

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de
12/04/2024

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until
Abr. 12, 2024

GUSTAVO RIBEIRO BARZOTTO

**APLICAÇÃO FOLIAR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM TOMATEIRO
ESTIMULA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO**

Botucatu

2023

GUSTAVO RIBEIRO BARZOTTO

**APLICAÇÃO FOLIAR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM TOMATEIRO
ESTIMULA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Horticultura)

Orientador(a): Carmen Sílvia Fernandes
Boaro

Botucatu

2023

B296a

Barzotto, Gustavo Ribeiro

Aplicação foliar de peróxido de hidrogênio em tomateiro estimula tolerância ao déficit hídrico / Gustavo Ribeiro Barzotto. -- Botucatu, 2023 89 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientadora: Carmen Sílvia Fernandes Boaro

1. Fisiologia Vegetal. 2. Estresse abiótico. 3. Espécies reativas de oxigênio. 4. Aclimação sistêmica adquirida. 5.
Solanum lycopersicum L.. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

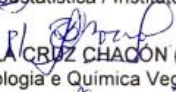
TÍTULO DA TESE: APLICAÇÃO FOLIAR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM TOMATEIRO
ESTIMULA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO

AUTOR: GUSTAVO RIBEIRO BARZOTTO

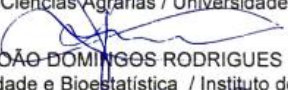
ORIENTADORA: CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO

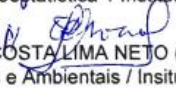
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia (Horticultura),
pela Comissão Examinadora:


Prof.ª Dr.ª CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO (Participação Presencial)
Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências de Botucatu UNESP


Prof. Dr. IVÁN DE LA CRUZ CHACÓN (Participação Virtual)
Laboratório de Fisiologia e Química Vegetal / Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas


Prof.ª Dr.ª VILMA MARQUES FERREIRA (Participação Virtual)
Centro de Ciências Agrárias / Universidade Federal de Alagoas


Prof. Dr. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES (Participação Presencial)
Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. MILTON COSTA LIMA NETO (Participação Virtual)
Ciências Biológicas e Ambientais / Instituto de Biociências da UNESP - Campus do Litoral - São Vicente

Botucatu, 05 de abril de 2023

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais por todo o apoio incondicional.

À minha orientadora professora doutora Carmen Sílvia Fernandes Boaro por todo o auxílio e ensinamentos prestados durante o doutorado, e pelo exemplo de profissional que desperta admiração e respeito e magnifica o sentido de ser professor.

Aos meus amigos, companheiros de laboratório que contribuíram de muitas formas para a realização desse trabalho, sem vocês não seria possível.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001.

RESUMO

Peróxido de hidrogênio (H_2O_2), espécie reativa de oxigênio, apesar de potencialmente danoso, atua na sinalização de diversos processos no metabolismo vegetal, como crescimento e respostas a estresses abióticos, como a seca. Objetivou-se neste trabalho verificar se a aplicação exógena de H_2O_2 interfere no desempenho fotossintético, produção de biomassa e no ajuste metabólico de tomateiro submetido ou não à período de seca. O experimento foi conduzido no delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 2×3 , sendo duas condições hídricas: plantas regadas e plantas submetidas à seca, e três aplicações foliares: zero, uma ou duas aplicações foliares de 1 mM de H_2O_2 . As avaliações foram realizadas em dois momentos, primeiro, durante o período em que parte das plantas estavam submetidas a seca, e segundo, após essas plantas estarem recuperadas pelo retorno da rega. Foram realizadas avaliações de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas, curva de carboxilação da RuBisCo, análise de crescimento, acúmulo de massa seca, conteúdo relativo de água, potencial água da folha, carboidratos, perfil químico de açúcares, pigmentos foliares, peroxidação lipídica, concentrações foliares de peróxido de hidrogênio, fenóis e prolina e atividade de enzimas antioxidantes. Concluiu-se que aplicação exógena de H_2O_2 incrementa o desempenho fotossintético de plantas cultivadas sob regime normal de rega e na seca e ajustes metabólicos dependem do número de aplicações de H_2O_2 , assim como aplicação exógena de H_2O_2 incrementa a produção de biomassa de plantas cultivadas sob regime normal de rega, tendo atuado na sinalização de reações fotossintéticas e proteção ao déficit hídrico, com potencial uso para aclimação sistêmica adquirida.

Palavras-chave: espécies reativas de oxigênio; aclimação sistêmica adquirida; metabolismo primário; promoção de crescimento, ajuste osmótico.

