

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS JABOTICABAL

**MECANISMOS DE TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA
EM PLANTAS DE AMENDOIM**

Mirela Vantini Checchio

Bióloga

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS JABOTICABAL**

**MECANISMOS DE TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA
EM PLANTAS DE AMENDOIM**

Mirela Vantini Checchio

Orientadora: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

Coorientador: Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal).

2023

C514m Checchio, Mirela Vantini
 Mecanismos de tolerância à deficiência hídrica em plantas
 de amendoim / Mirela Vantini Checchio. -- Jaboticabal, 2023
 89 p.

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
 Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
 Orientadora: Priscila Lupino Gratão
 Coorientador: Pedro Luís da Costa Aguiar Alves

 1. Fisiologia vegetal. 2. Estresse abiótico. 3. Déficit hídrico. 4.
 Amendoim. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: MECANISMOS DE TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS DE AMENDOIM

AUTORA: MIRELA VANTINI CHECCHIO

ORIENTADORA: PRISCILA LUPINO GRATÃO

COORIENTADOR: PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal), pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. PRISCILA LUPINO GRATÃO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal

Prof. Dr. LUCAS APARECIDO GAION (Participação Virtual)
UNIMAR / Marília/SP

Documento assinado digitalmente
LUCAS APARECIDO GAION
Data: 15/08/2023 13:14:54-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pós-doutorando ALLAN LOPES BACHA (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
ALLAN LOPES BACHA
Data: 15/08/2023 16:36:15-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. GEORGIA BERTONI POMPEU (Participação Virtual)
Departamento de Ciência do Solo / ESALQ USP Piracicaba/SP

Documento assinado digitalmente
GEORGIA BERTONI POMPEU
Data: 15/08/2023 13:44:11-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA ALVES (Participação Virtual)
Ambiental Clean / Jaú/SP

Documento assinado digitalmente
RITA DE CÁSSIA ALVES
Data: 14/08/2023 20:35:36-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Jaboticabal, 07 de agosto de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Mirela Vantini Checchio, nasceu em 16 de Outubro de 1991 na cidade de Jaboticabal, São Paulo. Ingressou no ano de 2012 na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal-SP, obtendo os títulos de Bacharel em Ciências Biológicas (2015) e Licenciatura em Ciências Biológicas (2017). Em 2014, ingressou no Laboratório de Fisiologia Vegetal participando de projetos e apresentações de resumos em Congressos nacionais e internacionais, além de premiação com o trabalho de iniciação científica. Em agosto de 2019 concluiu o Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) na mesma Universidade, ingressando no mesmo mês no Doutorado pelo mesmo programa de Pós-graduação na FCAV/UNESP. Ao longo dos anos de experimentação e pesquisa científica na área de fisiologia vegetal, sob a orientação da docente Priscila Lupino Gratão, dedicou-se aos estudos com ênfase nas respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas sob estresses abióticos, avaliando-se o metabolismo oxidativo. Durante o Doutorado, ministrou aulas na temática de fisiologia vegetal, coorientou alunos de iniciação científica e auxiliou em projetos de parcerias participando como coautora de artigos, além das colaborações em capítulos de livros, minicursos e eventos científicos.

A vida não é tanto sobre o que você conquista

Mas sobre o que você supera.

Robin Roberts

*Aos meus pais,
Por todo amor, valores e apoio irrestrito.*

*A minha orientadora Priscila L. Gratão,
Por todo incentivo, confiança e ensinamentos
conferidos ao longo desses anos.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus por iluminar, guiar e fortalecer meus passos.

À toda a minha família pelas orações, carinho e cuidado. Em especial, à minha irmã Michele e meu afilhado Murilo, pelo amor inigualável, risos e alegrias compartilhadas.

À minha orientadora Priscila L. Gratão, por todos os ensinamentos, motivação e cuidados dedicados em cada projeto, anseio e oportunidade. E, sobretudo pela amizade. O mundo precisa da energia de pessoas como você Pri!

Ao Prof. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves por todos os ensinamentos e orientação, mas principalmente, pela paciência e atenção.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida. E aos docentes e seção técnica do programa de pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, pelo conhecimento e possibilitar minha formação durante o percurso.

Aos membros da banca de qualificação Georgia Pompeu e Willians Carrega pelas palavras e significativas contribuições. Ao Allan Bacha por todo conhecimento transmitido e prontidão em me auxiliar no projeto científico.

A todos os membros do Depto de Biologia da UNESP/FCAV. Em especial ao Aldo, Martins e Márcia pela disposição em sempre ajudar.

A todos que passaram pelo Laboratório de Fisiologia Vegetal pelo tempo de convivência. E em especial: Mayara, Gilmar, Reginaldo, Valéria, Kevein, Vinícius, Marco, Clebson, Cássia, Letícia, Emilaine, Marina, Fernanda, Carlos, Lucas, Victor e Joel, por todos os bons momentos, cafés, conhecimentos, suporte e risadas. E claro, à querida Soninha, nosso anjo do lab, obrigada por tudo.

Ao Rodrigo, pela vida compartilhada juntos, com amor e nossa paz na loucura. E a Lis e Thor, por todo amor e me enxergarem uma pessoa melhor do que eu sou.

Aos meus amigos que não irei citar nomes, mas que com certeza boa parte de quem eu sou ao final desse ciclo, também se deve as pessoas que estiveram ao meu lado.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta na execução deste trabalho,

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Aspectos botânicos e socioeconômicos do Amendoineiro	4
2.2. Problematização da escassez hídrica no setor agrícola	7
2.2.1. Repostas das plantas à seca e a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO)	9
2.3. Mecanismos adaptativos à seca e os efeitos documentados no amendoineiro	11
2.4. Tolerância a seca e mecanismos de defesa atrelados.....	13
2.5. Perspectivas da Tolerância à seca	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Experimento 1 – Respostas modulatórias dos status fisiológico e bioquímico estão relacionadas aos níveis de tolerância à seca em cultivares de amendoim ..	19
3.1.1. Material vegetal e condições ambientais	19
3.1.2. Delineamento e condução experimental	20
3.1.3. Indicadores do status fisiológico	21
3.1.4. Indicadores do status bioquímico	22
3.2. Experimento 2 – A glutatona exógena pode atenuar os efeitos negativos no amendoim ocasionados pela seca	25
3.2.1. Material vegetal e condições ambientais	25
3.2.2. Delineamento e condução experimental	26
3.2.3. Indicadores do status fisiológico	27
3.2.4. Indicadores do status bioquímico	28
3.3. Análise estatística dos dados.....	30
4. RESULTADOS	31
4.1. Experimento 1 – Respostas modulatórias dos status fisiológico e bioquímico estão relacionadas aos níveis de tolerância à seca em cultivares de amendoim ..	31
4.1.1. Quantificação dos pigmentos fotossintéticos	31
4.1.2. Eficiência quântica do PSII (Fv/Fm).....	33

4.1.3. Trocas gasosas.....	34
4.1.4. Medições do metabolismo oxidativo e enzimas antioxidantes	36
4.1.5. Análise de componentes principais.....	40
4.2 Experimento 2 – A glutatona exógena pode atenuar os efeitos negativos no amendoim ocasionados pela seca	42
4.2.1. Determinação do conteúdo relativo de água (CRA).....	42
4.2.2. Quantificação do teor de clorofila.....	43
4.2.3. Trocas gasosas.....	44
4.2.4. Indicativos do estresse	46
4.1.4. Antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.....	47
5. DISCUSSÃO	52
5.1 Experimento 1 – Respostas modulatórias dos status fisiológico e bioquímico estão relacionadas aos níveis de tolerância à seca em cultivares de amendoim ..	52
5.2 Experimento 2 – A glutatona exógena pode atenuar os efeitos negativos no amendoim ocasionados pela seca	59
6. CONCLUSÃO.....	65
7. REFERÊNCIAS	66

MECANISMOS DE TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS DE AMENDOIM

RESUMO - O amendoimzeiro (*Arachis hypogaea* L.) é a quarta oleaginosa mais cultivada no mundo, entretanto seu cultivo está sujeito às flutuações da disponibilidade hídrica. Assim, estudos da tolerância entre cultivares e os mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na recuperação das plantas após um período de seca podem contribuir no aporte de pesquisas voltados ao melhoramento da cultura do amendoim. Com isso, os objetivos do trabalho foram avaliar a tolerância de diferentes cultivares de amendoim submetidas ao déficit hídrico e posterior reidratação, com base nas respostas modulatórias dos status fisiológico e bioquímico. E em um segundo experimento, foi avaliado se a aplicação exógena de glutathione (GSH) ameniza os efeitos negativos desencadeados pelo déficit hídrico. Para o primeiro experimento, aos 65 dias de cultivo em casa de vegetação, as cultivares IAC 503, IAC OL3, IAC OL6 E IAC Sempre Verde foram designadas a três condições hídricas (controle, déficit hídrico e reidratação). O déficit hídrico foi gerado pela suspensão da irrigação durante 9 dias e a reidratação pela rega posterior ao estresse, durante 3 dias. O estresse danificou o aparato fotossintético e as medidas correlacionadas (pigmentos, eficiência fotoquímica, trocas gasosas) na maioria das cultivares, além de ocasionar alterações no metabolismo oxidativo. No segundo experimento, os tratamentos foram formados pela combinação da aplicação foliar de glutathione (GSH) (0, 150 mg/L) via presença e ausência de irrigação na cultivar de amendoim IAC OL3. A restrição hídrica acarretou em reduções nas medidas correlacionadas a fotossíntese (clorofila, trocas gasosas e conteúdo relativo de água) e aumento nos conteúdos de MDA e H₂O₂, além de respostas distintas em peroxidases e compostos do ciclo ascorbato (AsA) - glutathione (GSH). Em geral, concluiu-se no primeiro experimento que os danos oxidativos foram mais expressivos na IAC Sempre Verde, enquanto a IAC 503, IAC OL3 e IAC OL6 apresentaram resposta diferencial nos status fisiológico e bioquímico ao déficit hídrico, sendo a maioria dos parâmetros restabelecidos após a reidratação. E, a maior atribuição do sistema de defesa atrelado aos demais parâmetros avaliados foram verificados na IAC OL3. Para o segundo experimento houve uma maior atenuação dos efeitos negativos do déficit hídrico nas plantas que foram tratadas com a aplicação exógena foliar de GSH (150 mg/L), além de refletir numa melhor razão de GSH reduzida/ GSH oxidada (GSH/GSSG).

Palavras-chave: *Arachis hypogaea* L., déficit hídrico, estresse abiótico, trocas gasosas.

TOLERANCE MECHANISMS TO WATER DEFICIENCY IN PEANUT PLANTS

ABSTRACT - Peanut (*Arachis hypogaeae* L.) is the fourth most cultivated oilseed in the world, however its cultivation is doomed to fluctuations in its water availability. Thus, studies of tolerance between cultivars and the physiological and biochemical mechanisms involved in plant recovery after a period of drought can contribute to research aimed at improving peanut cultivation. The objectives of this work was to evaluate the tolerance of different peanut cultivars submitted to water deficit and subsequent rehydration, based on the modulatory responses of the physiological and biochemical status. In a second experiment, it was evaluated whether the exogenous application of glutathione (GSH) attenuates the negative effects triggered by drought stress. In the first experiment, cultivars IAC 503, IAC OL3, IAC OL6 and IAC Sempre Verde were assigned to three water conditions (control, water deficit and rehydration) at 65 days of cultivation in a greenhouse. Water deficit was applied by suspending irrigation for nine days and rehydration by irrigation after stress condition for three days. Stress effects were related to photosynthetic apparatus and correlated measures (pigments, photochemical efficiency, gas exchange) in most cultivars, in addition to causing oxidative damage. In the second experiment, the treatments were performed by combination of foliar glutathione (0 and 150 mg/L) through water presence and absence in the peanut cultivar IAC OL3. The water restriction triggered reduction in measures correlated with photosynthesis (chlorophyll, gas exchange and relative water content) and increase in MDA and H₂O₂ contents, besides distinct responses in peroxidases and compounds of the ascorbate (AsA)-glutathione (GSH) cycle. In general, concluded in the first experiment that the oxidative damage being more expressive in IAC Sempre Verde. IAC 503, IAC OL3 and IAC OL6 cultivars showed a differential response of physiological and biochemical status to water deficit, being that most parameters were restored by rehydration. Also, there was verified greatest attribution in defense system linked to other parameters evaluated in IAC OL3 cultivar. In the second experiment, there was a greater attenuation of the negative effects of water deficit in the plants treated with the exogenous foliar application of GSH (150 mg/L), reflecting a better GSH/GSSG ratio.

Keywords: *Arachis hypogaea* L., water deficit, abiotic stress, gas exchange.

1. INTRODUÇÃO

A seca é o estresse mais prevalente e um infortúnio no cenário agrícola global (Ault et al., 2020, Gupta et al., 2020; Kaur et al., 2021). Estimativas recentes apontam que dentre todos os estresses abióticos, somente a seca foi responsável pela perda anual em cerca de 6 milhões de toneladas da produtividade global do amendoineiro (Sarkar et al., 2016), uma das principais oleaginosas com importância socioeconômica (Yang et al., 2019; Zhao et al., 2021).

A vulnerabilidade do amendoineiro aos eventos de deficiência hídrica é dependente dos estádios de crescimento da cultura e da variabilidade genotípica (Puangbut et al., 2009). Apesar de certa tolerância, quando os períodos de estiagem atingem as fases de florescimento e formação de vagem, impactam consideravelmente seu rendimento (Koolachart et al., 2013; Yang et al., 2019).

Pelo ajuste metabólico e adaptações modulares (escape/evitância/tolerância), as plantas são capazes de manter suas atividades fisiológicas funcionais até mesmo em períodos de déficit hídrico severo (Farooq et al., 2009; Laxa et al., 2019; Kaur et al., 2021). Contudo, essa capacidade de tolerar a seca vinculada ao genótipo da planta, envolve a ativação de uma rede integrada de respostas a nível fisiológico, bioquímico e molecular (Oguz et al., 2022). E são mutáveis conforme o estágio de desenvolvimento do vegetal e da severidade e duração do fator estressante (Flexas et al., 2004; Chakraborty et al., 2015; Kaur et al., 2021).

Evidentemente o grau de severidade da deficiência hídrica pode também limitar a fotossíntese e todo o metabolismo do amendoineiro, desencadeando alterações relacionadas ao aparato fotossintético e seus componentes, sendo o estresse que mais compromete os processos fisiológicos das plantas em geral (Flexas et al., 2004; Farooq et al., 2009; Rivas et al., 2016; Pilon et al., 2018).

Sinalizações ocorrem também a nível bioquímico e molecular, influenciando nos compostos orgânicos sintetizados, na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e no sistema antioxidante redox. Além disso, também envolvem diversos fatores de transcrição e a atividade específica de enzimas, como a superóxido

dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11), guaiacol peroxidase (GPOX, EC 1.11.1.7) e glutationa peroxidase (GSH-PX, EC 1.11.1.9) (Yi et al., 2016; Bhalani et al., 2019; Bhogireddy et al., 2020). Além de outras peroxidases e também compostos não enzimáticos vitais, que compõe vias antioxidantes, como a via do Ascorbato (AsA)-Glutationa (GSH). Estudos recentes sugerem forte correlação da ativação do sistema de defesa antioxidante à tolerância a seca, sendo também relevante após o estresse (Furlan et al., 2016; Laxa et al., 2019).

Muitas dessas alterações relatadas podem ser mensuráveis para detectar o condicionamento da planta perante o estresse. Entretanto, perpetua a complexidade em definir e comparar essas modificações mediante os trabalhos, pelo fato de que, ao avaliar o índice da deficiência hídrica e os dados relacionados aos parâmetros fisiológicos e bioquímicos, as diferenças interespecíficas podem ser variáveis, até mesmo entre genótipos de uma mesma cultivar (Farooq et al., 2009). E isto, principalmente ao relacionar as variações fotossintéticas aos processos estomáticos e não estomáticos (Flexas e Medrano, 2002; Pilon et al., 2018) e em última instância, correlacioná-las a tolerância.

Em espécies cultivadas, como é o caso do amendoim, a estratégia de sobrevivência à seca pela capacidade de rápida recuperação metabólica pode ser determinante ao seu desempenho produtivo (Hu et al., 2010; Laxa et al., 2019). Entretanto, ainda são insuficientes os estudos comparativos sobre as respostas à seca no amendoimzeiro, principalmente as respostas fisiológicas e bioquímicas intrínsecas na recuperação metabólica após a reidratação, bem como os estudos envolvendo a tolerância de diferentes cultivares ao déficit hídrico (Bhogireddy et al., 2020) e estratégias que possibilitem a indução da defesa das plantas, contribuindo numa melhor performance no desenvolvimento pela atenuação do fator de estresse.

Sabendo-se que as plantas diferem em suas respostas perante as limitações desencadeadas pelo déficit hídrico e posterior reidratação, a busca por cultivares tolerantes, bem como os mecanismos envolvidos torna-se indispensável, dada a relevância socioeconômica da cultura. Dessa forma, o objetivo principal deste estudo foi avaliar a tolerância de diferentes cultivares de amendoim submetidas a condições de déficit hídrico e reidratação, bem como os mecanismos fisiológicos e bioquímicos

envolvidos. Além disso, também foi investigado se a estratégia de aplicação foliar de GSH ameniza os danos fisiológicos e bioquímicos ocasionados pelo déficit hídrico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos botânicos e socioeconômicos do Amendoineiro

O amendoim é uma leguminosa anual, dicotiledônea e autógama, pertencente à família Fabaceae e ao gênero *Arachis*. A espécie *Arachis hypogaea* L. corresponde ao amendoim cultivado e de maior interesse agrônomo (Atayde et al., 2012; Nogueira et al., 2013). Possui duas subespécies: *A. hypogaea* L. subsp. *hypogaea* (pertencem comercialmente ao grupo Virgínia); e *A. hypogaea* L. subsp. *fastigiata* (pertencem comercialmente aos grupos Valência ou Spanish) (Bertioli et al., 2011). Dentro de cada subespécie, agrupam-se duas (*hypogaea* e *hirsuta*) e quatro (*fastigiata*, *vulgaris*, *aequatoriana* e *peruviana*) variedades botânicas, cada qual com suas próprias especificidades fenotípicas, o que possibilita a distinção desses acessos (Bertioli et al., 2011).

De maneira geral, *A. hypogaea* caracteriza-se por uma planta herbácea e ramificada, com hábitos de crescimento ereto ou rasteiro, haste principal entre 12 a 60 cm de comprimento e raiz principal podendo atingir entre 1,9 m e 2,4m. As folhas são alternas e os folíolos variam de 4-7 cm. As flores encontram-se nas axilas das folhas estando presentes ou não no caule central, enquanto os frutos são vagens indeiscentes (Bertioli et al., 2011; Kumar et al., 2019b). Como dito anteriormente, algumas características (porte, arquitetura e hábito de crescimento) podem variar conforme o grupo vegetativo (Godoy et al., 2019).

O desenvolvimento das plantas de amendoim é singular, marcado por sua floração aérea, autopolinização, formação de ginóforos e desenvolvimento dos frutos abaixo do solo (Smith, 1950; Atayde et al., 2012; Kumar et al., 2019b). O estágio de florescimento da cultura é amplo e somente a partir do desenvolvimento dos ginóforos (Figura 1) - na qual acontece a penetração gravitrópica no solo - ocorre a frutificação subterrânea da cultura (Nogueira e Távora, 2005, Atayde et al., 2012).

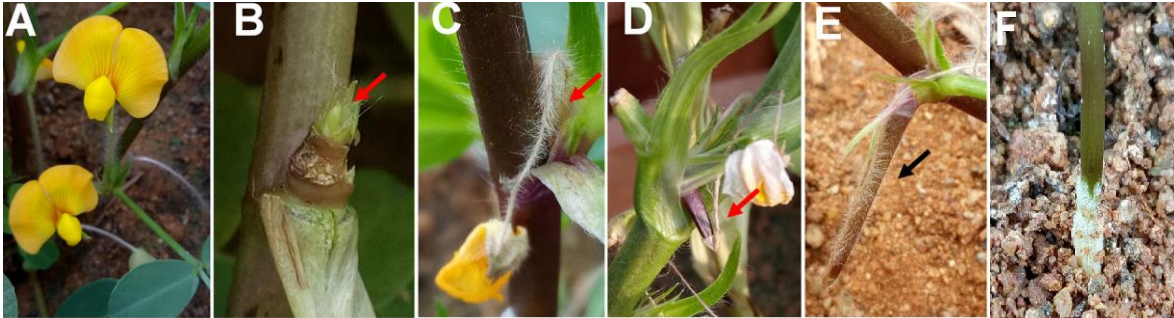


Figura 1. Desenvolvimento do ginóforo. (A) flor; (B) ovário emasculado da flor na base do ginóforo; (C) emergência do pino da flor deiscente; (D-E) pino curvado em direção à gravidade; (F) penetração de pinos no solo com pelos esbranquiçados na base. A seta indica o conteúdo especificado das respectivas imagens. Retirado de Kumar et al. (2019).

Embora o amendoim seja identificado como uma leguminosa endêmica da América do Sul (Bertioli et al., 2011), sua relevância socioeconômica e extensa adaptabilidade ambiental tornaram sua dispersão mundial e importância expressiva em distintas regiões (Leal-Bertioli et al., 2015; Thangella et al., 2018). Em termos de dispersão mundial, no ano de 2010 a produção total do amendoimzeiro atingia 38 milhões de toneladas em 24 milhões de ha, enquanto no ano de 2019, a produção alcançou 73 milhões de toneladas em 35 milhões de ha (Faostat, 2022).

Dada relevância numérica, atualmente, sua produção está estimada em 50 milhões de toneladas/ano e seu cultivo ocorre em mais de 100 países, sendo a quarta oleaginosa mais cultivada do mundo e a décima terceira maior cultura alimentar (USDA, 2023; Zhao et al., 2021). Nesse contexto, 90% da produção global provém da Ásia e África, sendo os maiores produtores a China (responsável por 38%), seguidos pela Índia e Nigéria. Já na América do Sul, o Brasil ocupa a colocação de décimo primeiro produtor mundial, e juntamente com a Argentina, Paraguai, Equador e Bolívia produzem 99% da produção continental (USDA, 2023).

Em território brasileiro, o estado de São Paulo responde por mais de 90% da produção nacional do amendoim, sendo cultivado em diversas regiões do estado, com grande parte de sua produção concentrada nas regiões de Alta Mogiana

(Jaboticabal, Sertãozinho e região) e Alta Paulista (Tupã, Marília e região) (Sampaio, 2019). Na safra de 2021/2022, São Paulo produziu cerca de 630 mil toneladas de amendoim em casca, sendo 50% descascada e destinada para a exportação (CONAB 2022). As áreas de produção são normalmente em reforma de canaviais e pastagens (menor frequência), devido à alta capacidade de fixação biológica de nitrogênio da cultura, sendo também cultivado geralmente por proprietários rurais, como diversificação da renda (Mingotte et al., 2019).

