UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

Gilmar da Silveira Sousa Junior

EFEITO DA COMBINAÇÃO DE ESTRESSES ABIÓTICOS EM ÍNDICES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PLANTAS DE MICRO TOMATEIRO

Relatórios de Pós-Doutorado realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal

Supervisora: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq - 150129/2022-0

Jaboticabal
2024

Resumo

As mudanças climáticas aumentam a incidência de estresses abióticos, como seca, salinidade e contaminação por metais pesados, afetando negativamente a produtividade das lavouras. Estresses combinados impactam as funções fisiológicas e bioquímicas das plantas, levando à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e à ativação de sistemas antioxidantes. Este estudo tem como objetivo identificar as alterações fisiológicas e bioquímicas em folhas de microtomateiro sob diferentes estresses. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em fatorial 3x2, com um tratamento adicional de controle. Os fatores representados nesse delineamento foram três condições estressantes (estresse hídrico, salinidade e cádmio) e duas intensidades de estresse (moderada e severa). Após 15 dias de germinação em bandejas com substrato e vermiculita, as mudas foram transplantadas para vasos Leonard com solução nutritiva, e os tratamentos começaram 10 dias após a aclimatação. As plantas foram expostas aos estresses em períodos de 10, 30 e 60 dias, e, ao final de cada período, amostras foram coletadas para análises de produção de biomassa, pigmentos, peroxidação lipídica e as enzimas antioxidantes, como SOD, CAT, APX, GSH-PX e GR. A exposição aos estresses abióticos reduziu a massa seca, alterou os pigmentos fotossintéticos e aumentou a produção de H_2O_2 e malondialdeído (MDA). A ativação das enzimas antioxidantes demonstra uma resposta adaptativa das plantas, ressaltando a importância de entender essas interações para desenvolver estratégias de manejo que aumentem a tolerância das culturas.

Palavras-chave: antioxidante, defesa enzimática, superóxido dismutase, catalase.

1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas estão exacerbando a incidência da maioria dos estresses abióticos nas lavouras. O Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC), formado em setembro de 2013, relata que a seca vai abranger grandes regiões do mundo (Ferreira, 2019). Além disso, o nível inadequado do lençol freático é uma problemática assustadora para o produtor.

Na natureza, o estresse geralmente não vem de forma isolada e muitos estresses agem de forma sinérgica. Algumas pesquisas demonstraram que as respostas das plantas aos estresses abióticos combinados são específicas e não podem ser explicadas unicamente pelo estudo das respostas desenvolvidas a um único estresse (Rawat et al., 2021). Com isso alguns autores tem destacando a importância de estudar estresses abióticos combinados, em vez de estudá-los separadamente (Lawas et al. 2018 , Zandalinas et al. 2018, García-Martí et al. 2019; Rawat et al. 2021).

A limitação causada pelos estresses abióticos na produtividade das culturas, principalmente devido a modificações nas funções fisiológicas da plantas, são demonstradas por vários autores, entre estes estresses, a escassez hídrica, poluição por metais pesados e o estresse salino são os mais danosos (Lawlor, 2002; Rellán-Álvarez et al. 2006; Jaleel et Al. 2007; Turkyilmaz et al. 2012; Hayat et al. 2014; Gratão et al. 2015; Akram et al. 2016; Alves et al. 2019; Chiconato et al., 2020;).

As condições da deficiência hídrica estão relacionadas à escassez de água e ao acesso de água à planta (Jaleel et al. 2007), causando efeitos subversivos na cultura (Song et al. 2012). No mundo, o déficit hídrico atua como um fator primário na redução da produção agrícola mais do que o efeito combinado de todos os patógenos que afetam a produção agrícola (Gupta et al. 2020). Precipitações infrequentes e má irrigação nas áreas geralmente levam ao déficit hídrico porque há falta de água disponível (Song et al. 2012). As plantas frequentemente sofrem os efeitos do déficit hídrico quando a água do solo se torna indisponível, e com isso, as taxas de transpiração e evaporação são muito altas (Sakcali et al., 2008). Na maior parte das vezes, os efeitos comuns da escassez de água no crescimento das plantas são bem conhecidos, mas os

conhecimentos sobre as mudanças bioquímicas que ocorrem ainda são incipientes (Shao et al. 2008).