ABSTRACT

Hydrogen peroxide (H_2O_2), a reactive oxygen species, although potentially harmful, acts in the signaling of several processes in plant metabolism, such as growth and responses to abiotic stresses, such as drought. The aim of this work was to verify if the H_2O_2 exogenous application interferes in the photosynthetic performance, biomass production and in the metabolic adjustment of tomato plants submitted or not to a period of drought. The experiment was conducted in a randomized block design, in a 2x3 factorial scheme, with two water conditions: watered plants and plants subjected to drought, and three foliar applications: zero, one or two foliar applications of 1 mM H_2O_2 . The evaluations were carried out in two moments, first, during the period in which part of the plants were subjected to drought, and second, after these plants were recovered by the return of watering. Were evaluated the chlorophyll a fluorescence, gas exchange, RuBisCo carboxylation curve, growth analysis, dry mass accumulation, relative water content, leaf water potential, carbohydrates, chemical profile of sugars, leaf pigments, lipid peroxidation, foliar concentrations of hydrogen peroxide, phenols and proline and activity of antioxidant enzymes. It was concluded that exogenous H_2O_2 application increases the photosynthetic performance of both plants cultivated under normal watering regime and in drought, and metabolic adjustments depend on the number of H_2O_2 applications, as well as exogenous H_2O_2 application increases the biomass production of plants cultivated under irrigation, having acted in the signaling of photosynthetic reactions and protection against water deficit, with potential use for acquired systemic acclimation.

Keywords: reactive oxygen species; acquired systemic acclimation; primary metabolism; growth promotion; osmotic adjustment.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	13
CAPÍTULO 1 - PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SINALIZA ACLIMATAÇÃO FOTOSSINTÉTICA DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. cv Micro-Tom SOB DÉFICIT HÍDRICO.....	19
1.1 INTRODUÇÃO.....	19
1.2 RESULTADOS.....	21
1.3 DISCUSSÃO.....	23
1.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
REFERÊNCIAS.....	33
CAPÍTULO 2 – APLICAÇÃO FOLIAR DE H₂O₂ PROMOVE AJUSTE FOTOQUÍMICO E OSMÓTICO NA ACLIMATAÇÃO DE TOMATEIRO DURANTE A SECA E APÓS RECUPERAÇÃO.....	45
2.1 INTRODUÇÃO.....	45
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
2.3 RESULTADOS.....	52
2.4 DISCUSSÃO.....	55
REFERÊNCIAS	65
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS.....	81

INTRODUÇÃO GERAL

A produção de tomate no Brasil é de relevante importância econômica e social. Segundo dados de CEPEA/ESALQ, (2020), o tomate se destaca entre 60 hortaliças produzidas no país, sendo o fruto mais produzido e o que mais contribui com distribuição de renda nas lavouras. Os valores atrelados a sua comercialização alcançaram 3,5 bilhões de reais em 2019. A produção de tomate é amplamente distribuída no território nacional, sendo aproximadamente 63% destinado ao segmento de mesa, para consumo in natura, e o restante para indústria.

Apesar da expansão do cultivo de tomate em ambiente protegido apresentar possibilidade de controle das condições do ambiente, a maior parte da produção ocorre a campo, onde a cultura depende principalmente da oferta hídrica decorrente de precipitações. Dessa forma, no contexto atual de alterações climáticas, eventos climáticos extremos, como períodos de seca mais prolongada e fora de sua previsibilidade normal devem ocorrer com maior frequência (IPCC, 2022) e estudos que contribuam com alternativas para reduzir prejuízos nas lavouras são de grande relevância.

É fundamental para o desenvolvimento de novas técnicas que possam incrementar o desempenho de plantas cultivadas, o conhecimento do metabolismo da planta e suas respostas a condições ambientais desfavoráveis, como o déficit hídrico, primariamente detectado na raiz, levando por meio da sinalização raiz-folhas, via xilema, ao fechamento estomático, o que reduz a transpiração, mas também a fixação de CO₂, principal dreno de elétrons, acarretando alterações no fluxo de elétrons e no sistema enzimático (SALAZAR; HERNANDEZ; PINO, 2015). A sinalização ocorre principalmente pela ação do hormônio ABA, que induz a primeira resposta fisiológica à seca nas folhas, que é o fechamento estomático e consequente redução da perda de água pela transpiração.