Grande parte da produção brasileira de amendoim é destinada ao segmento da confeitaria. A comercialização é feita através de cooperativas ou diretamente ao beneficiador e agroindústria confeitaria (Sampaio et al., 2019). Sua diversidade de consumo ressalta a expressividade econômica da cultura, na qual seus grãos podem ser consumidos 'in natura' ou processados industrialmente, resultando nos derivados – óleo, farelo ou produtos alimentícios em diversos setores, além da destinação para alimentação animal (Akhtar et al., 2014; Toomer et al., 2020).

Oleaginosa versátil, seus componentes o tornam um alimento valoroso no combate às necessidades nutricionais, principalmente em áreas emergentes (Zhuang et al., 2019). Seu consumo está intimamente relacionado a sua composição nutritiva, visto que as leguminosas - fontes cruciais de energia e proteínas - são consideradas a alimentação global mais importante depois dos cereais (FAO 2023). No caso do amendoim, sua composição é rica em óleo (47-50% em peso) e proteína (30% em peso aproximado), além de outros ácidos graxos insaturados, compostos menores (tocoferóis), aminoácidos, vitaminas e minerais (Toomer, 2018; Bera et al., 2019; Juan-Polo et al., 2022,). Contribuindo para a melhoria da saúde humana, devido ao potencial antioxidante, redução de doenças cardiovasculares, anticancerígeno, entre outros benefícios (Akhtar et al., 2014; Toomer, 2020).

Além de ser uma cultura vantajosa economicamente e para o sistema de saúde, também auxilia na qualidade do solo pela fixação biológica de nitrogênio (Akram et al., 2018). Pela importância socioeconômica, nutrição valorosa e potencial de tolerância à seca, torna-se uma cultura expressiva para a grande ameaça do

aumento demográfico e segurança alimentar, sobretudo no quadro de fome em áreas menos favorecidas e propensas a seca (Akram et al., 2018; FAO, 2023).

2.2 Problematização da escassez hídrica no setor agrícola

Em decorrência das intensas alterações climáticas, as irregularidades na distribuição e ocorrência de chuvas são comuns, com impactos negativos mais frequentes no cenário agrícola mundial, sobretudo por agravar outros fatores, abióticos e bióticos (Thiault et al., 2019, Gupta et al., 2020; Chaudhry e Sidhu, 2022). Espera-se nos próximos 30 a 90 anos uma mudança na magnitude da seca global, ainda mais abrangente e intensa (Balyan et al., 2020). Logo, as secas são um risco sistêmico global à segurança alimentar.

Somente na última década, o impacto global no setor agrícola em detrimento à seca resultou um prejuízo em US\$ 30 bilhões (Gupta et al., 2020). Estimativas futuras sugerem que o impacto climático atrelado às secas, acometerão ainda mais as culturas de maneira distinta em cada parte do continente, sendo mais precário pra algumas regiões do globo do que outras (Dinar et al., 2019). Com isso, o Brasil poderá enfrentar nos próximos anos, uma redução de até 50% nos seus rendimentos agrícolas (Figura 2). Esse impacto sobre o rendimento das culturas está atrelado sobretudo às oscilações pluviométricas, o que afeta negativamente a disponibilidade hídrica para as culturas e, portanto, seu crescimento e desenvolvimento (Ashraf e Harris, 2013; Fita et al., 2015).

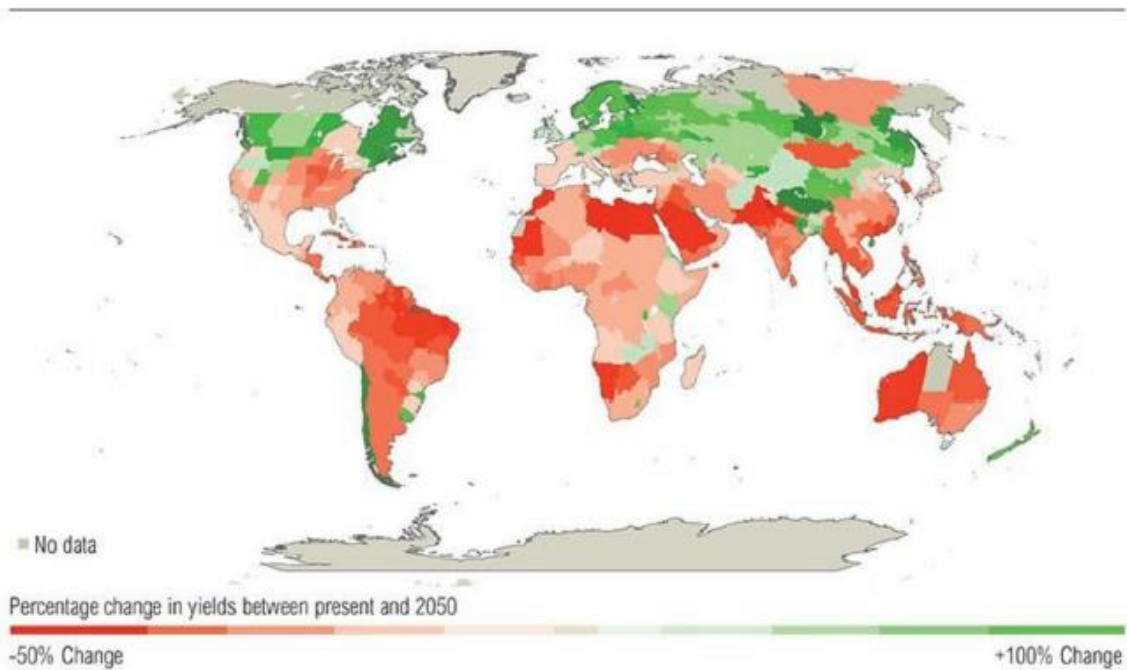


Figura 2. Projeção das variações percentuais no rendimento das culturas devido aos impactos das mudanças climáticas até 2050. Retirado de: Dinar et al., 2019 - segundo os dados do World Resources Institute (nd).

Grande parte do cultivo global do amendoineiro ocorre em áreas propensas à escassez de água, com reduções de 25-30% de sua produtividade dependendo da cultivar (Akram et al., 2018, Abady et al., 2019) e até 50% em áreas com secas recorrentes (Songsri et al., 2008). Estima-se que cerca de US\$ 520 milhões correspondam as perdas anuais no rendimento da cultura acometida pela seca (Kambiranda et al., 2011).

Embora a seca seja facilmente reconhecida, sua gravidade é imprevisível, já que é dependente de muitos fatores. Além disso, engloba uma ampla definição (Ault et al., 2022). Contudo, para as plantas, a seca pode ser compreendida como a insuficiência de água no solo para atender à demanda do vegetal, seu crescimento e desenvolvimento, em um determinado momento, refletindo em seu estado hídrico (Farooq et al., 2009; Kumar et al., 2019a; Tardieu et al., 2018). Ou também por um desajuste na disponibilidade hídrica no solo juntamente a uma alta demanda

evaporativa e consequente redução hídrica contínua pela transpiração (Bandurska, 2022).

2.2.1. Repostas das plantas à seca e a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO)

À medida que o potencial hídrico e o conteúdo relativo de água diminuem repercute em um dos processos mais sensíveis a seca – a fotossíntese. É evidente que o grau de severidade da deficiência hídrica pode limitar a fotossíntese, todo o metabolismo da planta e iminentemente, refletir no crescimento e produtividade (Galmés et al., 2007; Yi et al., 2016; Laxa et al., 2019).

De maneira geral, a resposta das plantas ao perceberem o déficit hídrico no solo é o fechamento estomático, mediado pelo aumento de ácido abscísico (ABA) (Kumar et al., 2019a) que restringe a perda de água, entretanto também reduz a assimilação de CO₂ estomática (Farooq et al., 2009). Os movimentos estomáticos por si só são dinâmicos devido à complexidade da regulação mediada por vários fatores (Hu et al., 2010). Entretanto, a sensibilidade do processo fotossintético à seca atrelado a limitação de CO₂, pode estar associado tanto pela baixa difusão estomática e mesófila, quanto pelas alterações não estomáticas governadas pela assimilação carbônica (Flexas e Medrano, 2002; Lawlor 2002) que limitam e interferem em reações cruciais nos processos bioquímicos.

As condições que levam à limitação de CO₂ favorecem a oxigenação da Rubisco (ribulose-1,5-bifosfato) e acarreta declínio no consumo de energia, estimulando a fotorrespiração (Flexas et al., 2004; Sharma et al., 2020). Esse cenário de excessiva energia de excitação que é criado no processo fotoquímico, desencadeia alterações na cadeia transportadora de elétrons, pigmentos fotossintéticos e componentes nos cloroplastos, contribuindo no acúmulo exacerbado de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Hernández et al., 2012, Das e Roychoudhury, 2014).

No entanto, essa superprodução de ERO não é restrita aos cloroplastos. Pois, apesar da alocação de energia para a fotorrespiração poder prevenir a fotoinibição e amenizar a produção de ERO na sede da fotossíntese, as vias que reciclam o carbono no processo fotorrespiratório acabam gerando H_2O_2 nos peroxissomos (Noctor et al., 2002). Portanto, uma série de alterações em outros compartimentos celulares além do cloroplasto, como peroxissomos e mitocôndria, também sucedem devido a produção de ERO (Tabela 1) (Hernández et al., 2012; Das e Roychoudhury, 2014).

Tabela 1. Principais fontes de ERO em células do mesofilo de plantas estressadas pela seca. 1O_2 (oxigênio singlete); $O_2^{\cdot-}$ (radical superóxido), H_2O_2 (peróxido de hidrogênio); HO^{\cdot} (radical hidroxila); HOO^{\cdot} (radical peridroxil) (Retirado de Hernández et al., 2012).

<i>Compartimento celular</i>	<i>Principais fontes de ERO</i>	<i>Descrição breve da reação</i>	<i>ERO formada</i>
<i>Cloroplasto</i>	<i>PSII/PSI</i>	<i>Transferência de energia da clorofila em estado tripleto</i>	1O_2
	<i>PSI (Reação de Mehler)</i>	<i>Transferência de elétrons para O_2 comoceptor alternativo de elétrons</i>	$O_2^{\cdot-}$
<i>Peroxisomo</i>	<i>Glicolato oxidase</i>	<i>Oxidação do glicolato pela fotorrespiração</i>	H_2O_2
	<i>Cadeia respiratória de transporte de elétrons</i>	<i>Transferência de elétrons de diferentes complexos para O_2</i>	$O_2^{\cdot-}$
<i>Apoplasto</i>	<i>NADPH oxidase</i>	<i>Oxidação de NADPH simplástico para gerar $O_2^{\cdot-}$ no apoplasto</i>	$O_2^{\cdot-}$
	<i>Poliamina oxidase</i>	<i>Catabolismo de poliaminas</i>	H_2O_2
	<i>Peroxidases de classe III</i>	<i>O ciclo catalítico das peroxidases de classe III</i>	HOO^{\cdot} , $O_2^{\cdot-}$
<i>Onipresente</i>	<i>Reação de Fenton</i>	<i>Geração de HO^{\cdot} pela oxidação de metais de transição</i>	HO^{\cdot}
	<i>Ciclo de Haber-Weiss</i>	<i>Atividade catalítica de metais de transição na presença de $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2</i>	HO^{\cdot}
	<i>Superóxido dismutase</i>	<i>Dismutação de $O_2^{\cdot-}$</i>	H_2O_2

Enquanto mantidas em baixas concentrações, essas espécies são ótimos mensageiros secundários e reguladores-chave na sinalização, intrínsecos do crescimento e desenvolvimento, além das respostas a estresses abióticos (Das e Roychoudhury, 2014; Reis et al., 2022). Entretanto, quando excedem a capacidade

de desintoxicação celular, o cenário é alterado e as ERO assumem uma face danosa (Miller et al., 2010). Em função da alta reatividade e potencial tóxico dessas espécies, são ocasionados danos oxidativos nos componentes celulares, como peroxidação de lipídeos da membrana, comprometendo a integridade das organelas; danificando também ácidos nucleicos, proteínas e conseqüentemente influenciando em reações cruciais do metabolismo (Suzuki et al., 2012; Sharma et al., 2012; Yi et al., 2016).

Notoriamente, as respostas coordenadas à seca são desencadeadas por vias regulatórias complexas, desde a percepção da tensão gerada, transdução de sinais à regulação da expressão gênica e sinal de resposta em uma cascata de sinalizações, juntamente a um *crosstalk* (interligações) entre uma série de receptores, sensores, proteínas funcionais, metabólitos de sinalização e fitormônios modulando a níveis moleculares, bioquímicos, fisiológicos e morfológicos o metabolismo das plantas, sob um alto custo metabólico e energético (Lamaouri et al., 2018; Oguz et al., 2022).

2.3. Mecanismos adaptativos à seca e os efeitos documentados no amendoineiro

A adaptação em um ambiente incerto e adverso fez com que as plantas desenvolvessem características adaptativas distintas, como escapar, evitar e/ou tolerar as limitações impostas para sua sobrevivência (Bandurska, 2022). Através dessas adaptações e um conjunto de ajustes metabólicos sofisticado, as plantas são capazes de manter suas atividades fisiológicas funcionais, até mesmo em períodos de déficit hídrico severo (Farooq et al., 2009; Laxa et al., 2019; Kaur et al., 2021).

Plantas sob escape ou ‘fuga’ podem alterar seu ciclo fenológico através de compensações fenotípicas, como anteceder a floração e maturação (Kumar et al., 2019^a; Oguz et al., 2022). Quando em ‘evitação’, sucedem-se modificações morfoanatômicas como ceras espessas, ajustamento osmótico, incremento e

profundidade do sistema radicular, área foliar reduzida, entre outras alterações (Farooq et al., 2009). A tolerância à seca por sua vez, engloba a indução de sinalizações intermoleculares, ativação transcricional de genes-alvo responsivos à seca e síntese de osmólitos protetores, proteínas e substâncias antioxidantes que garantam a sobrevivência em um ambiente hostil (Lamaoui et al., 2018).

Evidências das duas últimas décadas com genótipos de amendoim cultivado sugerem que as plantas podem evitar a seca através de distintas respostas fisiológicas, sendo principalmente relatado o incremento na distribuição do sistema radicular (Songsri et al., 2008; Girdthai et al., 2012; Graciano et al., 2016; Carrega et al., 2020), alteração nos folíolos e redução da área foliar (Reddy et al., 2004), aumento no teor das ceras epicuticulares (Kottapalli et al., 2009), conteúdo relativo de água (Akçay e al., 2010) e expressão gênica (Pruthvi et al., 2013; Banavath et al., 2018; Yuan et al., 2020; Liu et al., 2022).

A vulnerabilidade do amendoim aos eventos de deficiência hídrica é dependente dos estádios de crescimento da cultura e da variabilidade fenotípica (Puangbut et al., 2009). Apesar de certa tolerância e mecanismos adaptativos, as fases de florescimento e desenvolvimento da vagem são mais afetadas pela deficiência hídrica, já que a máxima exigência hídrica ocorre nestes períodos (Nogueira e Távora, 2005, Singh et al., 2013). Desse modo, pode acarretar a queda de flores e murchamento dos ginóforos, conseqüentemente, resultar em menor número de vagens. Em última instância, a formação de grãos em menor peso específico e/ou o não preenchimento dos mesmos é afetada (Boote et al., 1982).

Com isso, a escassez hídrica no solo, limita não apenas as variáveis de crescimento do amendoim, como impactam seu potencial produtivo. A produção de amendoim é totalmente inerente a geração e penetração do ginóforo no solo. Quando o solo permanece seco por um longo período, torna-se uma barreira física para a penetração do ginóforo, e dessa maneira, restringe a fase de frutificação, acarretando à supressão do enchimento das vagens pela formação de vagens aéreas (Kambiranda et al., 2011). O comprometimento na matéria seca, também é atribuído aos processos cruciais afetados pela seca (visto anteriormente na seção 2.2.1) sendo também verificados no amendoimzeiro, a redução na abertura

estomática, na assimilação de CO₂ e na taxa transpiratória, enquanto a eficiência de uso da água também é alterada (Clifford et al., 2000; Flexas et al., 2004; Kottapalli et al., 2009; Pilon et al., 2018).

Em última instância e de similar relevância, a seca não afeta somente o rendimento do cultivo do amendoim, como também inferioriza o tempo de prateleira e a qualidade dos produtos (Kambiranda et al., 2011), já que ao alterar o peso da semente, influencia no teor de óleo e conseqüentemente, na qualidade nutricional dos grãos.

2.4 Tolerância a seca e mecanismos de defesa atrelados

A exposição das plantas à seca prolongada, torna ineficiente a elas apenas 'evitar' a desidratação, na qual exige a junção - não somente das características morfológicas funcionais - como a associação ao menor dano oxidativo nas células. Desse modo, são cruciais a ativação dos mecanismos de tolerância (Nogueira et al., 2006; Pereira et al. 2016; Bandurska et al., 2022). Evidentemente, a capacidade de tolerar a seca envolve a ativação de uma rede integrada de respostas metabólicas sendo dependentes de outros fatores ambientais e mutáveis conforme o estágio de desenvolvimento do vegetal, severidade e duração do fator estressante (Flexas et al., 2004; Chakraborty et al., 2015; Kaur et al., 2021; Oguz et al., 2022). Essas respostas são veemente complexas, e o grau de tolerância pode variar entre espécies e mesmo entre cultivares da mesma espécie (Pruthvi et al., 2013).

As principais vias relacionadas à tolerância a seca incluem a transdução de sinal, eliminação de ERO e manutenção do potencial osmótico celular, viabilizando as funções fisiológicas após o estresse pela preservação da integridade da membrana e homeostase celular (Lamaouri et al., 2018). Os sinais redox são avisos prévios, que visam o controle da geração e o consumo de energia (Suzuki et al., 2012; Das e Roychoudhury 2014), sendo coordenados por uma série de transcritos,

através de sinalizações sistêmicas e desencadeando respostas multiníveis (Lamaouri et al., 2018).

A manutenção das ERO nos processos celulares é regulada pela eficiência dos sistemas antioxidantes que modulam sua atividade para garantir o equilíbrio entre a produção e eliminação de ERO. Esses componentes endógenos - enzimáticos e não enzimáticos – compõe a linha de defesa nas plantas, desintoxicando o excesso dessas espécies (Mittler et al., 2002; Gratão et al., 2015; Choudhury et al., 2017; Checchio et al., 2021). Embora sejam escassos (comparado a outras espécies) os estudos relacionados à atividade antioxidante em genótipos de amendoim estressados pela seca, sugerem forte correlação do sistema de defesa antioxidante à tolerância a seca em diversas cultivares (Chaves e Oliveira, 2004; Laxa et al., 2019; Bandurska et al., 2022).

Sistemas não enzimáticos são constituídos principalmente por compostos de baixo peso molecular, como glutathiona (GSH), ascorbato (AsA), carotenoides, entre outros (Mittler, 2002; Soares et al., 2019). AsA e GSH são metabolitos encontrados no interior das células em altas concentrações. São importantes na regulação e eliminação de ERO e ambos são requeridos como doadores de elétrons para a efetiva ação das defesas enzimáticas. Atuando de forma sinérgica, o AsA reage diretamente com o H_2O_2 , enquanto a GSH tem papel na regeneração do AsA (Foyer e Noctor, 2013; Gratão et al., 2015; Choudhury et al., 2017).

Devido ao poder redutor, GSH também está relacionado, além da regulação enzimática, à síntese proteica e expressão gênica responsiva ao estresse (Sharma et al., 2012). AsA tem participação ativa como estabilizador de enzimas com íons metálicos e no controle da mitose, senescência e morte celular (Gill e Tuteja, 2010). Por sua vez, os carotenoides nos cloroplastos fazem parte da defesa nos complexos pigmento-proteína, sendo os principais responsáveis pela dissipação do excesso de energia, através da extinção da formação de clorofilas excitadas em estado singleto ($^1Chl^*$) (Sun et al, 2022).

Por outro lado, a defesa enzimática compõe proteínas que catalisam reações de eliminação de pró-oxidantes através de elétrons fornecidos pelos antioxidantes não enzimáticos ou outros doadores de elétrons (NADPH, ferredoxina) (Hernández

et al., 2012). As enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPOX), glutationa peroxidase (GSH-PX) entre outras, compõe essa defesa (Choudhury et al., 2013; Foyer e Noctor, 2013; Gratão et al., 2015).

A metaloenzima SOD, primária na linha de defesa, exerce função na conversão do superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em O_2 e H_2O_2 , mas sua essencialidade se deve principalmente por evitar a formação da HO pela reação de Fenton ou Ciclo de Haber-Weis (Gill e Tuteja, 2010). A SOD pode apresentar diferentes isoformas que estão presentes majoritariamente nos cloroplastos, matriz mitocondrial e citoplasma celular, mas podem ser encontradas em outros compartimentos. O H_2O_2 formado pela reação catalisada pela SOD ou pela própria dismutação espontânea do $O_2^{\cdot-}$ é desintoxicado pela ação da CAT, APX entre outras peroxidases (Hernández et al., 2012; Sharma et al., 2012; Gratão et al., 2015).

As APX são classificadas como heme peroxidases com alta afinidade (μM) por H_2O_2 e AsA, evidenciando seu papel não apenas em extinguir o H_2O_2 , como também no controle dos seus níveis na sinalização redox (Foyer e Noctor, 2013). Também são encontradas em distintos compartimentos celulares sob diferentes isoformas, e constituem uma das vias antioxidantes mais prevalentes e necessárias nas plantas – o ciclo ascorbato-glutationa (AsA-GSH) (Sharma et al., 2012; Gratão et al., 2015). De forma contrária, CAT possui baixa afinidade pelo H_2O_2 , no entanto, são principalmente encontradas nos peroxissomas, glioxissomos, citosol e mitocôndrias. São responsáveis pela eliminação do H_2O_2 fotorrespiratório, através da redução de duas moléculas de H_2O_2 a duas moléculas de H_2O e O_2 . Sugere-se que as APXs são responsáveis pela modulação fina das ERO, enquanto CAT pelo excesso bruto gerado durante condição estressora (Mittler et al., 2002).

A GPOX, uma heme enzima onipresente nos organismos vivos, através de suas isoformas básicas e ácidas nas plantas, participa da defesa contra estresses abióticos e bióticos. Além disso, sua isoforma ácida também está relacionada a processos essenciais da parede celular, como biossíntese de lignina e regulação do ácido-indolil-acético (AIA). Sabe-se que a GPOX, apesar da ausência de substrato específico, remove o H_2O_2 através da oxidação de doadores de elétrons aromáticos,

como guaiacol e piragalol (Das e Roychoudhury 2014). Devido a sua atividade enzimática intra e extra celular é sugerido através das pesquisas que a GPOX é uma enzima chave na eliminação do H_2O_2 contra uma série de adversidades (Sharma et al., 2012; Soares et al., 2019).

