acesso em: 30 jan. 2024

FERNANDES, M. F.; QUEIROZ, L. P. de. Vegetação e flora da Caatinga. **Ciência e cultura**, v. 70, n. 4, p. 51-56, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21800/2317-66602018000400014>>. Acesso em: 5 fev. 2024

FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A.. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 573-580, 2004.

FILHO J. T. C.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, p. 199-204, 2001.

FORZZA, et al. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil (vol. 1)**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio e Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<https://books.scielo.org/id/z3529/pdf/forzza-9788560035083.pdf>>. Acesso em: 04 fev. 2024

FRYXELL, P.A. **The American genera of Malvaceae - II**. Brittonia 49, 204-269. 1997. Disponível em: <<https://doi.org/10.2307/2807683>> Acesso em: 30 jan. 2024

FRYXELL, P. A . Pavonia Cavanilles (Malvaceae). **Flora Neotropica Monograph 76**. Bronx , New York : The New York Botanical Garden Press. 1999.

FURLAN, A. L. et al. Proline metabolic dynamics and implications in drought tolerance of peanut plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 151, p. 566-578, 2020.

GEILFUS, C.-M.; Controlled environment horticulture. **Improving Quality of Vegetables and Medicinal Plants**; Springer: Cham, Switzerland, p. 1-233, 2019.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GRINGS, M.; KRAPOVICKAS, A.; BOLDRINI, Ilsi Iob. A new species of Pavonia (Malvaceae) from Southern Brazil. **Systematic Botany**, v. 36, n. 2, p. 419-423, 2011. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/full/10.1600/036364411X569598>>. Acesso em: 30 jan. 2024

GRINGS, M.; BOLDRINI, I. I. O gênero Pavonia Cav. (Malvaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, [S. l.], v. 11, n. 3, 2013. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/115520>>. Acesso em: 31 jan. 2024.

HAVIR, E. A.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450, 1987.

HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M.. Plant oxidative stress: Biology, physiology and mitigation. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1185, 2022.

HEATH, R. L.; PACKER, L.. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

IQBAL, A. et al. High nitrogen enhance drought tolerance in cotton through antioxidant enzymatic activities, nitrogen metabolism and osmotic adjustment. **Plants**, v. 9, n. 2, p. 178, 2020.

KHAN, F. et al. Phosphorus plays key roles in regulating plants' physiological responses to abiotic stresses. **Plants**, v. 12, n. 15, p. 2861, 2023.

KUMAR, S.; KUMAR, S.; MOHAPATRA, T. Interaction between macro-and micro-nutrients in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 665583, 2021.

KUWAHARA, F. A.; SOUZA, G. M.. Fósforo como possível mitigador dos efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento e as trocas gasosas de *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 Vitória. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, p. 261-267, 2009.

LEAL, I. R. et al. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 139-146, 2005.

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

LIMA FILHO, J. M. P. **Ecofisiologia De Plantas Da Caatinga**. 2004. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/153084>>. Acesso em: 5 fev. 2024

LORETO, F. and VELIKOVA, V. Isoprene Produced by Leaves Protects the Photosynthetic Apparatus against Ozone Damage, Quenches Ozone Products and Reduces Lipid Peroxidation of Cellular Membranes. **Plant Physiology**, 127, 1781-1787. 2001. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1104/pp.010497>>. Acesso em 22 fev. 2024

MARQUES, T. V. et al. Environmental and biophysical controls of evapotranspiration from Seasonally Dry Tropical Forests (Caatinga) in the Brazilian Semiarid. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 287, p. 107957, 2020.

MENGEL, Andreas; et al. Potassium in plants: uptake, metabolism and transport. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 16, p. 5919-5933, 2021.

MIYAZAWA M.; PAVAN M.A.; CARMO C.A.F.S. do; MELO W.J. de. (2009) Análise química de tecido vegetal. In: Silva FC (ed) **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**, 2nd edn. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, pp 21–623

MOREAU, D.. et al. A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. **Functional Ecology**, v. 33, n. 4, p. 540-552, 2019.

MORENO F.; LIZ P.. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. **Agron. Colomb.**, Bogotá , v. 27, n. 2, p. 179-191, Aug. 2009 .

MORENO-GALVÁN, A. E. et al. Proline accumulation and glutathione reductase activity induced by drought-tolerant rhizobacteria as potential mechanisms to alleviate drought stress in Guinea grass. **Applied Soil Ecology**, v. 147, p. 103367, 2020.