A sinalização pelo ABA nas células guarda ocorre em função da abertura de canais de cálcio e pela liberação de cálcio de reservas internas como do vacúolo. O aumento do cálcio citosólico leva a desativação de bombas protônicas da membrana plasmática e de canais de influxo de potássio, mas ativam canais de efluxo de ânions. Isso acaba levando a despolarização da membrana, que ativa canais de efluxo de

potássio. A continuidade do efluxo de ânions e potássio contribuem para a redução do potencial osmótico externamente às células guarda com consequente movimentação de água e perda de turgor destas células, que leva ao fechamento estomático (SCHROEDER et al., 2001).

A percepção do ABA ocorre por sua ligação aos receptores citosólicos (proteínas PYR/PYL/RCAR), o que inibe por ligação direta proteínas fosfatase do tipo 2C, que são reguladoras negativas da proteína quinase SnRK2 (OST1). Dessa forma, OST1 é ativada, com efeito positivo sobre uma proteína de membrana, a NADPH oxidase (RBOH), que gera H_2O_2 (HSU et al., 2021).

O H_2O_2 desencadeia a abertura de canais iônicos da membrana plasmática que são permeáveis ao cálcio, permitindo sua entrada na célula. O aumento na concentração de cálcio por sua vez leva a ativação de proteínas quinase dependentes de cálcio (CPKs), que também ativam proteínas RBOH e canais de efluxo aniônicos, aumentando o fechamento estomático (HSU et al., 2021). Como a abertura estomática é necessária para o suprimento celular e a consequente transformação do CO_2 , fica evidente o impacto nos processos de crescimento da planta, por redução da fotossíntese.

Paralisação do crescimento e outras alterações metabólicas começam a ocorrer quando a seca se prolonga. A seca eleva o nível de espécies reativas de oxigênio (ERO) nos compartimentos celulares como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos. Os danos oxidativos podem começar ocorrer caso a eliminação das ERO supere a capacidade do sistema antioxidativo (ISHIBASHI et al., 2011).

Os estudos que contemplam ERO em plantas sob condições de estresse, biótico ou abiótico, normalmente abordam o potencial destrutivo dessas moléculas e suas implicações com dano oxidativo excessivo ou irreparável, no entanto trabalhos mais recentes têm destacado a essencialidade de ERO produzida nos cloroplastos como molécula sinalizadora para inúmeros mecanismos importantes para a manutenção do equilíbrio redox celular necessário para a obtenção e utilização de energia, na fotossíntese e na respiração (FOYER, 2018). A detecção de ERO nos cloroplastos ocorre principalmente por grupos tióis em proteínas como cisteína, e é importante para coordenar as taxas de geração de NADP e ATP com a utilização dessas moléculas nos processos de assimilação fotossintética do carbono, por intermédio de

tioeredoxinas. Essa regulação permite respostas rápidas do organismo vegetal as condições ambientais flutuantes, mas outras modificações pós-traducionais são desencadeadas, especialmente reações de fosforilação/desfosforilação de proteínas que também regulam processos que ocorrem nos tilacóides e estroma. Tioeredoxinas participam de vias responsáveis pela ativação induzida pela luz de enzimas do ciclo de Calvin-Benson, como frutose 1-6 bifosfatase (FBPase) (FOYER, 2018).

Comumente, a energia recebida nos fotossistemas de plantas sob déficit hídrico excede a capacidade de síntese orgânica, pois a redução na oferta de CO₂ devido ao fechamento estomático limita a fotossíntese e aumenta formas de dissipação da energia, tanto como fluorescência, calor ou drenos alternativos para elétrons (WILHELM; SELMAR, 2011). Outras mudanças no metabolismo incluem maior atividade de enzimas antioxidantes, para combater radicais formados principalmente nos cloroplastos. O acúmulo de prolina e açúcares podem auxiliar na remoção de ERO e atuar como osmorreguladores, e com avanço do período de estresse, é maior o teor de H₂O₂ celular devido a prejuízos na atividade fotossintética e peroxidação de lipídios, com redução na concentração de pigmentos foliares (HATZIG et al., 2014).

Em tomateiros tolerantes a seca, verifica-se que a produção de moléculas que atuam na desintoxicação por ERO é maior. Esse metabolismo especializado tem como principais produtos fenóis e polifenóis (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2011), mas também enzimas como a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2012). A maior concentração de açúcares redutores e prolina nos tecidos de tomateiro submetidos a seca também mostra um mecanismo adaptativo da planta para manter ajuste osmótico (PATANÈ, 2011).