Assim, como a deficiência hídrica, a salinidade do solo é um problema mundial que ameaça o crescimento e o rendimento das safras, impedindo o desenvolvimento sustentável da agricultura moderna. Mais de um terço das terras irrigadas do mundo são afetadas pela salinização (Pedrotti et al. 2015). O estresse salino inibe o acúmulo de biomassa vegetal, atrasa o desenvolvimento da planta e reduz a atividade fotoquímica. García-Sánchez et al., (2020) observaram que existem três mecanismos principais onde a salinidade pode afetar as plantas, incluindo a indução de desequilíbrio osmótico, a interrupção da homeostase iônica e o aparecimento de estresse oxidativo. O estresse salino pode diminuir o potencial osmótico, o que resulta no fechamento estomático das plantas, o que consequentemente limita a absorção de água (García-Sánchez et al. 2020). Sendo assim, torna-se necessário a compreensão à tolerância ao estresse salino nas lavouras para uma segurança alimentar global. Para atingir esse objetivo, é necessário que novas pesquisas se atentem como a alta salinidade afeta os aspectos fisiológicos e bioquímicos, das plantas.

Por outro lado, a poluição causada pelo cádmio (Cd) é também considerada um dos problemas ambientais de maior severidade (Lux et al. 2011). As ações antropogênicas aumentaram de maneira drástica a contaminação por Cd. Nas últimas cinco décadas, o lançamento mundial de Cd estendeu-se gradativamente (Costa et al. 2012). O Cd afeta os aspectos morfológicos, bioquímicos e fisiológicos do desenvolvimento das plantas, inibindo a fotossíntese e a respiração, reduzindo a absorção de água e nutrientes, alterando a expressão de genes e proteínas, induzindo e inibindo enzimas, aumentando o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) e aumentando a peroxidação lipídica (Gratão et al. 2015). Este metal pesado pode se acumular em organismos e mesmo baixas concentrações representam um enorme risco cancerígeno (Alves et al, 2019). Normalmente, a maioria dos metais ocorre no solo em formas que não estão prontamente disponíveis para absorção pela planta. Na solução do solo, o Cd ocorre predominantemente como Cd^{2+} e também como íons complexos ($CdCl^{+}$, $CdOH^{+}$, $CdHCO^{3+}$, $CdCl_4$, $Cd(OH)_3$ e $Cd(OH)_4$, orgânico complexos e quelatos de Cd (Verbruggen et al. 2009). O Cd afeta o estado nutricional da planta provavelmente por inibir os transportadores deoutros elementos na parte aérea da planta (Sandalio et al., 2001), ou por inibir as atividades de enzimas relacionadas ao metabolismo dos elementos (Sanchez-Pardo et al. 2013). Além disso, o Cd causa um

desequilíbrio no redox da célula controlada, desencadeando várias vias bioquímicas, incluindo as ERO, causando estresse oxidativo e, consequentemente, indução de sistemas antioxidantes (Gratão et al. 2015; Iannone et al. 2015).

Enquanto as plantas estiverem sendo cultivadas em condições ambientais variáveis, elas vão estar expostas a diferentes tipos de estresses abióticos. Alguns autores demonstraram que a resposta da planta aos estresses abióticos combinados difere significativamente quando comparados com o estresse individual (Atkinson, Urwin 2012 , Jin et al. 2016). Pellinen et al., (2002) relataram que as mudanças ambientais, acarretam as problemáticas em relação os estresses causados pelo déficit hídrico, salinidade e contaminação por metais pesados e esses são uma fonte de estresse ao qual as plantas costumam responder pela produção excessiva de ERO. Segundo Jin et al., (2016) o dano à membrana causado pelo estresse combinado é mais grave do que o estresse único, e esse dano pode ser mensurado pelo aumento do conteúdo de malondialdeido (MDA) durante o estresse combinado. He et al., (2018) demonstram que não somente o conteúdo de MDA é aumentado, mas também outras respostas são induzidas por estresses abióticos combinados, como o estresse osmótico e desnaturação de proteínas.