A GSH-PX, compreende uma ampla família de isoenzimas, que por serem peroxidases tiol, possuem alta afinidade com peróxidos (Soares et al., 2019). Desse modo, oxidam preferencialmente o GSH para reduzir o H_2O_2 , lipídios e peróxidos de alquila, auxiliando as células vegetais contra o estresse oxidativo. A GSH-PX juntamente com a deidromonoascorbato redutase (DHAR), são importantes também na conversão do H_2O_2 e deidroascorbato (DHA) em H_2O e AsA, respectivamente (Gill et al., 2013).

Na tolerância das plantas à condição de seca, manter a homeostase celular é imprescindível. Como estratégia de defesa, as plantas podem acumular metabólitos secundários e osmólitos orgânicos compatíveis (glicina betaína, prolina, aminoácidos, açúcares) (Ramakrishna e Gokare, 2011), favorecendo a pressão de turgor durante o déficit hídrico (Chaves e Oliveira, 2004; Lamaouri et al., 2018). Esse ajuste osmótico preserva as membranas e estruturas celulares, conservando a absorção de água sob a condição de seca, além de outras funções importantes não só relacionadas a osmoproteção, como na desintoxicação de ERO (Zhang et al., 2008).

2.5 Perspectivas da Tolerância à seca

As perspectivas da tolerância a seca no amendoineiro são galgadas pelo gerenciamento do estresse hídrico atrelado as abordagens disponíveis e alcançáveis. Embora os esforços para explorar a introgressão de genes com características de adaptação à seca ainda constituam um grande desafio, sobretudo devido a complexa variabilidade genética advinda da constante deriva evolutiva e tetraploidia do amendoim (Bertioli et al., 2011; Leal-Bertioli et al., 2012). O

desenvolvimento de genótipos de amendoim tolerantes à seca é um dos principais focos dos melhoristas de plantas e programas de cultivo do amendoimzeiro (Sarkar et al., 2016). Recentemente, houve um aumento considerável das pesquisas sobre as respostas moleculares à seca e a tolerância no amendoim (Pruthvi et al., 2013; Sarkar et al., 2016; Banavath et al., 2018; Thangella et al., 2018; Yuan et al., 2020; Li et al., 2021; Zhao et al., 2021; Mou et al., 2022).

Além das abordagens voltadas ao campo da engenharia genética, recentemente houve um crescente fomento na indução da tolerância à seca em diversas cultivares através da aplicação exógena de substâncias e extratos naturais, como metabólitos vegetais, bioestimulantes e outros compostos químicos (Godoy et al., 2021; Hasanuzzaman et al., 2021; Koh et al., 2021; Bandurska et al., 2022; Hosseinifard et al., 2022). A adoção de estratégias de aplicação exógena de certas substâncias tem abrangido efeitos benéficos que refletem uma melhor performance no desenvolvimento das plantas diante da imprevisibilidade da seca, além da viabilidade de implementação.

Contudo, as lacunas acerca da indução de respostas que podem ser geradas com a aplicação de uma série de compostos aplicados exógenamente permanecem, e maiores esforços são necessários. Pois, como ressaltado anteriormente, as diferenciações nas respostas metabólicas entre cultivares na interação com o ambiente, se devem a intensidade e tempo de exposição ao fator externo e também as próprias características intrínsecas do vegetal e seu ciclo de desenvolvimento. Somado a isto, existem formas distintas de aplicação e concentrações, na qual, esta última em questão irá designar o papel conclusivo na linha tênue entre benéfico à maléfico, antioxidante à pró oxidante para o vegetal.

Contudo, a melhor compreensão dos eventos de sinalização ao estresse desencadeados pela seca, atrelado as respostas fisiológicas e bioquímicas nas plantas de amendoim perante esses episódios de estiagem, ainda são primordiais no critério de tolerância a seca. Desse modo, estudos que possam explorar o conjunto de respostas metabólicas no amendoimzeiro, podem contribuir, não somente na identificação de materiais com características relacionadas à tolerância, como posteriormente, também na manipulação e viabilidade de aplicação exógena

dos compostos envolvidos. Uma vez que, são geradas mudanças no metabolismo devido as cascatas de sinalizações, expressão gênica, modulando a atividade de antioxidantes e osmoprotetores.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Experimento 1 – Respostas modulatórias dos status fisiológico e bioquímico estão relacionadas aos níveis de tolerância à seca em cultivares de amendoim

3.1.1. Material vegetal e condições ambientais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, no período de Março a Maio de 2021. Localizado a uma altitude de 590m e coordenadas geográficas: 21°15'17''S e 48°18'20''O. As quatro cultivares de amendoim utilizadas no trabalho foram a IAC 503, IAC OL3, IAC OL6 e IAC SEMPRE VERDE, ambas adquiridas através do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

As condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação foram parcialmente controladas, sendo os elementos meteorológicos apresentados na Figura 3, extraídos de um conjunto de dados pertencentes ao acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciência Exatas.

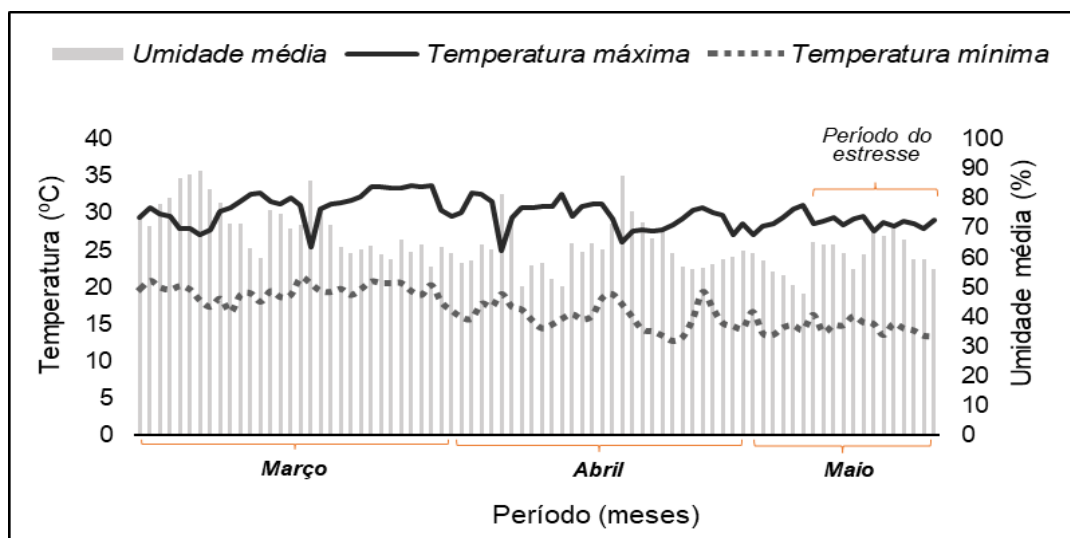


Figura 3. Temperatura máxima e mínima e umidade relativa do ar média durante o período experimental. (Fonte: Estação Agroclimatológica Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP - CAMPUS DE JABOTICABAL).

3.1.2. Delineamento e condução experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3 (4 cultivares x 3 condições hídricas), com três repetições e três plantas por vaso, totalizando 36 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi composta por um vaso plástico (25 dm³) de uma mistura de terra arável de um Latossolo vermelho eutroférico típico, textura argilosa e areia (3:1 v/v). Alíquotas representativas dessa mistura foram submetidas a análise química e granulométrica, apresentando os seguintes resultados: pH (CaCl₂): 6.1, matéria orgânica: 9,0 g dm⁻³, P: 10 mg dm⁻³, S: 13 mg dm⁻³, Ca: 21 mg dm⁻³, Mg: 7 mmol_c dm⁻³, Na: ns, K: 1.3 mmol_c dm⁻³, H+Al: 13 mmol_c dm⁻³, soma de bases (SB): 28.5 mmol_c dm⁻³, capacidade de troca de cátions (CTC): 41.1 mmol_c dm⁻³ e saturação por bases (V%): 69%.

Durante a semeadura foram depositadas nove sementes nos vasos previamente tratadas com inseticida e fungicida. Após a emergência, foi realizado o desbaste, mantendo-se três plantas por vaso. Para estabelecer as diferenças no regime hídrico que caracterizavam os tratamentos sem e com restrição hídrica, foi determinado anteriormente a capacidade de retenção de água (CRA) nos vasos, sendo a CRA total considerada equivalente a 100% da CRA do solo dos vasos. No entanto, o controle da água foi considerado 80% deste valor, pois corresponde à demanda usual para a maioria das culturas. Para a condição de déficit hídrico, o nível de água foi estabelecido a 30% da CRA dos vasos. A disponibilidade de água foi controlada pelo método de pesagem dos vasos após a reposição de água pela evapotranspiração.

Todas as plantas foram condicionadas à plena irrigação (tratamento CT – controle) até 65 dias após a semeadura (DAS). Posteriormente o grupo de plantas do tratamento reidratado (RH) tiveram a irrigação suspensa e três dias depois, também foi suspensa a irrigação do grupo déficit hídrico (DH) até níveis próximos a 30% da CRA dos vasos. A suspensão total de irrigação nos dois grupos ocorreu por 9 dias, sendo que as plantas do tratamento RH receberam novamente a irrigação a 80% do CRA dos vasos, por três dias antes da coleta. Na manhã do dia

seguinte, totalizados 74 dias de experimento, as plantas foram coletadas e avaliadas conforme as análises a seguir.

3.1.3. Indicadores do status fisiológico

3.1.3.1. Quantificação dos Pigmentos: Clorofila total e Carotenoides

Para a quantificação dos teores de clorofila total e carotenoides, os discos foliares foram removidos e incorporados numa mistura contendo 2 mL de acetona (80%), mantidos por 48h sob refrigeração. Após este período, foram mensurados em espectrofotômetro nos comprimentos de onda: Clorofila *a* = 663 nm; Clorofila *b* = 647 nm; Carotenóides = 470 nm e calculados de acordo com as equações propostas por Lichtenthaler (1987). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g/ml}^{-1}$ de massa fresca.

3.1.3.2 Eficiência quântica do PSII (Fv/Fm)

Para as avaliações da eficiência quântica do fotossistema II, foi utilizado um fluorímetro (Hansatech, mod. PEA) medidos pela luz vermelha com pico de 650 nm, de aproximadamente $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo os resultados expressos em unidade relativa.

3.1.3.3 Trocas gasosas

As trocas gasosas foram avaliadas através de um sistema portátil IRGA (Infrared Gas Analyzer – Li-Cor[®], mod. LI-6400, Lincoln, Nebraska, USA), medidas com uma intensidade luminosa constante de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As medidas foram realizadas 9:30h às 10:30h, em que as leituras de taxa de assimilação líquida de CO_2 ($A - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática ($g_s - \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e transpiração foliar ($E - \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foram armazenadas e trabalhadas. Para

tanto, foram utilizados valores de CO₂ de referência de 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$; H₂O de referência de 14 mmol H₂O mol⁻¹; a temperatura da câmara foi fixada em 25°C; a pressão atmosférica em 1000 KPa; e a taxa de fluxo em 400 $\mu\text{mol s}^{-1}$.

3.1.4. Indicadores do status bioquímico

3.1.4.1. Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi determinado segundo metodologia de Alexieva (2001), através da reação com iodeto de potássio, com leitura em 390 nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/mg}^{-1}$ de massa fresca.

3.1.4.2. Caracterização do estresse pela peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi estimada pelo conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A concentração de equivalente de malondialdeído (MDA) foi calculada usando um coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, com leituras em 535 e 600 nm (Mihara et al., 1980). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/mg}^{-1}$ de massa fresca.

3.1.4.3. Extração de proteínas e determinação da atividade antioxidante

Para as análises enzimáticas foi feita uma extração seguindo a metodologia de Azevedo et al. (1998) e as proteínas quantificadas pelo método de Bradford (1976), sendo obtidos valores expressos em mg/proteína. Posteriormente foram medidas as atividades específicas das enzimas a seguir.

3.1.4.4. *Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)*

A atividade específica da SOD foi determinada conforme protocolo de Giannopolitis e Ries (1977), através da inibição da redução fotoquímica do cloreto de nitroblue tetrazólio (NBT) e conduzida em uma câmara de reação, sob lâmpada fluorescente de 15 W, a 25 °C. A solução da reação foi constituída por tampão fosfato de potássio (50 mM) (pH 7,8), metionina (50 mM), NBT (1 mM), EDTA (10 mM), Riboflavina (0,1 mM) e o extrato. Posteriormente, os tubos com a solução foram colocados na caixa por 5 minutos. A medida foi realizada em espectrofotômetro a 560 nm. Os resultados foram expressos em U SOD mg⁻¹ de proteína.

3.1.4.5. *Ascorbato Peroxidase (APX, EC 1.11.1.11)*

A atividade específica da APX foi determinada através da análise da taxa de oxidação do ascorbato a 30 °C. A mistura de reação consistiu por uma solução contendo tampão fosfato de potássio (80 mM) (pH 7,0), ascorbato (5 mM); EDTA (1 mM), H₂O₂ (1 mM) e o extrato vegetal. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 290 nm por 1 minuto (Cakmak e Horst, 1991). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

3.1.4.6. *Glutathione Peroxidase (GSH-PX, EC 1.11.1.9)*

A atividade de GSH-PX foi obtida adicionando o extrato a um meio reacional que consistiu por tampão fosfato de potássio (100 mM) (pH 7,0), EDTA (3 mM), 0,24 U GR mL⁻¹, GSH (10 Mm) e azida sódica (1 mM). A mistura foi incubada a 37 °C durante 10 minutos e a reação catalisada pela adição de NADPH (1,5 mM) e H₂O₂ (1,5 mM). A oxidação de NADPH foi vistoriada durante 5 minutos a 340 nm e a atividade enzimática calculada utilizando o coeficiente de extinção molar de 6,22 mM⁻¹ cm⁻¹ (Anderson e Davis, 2004). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

3.1.4.7. *Guaiacol Peroxidase (GPOX, EC 1.11.1.7)*

A atividade de GPOX foi determinada numa mistura contendo tampão fosfato-citrato pH 5,0 (fosfato de sódio dibásico 0,2 M: ácido cítrico 0,1 M), 0,5% de guaiacol e o extrato. Posteriormente a solução foi agitada em vortex com a adição de H₂O₂ e incubados a 30°C durante 15 minutos (Gomes-Junior et al., 2006). A reação foi interrompida por transferência imediata para um banho de água gelada, seguida pela adição de 2% de solução de metabissulfito de sódio (Monteiro et al. 2011). A atividade foi avaliada monitorizando a absorbância no comprimento de onda de 450 nm.

3.2. Experimento 2 – A glutathiona exógena pode atenuar os efeitos negativos no amendoim ocasionados pela seca

3.2.1. Material vegetal e condições ambientais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo. Localizado a uma altitude de 590m e coordenadas geográficas: 21°15'17"S e 48°18'20"O. Os dados de temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação foram adquiridos através de um conjunto de dados pertencentes ao acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciência Exatas, sendo apresentados na figura abaixo (Figura 4).

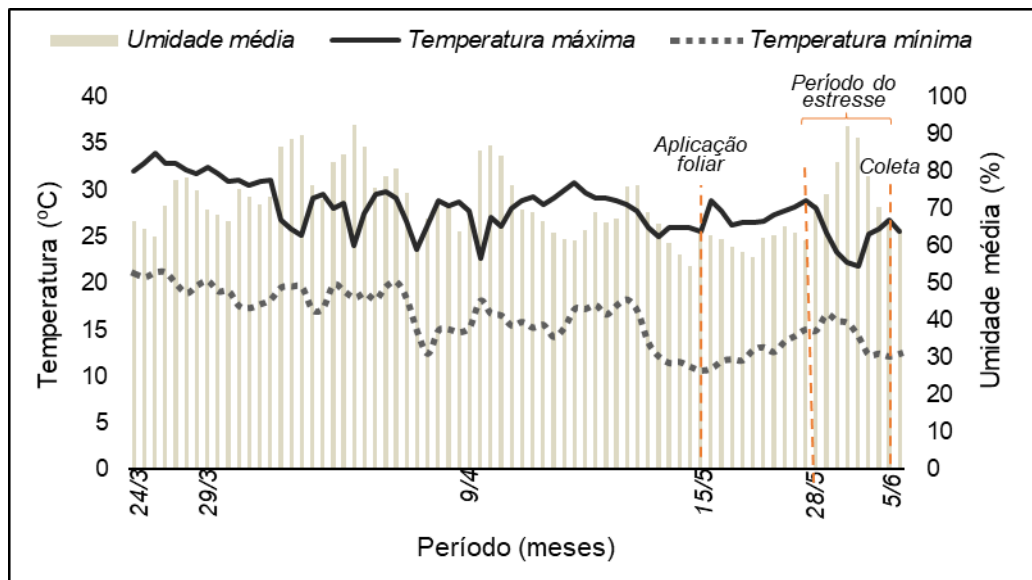


Figura 4. Temperatura máxima e mínima e umidade relativa do ar média durante o período experimental. (Fonte: Estação Agroclimatológica Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP - CAMPUS DE JABOTICABAL)

O controle da umidade do solo foi monitorado através de sensores (*Hidrofarm – Falker*, modelo HFM 2030) e os dados obtidos no período de indução dos tratamentos foram apresentados na Figura 5.

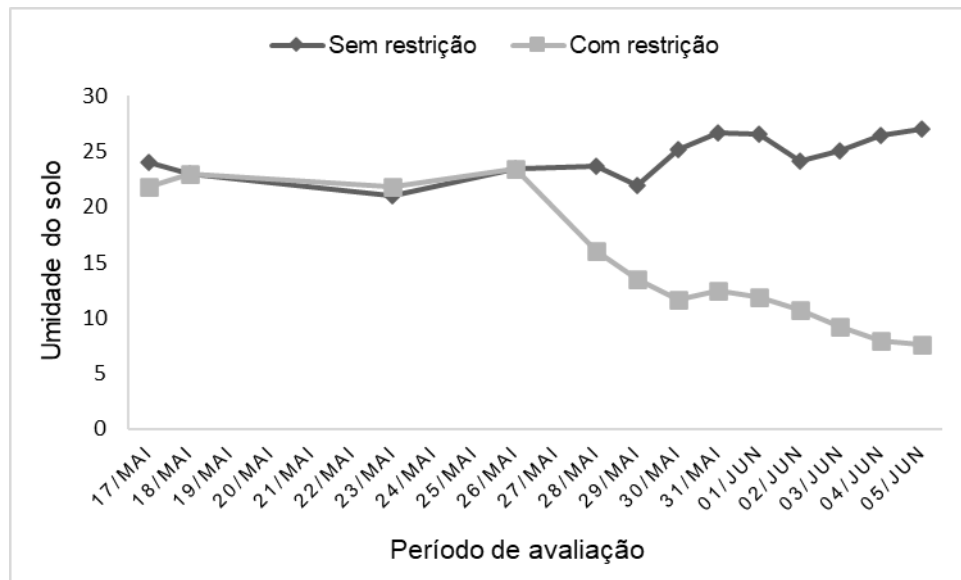


Figura 5. Dados de umidade média do solo dos vasos (%) com e sem restrição hídrica. O eixo x representou o período de avaliação (dias/meses) e o eixo y os valores de umidade do solo.

3.2.2. Delineamento e condução experimental

O delineamento experimental realizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 2x2, com quatro repetições, sendo os tratamentos formados pela combinação de glutathione (0 e 150 mg/L) e ausência e presença de água. As sementes de amendoim da cultivar IAC OL3 (previamente tratadas) foram semeadas nos vasos com capacidade de 10 litros e preenchidos por uma mistura de terra arável de um Latossolo vermelho eutroférico típico, textura argilosa e areia (2:1 v/v), mantendo-se duas plantas por vaso. Aos 51 dias após a semeadura (DAS), correspondendo a fase de florescimento da cultura, os grupos de plantas pertencentes ao tratamento com aplicação exógena de glutathione, foram pulverizadas pela manhã com uma solução contendo o composto glutathione (yy-L-

Glutamil-L-cilteinil-glicina, GSH - Sigma-Aldrich) na concentração de 150 mg/L, incluindo 0,1% de tween-20 como surfactante. A aplicação foi realizada com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado por CO₂, munido de barras com quatro bicos tipo leque (TTJ60-11002 VP), espaçadas de 0,5m, o qual foi regulado com pressão constante de 2,3 kgfcm⁻², proporcionando volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹, com deslocamento a 1ms⁻¹, barra a 0,5m de altura em relação ao alvo.

A disponibilidade de água foi controlada pelo monitoramento através dos sensores, sendo todas as plantas condicionadas à plena irrigação até 63 DAS, neste período final também foi realizada a primeira avaliação de trocas gasosas com o sistema portátil IRGA (Infrared Gas Analyzer). No dia seguinte (64 DAS), os tratamentos correspondentes ao déficit hídrico tiveram a irrigação suspensa, sendo a umidade do solo monitorada duas vezes ao dia. Totalizados 72 DAS, as plantas foram coletadas e avaliadas conforme as análises descritas a seguir.

3.2.3. Indicadores do status fisiológico

3.2.3.1. Conteúdo relativo de água

O conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado a partir de dez discos foliares (1 cm de diâmetro) ao final da coleta experimental. Inicialmente foram pesados para obtenção da massa fresca (MF), sendo posteriormente imersos em recipiente com água deionizada por 24 horas na ausência de luz. Após, os discos foram novamente pesados, obtendo-se a massa túrgida (MT). Por fim, os mesmos foram secos em estufa de ventilação forçada a 65°C por 48 horas, sendo novamente pesados e resultando a massa seca (MS). O CRA foi obtido através da fórmula: $CRA = (MF-MS)/(MT-MS)$. E a unidade expressa em porcentagem (%) (Slavick, 1979).

3.2.3.2. *Quantificação do teor de clorofila total e parâmetros de trocas gasosas*

O teor de clorofila total foi quantificado através de um clorofilômetro portátil (Falker, modelo CFL 1030) e os resultados foram expressos em *UR*. As trocas gasosas foram realizadas em dois períodos no desenvolvimento experimental, a primeira antecedendo a fase de estresse e a segunda ao final do experimento. Para isso, utilizou-se o sistema portátil IRGA (Infrared Gas Analyzer – Li-Cor®, mod. LI-6400, Lincoln, Nebraska, USA), pela mesma metodologia citada anteriormente na seção de Material e métodos, do experimento 1.

3.2.4. **Indicadores do status bioquímico**

3.2.4.1. *Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)*

O conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi determinado segundo metodologia de Alexieva (2001), conforme descrito anteriormente. Os resultados também foram expressos em $\mu\text{mol}/\text{mg}^{-1}$ de massa fresca.

3.2.4.2. *Caracterização do estresse pela peroxidação lipídica*

A peroxidação lipídica foi estimada pelo conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) através da metodologia de Mihara et al. (1980), conforme descrito anteriormente. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol}/\text{mg}^{-1}$ de massa fresca.