NAKANO, Y.; ASADA, K... Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

OHKAMA-OHTSU, N.; WASAKI, J.. Recent Progress in Plant Nutrition Research: Cross-Talk Between Nutrients, Plant Physiology and Soil Microorganisms, **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 8, p. 1255–1264, ago. 2010

OLIVEIRA, A. F. N. et al. Long-term effects of grazing on the biological, chemical, and physical soil properties of the Caatinga biome. **Microbiological Research**, v. 253, p. 126893, 2021.

Pavonia in Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB9118>>. Acesso em: 30 jan. 2024

QAMER, Z. et al. Review of oxidative stress and antioxidative defense mechanisms in *Gossypium hirsutum* L. in response to extreme abiotic conditions. **Journal of Cotton Research**, v. 4, n. 1, p. 9, 2021.

RAI, A. N.; PENNA, S.. Molecular evolution of plant P5CS gene involved in proline biosynthesis. **Molecular Biology Reports**, v. 40, p. 6429-6435, 2013.

RAMALHO, C. I. et al. Flora arbóreo-arbustiva em áreas de caatinga no semiárido baiano, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p. 182-190, 2009. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/pdf/2371/237117837028.pdf>>. Acesso em: 5 fev. 2024

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: **R Foundation for Statistical Computing**, 2023. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.

RU, C. et al. Nitrogen modulates the effects of heat, drought, and combined stresses on photosynthesis, antioxidant capacity, cell osmoregulation, and grain yield in winter wheat. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 3, p. 1681-1703, 2023.

SADDIQUE, M. A. B. et al. Proline, total antioxidant capacity, and OsP5CS gene activity in radical and plumule of rice are efficient drought tolerance indicator traits. **International Journal of Agronomy**, v. 2020, n. 1, p. 8862792, 2020.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998

SILVA, J. M. C. da et al. The Caatinga: understanding the challenges. **Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America**, p. 3-19, 2017.

SILVA, M. B. **Resposta morfofisiológica à adição de nutrientes em *Pavonia varians* moric. (malvaceae) e *Megathyrsus maximus* (jacq.) B.K. Simon & S.W.L. Jacobs (poaceae) sob restrição hídrica**. Programa de pós-graduação em biodiversidade. 79p. 2024.

SONG, Y. et al. Nitrogen increases drought tolerance in maize seedlings. **Functional Plant Biology**, v. 46, n. 4, p. 350-359, 2019.

SOUZA, G. A. R. de et al. Monitoramento da fotossíntese e transpiração de plantas de *Coffea canephora* utilizando um sistema multicâmaras e medidores de fluxo de seiva: um estudo de caso. In: **CONGRESSO FLUMINENSE DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, XV; CONGRESSO FLUMINENSE DE PÓS-GRADUAÇÃO, VIII**, 2023, Campos dos Goytacazes. Anais eletrônicos... Campinas: Galoá, 2023.

SOUZA, L. M.; BARBOSA, M. R.; MORAIS, M. B.; et al. Biochemical and morphophysiological strategies of *Myracrodruon urundeuva* plants under water deficit. **Biologia Plantarum**, v. 64, p. 20–31, 2020.

SOUZA, V. C. e LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. Acesso em: 30 jan. 2024.

SUN, Y. et al. Response of plants to water stress: a meta-analysis. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 978, 2020.

TABARELLI, M. et al. Caatinga: legado, trajetória e desafios rumo à sustentabilidade. **Ciência e cultura**, v. 70, n. 4, p. 25-29, 2018.

TAIZ L. & ZEIGER E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 2017. 6ª Edição. Porto Alegre: artmed.

TRIPATHI, D. K. et al. Role of macronutrients in plant growth and acclimation: recent advances and future prospective. **Improvement of Crops in the Era of Climatic Changes: Volume 2**, p. 197-216, 2014.

TURRA, C. Ação humana transformou 89% da Caatinga. **Revista Pesquisa FAPESP**, São Paulo, 17 abr. 2023. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/acao-humana-transformou-89-da-caatinga/>.

WANG, M. et al. The critical role of potassium in plant stress response. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 4, p. 7370-7390, 2013.

YOU, J.; CHAN, Z.; ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 1092, 2015.

YUAN, H.; et al.. An Insight into the Multifaceted Roles of Root Exudates in Plant–Soil Interactions. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023.

YUAN Z, C. Q.; ZHANG K.; ATA-UI-KARIM S.T.; TIAN Y.; ZHU Y.; CAO W.; LIU X (2016) Optimal leaf positions for SPAD meter measurement in rice. **Front Plant Sci** 7:719.

ZHANG, Z. et al. NPK deficiency modulates oxidative stress in plants. In: **Plant macronutrient use efficiency**. Academic Press, 2017. p. 245-265.

ZULFIQAR, F.; ASHRAF, M.. Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 8, p. 4629-4651, 2023.