À medida que o estresse se torna mais intenso/severo, tanto as reações fisiológicas quanto as relações bioquímicas diminuem como resultado da redução das atividades enzimáticas (Ghannoum, 2009). Diferentes tipos e severidades de estresse abiótico e o período de exposição ao estresse abiótico têm sido estudados para a modulação da homeostase interna da planta (Alkhsabab et al, 2018). As ERO, particularmente H_2O_2, são moléculas sinalizadoras que iniciam a sinalização intracelular e sistêmica ou promovem o estresse oxidativo e desencadeiam a sinalização associada à morte celular (Vranová et al. 2002).

Os organismos desenvolveram sistemas enzimáticos e não enzimáticos para atuar como mecanismos de defesa contra os efeitos das ERO para manter o equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes para o funcionamento eficiente das células. O sistema não enzimático de defesa de ERO inclui carotenoides, GB e Pro enquanto o sistema enzimático inclui superóxido dismutases, peroxidases, catalases e enzimas que oxidam ou reduzem o ascorbato, como a glutationa redutase (Dias et. al. 2014; Chiconato et. al 2019; Checchio et al., 2021), ambos os sistemas cooperam para formar um mecanismo complementar que controla as concentrações de ERO no organismo.

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é a segunda cultura vegetal com maior produção global depois da batata, com uma produção de 164 milhões de toneladas (Conab, 2020). O tomate é consumido em todo o mundo, tanto para consumo in natura quanto para processamento industrial. Vários estudos relatam os efeitos benéficos do tomate na alimentação humana (Adalid et al. 2010; Lin et al. 2014). O tomate é amplamente adotado como planta modelo experimental em diferentes campos de pesquisa de plantas, especialmente para aquelas características para as quais *Arabidopsis* não é uma opção adequada (Carvalho et al. 2011).

A cultivar Micro Tom (MT) foi originalmente criada para uso como planta ornamental (Scott, Harbaugh. 1989), que simplificou o cultivo de tomates em pequenos espaços e se estabeleceu como um dos modelos mais importantes em genética e estudos de fisiologia de plantas cultivadas (Campos et al. 2010). O fenótipo de Micro-Tom é o resultado de duas mutações recessivas chaves: anão (d) e miniatura (mnt) (Meissner et al. 1997). Essas mutações provocaram redução no tamanho e seu ciclo se completa entre 70 e 90 dias, proporcionando estudar em um período mais curto o ciclo completo da vida, incluindo floração e frutos.

Embora o tomate seja uma cultura de clima temperado, a cultura está sendo cultivada em diversas zonas climáticas, o que torna o cultivo do tomate mais desafiador (Chaudhary et al. 2019). Frequentemente, a produtividade e o rendimento das colheitas são severamente afetados pelas mudanças nas condições ambientais. Essas mudanças ambientais ocasionam áreas escassas para a agricultura, submetendo o produtor a buscar novas regiões de plantio, e por muitas vezes este se depara com áreas em regiões contaminadas e inóspitas para sua produção. Tendo em vista está problemática, o impacto de pesquisas que possam gerar dados quanto à resposta das plantas aos estresses é extremamente importante frente à possibilidade do uso de plantas que sejam tolerantes a estes estressores em áreas as quais não são utilizadas na atividade agrícola, impedindo o conflito entre a demanda pela produção e a disponibilidade de áreas agricultáveis.

Ainda que as plantas tentem a se adaptar aos estresses, os mecanismos de tolerância não são claros (Reddy et al. 2004; Kishor et al. 2005). A adaptação aos estresses abióticos é intrincada devido à complexidade das interações entre os fatores de estresse e as respostas no crescimento e evolução das plantas em níveis fisiológicos e bioquímicos (Ashraf, Harris. 2004). O principal objetivo do melhoramento de safras é

alcançar um alto rendimento da safra sob estresse (Blum, 1996), ou que pelo menos este seja satisfatório.

O efeito da combinação de estresse abióticos induz mecanismos diferentes de resposta, como a produção de ERO, peroxidação lipídica, desnaturação de proteínas e defesa antioxidante enzimática e não enzimática diferindo do efeito de cada estresse individual. Dessa forma, este estudo tem como objetivo identificar alterações nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos, em folhas de micro tomateiro sob diferentes condições, intensidade e período de exposição de estresses abióticos.