3.2.4.3. *Extração de proteínas e determinação da atividade antioxidante enzimática*

As análises enzimáticas foram feitas através da extração seguindo a metodologia de Azevedo et al. (1998) e as proteínas quantificadas pelo método de Bradford (1976). Os valores obtidos foram expressos em $\text{mg}/\text{proteína}$. Posteriormente foram medidas as atividades específicas das enzimas Ascorbato

Peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e Guaiacol Peroxidase (GPOX, EC 1.11.1.7) descritas anteriormente, conforme os protocolos de Cakmak e Horst (1991) e Gomes-Junior et al. (2006), respectivamente.

3.2.4.7. *Compostos antioxidantes não-enzimáticos*

O teor de glutathiona (GSH) foi estimado conforme os protocolos de Anderson (1985) e Israr et al. (2006), com modificações. As folhas foram maceradas com 0,1% de ácido sulfosalicílico. Após homogeneizadas, a mistura foi inserida em tubos e centrifugada a 10.000 rpm por 20 minutos a 4°C. Posteriormente, foi retirada 250 µl de sobrenadante e adicionados na cubeta juntamente a 1,75 mL de 0,1 M de tampão fosfato de sódio (pH 7) contendo EDTA e 100 µL de 3 mM de DTNB (ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico)). Após 5 minutos, o teor de glutathiona reduzida foi determinado em espectrofotômetro a 412 nm, sendo posteriormente adicionados no mesmo tubo 0,4 mM de NADPH 2 µl de glutathiona (GT) para a leitura da glutathiona total no mesmo comprimento de onda. A quantificação da GSH baseou-se em uma curva padrão obtida a partir de concentrações de GSH conhecidas. E a partir do cálculo da diferença entre os valores de glutathiona total e GSH foi determinada a quantidade de GSSG, sendo possível estimar a razão GSH/GSSG.

O teor de ascorbato total (AsA) foi determinado através do protocolo de Ribeiro et al. (2012), com modificações. Folhas foram maceradas em 1 mL de TCA (6%), homogeneizadas e posteriormente centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos a 4°C. Em um tubo foram adicionados uma alíquota do sobrenadante (50 µl), 400 µl de TCA (6%), 100 µl de 10 mM DTT (em 0,02 M tampão fosfato de sódio pH 7,4) e 200 µl tampão fosfato de sódio (0,02 M, pH 7,4) e incubados por 15 minutos a 40°C. Após, adicionou-se 100 µl de 0,5% (p/v) NEM (N-etilmaleimida), 100 µl de 50% (p/v) TCA, 400 µl de 42% (v/v) H₃PO₄ (ácido fosfórico), 400 µl de 4% (p/v) 2,2-dipiridil em etanol e 200 µl de 0,3% (p/v) de FeCl₃. A mistura foi incubada por 40 minutos a 40°C. Posteriormente, a reação foi parada através da inserção dos tubos em gelo e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 525 nm. A quantificação do ascorbato

também foi realizada com base em uma curva padrão obtida a partir de concentrações conhecidas de ácido ascórbico.

3.3. Análise estatística dos dados

Os dados foram analisados por meio do software estatístico AgroEstat[®] (Barbosa e Maldonado Júnior, 2015) e submetidos à análise de variância pelo teste F. As diferenças significativas entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Além disso, para o primeiro experimento, afim de identificar o comportamento das cultivares em resposta aos tratamentos propostos, e também para integrar todos os dados das avaliações fisiológicas e bioquímicas, uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada. O processo foi desenvolvido reduzindo a matriz multivariada de dados a um biplot bidimensional interpretável que explica a maior proporção de variação dos dados obtidos nas condições de DH e RH, separadamente. Os gráficos foram feitos com a utilização do software Origin v. 9.0 (Microcal[®]).

4. RESULTADOS

4.1 Experimento 1 – Respostas modulatórias dos status fisiológico e bioquímico estão relacionadas aos níveis de tolerância à seca em cultivares de amendoim

4.1.1. Quantificação dos pigmentos fotossintéticos

As menores concentrações de clorofila total entre as cultivares foram constatadas na cultivar IAC OL3 sob DH e na IAC Sempre Verde (SV) sob RH (Figura 6). Em relação ao controle, nenhuma cultivar reduziu seu conteúdo de clorofila com a exposição ao estresse. Apenas a cultivar IAC SV expressou essa redução após a reidratação. Em contrapartida, a cultivar IAC 503 aumentou seu conteúdo sob estresse, mantendo-o após a reidratação (Figura 6A).

O conteúdo de carotenoides foi similar aos dados de clorofila entre as cultivares sob as condições DH e RH (Figura 6B), sendo as menores concentrações verificadas nas cultivares IAC OL3 e IAC SV, respectivamente. Entre os tratamentos, as cultivares IAC 503 e IAC OL3 reduziram seu conteúdo de carotenoides em resposta ao estresse, recuperando seus níveis equivalente aos seus respectivos controles após a reidratação. Em contrapartida, a cultivar IAC SV foi a mais afetada, apresentando declínio contínuo nos carotenoides entre as condições. A cultivar IAC OL6 não diferiu seu conteúdo de clorofila e carotenoides entre nenhum dos níveis de disponibilidade hídrica (Figura 6).

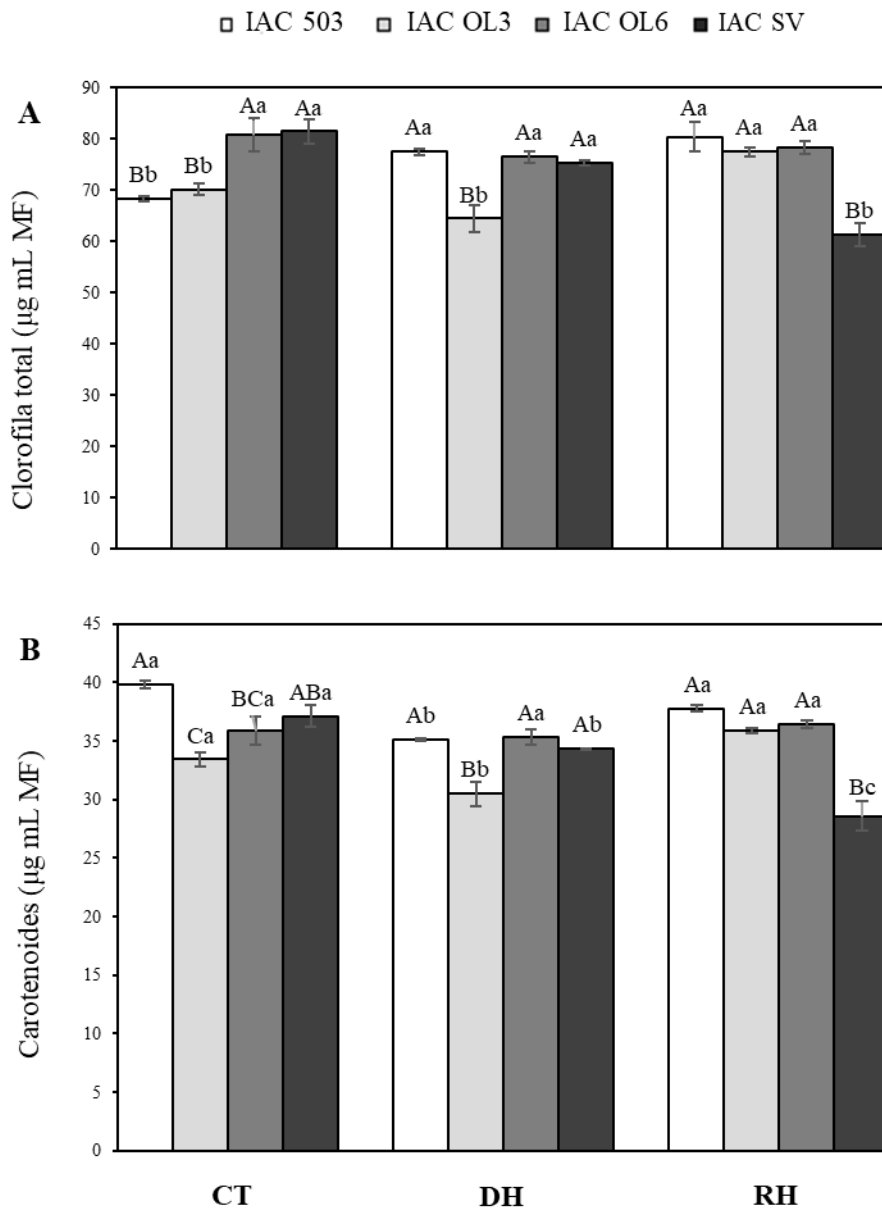


Figura 6. Conteúdos de Clorofila total (A) e Carotenoides (B) nas cultivares de amendoim (IAC 503; IAC OL3; IAC OL6; IAC SV) sob três condições hídricas (CT-DH-RH). Letras maiúsculas comparam as médias das cultivares dentro de uma mesma condição e letras minúsculas comparam as médias entre as condições dentro de uma mesma cultivar. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.2. Eficiência quântica do PSII (F_v/F_m)

A eficiência quântica do PSII (F_v/F_m) variou entre as cultivares independente da condição hídrica (Figura 7), na qual os menores valores observados nas condições DH e RH foram referentes as cultivares IAC 503 e IAC SV, respectivamente. Entre os tratamentos, quando comparado as plantas plenamente irrigadas, o estresse ocasionou o decréscimo nos valores de F_v/F_m nas plantas IAC 503 e IAC SV. Após a reidratação esses valores foram aumentados nas cultivares IAC 503 e OL6, diferentemente da SV, que apresentou expressiva queda nessa condição. Não houve diferença estatística para a cultivar IAC OL3 entre os tratamentos (Figura 7).

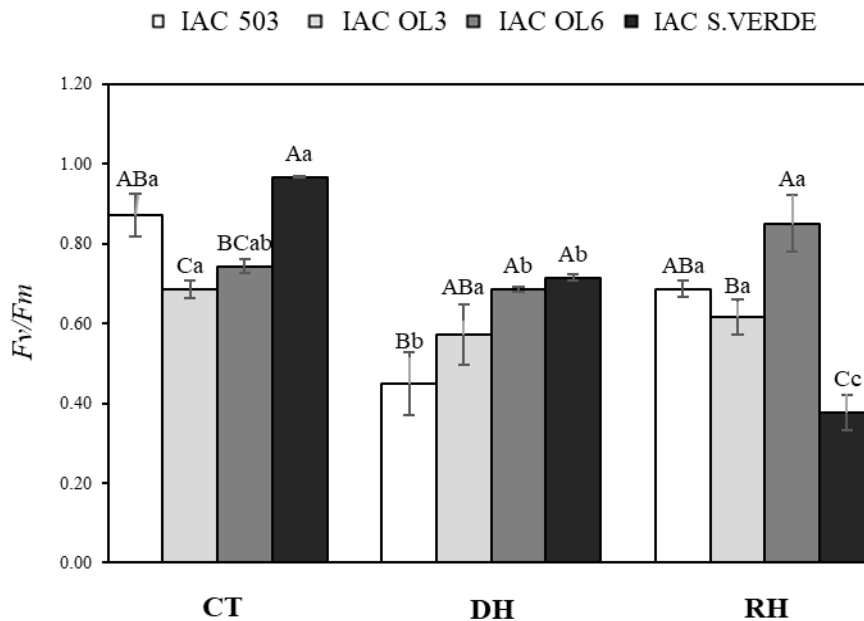


Figura 7. Eficiência quântica do PSII (F_v/F_m) nas cultivares de amendoim (IAC 503; IAC OL3; IAC OL6; IAC SV) sob três condições hídricas (CT-DH-RH). Letras maiúsculas comparam as médias das cultivares dentro de uma mesma condição e letras minúsculas comparam as médias entre as condições dentro de uma mesma cultivar. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.3. Trocas gasosas

A taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s) e a taxa transpiratória (E) evidenciaram um padrão de resposta análogo entre as condições hídricas. A cultivar IAC 503 apresentou a maior taxa nos três parâmetros entre as cultivares sob déficit hídrico, enquanto a cultivar IAC SV, os menores valores sob reidratação (Figuras 8A-C). De maneira contrária, a concentração interna de carbono (C_i), eficiência da carboxilação instantânea (A/C_i) e eficiência do uso da água (EUA) variou entre as cultivares dentre as condições hídricas (Figuras 8D-F).

Em comparação as plantas controle, apenas nas cultivares IAC 503 e IAC SV a A , g_s e E tiveram uma redução constante entre as condições hídricas, não sendo os valores reestabelecidos após a reidratação (Figura 8A-C). Os parâmetros de C_i e A/C_i para a cultivar 503 foram reduzidos somente na reidratação (Figura 8D-E), não apresentando diferença estatística para EUA (Figura 8F). Já para a cultivar SV, o C_i reduziu significativamente entre as condições hídricas, enquanto a A/C_i reduziu apenas sob RH quando comparado ao controle (Figura 8D-E). De maneira contrária, a EUA para esta cultivar aumentou com a reidratação em comparação às plantas controle (Figura 8F).

A cultivar IAC OL6 apresentou queda na A , g_s , E (Figura 8A-C) e A/C_i (Figura 8E) quando submetidas ao déficit hídrico, entretanto, também apresentou recuperação equivalente (A , g_s , A/C_i) e parcialmente (E) aos níveis do controle, após a reidratação. Não houve diferença estatística na EUA para esta cultivar (Figura 8F). Com relação a IAC OL3, a A não foi comprometida com o déficit hídrico, apesar da diminuição em g_s , E e C_i na mesma condição (Figura 8A-D). Contudo, esses valores foram reestabelecidos equivalente ao controle após a reidratação. A estimativa da A/C_i e EUA (Figura 8E-F) tiveram o mesmo padrão de resposta para esta cultivar, apresentando aumento sob DH, demonstrando elevada utilização dos recursos nesta condição e consequente adaptação ao estresse; após a reidratação, os valores foram reestabelecidos equivalentes aos do controle.

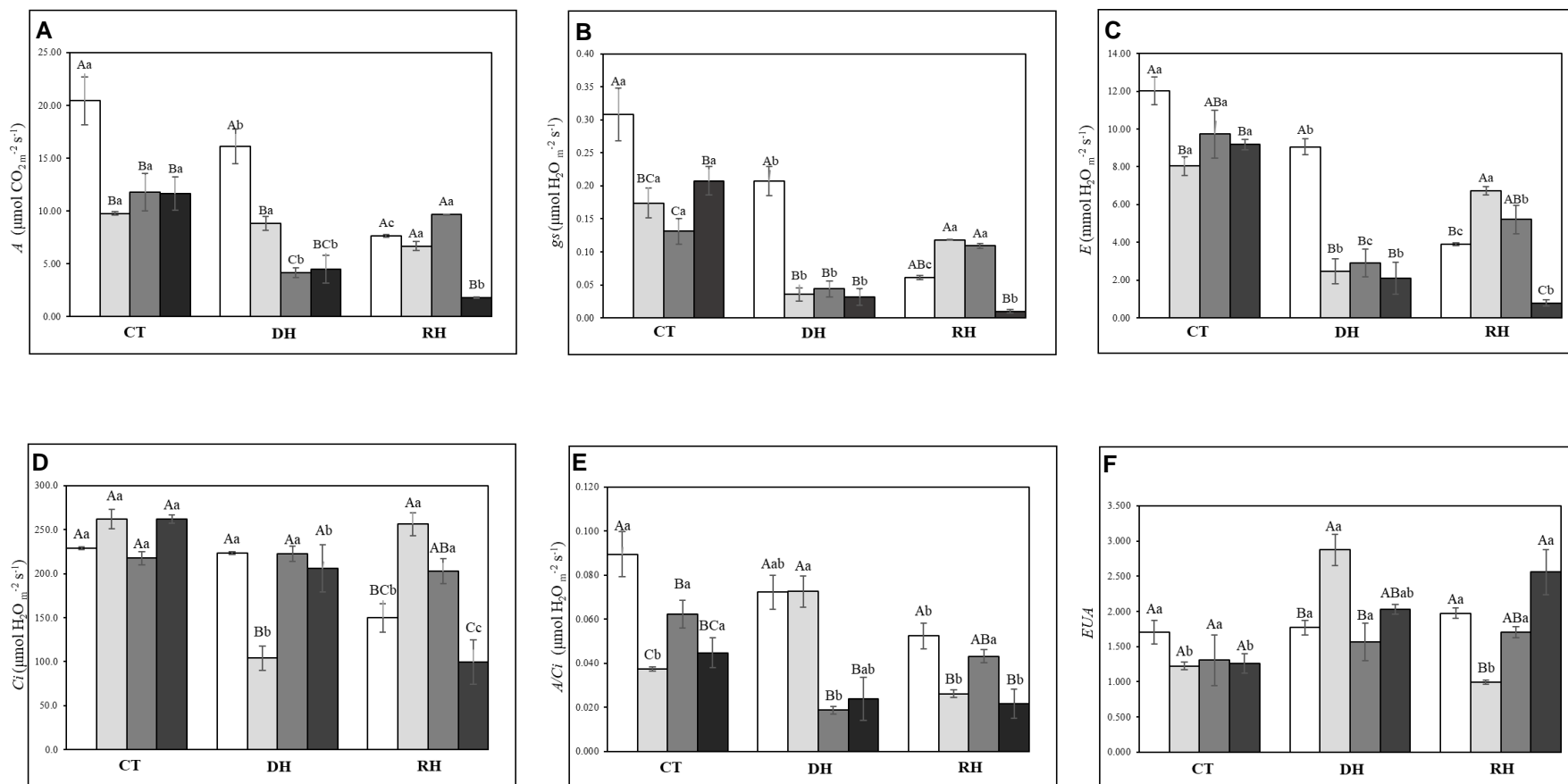


Figura 8. A – assimilação líquida de CO₂ (A), g_s – condutância estomática (B), E – taxa transpiratória (C), C_i – concentração interna de carbono (D), A/C_i – eficiência da carboxilação instantânea (E) e EUA – eficiência do uso da água (F) nas cultivares de amendoim (IAC 503; IAC OL3; IAC OL6; IAC SV) sob três condições hídricas (CT-DH-RH). Letras maiúsculas comparam as médias das cultivares dentro de uma mesma condição e letras minúsculas comparam as médias entre as condições dentro de uma mesma cultivar. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.4. Medições do metabolismo oxidativo e enzimas antioxidantes

As maiores concentrações de malondialdeído (MDA), indicativo da peroxidação lipídica, foram observados nas cultivares IAC OL6 e SV, independente da condição hídrica. Em comparação a condição controle, o déficit hídrico promoveu aumento de MDA em todas as plantas de amendoim. Após reidratação, essa concentração de MDA foi reduzida em todas as cultivares, não diferindo de seus respectivos controles (Figura 9B).

A concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi superior nas cultivares IAC OL6 e SV sob deficiência hídrica e reidratação. Em relação ao tratamento controle, o aumento de H_2O_2 verificado na maioria das plantas estressadas, foi reduzido apenas na IAC 503 e OL3 com a reidratação. Em contrapartida, a concentração aumentou para as cultivares IAC OL6 e SV nesta mesma condição (RH) (Figura 9A).

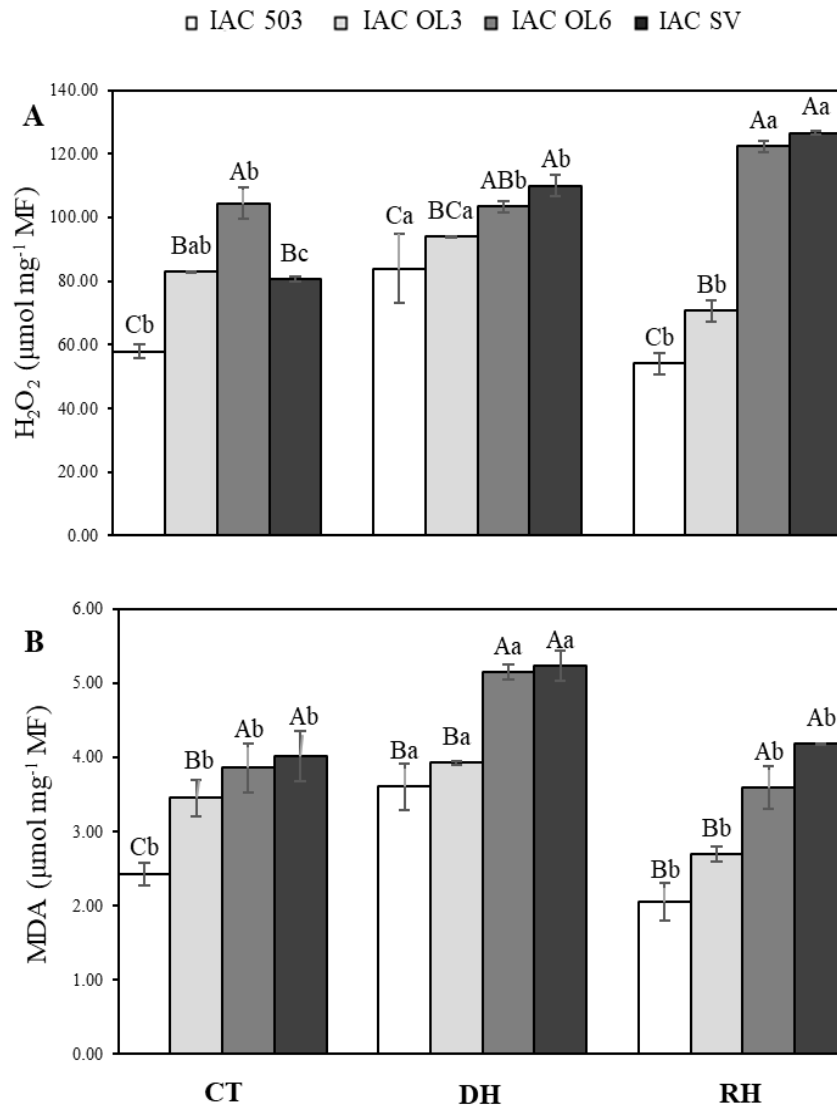


Figura 9. Quantificação do conteúdo de H_2O_2 (A) e MDA (B) nas cultivares de amendoim (IAC 503; IAC OL3; IAC OL6; IAC SV) sob três condições hídricas (CT – DH – RH). Letras maiúsculas comparam as médias das cultivares dentro de uma mesma condição e letras minúsculas comparam as médias entre as condições dentro de uma mesma cultivar. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As atividades antioxidantes enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathiona peroxidase (GSH-PX) e guaiacol peroxidase (GPOX) diferiram entre as cultivares independente do tratamento (Figura 10A-D). Sob DH e RH, a atividade mais expressiva da SOD foi observada na cultivar IAC OL3, enquanto a menor atividade nas cultivares IAC 503 e SV (Figura 10A). Entre os tratamentos (exceção à IAC 503), todas as cultivares apresentaram aumento na atividade de SOD na condição DH. Após a reidratação, houve redução da atividade desta enzima, somente para a IAC OL3 (Figura 10A).