ERO, como superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), oxigênio singlete (¹O₂) e radical hidroxila (OH) são os principais responsáveis por danos celulares, mas também são importantes moléculas sinalizadoras envolvidas na resposta a eventos estressantes, além de essenciais em processos de desenvolvimento como divisão e diferenciação celular, gravitropismo, crescimento radicular e morte celular programada, entre outros (SINGH et al., 2016). H₂O₂ induz a oxidação de resíduos de cisteína, conhecido interruptor molecular, envolvido em diversas vias de sinalização. Isso leva a formação de dissulfetos mistos com glutatona, que são considerados

formas protetoras de proteínas contra oxidação adicional, modulando as funções das proteínas que interagem com o DNA. A regulação na expressão gênica permite uma resposta rápida sem a necessidade da síntese de novos RNAs mensageiros e sua exportação do núcleo (QURESHI et al., 2022).

O envolvimento de H_2O_2 na sinalização de plantas ao estresse abiótico tem sido estudado, e sugere possibilidade de sua utilização, de forma exógena, no treinamento do metabolismo para eventos futuros, o que é conhecido como aclimatação sistêmica adquirida. Trata-se da preparação da defesa, ou seja, capacidade de resposta mais eficiente ao estresse, após sinalização inicial (CHOI et al., 2017). Segundo Czarnocka; Karpiński, (2018) ERO, embora potencialmente prejudicial às células vegetais, deve ser considerada mensageiro benéfico, que em cooperação com outras moléculas sinalizadoras podem levar a melhor desempenho de culturas em condições desfavoráveis.

Basicamente um estímulo estressante, como alta incidência luminosa, temperatura ou estresse osmótico acarreta sinalização do estresse que é distribuído por toda planta. A planta reage ao estresse com a expressão de genes que levam ao maior funcionamento do metabolismo especializado, como síntese de enzimas e moléculas com ação antioxidante. Essa resposta é aprendida pela planta, e caso um evento subsequente leve ao mesmo tipo de sinalização, o sistema de defesa poderá ser mais efetivo em sua ação, permitindo melhor performance da planta mesmo em condições adversas (CHOI et al., 2017; CZARNOCKA; KARPIŃSKI, 2018).

A sinalização, para promover um efeito sistêmico, precisa ser passada de célula para célula, assim como de tecido para tecido no corpo vegetal. O estudo de Gilroy et al., (2014) indica que existe interconexão entre produção de H_2O_2 e os níveis de Ca^{2+} nas células, e a transmissão de sinais deflagrados por algum evento de estresse. Para sinalização a longas distâncias, ondas provocadas apenas por mudanças na concentração dessa ERO e do Ca^{2+} não seriam eficientes, visto que a taxa de difusão de ambos é baixa, e existem diversos mecanismos celulares para remoção dessas moléculas, como agentes antioxidantes e compartimentalização no vacúolo. Dessa forma, a produção de H_2O_2 nas células pode desencadear uma alteração nos níveis citosólicos de Ca^{2+} , provocado principalmente pela ação nos canais carreadores deste íon.

A alteração nos níveis de Ca^{2+} por sua vez age sobre quinases que fazem com que proteínas RBOH (NADPH oxidase), produtora de H_2O_2 , aumentem a concentração dessa ERO, em um processo de retroalimentação do circuito. Esses eventos são passados de célula a célula, fazendo com que ocorra uma mudança no potencial de membrana das células, provocando uma onda que pode se propagar de maneira rápida e eficiente.

A sinalização por ERO é um dos mecanismos conhecidos de percepção de estresse pelas plantas, porém as modificações que ocorrerão no metabolismo após essa sinalização ainda não estão elucidadas para as diversas espécies de plantas (SINGH et al., 2016). O H_2O_2 , por exemplo, está envolvido no processo de fechamento estomático, intimamente ligado ao status hídrico da planta e do solo. A movimentação estomática é apenas a primeira resposta visual ao déficit hídrico. Ishibashi et al., (2011) verificaram que a aplicação de H_2O_2 em plantas de soja, anteriormente ao déficit hídrico, aumentou a resistência da planta ao estresse subsequente, pelo aumento da concentração de açúcares solúveis nas células, resultando em uma melhor condição hídrica.

Já o estudo de de Azevedo Neto et al., (2005) de Azevedo Neto et al., (2005) mostrou que o H_2O_2 fornecido à plantas de milho posteriormente submetidas ao estresse salino resultou em um melhor desenvolvimento dessas plantas, comparadas àquelas que não receberam o pré-tratamento. Nesse caso, melhor desempenho foi explicado por maior atividade de enzimas antioxidantes, como CAT, SOD, GPX e APX, que refletiram em menor peroxidação lipídica de componentes celulares. Essas diferenças de respostas metabólicas entre a aplicação de H_2O_2 em plantas indica que ainda há lacunas para entender o papel das ERO nos processos de sinalização e mediação de eventos de estresse.