2. METODOLOGIA

2.1. Material vegetal

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) tem sido uma excelente planta modelo, tanto para pesquisas básicas quanto aplicadas, o qual foi potencializado com o a criação da cv. Micro-tom (MT). O tomateiro em miniatura MT é um mutante em tamanho, cujo ciclo se completa entre 70 e 90 dias, propiciando o estudo completo durante todo o seu ciclo de vida, inclusive com estudo dos frutos, num período mais curto do que os estudos envolvendo tomateiros de porte normal.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no departamento de Biologia da UNESP/FCAV *Campus* Jaboticabal. As sementes do micro tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-tom) foram germinadas em bandejas de germinação, contendo substrato composto por uma mistura de Basaplant® e vermiculita na proporção de 1:1. Após 15 dias da semeadura foram realizados o transplantio das mudas para vasos Leonard contendo substrato composto por uma mistura de Basaplant® e solução nutritiva padrão de Hoagland e Arnon (1950).

Os vasos receberão a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada como descrito por Pino-Nunes (2005), nas concentrações de 25% por 48h, 50% por mais 48h e depois deste período, a concentração foi alterada para 100% e permanecera por todo o experimento, trocada semanalmente mantendo o volume de 250 mL/vaso por troca.

Os tratamentos foram iniciados 48h após as plantas receberem 100% da concentração total da solução nutritiva e foram mantidas até o momento da coleta final, conforme o tempos de exposição ao estresse – 10, 30 e 60 dias.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial 3x2, com 1 tratamento adicional (Controle), sendo os fatoriais representados por três condições estressantes (estresse hídrico, salinidade e cádmium) e duas intensidades de estresse – moderado e severo. Para o estresse hídrico a intensidade foi feita em solução nutritiva com polietilenoglicol 6000 no potencial osmótico correspondentes a 0,00 (controle), -0,40Mpa (moderado) e -1.00 Mpa (severo); o estresse salino teve sua intensidade em solução nutritiva contendo 0mM (controle), 40mM de NaCl (moderado) e 120 mM de NaCl (severo) e o estresse por Cd teve sua intensidade em solução nutritiva com 0,0mM de $CdCl_2$ (controle), 0,25 mM de $CdCl_2$ (moderado) e 0.5 mM $CdCl_2$ (severo).

Para o tratamento em exposição a 10 dias de estresse, foram necessárias 25 repetições, já para o tratamento em exposição a 30 dias foram necessárias 15 repetições e para o tratamento com 60 dias de exposição foram necessárias 10 repetições, a fim de suprir a necessidade em material vegetal para as analises, fisiológicas e bioquímicas. Ao final dos dias de exposição as amostras foram armazenadas no ultrafreezer a - 80º C para as análises laboratoriais.

Variáveis a serem analisadas: as análises laboratoriais foram realizadas no laboratório de Fisiologia Vegetal localizado no departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da UNESP/FCAV *Campus* Jaboticabal:

a) Produção de biomassa: as análises baseiam-se na biomassa seca em gramas produzida após secagem do material vegetal em estufa a 60°C até peso constante.

b) Análise de pigmentos: 2 anéis foliares (0,050 gramas) foram retirados de 3 plantas de cada tratamento e colocados imediatamente em tubos de 2 ml protegidos da luz com 2 ml de acetona P.A. As amostras foram colocadas para agitação em shaker por 96 horas a 60 RPM á temperatura de 4ºC. As leituras foram feitas por espectrofotômetro em cubeta de quartzo no comprimento de onda 470 nm para Carotenóides, 645 nm e 662 nm para Clorofila. O branco foi feito com acetona P.A. (Hartmut e Lichtentlaler, 1987).

c) Caracterização do estresse oxidativo: foi realizada pela análise da peroxidação lipídica, através da quantificação do conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), dentre as quais se destaca o MDA. Por meio desta análise caracterizamos os danos aos lipídios das membranas, que são um dos principais e primeiros alvos dos fatores de estresse. A peroxidação lipídica foi realizada pelo teste do TBA (ácido 2-tiobarbitúrico). O teor de substâncias reativas ao ácido (TBARS) é quantificado como produtos finais do processo de peroxidação de lipídios, com leituras a 535 e 600nm. O teor de MDA foi calculado conforme a equação específica para a reação (Mihara et al. 1980).