A atividade específica da APX foi mais expressiva na cultivar IAC OL3 nos tratamentos CT e DH (Figura 10B). Na condição RH, a cultivar IAC 503 obteve um aumento na atividade da APX, igualando-se à IAC OL3. A menor atividade entre as cultivares foi notada na cultivar IAC SV sob déficit hídrico, juntamente com a IAC OL6 na reidratação. O estresse ocasionou a ativação da APX em todas as cultivares, sendo a atividade da IAC 503 crescente entre os tratamentos, enquanto na IAC SV aumentou apenas na reidratação em relação ao controle. Somente para as cultivares IAC OL3 e OL6, houve redução da atividade da APX após reidratação (Figura 10B).

Entre as cultivares, a IAC OL3 apresentou a maior atividade de GSH-PX, independentemente do tratamento. Por outro lado, a IAC OL6 sob DH, juntamente com a IAC SV sob RH obtiveram os menores valores. Em relação às condições hídricas, todas as cultivares tiveram o mesmo padrão de resposta, aumentando a atividade sob déficit hídrico e não alterando após a reidratação (Figura 10C). As maiores atividades de GPOX foram observadas nas cultivares IAC OL3 na condição DH, juntamente com a IAC OL6 sob RH (Figura 10D). Todas as cultivares expressaram aumento de GPOX sob estresse (exceto a IAC 503), quando comparado ao tratamento controle. Houve redução na atividade enzimática com a reidratação em todas as cultivares, quando comparadas as plantas DH (com exceção a IAC OL6) (Figura 10D).

□ IAC 503 □ IAC OL3 ■ IAC OL6 ■ IAC S.VERDE

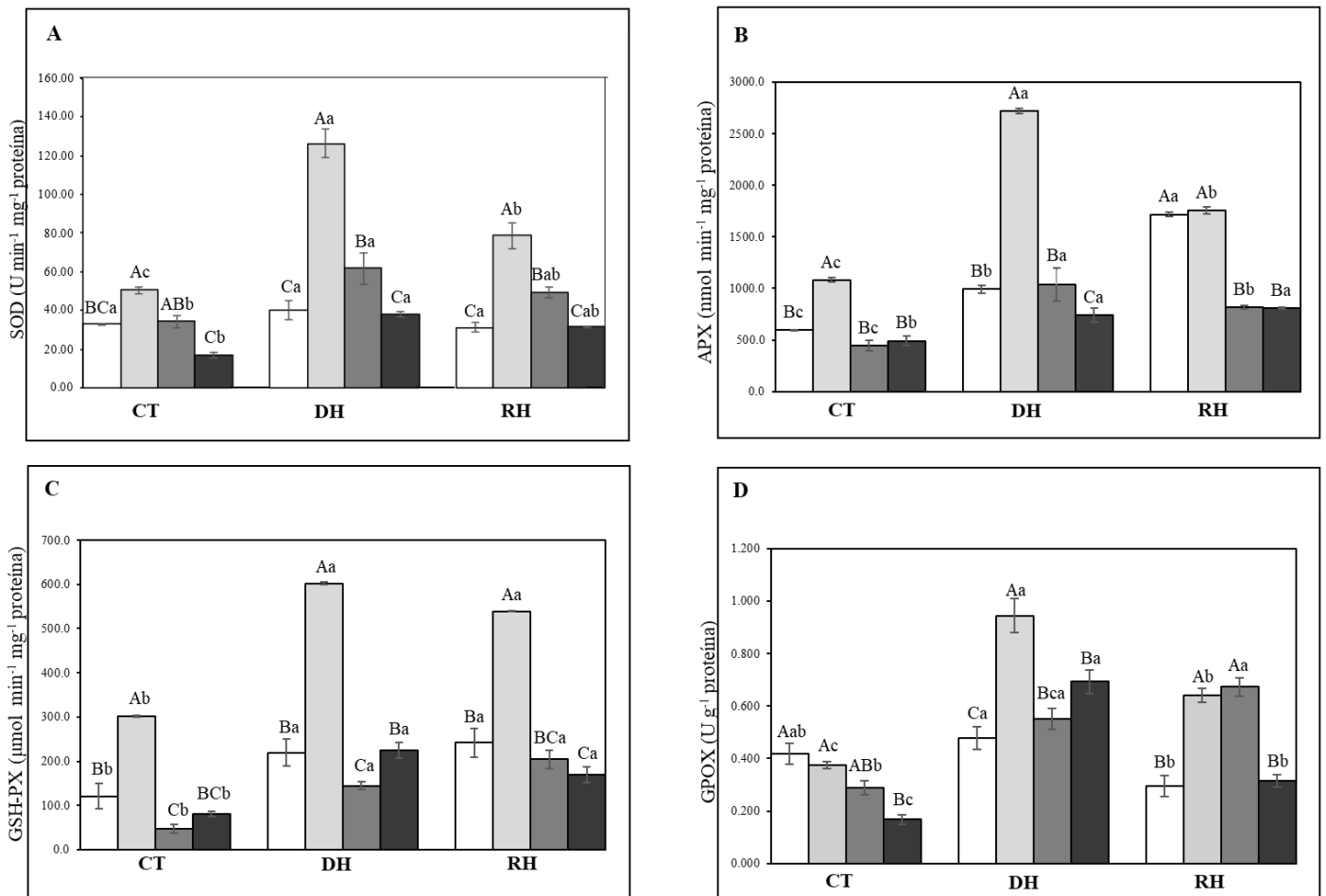


Figura 10. Atividade específica das enzimas SOD (A), APX (B), GSH-PX (C) E GPOX (D) nas cultivares de amendoim (IAC 503; IAC OL3; IAC OL6; IAC SV) sob três condições hídricas (CT – DH – 718 RH). Letras maiúsculas comparam as médias das cultivares dentro de Letras maiúsculas comparam as médias das cultivares dentro de uma mesma condição e letras minúsculas comparam as médias entre as condições dentro de uma mesma cultivar. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.5. Análise de componentes principais

A análise de componentes principais agrupou as variáveis nas condições de déficit hídrico (Figura 11A) e reidratação (Figura 11B), isoladamente. Os modelos utilizaram três componentes, evidenciando 89,1 e 93,6% dos dados, respectivamente. De maneira geral, independente das condições, as enzimas antioxidantes (SOD, APX, GPOX, GSH-PX) apresentaram correlação direta a cultivar IAC OL3, sendo fator crítico na defesa antioxidante perante o estresse (Figura 11A). Após a reidratação, juntamente ao metabolismo antioxidante, os parâmetros de g_s , C_i e E também foram determinantes na homeostase celular e recuperação das plantas (Figura 11B), novamente sendo diretamente relacionados ao PC1.

Os danos oxidativos (MDA, H_2O_2) foram fortemente associados a IAC SV independente da condição hídrica (Figura 11). A IAC 503 se correlacionou, sobretudo, ao parâmetro de condutância estomática perante o estresse, enquanto a IAC OL6 foi correlacionada aos danos oxidativos, juntamente a cultivar SV (Figura 11A). Para a reidratação, os pigmentos, a APX, e a taxa de carboxilação instantânea (A/C_i) foram associados também à recuperação da cultivar IAC 503; enquanto que para a IAC OL6, foram os antioxidantes e parâmetros E , C_i e g_s , no entanto, com menor intensidade em comparação a IAC OL3 (Figura 11B).

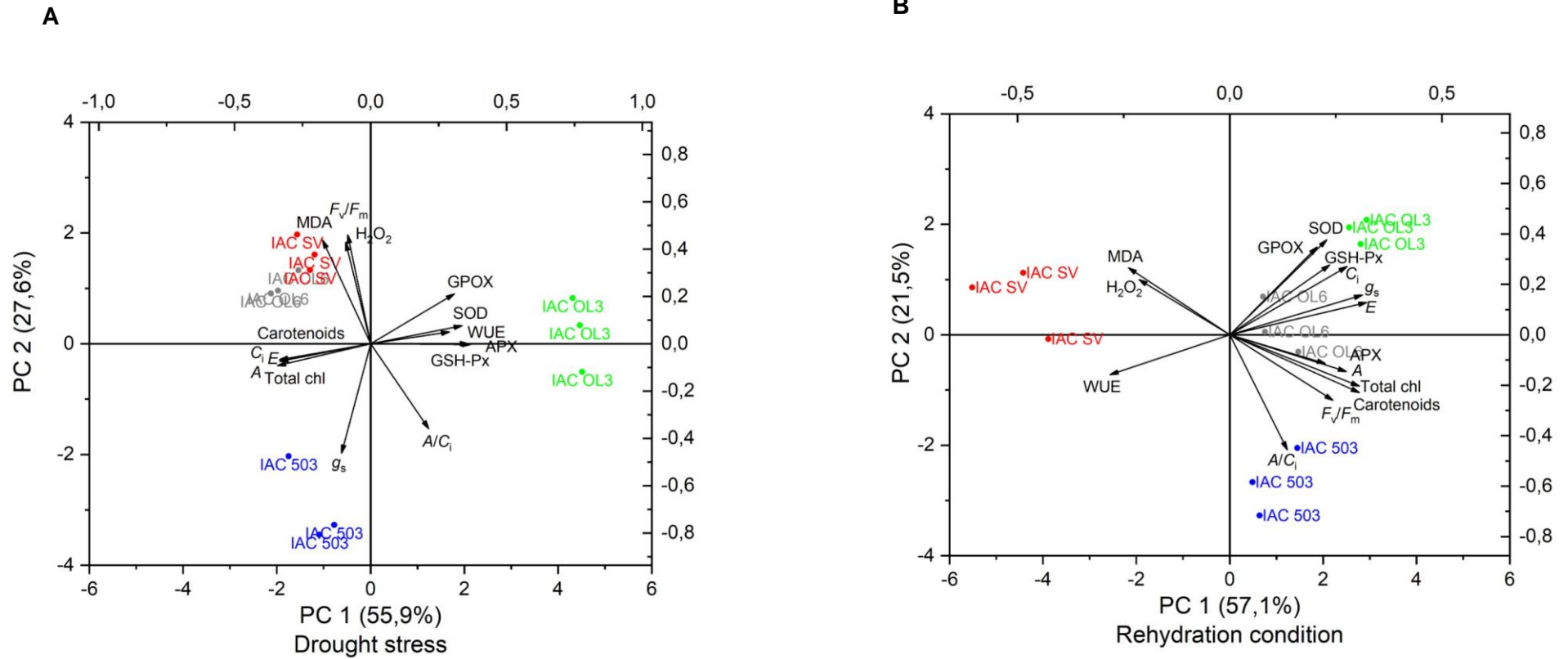


Figura 11. Análise dos componentes principais pela dispersão das cultivares de amendoim (IAC 503; IAC OL3; IAC OL6; IAC SV) sob déficit hídrico (A) e reidratação (B).

4.2 Experimento 2 – A glutatona exógena pode atenuar os efeitos negativos no amendoim ocasionados pela seca

4.2.1. Determinação do conteúdo relativo de água (CRA)

O conteúdo relativo de água (CRA) nas plantas foi reduzido com a imposição do déficit hídrico, independente da aplicação de GSH exógena, quando comparado aos tratamentos com disponibilidade hídrica. Embora a aplicação foliar de GSH não tenha diferido estaticamente no CRA dentro da condição de plena irrigação, houve um aumento na CRA das plantas tratadas dentro da condição de estresse (Figura 12).

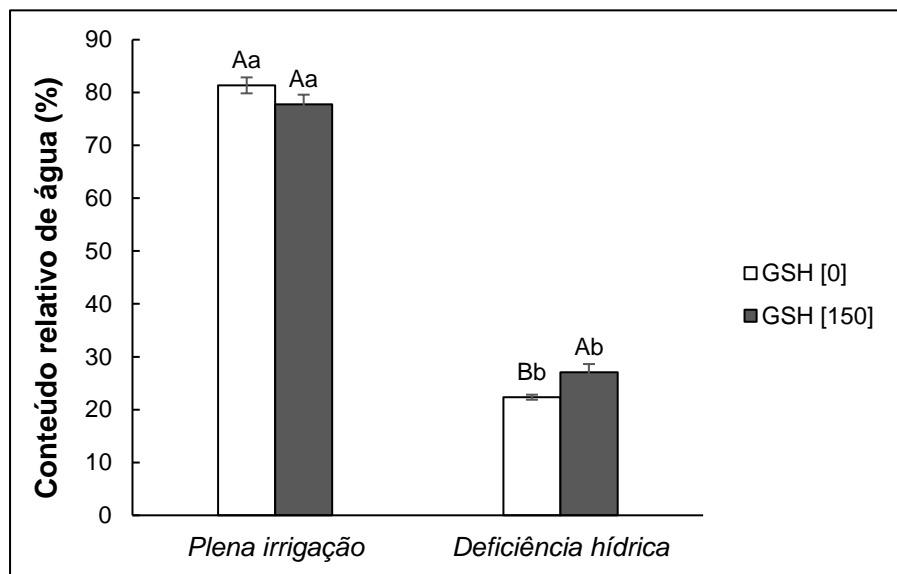


Figura 12. Conteúdo relativo de água nas cultivares de amendoim IAC OL3. Letras minúsculas diferentes comparam as médias significativas nas concentrações de GSH entre as condições hídricas e letras maiúsculas comparam as médias entre as concentrações de GSH dentro de cada condição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.2.2. Quantificação do teor de clorofila

Não houve diferença estatística com relação ao conteúdo de clorofila total nas plantas sob restrição hídrica e ausência de aplicação foliar, em comparação as plenamente irrigadas. Contudo, a aplicação de GSH exógena promoveu um aumento significativo no conteúdo de clorofila nesta mesma comparação. Além disso, a maior concentração de clorofila dentre os tratamentos foi evidenciada nas plantas tratadas com GSH na condição de estresse, enquanto na ausência de estresse não houve diferença estatística (Figura 13).

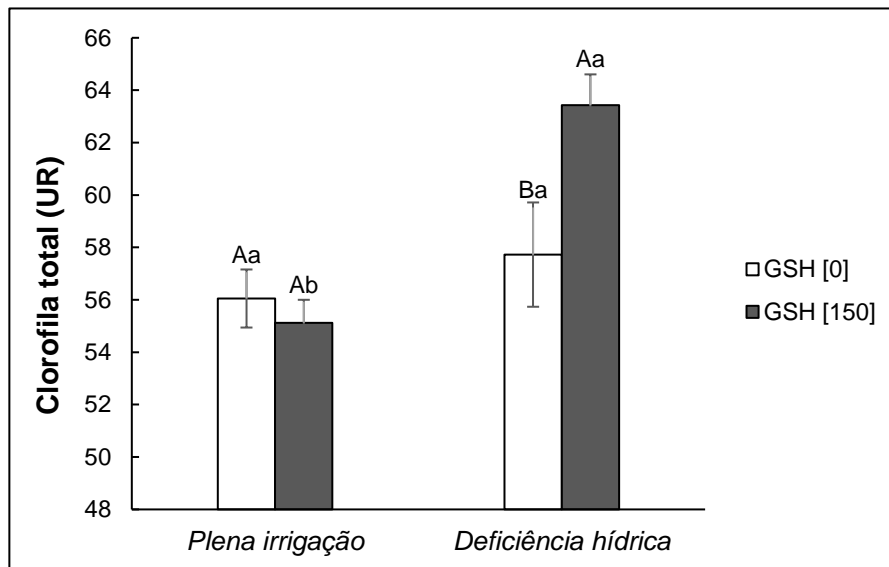


Figura 13. Conteúdo de clorofila total nas cultivares de amendoim IAC OL3. Letras minúsculas diferentes comparam as médias significativas nas concentrações de GSH entre as condições hídricas e letras maiúsculas comparam as médias entre as concentrações de GSH dentro de cada condição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.2.3. Trocas gasosas

A taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s) e a taxa transpiratória (E) analisados antes da imposição do estresse (Figura 14 – lado esquerdo), não apresentaram diferença estatística. De maneira oposta, a avaliação das trocas gasosas realizadas após o período de estresse (Figura 14 – lado direito), evidenciou respostas análogas entre os parâmetros com a interação entre as concentrações de GSH e condições hídricas.

Quando comparadas as plantas plenamente irrigadas, os parâmetros de A , g_s e E foram consideravelmente reduzidos com o déficit hídrico, independente da concentração de GSH aplicada (0, 150 mg/L). Dentro da condição de estresse, a aplicação de GSH foi indiferente em todos os parâmetros, não demonstrando diferença estatística. Diferentemente do observado na condição de plena irrigação, em que A , g_s e E foram maiores nas plantas tratadas com GSH.

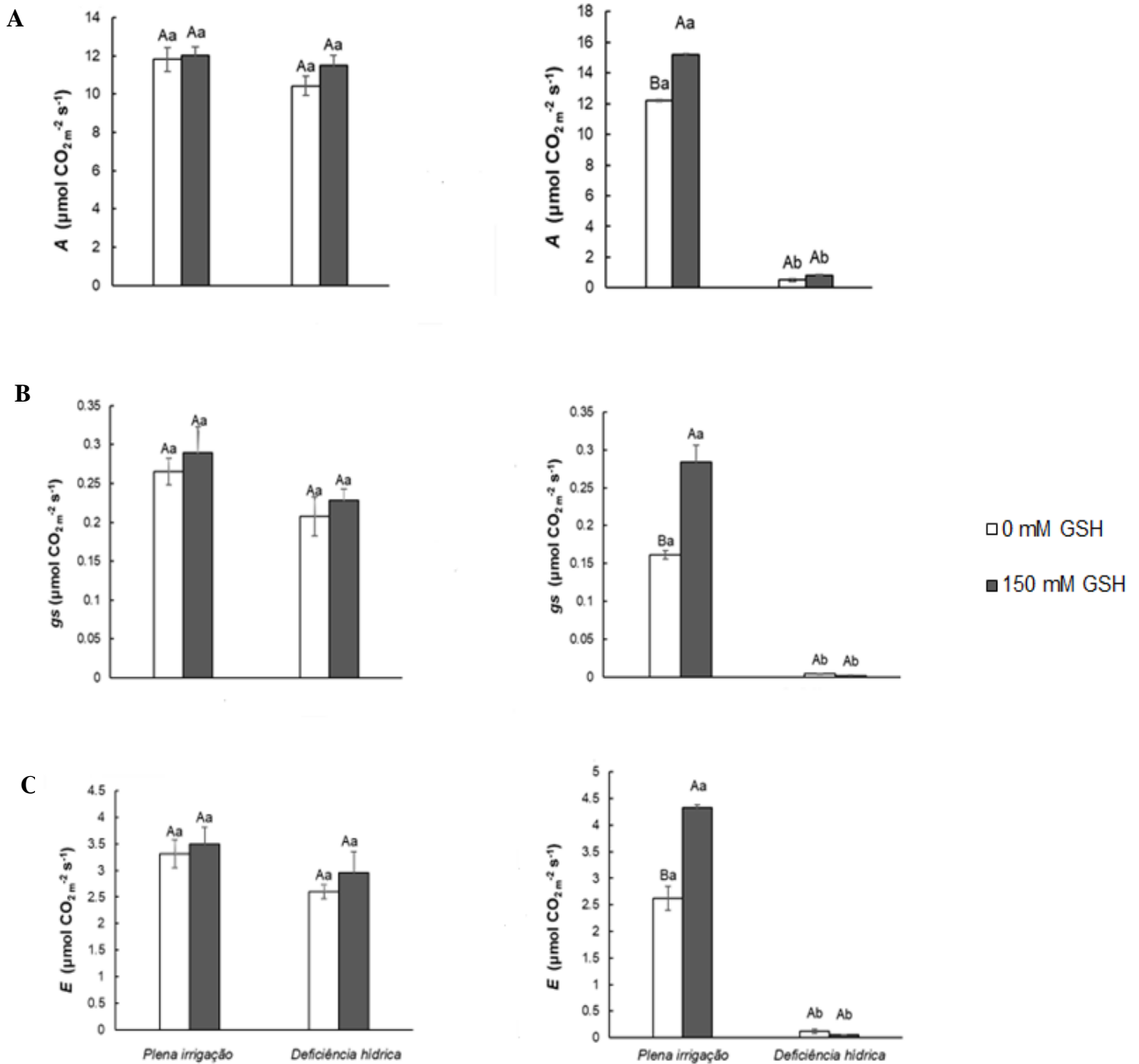


Figura 14. A – assimilação líquida de CO₂ (A), g_s – condutância estomática (B) e E – taxa transpiratória (C) nas cultivares de amendoim IAC OL3. Letras minúsculas diferentes comparam as médias significativas nas concentrações de GSH entre as condições hídricas e letras maiúsculas comparam as médias entre as concentrações de GSH dentro de cada condição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.2.4. Indicativos do estresse

A peroxidação lipídica, estimada como teor de malondialdeído (MDA) representa um indicativo de danos na membrana. Entre as condições hídricas, o déficit hídrico promoveu o aumento no teor de MDA nas plantas independente da aplicação foliar de GSH. Contudo, na condição estressora, as plantas tratadas com GSH apresentaram menor teor de MDA quando comparadas as plantas não tratadas, enquanto as plantas plenamente irrigadas não diferiram estatisticamente entre si com a aplicação (Figura 15).

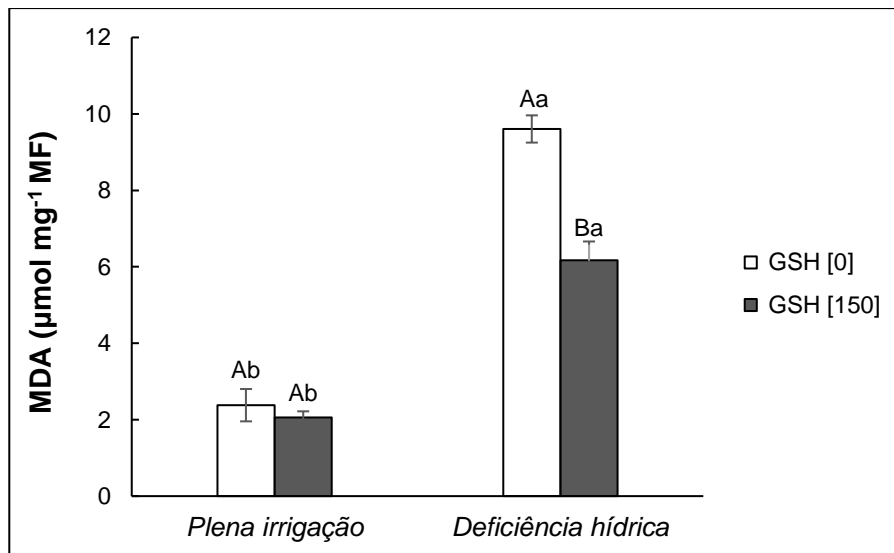


Figura 15. Quantificação do conteúdo de MDA nas cultivares de amendoim IAC OL3. Letras minúsculas diferentes comparam as médias significativas nas concentrações de GSH entre as condições hídricas e letras maiúsculas comparam as médias entre as concentrações de GSH dentro de cada condição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De maneira similar aos dados de MDA, o conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) quantificado também foi aumentado com a imposição do déficit hídrico independente da aplicação foliar de GSH, quando comparado as plantas plenamente irrigadas. Contudo, na condição de déficit hídrico as plantas tratadas com GSH

apresentaram menor conteúdo de H_2O_2 quando comparada as plantas não tratadas (Figura 16).