Plantas cultivadas sob condições hídricas normais, sem estresse aparente, também podem ser beneficiar do fornecimento exógeno de H_2O_2 , pois essa molécula é capaz de promover crescimento, como verificaram Jamaludin et al., (2020) e Rashid et al., (2021). Aplicação foliar de 100 μmol de H_2O_2 em plantas de quinoa aumentou condutância estomática, conteúdo de clorofila, carotenóides, antocianinas, ácido ascórbico, proteínas solúveis e prolina, enquanto reduziu MDA, o que, segundo os autores resultou em maiores acúmulo de biomassa, produção e qualidade nutricional

de grãos (RASHID et al., 2021). Jamaludin et al., (2020) observaram que aplicação foliar de 15 e 20 mM de H_2O_2 duas vezes por semana durante 45 dias aumentou o crescimento de *Ficus deltoidea* Jack var. Deltoidea, uma planta de crescimento lento, atribuído a baixa taxa fotossintética e sua incapacidade de sobreviver sob luz solar direta. Os autores verificaram que essas doses de H_2O_2 fornecidas aumentaram o desempenho fotossintético da planta, com maior expressão do gene *rbcL*, de origem do DNA plastídico, que codifica subunidades da enzima RuBisCO, verificada por teste RT-PCR.

H_2O_2 é a espécie reativa de oxigênio mais estável e por isso na planta exerce ação sinalizadora sobre processos como fotossíntese, respiração, translocação e transpiração (ISMAIL et al., 2015). A promoção de crescimento obtida pelo fornecimento de H_2O_2 exógeno é atribuída quase exclusivamente a alterações no metabolismo fotossintético. Segundo revisão de Khan; Yusuf; Fariduddin, (2018), H_2O_2 pode alterar o estado de ativação da RuBisCO e resultar em elevação no rendimento quântico efetivo do FSII. Os autores também compilaram resultados de 14 estudos com fornecimento de H_2O_2 para diversas espécies de plantas, com variação no modo de aplicação (aplicação foliar, via irrigação e tratamento de sementes), com resultados semelhantes quanto ao estímulo do metabolismo fotossintético.

Dessa forma, levantamos a hipótese de que a aplicação exógena de H_2O_2 em tomateiro promove aclimação em plantas submetidas à seca, e favorece a recuperação após retorno da rega, com redução nos danos causados pela falta de água.

Objetivou-se neste trabalho verificar se a aplicação foliar de H_2O_2 interfere no desempenho fotossintético, produção de biomassa e no ajuste metabólico de tomateiro submetido à período de seca e posterior recuperação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados demonstraram que aplicação foliar de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em tomateiro foi eficaz para provocar modificações no metabolismo fotossintético e compostos relacionados à defesa vegetal. Aplicação foliar de 1 mM de H_2O_2 pode ser utilizada para aumentar o acúmulo de massa seca em tomateiro cultivado sob regime hídrico normal e acarretar aclimação por meio da utilização de drenos alternativos para dissipação de energia não fotoquímica em plantas submetidas ao déficit hídrico, especialmente quando aplicado de modo sequencial (2x H_2O_2). Desse modo, essa prática pode ser considerada no manejo de tomateiro como forma de redução de danos perante eventos de seca ou aproveitando o melhor desempenho do sistema fotossintético.

Aplicação foliar de H_2O_2 pode ainda contribuir com estratégias, como aclimação sistêmica adquirida, para enfrentamento de períodos de déficit hídrico não previstos, decorrentes inclusive dos novos desafios impostos pelas mudanças climáticas, visto que plantas submetidas ao déficit que receberam H_2O_2 apresentaram menor dano oxidativo durante a restrição hídrica, com alterações metabólicas que resultaram em sinalização para produção de compostos relacionados a defesa vegetal, como a enzima APX, fenóis, arabinose e manose. Plantas cultivadas sob regime hídrico normal que receberam aplicação foliar de H_2O_2 não revelaram prejuízos, apresentando inclusive maior desempenho fotoquímico e melhor eficiência do uso da água, otimizando os recursos luminoso e hídrico. Esperamos que nossos achados contribuam e despertem novas pesquisas sobre estimulação de sinalização por espécies reativas de oxigênio para modificações no metabolismo de plantas com maior produtividade, aclimação frente a situações adversas e até mesmo síntese de compostos bioativos.

REFERÊNCIAS

ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337–1344, 1 dez. 2001. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>>. Acesso em: 9 set. 2019.