d) Conteúdo de peróxido de hidrogênio: o método baseia-se na oxidação do Fe^{2+} pelo H_2O_2 a Fe^{3+} em pH ácido, resultando na formação de compostos entre o Fe^{3+} e o xilenolorange (XO) (Hermes-Lima et al. 1995). As amostras foram extraídas em metanol 0°C, na relação de 1:5 (w/v) entre mg de amostra e µL de metanol. Após a maceração, as amostras serão centrifugadas a 10000 rpm por 5 min. Uma alíquota de 100 µL será retirada do sobrenadante, à qual serão adicionados 500 µL de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$1 mM e 200 µL de $HSO_4$250 mM. A mistura permanecerá em reação por 5 min sob condições de escuro. A seguir 100 µL de XO 1 mM serão adicionados e a mistura será novamente levada à condição de escuro por 20 min. O H_2O_2 presente nas amostras doa elétrons para o Fe e este por sua vez liga-se ao XO formando um composto roxo. Os complexos Fe-XO serão formados durante o tempo de incubação de 30 min à temperatura ambiente. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 560 nm e uma curva padrão será estabelecida com concentrações conhecidas de H_2O_2: 0 – 2,5 – 5 – 7,5 – 10 – 12,5 - 15µM H_2O_2 em metanol;

e) Extração e quantificação de proteínas solúveis totais para análises das enzimas antioxidantes: as amostras de material vegetal fresco foram maceradas em N_2 líquido, em geral de porcelana e homogeneizadas em tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) contendo 1 mM EDTA, 3 mM DTT e 4% PVPP. A mistura foi centrifugada a 10.000 g por 30 min a 4°C. O sobrenadante será dividido em alíquotas, mantidas a -80°C para serem utilizadas nos ensaios enzimáticos (Azevedo et al. 1998);

f) Enzimas antioxidantes: o método de extração para as análises enzimáticas seguiu a metodologia de Azevedo et al. (1998) e a quantificação das proteínas foi realizada por Bradford (1976):

- *Superoxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1):* foi determinada espectrofotometricamente pelo método do cloreto de nitrotetrazólio azul (Giannopolitis e Ries, 1977). O meio de ensaio continha 50 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,8), 50 mM de metionina, 10 mM de ácidoetilenodiaminotetracético (EDTA), 1 mM de cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT) e 0,1 mM de riboflavina e extrato vegetal. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir fotoquimicamente a redução de NBT em 50% a 560 nm. A atividade da SOD foi expressa como U SOD mg-1de proteína.

- *Glutationa redutase (GR, EC 1.6.4.2):* sua atividade foi determinada em espectrofotômetro (412 nm) a 30˚C**.** A solução de reação consiste da mistura de 1 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,5 + 500µL de 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid), DTNB. Esta mistura foi mantida em banho-Maria a 30°C. No momento da leitura em espectrofotômetro, serão adicionados 1 mM de glutationa oxidada + 0,1 mM NADPH e 50 µL de extrato. A atividade da GR foi estimada pela redução da glutationa oxidada durante 1 minuto (Azevedo et al. 1998; Cakmak e Horst 1991).

- *Ascorbato peroxidase (EC 1.11.1.11):* a determinação da atividade da APX seguiu a metodologia de Cakmak e Horst (1991). A mistura de reação consistituiu de uma solução contendo 650 µL tampão fosfato de potássio 80 mM pH 7,0; 100µL de ascorbato5 mM; 100 µL de EDTA 1 mM, permanecendo em banho a 30°C. No momento da leitura serão adicionados 100 µL de $H_2O_2$1 mM e 50 µL de extrato. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 290 nm por 1min, considerando-se a decomposição do H_2O_2.