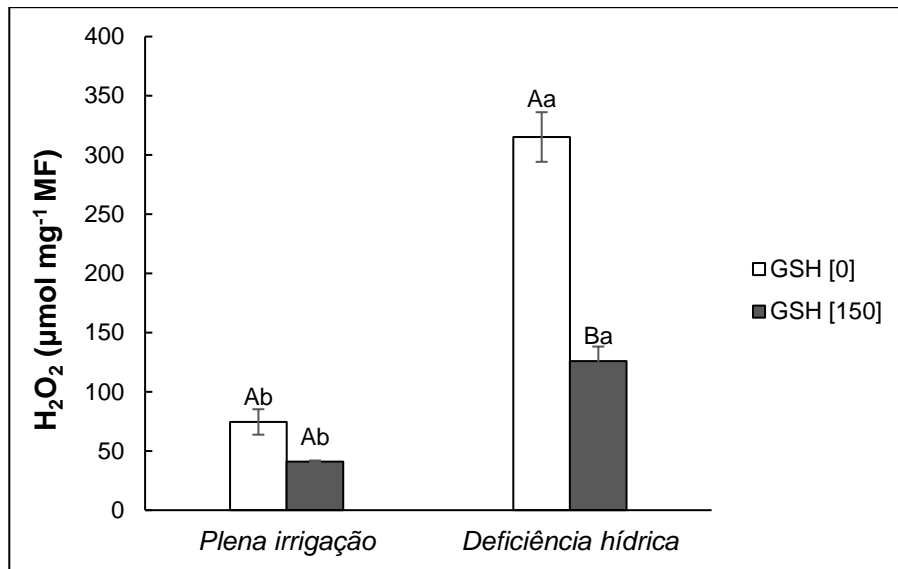


Figura 16. Quantificação do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas cultivares de amendoim IAC OL3. Letras minúsculas diferentes comparam as médias significativas nas concentrações de GSH entre as condições hídricas e letras maiúsculas comparam as médias entre as concentrações de GSH dentro de cada condição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.4. Antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos

A atividade específica das peroxidases APX E GPOX evidenciaram padrões distintos de respostas. A atividade da APX aumentou nas plantas não tratadas com GSH sob déficit hídrico, quando comparada as plantas que não foram tratadas e irrigadas. Apesar do incremento de atividade visível no gráfico em relação as plantas tratadas na mesma comparação, não ocorreu diferença estatística. Entretanto, dentre ambas as condições hídricas a maior atividade foi notada nas plantas que receberam aplicação exógena de GSH (Figura 17A). A atividade de GPOX por sua vez, aumentou na condição de déficit hídrico, independente do tratamento de GSH, comparadas as plantas plenamente irrigadas. As plantas tratadas com GSH apresentaram menor atividade da enzima na condição de plena irrigação

comparadas as plantas não tratadas, enquanto não houve diferença estatística na aplicação de GSH dentro da condição de estresse (Figura 17B).

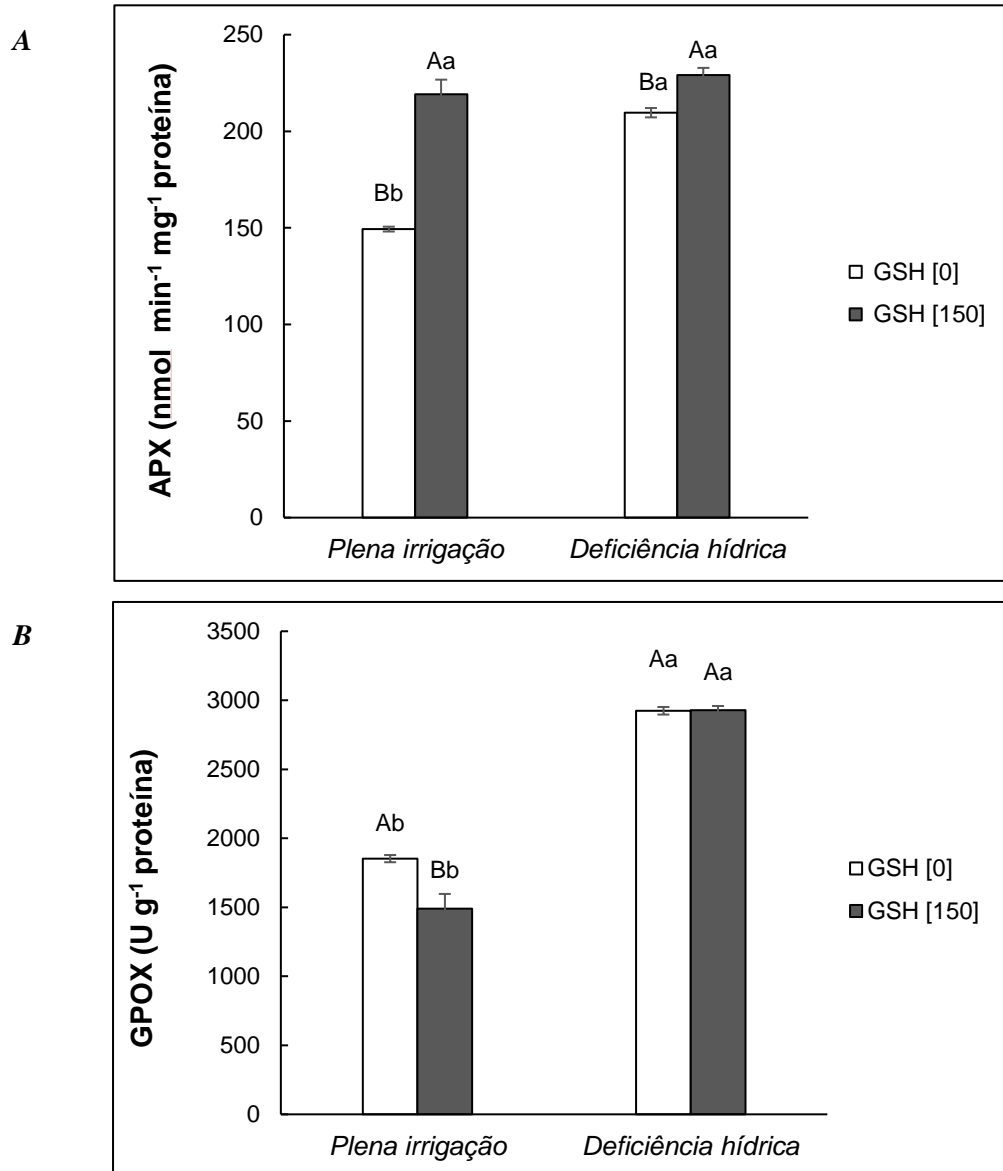


Figura 17. Atividade específica das enzimas APX (A) e GPOX (B), nas cultivares de amendoim IAC OL3. Letras minúsculas diferentes comparam as médias significativas nas concentrações de GSH entre as condições hídricas e letras maiúsculas comparam as médias entre as concentrações de GSH dentro de cada condição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação aos compostos não enzimáticos, o conteúdo de AsA total foi reduzido nas plantas com a imposição do déficit hídrico independente do tratamento de GSH, quando comparado as plantas controle (hidratadas). Contudo, o maior conteúdo de AsA total dentre ambas as condições foi averiguado nas plantas que receberam a aplicação exógena de GSH (Figura 18).

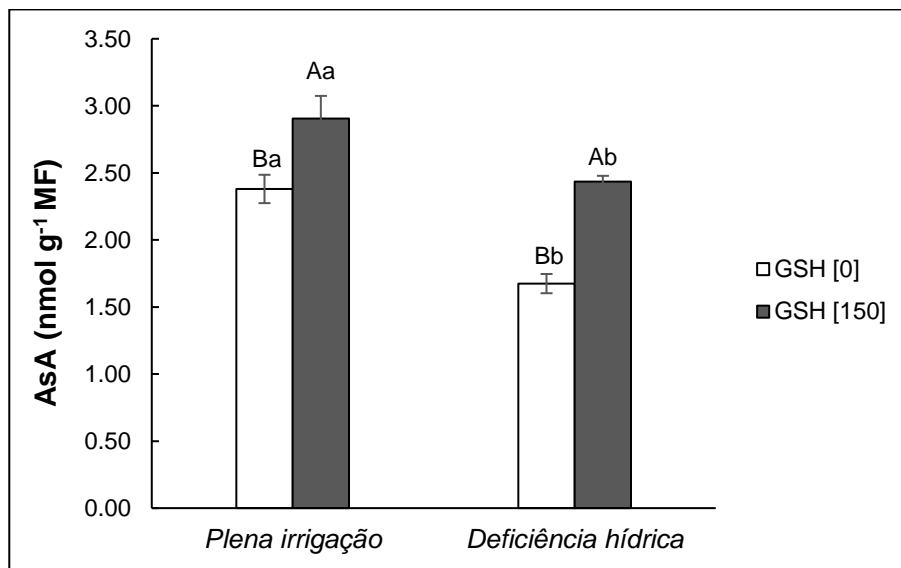
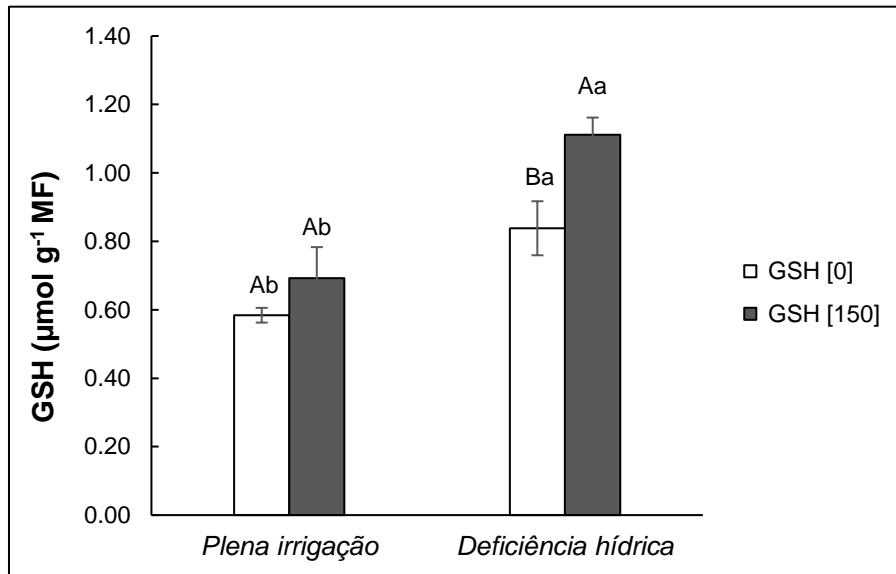


Figura 18. Conteúdo de ascorbato (AsA) total nas cultivares de amendoim IAC OL3. Letras minúsculas diferentes comparam as médias significativas nas concentrações de GSH entre as condições hídricas e letras maiúsculas comparam as médias entre as concentrações de GSH dentro de cada condição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados de quantificação do composto GSH evidenciaram que houve incremento do conteúdo de GSH em todas as plantas sob condição de déficit hídrico independente da aplicação exógena, quando comparado a condição de plena irrigação. Dentre as condições, não ocorreu diferença estatística entre as concentrações de GSH sob plena irrigação. Entretanto, na condição de déficit hídrico, o maior aumento de GSH foi evidenciado nas plantas que receberam a aplicação exógena do composto (Figura 19A).

O estado redox celular refletido pela razão GSH/GSSG, exibiu que somente nas plantas que foram tratadas com GSH sob déficit hídrico tiveram razão maior, quando comparada as plantas tratadas na condição de plena irrigação. Na mesma comparação hídrica, plantas que não foram tratadas não diferiram estatisticamente. Dentre ambas as condições hídricas, não ocorreu diferença estatística entre as concentrações de GSH na razão GSH/GSSG (Figura 19B).

A



B

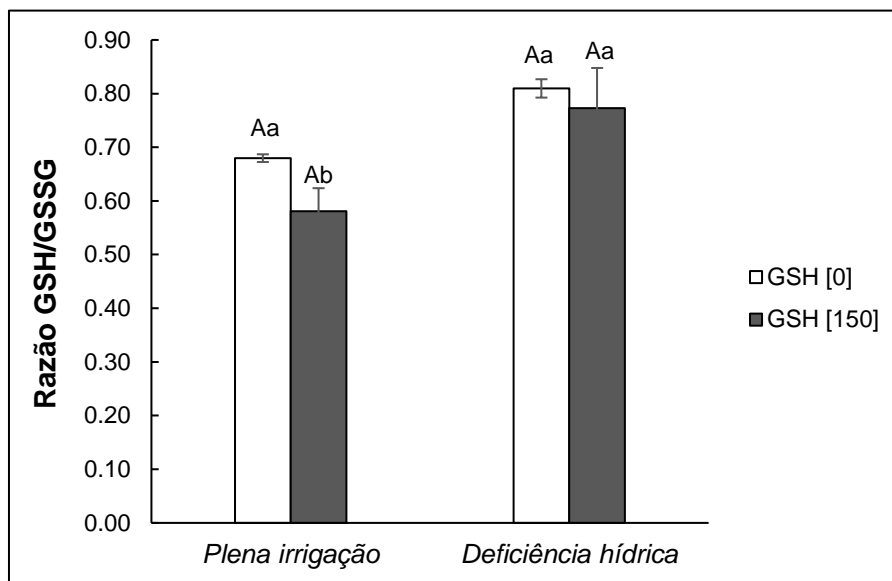


Figura 19. Conteúdo de glutathiona (GSH)(A) e Razão GSH/GSSG (B) nas cultivares de amendoim IAC OL3. Letras minúsculas diferentes comparam as médias significativas nas concentrações de GSH entre as condições hídricas e letras maiúsculas comparam as médias entre as concentrações de GSH dentro de cada condição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. DISCUSSÃO

5.1 Experimento 1 – Respostas modulatórias dos status fisiológico e bioquímico estão relacionadas aos níveis de tolerância à seca em cultivares de amendoim

A extensão de trabalhos referentes à tolerância a seca em plantas concorda que o comprometimento metabólico é afetado usualmente pela diminuição da condutância estomática, declínio e limitações nos pigmentos e atividade fotossintética, assim como nas trocas gasosas influenciando na fixação de CO₂, além do acúmulo e danos de espécies reativas de oxigênio (ERO). No entanto, a amplitude dos resultados varia, assim como o nível de tolerância ou sensibilidade da planta (Lexa et al., 2019). Nesse contexto, as alterações na quantificação de pigmentos, declínio nas variáveis de trocas gasosas e eficiência fotoquímica, além dos danos oxidativos evidenciados pelo acúmulo de ERO, atrelado às respostas do metabolismo antioxidante enzimático (SOD, APX, GPOX e GSH-PX) foram avaliados neste trabalho, sendo os dados mais significativos discutidos a seguir.

A essencialidade dos pigmentos fotossintéticos no metabolismo energético das plantas é inegável, sobretudo quando expostas às condições ambientais desfavoráveis (Sun et al., 2022). A alteração no teor de clorofila total e carotenoides em detrimento ao déficit hídrico foi relatada em uma série de trabalhos, contribuindo na distinção de cultivares tolerantes e sensíveis ao estresse (Farooq et al., 2009; Masoumi et al., 2011; Ashraf e Harris, 2013; Anjum et al., 2017; Morey et al., 2021).

O decréscimo no conteúdo de clorofila total na cultivar IAC SV após a reidratação (Figura 6A) sugere certa sensibilidade à condição estressora. Essa redução é uma indicação comum de fotooxidação de pigmentos e desnaturação da clorofila ocasionada pela síntese de ERO, em resposta ao déficit hídrico (Fath e Tari, 2016; Bhalani et al., 2019). Em contrapartida, a manutenção do conteúdo elevado de clorofila total nas cultivares IAC OL3 e OL6 sob estresse, sugere uma resposta

adaptativa das cultivares, pela regulação da síntese de clorofila (Sun et al., 2022) e também provavelmente relacionado à ativação de mecanismos de proteção ao maquinário fotossintético, resultando na manutenção dos valores de eficiência quântica do fotossistema II (F_v/F_m – Figura 7). De maneira semelhante, Chakraborty et al. (2015) também relataram aumento no teor de clorofila total em cultivares de amendoim sob escassez hídrica.

O déficit hídrico também ocasionou uma redução no conteúdo de carotenoides na maioria das cultivares (Figura 6B), sugerindo que tal decréscimo está associado ao aumento na concentração de ERO promovidas pela condição estressante (Yu et al., 2007), também refletidos nos altos valores de MDA obtidos (Figura 9B). Nossos dados corroboram com outros estudos com amendoim sob seca que também evidenciaram uma redução no conteúdo de carotenoides, sendo relativamente menor nas cultivares tolerantes (Chakraborty et al., 2015; Morey et al., 2021).

Os carotenoides desempenham função múltipla ao aparato fotossintético, atuando também na proteção contra os danos oxidativos (Jaleel et al., 2009; Sun et al., 2022). Nesse cenário, esses pigmentos atuam como uma barreira de defesa contra o oxigênio singleto (1O_2), através da interferência no estado tripleto da clorofila, evitando o excesso da transferência de energia de excitação e consequente formação de ERO (Farooq et al., 2009; Foyer e Noctor., 2013). No presente trabalho, a capacidade de recuperação das plantas também foi observada a partir da reidratação, em que as cultivares IAC 503 e OL3 restabeleceram seus conteúdos de carotenoides similares aos das plantas controle, diferentemente da cultivar SV (Figura 6B).

Grande parte dessas e outras modificações que ocorrem nos vegetais podem ser mensuradas, sendo um indicativo do nível de estresse (Lichtenthaler e Miehe, 1997; Dabrowski et al., 2019; Kaur et al., 2021). Nesse contexto, as trocas gasosas governam os processos metabólicos e a produção de biomassa nas plantas, sendo constantemente alteradas pelas flutuações ambientais. Neste estudo, os danos ao aparato fotossintético foram mais expressivos para a cultivar IAC SV, observado pelos baixos valores na eficiência fotoquímica (Figura 7) e taxa de assimilação líquida de CO_2 (A – Figura 8A), os quais não se reestabeleceram após o retorno da

irrigação. A taxa de assimilação líquida de CO₂ é um dos parâmetros de maior sensibilidade à seca, sobretudo, resultante do fechamento estomático (Reddy et al., 2004), também observados no presente estudo (Figura 8B).

Pilon et al (2018) concluíram que a condutância estomática (g_s) pode ser um parâmetro eficiente para refletir o status hídrico em plantas de amendoim estressadas pela seca. A redução nos parâmetros de g_s e E foram observadas em todas as cultivares avaliadas (Figura 8B-C), sugerindo uma sensibilização ao déficit hídrico. Como resposta, as plantas alteraram essas funções fisiológicas, a fim de manter um suprimento de água necessário para o funcionamento celular. No entanto, a diminuição na condutância estomática reduz a absorção de CO₂ e pode prejudicar o processo fotossintético nas plantas (Dutra et al., 2015), conforme observado na Figura 8A.

Essas alterações decorrentes do déficit hídrico puderam ser constatadas – além da A - pela redução da g_s , E , concentração interna de carbono (C_i) e eficiência de carboxilação instantânea (A/C_i), também sem reestabelecimento após a reidratação na IAC 503 e IAC SV (Figura 8A-E). Contudo, diferentemente da IAC SV, os dados de F_v/F_m da cultivar IAC 503 (Figura 7), sugerem que outros mecanismos adaptativos estavam envolvidos e permitiram o funcionamento fotossintético das plantas sob estresse. Rosas-Anderson et al. (2014) concluíram que os mecanismos de recuperação e tolerância do amendoim à seca são interdependentes à manutenção hídrica foliar e a economia de água, destacando que uma cultivar do acesso Virgínia, embora tenha mantido a hidratação dos tecidos sob estresse, apresentou capacidade limitada de recuperação à seca. Os mecanismos de tolerância à seca são importantes não somente durante a fase de estresse, como na recuperação das plantas após reidratação (Laxa et al., 2019), porém envolvem um alto custo metabólico e energético para as plantas podendo limitar a recuperação, como averiguado pela IAC 503.

As plantas são capazes de resistir até certo limiar o estresse pela seca, e podem recuperar progressivamente seu potencial fotossintético e funções metabólicas, após a reidratação (Lechner et al., 2008). Apesar da redução na A , g_s , E e principalmente A/C_i perante o déficit hídrico (Figura 8A-D), todos os parâmetros

foram reestabelecidos após a reidratação na cultivar IAC OL6, inclusive os valores de F_v/F_m – (Figura 7). Contudo, cultivares mais tolerantes ao estresse pela seca possuem tendência de recuperar a capacidade fotossintética mais rapidamente do que as sensíveis durante a reidratação (Rivas et al., 2016). Como demonstrado pela cultivar IAC OL3, que apesar da diminuição de g_s , E e C_i (Figura 8B-D) sob seca, seu metabolismo fotossintético foi pouco alterado e não houve comprometimento na taxa de assimilação de CO_2 nesta condição (Figura 8A). Além disso, diferente das demais cultivares, houve maior eficiência na carboxilação instantânea perante o estresse (Figura 8E) para a IAC OL3, o que possibilitou que esta cultivar também otimizasse a utilização dos recursos (como observado pelos dados de EUA – Figura 8F). Revisões acerca da tolerância a seca, relatam que espécies adaptadas mantêm altos valores de EUA (Farooq et al., 2009), corroborando os resultados obtidos neste trabalho.

Essas respostas fisiológicas relatadas anteriormente, como o declínio na fotossíntese e danos ao fotossistema pelo déficit hídrico, se devem, sobretudo, também a um cenário de alto potencial redox, protagonizado pelas ERO, superproduzidas nesta condição e, quando acima da capacidade antioxidante celular, ocasionam o estresse oxidativo (Gill e Tuteja, 2010; Das e Roychoudhury, 2014; Gratão et al., 2015; Kaur et al., 2021). Essas ERO são citotóxicas e responsáveis pela peroxidação lipídica e oxidação de macromoléculas essenciais, como os ácidos nucleicos e proteínas. A peroxidação lipídica gera o aumento do subproduto malondialdeído (MDA), um indicador de dano aos lipídios da membrana (Figura 9B) (Gratão et al., 2015; Checchio et al., 2021; Mou et al., 2022).