ATKIN, O. K. et al. Photosynthesis, Carbohydrate Metabolism and Respiration in Leaves of Higher Plants. p. 153–175, 2000.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205–207, ago. 1973. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF00018060>>. Acesso em: 9 set. 2019.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276–287, 1 nov. 1971.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 2^a ed. Jaboticabal: Funep, 2003.

BONOLI, M. et al. Antioxidant Phenols in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Flour: Comparative Spectrophotometric Study among Extraction Methods of Free and Bound Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5195–5200, 2004. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf040075c>>. Acesso em: 20 maio. 2019.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 7 maio 1976. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273>>. Acesso em: 10 set. 2019.

CAO, B. et al. Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p. 53–62, out. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423815301114>>. Acesso em: 22 ago. 2019.

CEPEA/ESALQ. Brasil Hortifruti. **Brasil Hortifruti**, p. 1–34, 2020.

CERNÝ, M. et al. Molecular Sciences Hydrogen Peroxide: Its Role in Plant Biology and Crosstalk with Signalling Networks. 2018. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/ijms>.

CHARLES, S. A.; HALLIWELL, B. Light Activation of Fructose Bisphosphatase in Isolated Spinach Chloroplasts and Deactivation by Hydrogen Peroxide: A Physiological Role for the Thioredoxin System. **Planta**, v. 151, p. 242–246, 1981.

CHOI, W.-G. et al. Orchestrating rapid long-distance signaling in plants with Ca²⁺, ROS and electrical signals. **The Plant Journal**, v. 90, n. 4, p. 698–707, 1 maio 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/tpj.13492>>. Acesso em: 5 set. 2019.

CIRILLO, V. et al. Anthocyanins Are Key Regulators of Drought Stress Tolerance in Tobacco. **Biology**, v. 10, n. 139, p. 1–15, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/biology10020139>>. Acesso em: 9 fev. 2022.

CZARNOCKA, W.; KARPIŃSKI, S. Friend or foe? Reactive oxygen species production, scavenging and signaling in plant response to environmental stresses. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 122, p. 4–20, 1 jul. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584918300212?via%3Dihub>>. Acesso em: 5 set. 2019.

DE AZEVEDO NETO, A. D. et al. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, n. 10, p. 1114–1122, 14 out. 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161705000726>>. Acesso em: 5 set. 2019.

DEMMIG, B. et al. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves : a possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. **Plant Physiology**, v. 84, p. 218–224, 1987. Disponível em: <<https://academic.oup.com/plphys/article/84/2/218/6082377>>. Acesso em: 8 jan. 2023.

DENG, Y.; LU, S. Biosynthesis and Regulation of Phenylpropanoids in Plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 36, n. 4, p. 257–290, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/07352689.2017.1402852>>.

ELSHEERY, N. I.; CAO, K.-F. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress. **Acta Physiol Plant** (2008), v. 30, p. 769–777, 2008. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11738-008-0179-x.pdf>>. Acesso em: 8 nov. 2017.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>>. Acesso em: 5 fev. 2023.

FOYER, C. H. et al. Photorespiratory metabolism: Genes, mutants, energetics, and redox signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 455–484, 2009.

FOYER, C. H. Reactive oxygen species, oxidative signaling and the regulation of photosynthesis. **Environmental and Experimental Botany**, v. 154, n. May, p. 134–142, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.05.003>>.

GARCIA, I. S. et al. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* LAM. (Brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n. 2 B, p. 739–745, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/bjb/a/MbJ5GwckT8VpQTFTsnMXsHF/?lang=en>>. Acesso em: 14 fev. 2022.

GILBERT, L. et al. GDP-d-mannose 3,5-epimerase (GME) plays a key role at the intersection of ascorbate and non-cellulosic cell-wall biosynthesis in tomato. **Plant Journal**, v. 60, n. 3, p. 499–508, 2009.

GILROY, S. et al. A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. **Trends in plant science**, v. 19, n. 10, p. 623–30, 1 out. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25088679>>. Acesso em: 10 set. 2019.

HABIB, N. et al. Use of Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide for Better Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Water Deficit Conditions: Growth, Osmoregulation, and Antioxidative Defense Mechanism. v. 9, p. 285, 2020. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/plants>. Acesso em: 6 jan. 2022.

HATZIG, S. et al. Early osmotic adjustment responses in drought-resistant and drought-sensitive oilseed rape Sarah. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 56, n. 8, p. 797–809, 2014.

HAZRATI, S. et al. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of Aloe vera L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 141–148, 1 set. 2016.