Nesse contexto, houve acúmulo no conteúdo de H_2O_2 na maioria das cultivares submetidas a condição de estresse (Figura 9A). Logo, danos oxidativos foram verificados pelo acúmulo de MDA nas folhas de todas as cultivares sob déficit hídrico (Figura 9B). Entretanto, apesar do dano ocasionado pela peroxidação lipídica ser superior nas cultivares IAC OL6 e Sempre Verde, quando atrelado aos dados fotossintéticos, a cultivar IAC Sempre Verde se mostrou mais suscetível ao estresse. Aventa-se a possibilidade de que o dano oxidativo nesta cultivar pode ter sido potencializado pela produção excessiva de ERO em decorrência da limitação na

assimilação de CO₂ (Figura 8A), bem como da redução na transferência de elétrons nas membranas dos tilacóides (também observados pelos baixos valores de F_v/F_m – Figura 7A), gerando o excesso do poder redutor e desencadeando essas espécies (Yi et al., 2016). Semelhantemente, outros trabalhos também relataram o acúmulo de ERO induzido pela seca no amendoineiro (Celikkol Akcav et al., 2010; Furlan et al., 2014 e 2016; Chakraborty et al., 2015; Kabbadj et al., 2017; Bhalani et al., 2019; Mou et al., 2022).

Em contrapartida, apesar do acúmulo de H₂O₂ sob déficit hídrico, as cultivares IAC 503 e IAC OL3 apresentaram redução deste composto após a reidratação, atingindo valores equivalentes aos do controle (Figura 9A). Estudos recentes evidenciaram que espécies vegetais que conseguem manter um baixo estado estacionário de ERO são mais adaptáveis a tolerar eventuais condições de estresse (Chakraborty et al., 2015), estando fortemente correlacionada ao aumento dos sistemas de defesa antioxidantes (Bhalani et al., 2019; Laxa et al., 2019; Zhou et al., 2020).

Sabendo-se que a potencialização na atividade das enzimas que compõem o sistema pode revelar a ação contra o estresse (Gratão et al., 2015; Checchio et al., 2021), as atividades da SOD, APX, GPOX e GSH-PX foram medidas como parâmetros de defesa enzimático neste trabalho, verificando-se a ativação e variação nas distintas cultivares (Figura 10). O processo de ação antioxidante desencadeado pela SOD é a primeira barreira enzimática contra o estresse oxidativo, atuando na dismutação do O₂^{•-} a O₂ e H₂O₂ (Gratão et al., 2015). Enquanto que a APX, GPOX e GSH-PX são fundamentais na desintoxicação do H₂O₂ que foi acumulado nas plantas, reduzindo-o a água (Gill e Tuteja, 2010; Gratão et al., 2015).

De maneira geral, foi verificado uma resposta diferencial entre os sistemas de defesa nas cultivares contra os danos oxidativos para tolerar o déficit hídrico. Sendo na maioria, constatada pela ativação dos antioxidantes ao decréscimo de H₂O₂ e MDA perante o estresse, evidenciando uma eficiência desses sistemas na remoção das ERO (exceto IAC SV). Esses dados estão de acordo com outros estudos relatando a modulação dos sistemas de defesa enzimáticos em amendoim sob

restrição hídrica (Celikkol Akcay et al., 2010; Chakraborty et al., 2015; Furlan et al., 2016; Banavath et al., 2018; Bhalani et al., 2019).

Já na condição de reidratação, a redução na atividade de APX (Figura 10B) nas cultivares IAC OL3 e OL6 parece ser devido ao restabelecimento da homeostase celular, já que os níveis de MDA foram reduzidos para valores equivalentes ao controle nessa condição. Esses dados corroboram com os encontrados por Furlan et al (2016) em plantas de amendoim sob ausência hídrica e posterior reidratação.

É importante ressaltar que a magnitude da ativação dos sistemas antioxidantes e a mínima alteração dos parâmetros fotossintéticos da cultivar IAC OL3 (Figuras 8 e 10), sugerem uma melhor aptidão da cultivar em tolerar o estresse. As disfunções no aparato fotossintético e na cadeia transportadora de elétrons ocasionados pela seca, resultam na produção excessiva de oxigênio ativo via reação de Mehler (Reddy et al., 2004). Ou seja, sob estresse, a potencialização do sistema de defesa possivelmente aumentou a dissipação de espécies tóxicas, fazendo com que a atividade fotossintética não fosse interrompida (Figura 8A), mantendo assim a integridade das membranas.

Apesar da ativação dos sistemas enzimáticos na cultivar SV à seca (Figura 10), não houve declínio na concentração de H_2O_2 (Figura 9A). Provavelmente, a produção excessiva de ERO foi superior a capacidade antioxidante da cultivar, tornando-a mais susceptível ao estresse. A amplitude da modulação enzimática, bem como os antioxidantes ativados são decisivos no cenário oxidativo gerado pela seca (Laxa et al., 2019), na qual exige alta capacidade de desintoxicação pela APX, por exemplo (Liebthal et al., 2018). Independentemente da mínima redução de MDA após a reidratação (Figura 9B), quando atrelado aos danos significativos ao aparato fotossintético (Figura 8), pode se inferir que a reidratação por três dias não foi suficiente para a atenuação dos danos ocasionados pelo estresse, sendo possivelmente necessário maior tempo de recuperação para esta cultivar. Componentes da defesa não enzimática, como osmólitos compatíveis, possivelmente estão envolvidos no restabelecimento da homeostase celular da cultivar.

Essas respostas influem não só no metabolismo da planta, como mormente, no desempenho agrônômico das cultivares. Contudo, ainda são incipientes os estudos conduzidos à campo avaliando a tolerância à seca das plantas selecionadas neste estudo. Desse modo, para a ampla compreensão da linha tênue entre suscetibilidade e tolerância à seca no amendoineiro, são indispensáveis estudos futuros que sejam conduzidos até a produtividade para corroborar as respostas encontradas até aqui.

Ao todo, é concludente nesta pesquisa que o conjunto de dados elucidados anteriormente evidenciaram padrões de tolerância à seca diferencial entre as cultivares, sendo o metabolismo antioxidante fortemente correlacionado a cultivar IAC OL3, como visto pela análise dos componentes principais (Figura 11). Dessa forma, a aquisição a cultivares tolerantes, e o entendimento dos mecanismos de respostas fisiológicas e bioquímicas envolvidas na condição estressante, contribui para a viabilidade e manipulação dos compostos envolvidos e no aporte de pesquisas ao melhoramento da cultura do amendoim, especialmente fornecendo base para o desenvolvimento e seleção de cultivares tolerante à seca.

5.2 Experimento 2 – A glutathiona exógena pode atenuar os efeitos negativos no amendoim ocasionados pela seca

A capacidade multifuncional da glutathiona (GSH), abrange uma série de eventos celulares, desde a sinalização redox até a síntese proteica à defesa celular. Por interagir com várias moléculas, atua no controle direto e indireto dos níveis de ERO e na manutenção do ambiente redutor intracelular, prevenindo oxidações descontroladas na membrana e proteínas (Foyer, 2012; Gill et al., 2013). Nos últimos anos, sua essencialidade inegável tem recebido destaque através de sua aplicação exógena, por induzir a modulação de respostas metabólicas e contribuir na tolerância à estresses abióticos em distintas espécies (Cheng et al., 2015; Nahar et al., 2015; Khan et al., 2016; Akram et al., 2017; Yan et al., 2018; Jung et al., 2019; Sohag et al., 2020; Yao et al., 2021). Contudo, ainda não foram investigados os efeitos da aplicação exógena de GSH na cultura do amendoim sob estresses abióticos.

De maneira geral, revisões acerca da tolerância à seca nos vegetais, aludem a respeito de suas adaptações atreladas as respostas morfofisiológicas desencadeadas diante do cenário de deficiência hídrica, sendo a perda do conteúdo relativo de água e turgescência foliar dentre os efeitos fisiológicos comuns (Lawlor 2002; Farooq et al., 2009). Em concordância com o exposto, o déficit hídrico reduziu o conteúdo relativo de água (CRA) nas plantas de amendoim, não sendo restaurado com o tratamento exógeno de glutathiona (GSH), quando comparado à condição de plena irrigação. Contudo, as plantas que receberam a aplicação foliar parecem ter prevenido a perda de CRA na condição de déficit hídrico, como averiguado pelo aumento desse conteúdo nas plantas tratadas com GSH, em comparação as plantas não tratadas (Figura 12).

Na tolerância das plantas à condição de seca, manter a homeostase celular é imprescindível, como estratégia de defesa as plantas podem acumular metabólitos secundários e osmólitos orgânicos compatíveis (glicina betaína, prolina, aminoácidos, açúcares), favorecendo a pressão de turgor durante o déficit hídrico (Chaves e Oliveira, 2004; Ramakrishna e Gokare, 2011; Lamaouri et al., 2018). Esse

ajuste osmótico preserva as membranas e estruturas celulares, conservando a absorção de água sob a condição de seca, além de outras funções importantes não só relacionadas a osmoproteção, como na desintoxicação de ERO (Zhang et al., 2008). Estes dados corroboram com outros trabalhos também avaliando a aplicação exógena de GSH em outras espécies sob condições adversas, incluindo o estresse pela seca (Nahar et al., 2015; Semida et al., 2021; Abd El Mageed et al., 2023).

Outros efeitos do déficit hídrico comumente relatados são as alterações no aparato fotossintético, como a degradação de clorofila (Sadak et al., 2020). Não foi observado neste trabalho uma redução no conteúdo de clorofila com a imposição do estresse (Figura 13). Pelo contrário, as plantas tratadas com GSH tiveram um incremento significativo no conteúdo diante da exposição ao déficit hídrico, podendo estar relacionado a uma prevenção da degradação de clorofila ou uma maior biossíntese do pigmento devido a presença do composto tiol. Alam et al. (2013) e Nahar et al. (2015) também observaram maior conteúdo de clorofila em mudas de *Brassica juncea* L. e feijão mungo, respectivamente, tratadas com GSH sob restrição hídrica. Isso se deve a capacidade funcional da GSH de prevenir ou retardar a degradação de clorofila em uma situação de estresse oxidativo (Kattab 2007; Nahar et al., 2015; Ibrahim et al., 2017).

Por ser o processo chave no metabolismo primário e determinante no desempenho perante a seca é factual que a redução de água no solo irá convergir sobretudo na funcionalidade fotossintética, especificamente na condutância estomática, assimilação de CO₂ e transpiração (Chaves et al., 2003; Flexas et al., 2004; Ilyas et al., 2020), sendo constatados na Figura 14 o decréscimo destes parâmetros com a imposição do déficit hídrico nas plantas.

Apesar de revisões acerca do papel, não somente da GSH como também do AsA, relatarem o envolvimento favorável nos níveis de pigmentos fotossintetizantes, pouco ainda se sabe a respeito de seus papéis no gerenciamento fotossintético, como exemplo na regeneração da RuBP, Ciclo de Calvin e regulação da condutância estomática (Hasanuzzaman et al., 2019). Contudo, alguns autores constataram a possível relação da GSH na sinalização do ABA e uma maior indução de seus níveis (Okuma et al., 2011; Cheng et al., 2015). Em nossos dados, apesar

de não haver diferença estatística com a aplicação sob condição estressora é oportuno destacar o aumento em todos os parâmetros com a aplicação exógena de GSH nas plantas irrigadas (Figura 14), provavelmente estando relacionadas com a sinalização do ABA. Contudo, assim como também evidenciado pelos autores, o mecanismo pelo qual a GSH regula essa sinalização de ABA e também o controle transpiratório não está esclarecido.

Como visto nas seções anteriores, a produção de ERO é inevitável, já que uma série de circunstâncias leva o oxigênio a assumir a dualidade tóxica, e conseqüentemente, as plantas a assumirem um constante desafio de equilibrar a produção dessas espécies (Gratão et al., 2015). Os danos oxidativos constatados pelo indicativo da peroxidação lipídica (MDA) evidenciaram o aumento de MDA (Figura 15), além do aumento significativo de H_2O_2 (Figura 16), em decorrência do estresse gerado pela restrição hídrica nas plantas. Contudo, plantas com GSH foliar tiveram um menor acúmulo no conteúdo de ambos indicadores, ou seja, os danos oxidativos foram minimizados. Alguns trabalhos também constataram a redução nesses parâmetros com a aplicação exógena de GSH em outras condições abióticas, como seca, salinidade, alta temperatura, sendo mais explorados em trabalhos com estresse por íons metálicos (Nahar et al., 2015; Khan et al., 2016; Akran et al., 2017; Zhou et al., 2017; Hasanuzzaman et al., 2019; Jung et al., 2019; Sohag et al., 2020; Yao et al., 2021).

A manutenção das ERO diante de condições normais e adversas se deve, sobretudo à essencialidade de vias antioxidantes de desintoxicação dessas espécies (Miller et al., 2010; Gratão et al., 2015; Checchio et al., 2021). Nesse contexto, enzimas e outros compostos são cruciais no gerenciamento do equilíbrio das ERO no ambiente celular visando a tolerância a seca (Farooq et al., 2009; Sharma et al., 2012; Laxa et al., 2019). Como observadas aqui, pelo aumento das atividades de APX (Figura 17A) e GPOX (Figura 17B), principalmente nas plantas tratadas com GSH, estando de acordo com outros trabalhos (Xu et al., 2015; Yan et al., 2018).

Dentre os caminhos antioxidantes, a AsA-GSH é uma das principais vias, indispensável nos sistemas de defesa, integrando o ascorbato e a glutatona como compostos multifuncionais, cada qual com suas características específicas, mas que

de maneira coordenada, são capazes de interagir com outras moléculas, bem como em sua atividade proteica, influenciando assim o potencial redox e sinalização celular (Foyer e Noctor 2011; Hasanuzzaman et al., 2019; Dorion et al., 2021). Apesar do conteúdo total de AsA ter sido reduzido com o déficit hídrico quando comparado as plantas plenamente irrigadas, foi notado que as plantas tratadas com GSH apresentaram um incremento no conteúdo de AsA total independente da condição hídrica, quando comparadas as plantas que não receberam a aplicação foliar (Figura 18). O mesmo foi observado por Nahar et al (2015) em mudas de feijão mungo sob condições de alta temperatura, pela redução do conteúdo de AsA independente da aplicação, porém maior conteúdo evidenciado nas plantas tratadas com o composto.

Por ser um potente antioxidante, o AsA é capaz de impedir que ERO mais danosas sejam formadas, mas além disso, atua também como cofator para enzimas antioxidantes, como a APX (Hasanuzzaman et al., 2019). Sabendo disso, a interação dos dados de MDA e H_2O_2 (Figura 15 e 16), APX (Figura 17A) e AsA (Figura 18) nos permite verificar que pelo aumento significativo de H_2O_2 sob déficit hídrico e posterior redução de danos (verificado pelo MDA), quando atrelados a alta atividade de APX nos sugere a ação da enzima na redução do H_2O_2 a água, utilizando o AsA como cofator e, portanto, levando a sua oxidação. Apesar de não terem sido avaliadas neste trabalho, a atividade específica das enzimas monodesidroascorbato redutase (MDHAR) e dehidroascorbato redutase (DHAR), responsáveis por regenerarem o AsA (Sharma et al., 2012; Banerjee e Roychodhury, 2019), sob déficit hídrico, também poderia estar relacionada a uma possível redução na atividade dessas enzimas, como observado por Nahar et al (2015).

Quando a forma reduzida do AsA é regenerada via DHAR, usa-se GSH como redutor, o que resulta na oxidação de GSH para produzir GSSG, podendo a GSH ser reciclada novamente através da glutathiona redutase (GR) (Gill et al., 2013). De maneira geral, a atuação efetiva do Ciclo AsA-GSH compõe duplas redox interdependentes (AsA/DHA, GSH/GSSG, NADPH/NADP) que ao interagirem com o ambiente oxidativo, desencadeiam alterações nas concentrações de ERO e antioxidantes, pois vão atuar a favor do equilíbrio redox e interferir na sinalização e regulação da expressão gênica durante o desenvolvimento e defesa ao estresse

(Noctor et al., 2012; Banerjee e Roychodhury, 2019). Então, tanto o AsA quanto o GSH estão conectados à uma cascata de reações que dependem de outros componentes na via, portanto a via AsA-GSH reabastece seus conteúdos na célula, determinando também seu suprimento constante.

Dessa forma, o nível de GSH é variável nas células sob estresses abiótico e um nível elevado deste composto está intimamente correlacionado com a capacidade de suportar o estresse oxidativo (Gill e Tuteja, 2010). Nossos dados evidenciaram o aumento de GSH em todas as plantas de amendoim quando submetidas ao déficit hídrico, sendo nesta condição, o maior aumento constatado apenas nas plantas que receberam a aplicação exógena do composto, indicando que aplicação exógena induziu a uma melhor atenuação dos danos (Figura 19A).

Além do mais, as mudanças na proporção de GSH com sua forma oxidada (GSSG) podem indicar o reflexo da aclimatação ao estresse (Noctor et al., 2012). A partir disto, foi calculada a razão GSH/GSSH (Figura 19B) e notado que a razão foi maior apenas nas plantas tratadas com GSH sob estresse em relação as plantas irrigadas. Na mesma comparação, plantas que não foram tratadas não diferiram estatisticamente. Nesse contexto, a aplicação de GSH exógena conferiu um maior nível de poder redutor, pois beneficiou a demanda por GSH na condição de estresse, através de uma melhor síntese e regeneração do composto, favorecendo a homeostase redox. De acordo com Zagorchev et al. (2013) o ajuste fino da proporção de GSH/GSSH dita em última análise, o estado redox universal, induzindo a sobrevivência das plantas durante o estresse.

Importante salientar que o uso da GSH comparado a outros atenuantes se deve, sobretudo a vantagem de ser o composto tiol não proteico mais abundante da célula, e conforme mencionado, estar atrelado ao ciclo AsA-GSH e exibir múltiplas funções e interações moleculares (Noctor et al., 2012; Gill et al., 2013). Ao todo, conclui-se que a aplicação exógena de GSH favoreceu a maquinaria antioxidante, induzindo uma melhor resposta diante à seca pelas plantas. Apesar de haver a necessidade de maiores investigações, este estudo é inédito na cultura do amendoim, podendo servir de base para novas pesquisas conduzidas à campo validarem a metodologia de aplicação utilizada, (concentração/ modo de aplicação/

estágio de desenvolvimento) como uma estratégia viável e benéfica na atenuação do estresse pela seca.

6. CONCLUSÃO

Os danos nos status fisiológico e bioquímico foram mais expressivos na cultivar IAC Sempre Verde. As cultivares IAC 503, IAC OL3 e IAC OL6 apresentaram variação nas respostas correlacionadas aos seus respectivos níveis de tolerância. Entretanto, houve maior atribuição do sistema antioxidante de defesa na cultivar IAC OL3.

A aplicação exógena foliar de GSH (150 mg/L) na cultivar IAC OL3 de amendoim amenizou os efeitos ocasionados pelo déficit hídrico, induzindo a uma melhor defesa ao estresse em resposta a modulação da atividade do metabolismo antioxidante.

7. REFERÊNCIAS

- Abady S, Shimelis H, Janila P (2019) Farmers' perceived constraints to groundnut production, their variety choice and preferred traits in eastern Ethiopia: implications for drought-tolerance breeding. **J Crop Improv** 33:505–521.
- Abd El Mageed TA, Semida W, Hemida KA, Gyushi MAH, Rady MM, Abdelkhalik A, Merah O, Brestic M, Mohamed HI, El Sabagh A, Abdelhamid MT (2023) Glutathione-mediated changes in productivity, photosynthetic efficiency, osmolytes, and antioxidant capacity of common beans (*Phaseolus vulgaris*) grown under water deficit. **PeerJ** 11:e15343
- Akhtar S, Khalid N, Ahmed I, et al (2014) Physicochemical Characteristics, Functional Properties, and Nutritional Benefits of Peanut Oil: A Review. **Crit Rev Food Sci Nutr** 54:1562–1575.
- Akram S, Siddiqui N, Hussain BMN, Bari MAA, Mostofa MG, Hossain MA, Tran LSP (2017) Exogenous glutathione modulates salinity tolerance of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] at reproductive stage. **Journal of Plant Growth Regul.** 36:877-888.
- Akram NA, Shafiq F, Ashraf M (2018) Peanut (*Arachis hypogaea* L.): A Prospective Legume Crop to Offer Multiple Health Benefits Under Changing Climate. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.** 14(5):1325-1338.
- Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment** 24:1337-1344.
- Anderson ME (1985) Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. **Methods in Enzymology** 12:548-555.
- Anderson JV, Davis DG (2004) Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in *Euphorbia esula*. **Physiologia Plantarum** 120:421-433.
- Anjum SA, Ashraf U, Tanveer M, et al (2017) Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. **Front Plant Sci** 8(69):1-12.
- Ashraf M, Harris PJC (2013) Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica** 51(2): 163-190.
- Atayde DD, Reis TA, Godoy IJ, Zorzete P, Reis GB, Corrêa B (2012) Mycobiota and aflatoxins in a peanut variety grown in different regions in the state of São Paulo, Brazil. **Crop protection** 33:7-12.
- Ault TR (2020) On the essentials of drought in a changing climate. **Science** 368:256-260.
- Azevedo RA, Alas RM, Smith RJ, Lea PJ (1998). 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** 104(2):280-292.

Banavath JN, Chakradhar T, Pandit V, Konduru S, Guduru KK, Akila CS, Podha S, Puli COR (2018) Stress inducible overexpression of AtHDG11 leads to improved drought and salt stress tolerance in peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Frontiers in Chemistry** 6(34):1-22.

Banerjee A e Roychoudhury A (2019) Role of Glutathione in Plant Abiotic Stress Tolerance. In: Hasanuzzaman M, Fotopoulos V, Nahar K, Fujita M (eds) Reactive oxygen, nitrogen and sulfur species in plants: production, metabolism, signaling and defense mechanisms. **Wiley** 7:159-172

Bandurska H (2022) Drought Stress Responses: Coping Strategy and Resistance. **Plants** 11(922):1-17.

Barbosa JC, Maldonado Junior W (2015) “Experimentação agrônômica & AgroEstat: Sistemas para Análises Estatísticas de Ensaios Agrônômicos”. FCAV/UNESP, Jaboticabal, Brasil 396.

Bertioli DJ, Seijo G, Freitras FO, et al (2011) An overview of peanut and its wild relatives. **Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation** 9:134-149.

Bhalani H, Thankappan R, Mishra GP, Sarkar T, Bosamia TC, Dobaria JR (2019) Regulation of antioxidant mechanisms by AtDREB1A improves soil-moisture deficit stress tolerance in transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.). **PLoS ONE** 14(5):1-20.

Bhogireddy S, Xavier A, Garg V, Layland N, Arias R, Payton P, Nayak SN, Pandey MK, Puppala N, Varshney R (2020) Genome-wide transcriptome and physiological analyses provide new insights into peanut drought response mechanisms. **Scientific reports** 10(1): 4071.

Boote KJ (1982) Growth stages of peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Peanut Science** 9(1):35-40.

Bradford MMA (1976) Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72:248-254.

Cakmak I, Horst WJ (1991) Effect of aluminium on lipid-peroxidation, superoxide-dismutase, catalase and peroxidase-activities in root-tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum** 834:463-468.

Carrega WC, Dos Santos JI, Cesarin AE, et al (2020) RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE AMENDOIM À DEFICIÊNCIA HÍDRICA. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais (Online)** 119–133.

Celikkol Akcay U, Ercan O, Kavas M, Yildiz K, Yilmaz C, Oktem HA, Yucel M (2010) Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. **Plant Growth Regul.** 61:21-28.

Chakraborty K, Singh AL, Kalariya KA, Goswami N, Zala PV (2015) Physiological responses of peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars to water deficit stress: status of oxidative stress and antioxidant enzyme activities. **Acta Bot. Croat.** 74(1):123-142.

Chaudhry S, Sidhu GPS (2022) Climate change regulated abiotic stress mechanisms in plants: a comprehensive review. **Plant Cell Rep** 41:1-31.

Chaves MM, Oliveira MM (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**. 55(407):2365–2384

Checchio MV, Alves RC, Oliveira KR, Moro GV, Santos DMM, Gratão PL (2021) Enhancement of salt tolerance in corn using *Azospirillum brasilense*: an approach on antioxidant systems. **Journal of Plant Research** 134(6):1279-1289.

Cheng MC, Ko K, Chang WL, Kuo WC, Chen GH and Lin TP (2015) Increased glutathione contributes to stress tolerance and global translational changes in *Arabidopsis*. **Plant J**. 83:926–939.

Choudhury FK, Rivero RM, Blumwald E, Mittler R (2017) Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The plant journal** 90:856-867.

Clifford SC, Stronachb IM, Blackc CR, et al (2000) Effects of elevated CO₂, drought and temperature on the water relations and gas exchange of groundnut (*Arachis hypogaea*) stands grown in controlled environment glasshouses. **Physiol Plant** 110:78–88.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2022) Amendoim.<
<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra-graos/boletim-da-safra-de-graos> >

Dabrowski P, Baczevska-Dabrowska AH, Kalaji HM, Goltsev V, Paunov M, Rapacz M, Wójcik-Jagla M, Pawluśkiewicz B, Baba W, Brestic M (2019) Exploration of Chlorophyll a Fluorescence and Plant gas Exchange Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Perennial Ryegrass. **Sensors** 19(12):2736.

Das K e Roychoudhury A (2014) Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants as ROS-Scavengers during Environmental Stress in Plants. **Frontiers in Environmental Science** 2(53):1-13.

Dinar A, Tieu A, Huynh H (2019) Water scarcity impacts on global food production. **Glob Food Sec** 23:212–226.

Dorion S, Ouellet J e Rivoal J (2021) Glutathione Metabolism in plants under stress: Beyond reactive oxygen species detoxification. **Metabolites** 11(9):641.

Dutra F, Melo AS, Figueiras LMB, Silva ARF, Oliveira IM, Brito MEB (2015) Parâmetros fisiológicos e componentes de produção de feijão-caupi cultivado sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 10(2):189-197.

FAOSTAT (2022) Food and Agriculture Organization of The United Nations. <http://faostat3.fao.org/home/E>.

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) Plant drought stress: Effects mechanisms and management. **Agronomy for sustainable development** 29(1):185-212.

Fathi A e Tari DB (2016) Effect of drought stress and its mechanism in plants. **International Journal of Life Sciences** 10(1):1-6.

- Fita A., Rodriguez-Burruezo A, Boscaiu M, Prohens J, Vicente O (2015) Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity. A new paradigm for increasing food production. **Front Plant Sci.** 6: 978.
- Flexas J e Medrano H (2002) Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Ann Bot** 89:183–189.
- Flexas J, Bota J, Loreto F, Comic G, Sharkey TD (2004) Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant biology** 6:269-279.
- Foyer CH e Noctor G (2011) Ascorbate and Glutathione: The heart of the redox rub. **Plant Physiol.** 155(1):2-18.
- Foyer CH e Noctor G (2013) Redox signaling in plants Antioxidant. **Redox Signal.** 18:20871090.
- Furlan A, Bianucci E, Tordable MC, Kleinert A, Valentine A, Castro S (2016) Dynamic responses of photosynthesis and the antioxidant system during a drought and rehydration cycle in peanut plants. **Functional Plant Biology** 43:337-345.
- Furlan AL, Bianucci E, Tordable MDC, et al (2014) Antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in peanut nodules during a drought and rehydration cycle. **Functional Plant Biology** 41:704–713.
- Galmés J, Medrano H, Flexas J (2007) Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. **New Phytologist** 175:81–93.
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977) Superoxide Dismutases. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology** 59(2):309-314.
- Gill SS, Anjum NA, Hasanuzzaman M, Gill R, Trivedi DK, Ahmad I, Pereira E, Tuteja N (2013) Glutathione and glutathione reductase: A boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. **Plant Physiol. Biochem.** 70: 204-212.
- Gill SS e Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiol. Biochem.** 48:909-930.
- Girdthai T, Jogloy S, Vorasoot N, Akkasaeng C, Wongkaew S, Patanothai A, Holbrook CC (2012) Inheritance of the physiological traits for drought resistance under terminal drought conditions and genotypic correlations with agronomic traits in peanut. **SABRAO Journal of Breeding and Genetics** 44(4), 240–262.
- Godoy F, Olivos-Hernández K, Stange C, Handford M (2021) Abiotic Stress n Crop Species: Improving Tolerance by Applying Plant Metabolites. **Plants** 10(2):186.
- Godoy IJ, Santos JF, Moretzsohn MC, Moraes ARA, Michelotto MD, Bolonhezi D, Nakayama F, Freias RS, Bertioli DJ, Leal-Bertioli SC (2022) 'IAC SEMPRE VERDE': a wild-derived peanut cultivar highly resistant to foliar diseases. **Crop Breed. Appl. Biotechnol.** 22(3):1-5.

- Godoy IJ, Michelotto MD, Bolonhezi D, Moraes ARA, Santos JF (2019) Melhoria genética do amendoim no IAC: resultados recentes e perspectivas. In: Silva RP, Santos AF, Carrega WC (Eds.) **Avanços na produção de amendoim**. São Paulo: Funep, 23-38.
- Gomes-Junior RA, Moldes CA, Delite FS, Gratão PL, Mazzafera P, Lea PJ, Azevedo RA (2006) Nickel elicits a fast antioxidant response in *Coffea arabica* cells. **Plant Physiol. Biochem.** 44:420-429.
- Graciano ESA, Santos HRB, Nogueira RJMC (2016) Trocas gasosas, eficiência fotoquímica e pigmentos fotossintéticos de cultivares de amendoim sob deficiência hídrica no solo. **Brazilian Journal of Applied Technol. Agric. Science** 9(1):27-36.
- Gratão PL, Monteiro CC, Tezotto T, Carvalho RF, Alves LR, Peter LJ, Azevedo RA (2015) Cadmium stress antioxidant responses and root-to-shoot communication in grafted tomato plants. **Biometals** 28:803-816.
- Gupta A, Rico-Medina A, Caño-Delgado AI (2020) The physiology of plant responses to drought. **Science** 368:266-269.
- Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Anee TI, Parvin K, Nahar K, Mahmud JA, Fujita M (2019) Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigation of oxidative damage in plants under abiotic stress. **Antioxidants** 8:2-50.
- Hasanuzzaman M, Parvin K, Bardhan K, Nahar K, Anee TI, Masud AAC, Fotopoulos V (2021) Bioestimulantes for the Regulation of Reactive Oxygen Species Metabolism in Plants under Abiotic Stress. **Cells** 10(10):2537.
- Hernández I, Cela J, Alegre L, Munné-Bosch S (2012) Antioxidant Defenses Against Drought Stress. In: R. Aroca (ed.) **Plant Responses to Drought Stress**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1-28.
- Hosseinifard M, Stefaniak S, Javid MG, Soltani E, Wojtyła L, Garnczarska (2022) Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review **Intern. Journal of Mol. Sci.** 23(9):5186.
- Hu L, Wang Z, Huang B (2010) Diffusion limitations and metabolic factors associated with inhibition and recovery of photosynthesis from drought stress in a C3 perennial grass species. **Physiologia Plantarum** 139:93-106.
- Ibrahim W, Ahmed IM, Chen X, Wu F (2017) Genotype-dependent alleviation effects of exogenous GSH on salinity stress in cotton is related to improvement in chlorophyll content, photosynthetic performance, and leaf/root ultrastructure. **Environ. Science and Pollution Research** 24:9417-9427.
- Ilyas M, Nisar M, Khan N, Hazrat A, Khan AH, Hayat K, Fahad S, Khan A, Ullah A (2020) Drought tolerance strategies in plants: A Mechanistic Approach. **Journal of Plant Growth Regulation** 40:926-944.
- Israr M, Sahi S, Datta R, Sarkar D (2006) Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Sesbania drummondii*. **Chemosphere** 65:591-598.

Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Al-Juburi HJ, Somasundaram R, Panneerselvam R (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **Int. J. Agric. Biology** 11:100-105.

Juan-Polo A, Sanahuja AB, Prats Moya MS, et al (2022) Optimization and validation of a simplified methodology for simultaneous extraction of fatty acids and tocopherol homologues in peanuts. **Journal of Food Composition and Analysis** 106:104287.

Jung HI, Kong MS, Lee BR, Kim TH, Chae MJ, Lee EJ et al (2019). Exogenous glutathione increases arsenic translocation into shoots and alleviates arsenic-induced oxidative stress by sustaining ascorbate–glutathione homeostasis in rice seedlings. **Front. Plant Sci.** 10:1089.

Kabbadj A, Makoudi B, Mouradi M, et al (2017) Physiological and biochemical responses involved in water deficit tolerance of nitrogen-fixing *Vicia faba*. **PLoS One** 12:

Kambiranda DM, Vasanthaiah HK, Katam R, et al Impact of Drought Stress on Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Productivity and Food Safety. In: **Plants and Environment** 12:1-26.

Kaur H, Kohli SK, Khanna K, Bhardwaj R (2021) Scrutinizing the impact of water deficit in plants: Transcriptional regulation, signaling, photosynthetic efficacy, and management. **Physiologia Plantarum** 1-28.

Koh YS, Wong SK, Ismail NH, Zengin G, Duangjai A, Saokaew S, Phisalprapa P, Tan KW, Goh BH, Tang SY (2021) Mitigation of Environmental Stress-Impacts in Plants: Role of Sole and Combinatory Exogenous Application of Glutathione. **Front Plant Sci.** 22(12):791205.

Koolachart R, Jogloy S, Vorasoot N, Wongkaew S, Holbrook CC, Jongrungklang N (2013) Rooting traits of peanut genotypes with different yield response to terminal drought. **Field Crops Research** 149:366-378.

Kottapalli KR, Rakwal R, Shibato J, et al (2009) Physiology and proteomics of the water-deficit stress response in three contrasting peanut genotypes. *Plant Cell Environ* 32:380–407.

Kumar M, Kesawat MS, Ali A, Lee S, Gill SS, Kim HU (2019a) Integration of Abscisic Acid Signaling with Other Signaling Pathways in Plant Stress Responses and Development. **Plants (Basel)** 8(12):592.

Kumar R, Pandey MK, Roychoudhry S, Nayyar H, Kepinski S, Varshney RK (2019b) Peg biology: deciphering the molecular regulations involved during peanut peg development. **Frontiers in plant science** 10:1289.

Khan M, Daud MK, Basharat A, Khan MJ, Azizullah A, Muhammad N et al (2016). Alleviation of lead-induced physiological, metabolic, and ultramorphological changes in leaves of upland cotton through glutathione. **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.** 23: 8431–8440.

Lamaoui M, Jemo M, Datla R, Bekkaoui F (2018) Heat and Drought Stresses in Crops and Approaches for Their Mitigation. **Frontiers in Chemistry** 6(26):1-14.

- Lawlor DW, Tezara W (2009) Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: A critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Ann Bot** 103:561–579
- Laxa M, Liebhtal M, Telman W, Chibani K, Dietz K (2019) The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. **Antioxidants** 8:94.
- Lechner L, Pereyra-Irujo GA, Granier C, Aguirrezabal LA (2008) Rewatering plants after a long water-deficit treatment reveals that leaf epidermal cells retain their ability to expand after the leaf has apparently reached its final size. **Ann. Bot.** 101:1007–1015.
- Li C, Yan c, Sun Q, Wang J, Yuan C, Mou Y, Shan S, Zhao X (2021) Proteomic profiling of *Arachis hypogaea* in response to drought stress and overexpression of *AhLEA2* improves drought tolerance. **Plant biology** 24(1):75-84.
- Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids; pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology** 148:350-382.
- Liebthal M, Maynard D, Dietz KJ (2018) Peroxiredoxins and Redox Signaling in Plants. **Antioxidants Redox Signal** 28:609-624.
- Liu Y, Xiao L, Chi J, Li R, Han Y, Cui F, Peng Z, Wan S, Li G (2022) Genome-wide identification and expression of *SAUR* gene family in peanut (*Arachis hypogaea* L.) and functional identification of *AhSAUR3* in drought tolerance. **BMC Plant Biology** 22:178.
- Masoumi H, Darvish F, Daneshian J, Nourmohammadi G, Habibi D (2011) Chemical and biochemical responses of soybean (*Glycine max* L.) cultivars to water deficit stress. **Australian Journal of Crop Science** 5: 544–553.
- Mihara M, Uchiyama M, Fukuzawa K (1980) Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, ccl4 intoxication, and vitamin e deficiency. **Biochemical Medicine** 23:302-311.
- Mingotte F, Morello OF, Lemos LB (2019) Amendoim: origem, classificação e produção. In: Silva RP, Santos AF, Carrega WC (Eds.) **Avanços na produção de amendoim**. São Paulo: Funep, 1-16.
- Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science** 7(9):1-6.
- Monteiro CC, Carvalho RF, Gratão PL, Carvalho G, Tezoto T, Medici LO, Peres LEP, Azevedo RA (2011) Biochemical responses of the ethylene-insensitive never ripe tomato mutant subjected to cadmium and sodium stresses. **Environ Exp. Bot.** 71:306–320.
- Morey R, Farber C, McCutchen B, Burow MD, Simpson C, Kourouski D, Cason J (2021) Raman spectroscopy-based diagnostics of water deficit and salinity stresses in two accessions of peanut. **Plant Direct** 5(8):e342.
- Mou Y, Sun Q, Yuan C, Zhao X, Wang J, Yan C, Li C, Shan S (2022) Identification of the LOX Gene Family in Peanut and Functional Characterization of *AhLOX29* in Drought Tolerance. **Front. Plant Sci.** 13:832785.

- Nahar K, Hasanuzzaman M, Alam MM, Fujita M (2015) Exogenous glutathione confers high temperature stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) by modulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system. **Environ. Exp. Botany** 112:44-54.
- Noctor G, Veljovic-Jovanovic S, Driscoll S, Novitskaya L, Foyer CH (2002) Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? **Ann Bot.** 7:841-850.
- Noctor G, Mhamdi A, Chaouch S, Han YI, Neukermans J, Marquez-Garcia BELEN, Queval G, Foyer CH (2012) Glutathione in plants: An integrated overview. **Plant Cell Environ.** 35:454–484.
- Nogueira RJM, Távora FJAF (2005) Ecofisiologia do amendoim. In: DOS SANTOS RC. O agronegócio do amendoim no brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão 71-122.
- Oguz MC, Aycan M, Oguz E, Poyraz I, Yildiz M (2022) Drough Stress Tolerance in Plants: Interplay of Molecular, Biochemical and Physiological Responses in Important Development Stages. **Physiologia** 2(4):180-197.
- Okuma E, Jahan MS, Munemasa S, Hossain MA, Muroyama D, Islam MM, Ogawa K, Watanabe-Sugimoto M, Nakamura Y, Shimoishi Y, Mori IC, Murata Y (2011) Negative regulation of abscisic acid-induced stomatal closure by glutathione in Arabidopsis. **J Plant Physiol.** 168(17):2048-2055.
- Pereira JWL, Melo Filho PA, Albuquerque MB, Nogueira RJMC, Santos RC (2012) Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Ver Ciênc. Agron.** 43(4):766–773.
- Pilon C, Snider JL, Sobolev V, Chastain DR, Sorensen RB, Meeks CD, Massa AN, Walk T, Singh B, Earl HJ (2018) Assessing stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation under progressive drought in peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Journal of Plant Physiology** 231:124-134.
- Pruthvi V, Rama N, Govind G, Nataraja KN (2013) Expression analysis of drought stress specific genes in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Physiol. Mol. Biol. Plants** 19(2):277-281.
- Puangbut D, Jogloy S, Vorasoot N, Akkasaeng C, Kesmalac T, Patanothai A (2009) Variability in yield responses of peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes under early season drought. **Asian Journal of Plant Sciences** 8:254– 264.
- Ramakrishna A, Gokare AR (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior** 6(11):1720-1731.
- Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandam M (2004) Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology** 161: 1189-619.
- Reis DP, Carvalho RF, Costa IB, Girio RJS, Gualberto R, Spers RC, Gaion LA (2022) Hydrogen peroxide is involved in drought stress long-distance signaling controlling early stomatal closure in tomato plants. **Brazilian Journal of Biology** 82: e267343.

- Ribeiro C, Cambraia J, Peixoto PHP, Júnior EMF (2012) Antioxidant system response induced by aluminum in two rice cultivars. **Brazilian Journal of Plant Physiol.** 24(2):107-116.
- Rivas R, Falcão HM, Ribeiro RV, Machado EC, Pimentel C, Santos MG (2016) Drought tolerance in cowpea species is driven by less sensitivity of leaf gas exchange to water deficit and rapid recovery of photosynthesis after rehydration. **S. Afr. J. Bot.** 103:101–107.
- Sampaio RM (2019) Amendoim: exportações em alta e a importante participação dos municípios paulistas. **Análises e Indicadores do Agronegócio.** 14(4).
- Sarkar T, Thankappan R, Kumar A, Mishra GP, Dobaria JR (2016) Stress inducible expression of AtDREB1A transcription factor in transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.) conferred tolerance to soil-moisture deficit stress. **Front. Plant Sci.** 7(935):1-15.
- Sohag AAM, Tahjib-UI-Arif M, Polash MAS, Chowdhury MB, Afrin S, Burritt DJ et al (2020). Exogenous glutathione-mediated drought stress tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.) is associated with lower oxidative damage and favorable ionic homeostasis. **Iran. J. Sci. Technol. Trans. A Sci.** 44:955–97.
- Sharma A, Kumar V, Shahzad B, et al (2020) Photosynthetic Response of Plants Under Different Abiotic Stresses: A Review. **J Plant Growth Regul** 39:509–531.
- Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012) Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany** 2012:1-26.
- Singh AL, Goswami N, Nakar RN, Kalariya KA, Chakraborty K (2013) Physiology of Groundnut under water deficit stress. In: Recent Advances in Crop Physiology (Ed. Amrit Lal Singh), Daya Publishers (India), New Delhi, India 1:1-85.
- Soares C, Carvalho MEA, Azevedo RA, Fidalgo F (2019) Plants facing oxidative challenges – A little help from the antioxidant networks. **Environmental and Experimental Botany** 161:4-25.
- Songsri P, Jogloy S, Vorasoot N, Akkasaeng C, Patanothai A, Holbrook CC (2008) Root distribution of drought-resistant peanut genotypes in response to drought. **Journal Agronomy & Crop Science** 194, 92–103.
- Sun T, Rao S, Zhou X, Li L (2022) Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. **Molecular Horticulture** 2(3):1-21.
- Suzuki N, Koussevitzky S, Mittler R, Miller G (2012) ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. **Plant, Cell & Environment** 35:259-270.
- Tardieu F, Parent B, Caldeira CF, Welcker C (2014) Genetic and physiological controls of growth under water deficit. **Plant Physiol** 164:1628–1635.
- Tardieu F, Simonneau T, Muller B (2018) The Physiological Basis of Drought Tolerance in Crop Plants: A Scenario-Dependent Probabilistic Approach.

- Thangella PAV, Pasumarti SNBS, Pullakhandam R, et al (2018) Differential expression of leaf proteins in four cultivars of peanut (*Arachis hypogaea* L.) under water stress. *3 Biotech* 8:
- Thiault L, Gelcich S, Cinner JE, Tapia-Lewin S, Chlous F, Claudet J (2019) Generic and specific facets of vulnerability for analysing trade-offs and synergies in natural resource management. **People and Nature** 1:573-589.
- Toomer OT (2018) Nutritional chemistry of the peanut (*Arachis hypogaea*). **Critical Reviews Food Science and Nutrition** 58(17):3042-3053.
- Toomer OT (2020) A comprehensive review of the value-added uses of peanut (*Arachis hypogaea*) skins and by-products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 60(2):341-350.
- United States Department of Agriculture – USDA (2023) Oilseeds: World Markets and Trade. Ithaca: USDA; Foreign Agricultural Service, 38.
- Yao M, Ge W, Zhou Q, Zhou X, Luo M, Zhao Y et al (2021). Exogenous glutathione alleviates chilling injury in postharvest bell pepper by modulating the ascorbate-glutathione (AsA-GSH) cycle. **Food Chem.** 352:129458.
- Yang X, Luo L, Yu W, Mo B, Liu L (2019) Recent Advances in the Acclimation Mechanisms and Genetic Improvement of Peanut for Drought Tolerance. **Agricultural Sciences** 10:1178-1193.
- Yi X, Zhang Y, Yao H, Luo H, Gou L, Chow WS, Zhang W (2016) Rapid recovery of photosynthetic rate following soil water deficit and re-watering in cotton plants (*Gossypium herbaceum* L.) is related to the stability of the photosystems. **Journal of Plant Physiology** 194:23-34.
- Yu MM, Schulze HG, Jetter R, Blades MW, Turner RF (2007) Raman microspectroscopic analysis of triterpenoids found in plant cuticles. **Applied Spectrosc.** 61(1):32-7. doi: 10.
- Yuan C, Li C, Lu X, Zhao X, Yan C, Wang J, Sun Q, Shan S (2020) Comprehensive genomic characterization of NAC transcription factor family and their response to salt and drought stress in peanut. **BMC Plant Biology** 20(454):1-21.
- Zagorchev L, Seal EC, Kranner I, Mariela Odjakova M (2013) A central role for thiols in plant tolerance to abiotic stress. **International Journal of Molecular Sciences** 14: 7405-7432.
- Zhang H, Zhu J, Gong Z, Zhu JK (2022) Abiotic stress responses in plants. **Nat Rev Genet** 23:104–119.
- Zhao L, Zhu X, Yu Y, et al (2021) Comprehensive analysis of the anti-glycation effect of peanut skin extract. **Food Chem.** 362:
- Zhou Y, Wen Z, Zhang J, Chen X, Cui J, Xu W, Liu H (2017) Exogenous glutathione alleviates salt-induced oxidative stress in tomato seedlings by regulating glutathione metabolism, redox status, and the antioxidant system. **Scientia Horticulturae** 220: 90-101.

Zhou Y, Chen M, Guo J, Wang Y, Min D, Jiang Q, Ji H, Huang C, Wei W, Xu H, Chen X, Li L, Xu Z, Cheng X, Wang C, Wang C, Ma Y (2020) Overexpression of soybean DREB1 enhances drought stress tolerance of transgenic wheat in the field. **J. Exp. Bot.** 71:1842–1857.