HE, C. et al. DoGMP1 from *Dendrobium officinale* contributes to mannose content of water-soluble polysaccharides and plays a role in salt stress response. **Scientific Reports**, v. 7, n. June 2016, p. 1–13, 2017.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1 abr. 1968. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003986168906541>>. Acesso em: 9 set. 2019.

HOAGLAND, R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **Circular. California Agricultural Experiment Station**, v. 347, n. 2nd edit, 1950. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19500302257>>. Acesso em: 10 set. 2019.

HSU, P.-K. et al. Signaling mechanisms in abscisic acid-mediated stomatal closure. **The Plant Journal**, v. 105, p. 307–321, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tpj.15067>>. Acesso em: 16 maio. 2023.

IPCC. IPCC, 2022: Summary for Policymakers. In: PÖRTNER, H.-O. et al. (Ed.). **Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Cambridge, UK and New York, NY, US: Cambridge University Press, 2022.

IQBAL, H. et al. Hydrogen peroxide application improves quinoa performance by affecting physiological and biochemical mechanisms under water-deficit conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 204, n. 6, p. 541–553, 2018.

ISHIBASHI, Y. et al. Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 13, p. 1562–1567, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2011.02.003>>.

ISMAIL, S. Z. et al. Effects of Hydrogen Peroxide on Growth, Development and Quality of Fruits: A Review. **Journal of Agronomy**, v. 14, n. 4, p. 331–336, 2015.

JAMALUDIN, R. et al. Influence of exogenous hydrogen peroxide on plant physiology, leaf anatomy and rubisco gene expression of the *Ficus deltoidea* Jack var. *deltoidea*. **Agronomy**, v. 10, n. 4, 2020.

JEANDET, P. et al. The Role of Sugars in Plant Responses to Stress and Their Regulatory Function during Development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, 2022.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315–319, 1 fev. 1976.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **BIOLOGIA PLANTARUM**, v. 59, n. 4, p. 609–619, 2015.

KHAN, T. A.; YUSUF, M.; FARIDUDDIN, Q. Hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism: Signalling and its effect under abiotic stress. **PHOTOSYNTHETICA**, v. 56, n. 4, p. 1237–1248, 2018.

LI, Z. et al. Nitric oxide, γ -aminobutyric acid, and mannose pretreatment influence metabolic profiles in white clover under water stress. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 61, n. 12, p. 1255–1273, 2019.

LIMA NETO, M. C. et al. Cyclic electron flow, NPQ and photorespiration are crucial for the establishment of young plants of *Ricinus communis* and *Jatropha curcas* exposed to drought. **Plant Biology**, v. 19, n. 4, p. 650–659, 2017.

MARIETTE, A. et al. Not Just a Simple Sugar: Arabinose Metabolism and Function in Plants. **Plant and Cell Physiology**, v. 62, n. 12, p. 1791–1812, 2021.

MARTINAZZO, E. G. et al. Análise de crescimento e partição de assimilados em plantas de tomateiro cv. Micro-Tom submetidas ao nitrogênio e piraclostrobina. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 5, p. 3001, 21 out. 2015. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/16813>>. Acesso em: 23 ago. 2019.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, mar. 1959. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60147a030>>. Acesso em: 9 set. 2019.

MIYAKE, C. Alternative electron flows (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: Molecular mechanisms and physiological functions. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 12, p. 1951–1963, 2010.

MORRIS, D. L. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. **Science**, v. 107, n. 2775, p. 254–255, 5 mar. 1948. Disponível em: <<https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.107.2775.254>>. Acesso em: 14 fev. 2022.

MURCHIE, E. H.; LAWSON, T. Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new applications. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 13, p. 3983–3998, 2013.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867–880, 1 ago. 1981. Disponível em: <<https://academic.oup.com/pcp/article/22/5/867/1835201/Hydrogen-Peroxide-is-Scavenged-by>>. Acesso em: 20 maio. 2019.

NEILL, S. et al. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 2, p. 165–176, 2008. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jxb/article/59/2/165/535495>>.

NOGUCHI, K.; YOSHIDA, K. Interaction between photosynthesis and respiration in illuminated leaves. **Mitochondrion**, v. 8, p. 87–99, 2008. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/mito>. Acesso em: 6 fev. 2022.

NURNAEIMAH, N. et al. The Effects of Hydrogen Peroxide on Plant Growth, Mineral Accumulation, as Well as Biological and Chemical Properties of Ficus deltoidea. **Agronomy**, v. 10, n. 4, p. 1–19, 2020.

OZAKI, K. et al. Enrichment of sugar content in melon fruits by hydrogen peroxide treatment. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n. 6, p. 569–578, 1 abr. 2009.

PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: EMBRAPA - CNPGL, 1996.

PATANÈ, C. Leaf Area Index, Leaf Transpiration and Stomatal Conductance as

Affected by Soil Water Deficit and VPD in Processing Tomato in Semi Arid Mediterranean Climate. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 197, n. 3, p. 165–176, 1 jun. 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-037X.2010.00454.x>>. Acesso em: 8 set. 2019.

PEIXOTO, P. H. P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p. 137–143, 1999. Disponível em: <<http://www.cnpdia.embrapa.br/rbfv/pdfs/v11n3p137.pdf>>.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 3, p. 869–882, 2011. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jxb/article/62/3/869/478813>>.

QURESHI, M. K. et al. Hydrogen peroxide-induced stress acclimation in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 79, n. 2, p. 1–16, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00018-022-04156-x>>.

RASHID, N. et al. Exogenous Application of Biostimulants and Synthetic Growth Promoters Improved the Productivity and Grain Quality of Quinoa Linked with Enhanced Photosynthetic Pigments and Metabolomics. **Agronomy**, v. 11, n. 2302, p. 1–16, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/agronomy11112302>>.

SALAZAR, C.; HERNANDEZ, C.; PINO, M. T. Plant water stress: Associations between ethylene and abscisic acid response. **Chilean journal of agricultural research**, v. 75, p. 71–79, ago. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-58392015000300008&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 6 set. 2019.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E. et al. Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: Changes on phenolic metabolites and related enzymes. **Phytochemistry**, v. 72, n. 8, p. 723–729, 2011.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E. et al. Antioxidant response resides in the shoot in reciprocal grafts of drought-tolerant and drought-sensitive cultivars in tomato under water stress. **Plant Science**, v. 188–189, p. 89–96, 1 jun. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945211003712?via%3Dihub>>. Acesso em: 8 set. 2019.

SCHROEDER, J. I. et al. Guard cell signal transduction. **Annual Review of Plant**

Physiology and Plant Molecular Biology, v. 52, n. 1, p. 627–658, 28 jun. 2001.

Disponível em:

<<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.arplant.52.1.627>>. Acesso em: 8 set. 2019.

SHARKEY, T. D. Estimating the rate of photorespiration in leaves. **Physiologia Plantarum**, v. 73, n. 1, p. 147–152, 1 maio 1988. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1399-3054.1988.tb09205.x>>.

Acesso em: 14 fev. 2022.

SHARKEY, T. D. et al. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, n. 9, p. 1035–1040, 2007.

SHARKEY, T. D. Is triose phosphate utilization important for understanding photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 20, p. 5521–5525, 2019.

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of Environment**, v. 81, p. 337–354, 2002. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/rse>. Acesso em: 15 fev. 2022.

SINGH, R. et al. Reactive Oxygen Species (ROS): Beneficial Companions of Plants' Developmental Processes. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1299, 27 set. 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27729914>>. Acesso em: 2 set. 2019.

SPERDOULI, I.; MOUSTAKAS, M. Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p. 577–585, 2012.

SPORMANN, S. et al. Accumulation of Proline in Plants under Contaminated Soils — Are We on the Same Page? **Antioxidants**, v. 12, n. 666, p. 1–26, 2023.

SUKSOM, W. et al. Ion chromatographic analysis of monosaccharides and disaccharides in raw sugar. **Chromatographia**, v. 78, n. 13, p. 873–879, 2015.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, 2000. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/plantsci>. Acesso em: 14 fev. 2022.

VASSEY, T. L. et al. Water stress, carbon dioxide, and light effects on sucrosephosphate synthase activity in *Phaseolus vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, v. 81, n. 1, p. 37–44, 1991.

WAQAS, M. A. et al. Potential Mechanisms of Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants Induced by Thiourea. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 29 out. 2019.

WILHELM, C.; SELMAR, D. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 79–87, 2011.

XU, Q. et al. Regulation of sucrose transporters and phloem loading in response to environmental cues. **Plant Physiology**, v. 176, n. 1, p. 930–945, 2018.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. **Biochem. J**, v. 57, n. 3, p. 508–514, 1954.

ZAHOOR, R. et al. Potassium application regulates nitrogen metabolism and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) functional leaf under drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 215, n. February, p. 30–38, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2017.05.001>>.

ZHANG, Y. et al. Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 10, p. 2151–2159, 2018. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62038-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62038-6)>.

ŽIVANOVIĆ, B. et al. Leaf soluble sugars and free amino acids as important components of abscisic acid—mediated drought response in tomato. **Plants**, v. 9, n. 9, p. 1–17, 1 set. 2020.