- *Conteúdo de GSH-Px:* o conteúdo de GSH foi determinado seguindo a metodologia de Anderson (1985). Folhas (500 mg) foram homogeneizadas em 2.0 ml de solução de acidosulfosalicilico (5%) sob gelo. O homogeneizado foi centrifugado por 10 000 rpm por 10 minutos. 0,5 ml do sobrenadante será adicionado em em 0,6 ml de tampão

fosfato (100mM, pH 7,0) e 40 µL de ácido 5’ 5’-dithiobis-2-nitrobenzoico. Depois de dois minutos foi feita a leitura á 412 nm.

- *Conteúdo de Catalase:* A atividade da catalase (CAT) foi determinada pela decomposição de H_2O_2 monitorada em espectrofotômetro durante 1 min a 240 nm. O meio reacional foi composto por 100 mmol L^{-1} de tampão fosfato de potássio (pH 7,5) e H_2O_2 (solução a 30%) (Cia et al. 2012). Os valores foram expressos em $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ de proteína.

Os experimentos foram conduzidos utilizando 1 planta para cada uma das repetições. Salienta-se que, para as análises bioquímicas, as leituras em espectrofotômetro para cada repetição, foram realizadas em triplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

Na análise dos dados da Tabela 1, que apresenta a massa seca de plantas de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias, observamos variações significativas ao longo do tempo e entre os tratamentos. Aos 10 dias de exposição ao estresse o tratamento controle apresentou a maior massa seca, embora não tenha diferido estatisticamente do tratamento hídrico médio. As condições de estresse hídrico severo e os tratamentos de estresse salino também apresentaram reduções na massa seca, mas não foram significativamente diferentes entre si. Os estresses causados pelo cádmio, tanto em níveis médios quanto severos, resultaram nas menores massas secas, sendo significativamente inferiores ao controle. Aos 30 dias de exposição o controle manteve o maior valor de massa seca, sendo significativamente superior a todos os outros tratamentos. Todos os tratamentos de estresse hídrico, salino e por cádmio apresentaram massas secas inferiores ao controle. Embora as variações entre esses tratamentos tenham sido pequenas, observam-se diferenças estatísticas entre os tratamentos mais leves (hídrico e salino médio) e os mais severos (salino severo e cádmio severo). A diferença entre os tratamentos se acentua após 60 dias de estresse. O controle mantém a maior massa seca, significativamente superior à maioria dos tratamentos. Os tratamentos com estresse hídrico e salino médio mantiveram massas secas relativamente próximas, sendo ambos os tratamentos ainda superiores ao cádmio

severo. O tratamento com cádmio severo continuou apresentando o pior desempenho em termos de massa seca, refletindo o efeito negativo acumulado desse estresse ao longo do tempo. A massa seca das plantas diminui progressivamente com o aumento da severidade dos estresses aplicados. O controle manteve consistentemente o melhor desempenho ao longo dos períodos analisados. Os estresses mais severos, especialmente aqueles relacionados ao cádmio, foram os que mais comprometeram o acúmulo de massa seca, destacando a toxicidade desse elemento.

Tabela 1. Massa seca de plantas de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias.

	Massa Seca		
	10 dias	**30 dias**	**60 dias**
Controle	0,275aC	1,4aB	2,73cA
Hidrico Médio	0,267aC	1,2aB	2,73cA
Hidríco Severo	0,24bC	1,2aB	3,9bA
Salino Médio	0,259bC	1,1aB	5aA
Salino Severo	0,23cC	1,6aB	3,3bA
Cádmio Médio	0,231cC	1,3aB	2,9cA
Cádmio Severo	0,21dC	1,3aB	3,4bA
CV%	3,64	5,9	7,2

Letras minúscula iguais entre os tratamento no tempo de exposição ao estresses e letras maiúsculas iguais nos tempos de exposição ao estresse não mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A Tabela 2 apresenta os teores de clorofila **a**, clorofila **b** e carotenoides em plantas de microtom expostas a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias. Clorofilas e carotenoides são pigmentos essenciais para o processo fotossintético, sendo a clorofila **a** responsável pela captação da luz e conversão em energia química, enquanto a clorofila **b** tem um papel complementar na absorção de luz em outros comprimentos de onda. Os carotenoides atuam principalmente na proteção das plantas contra o excesso de luz e danos oxidativos. Aos 10 dias a clorofila **a**, clorofila **b** e carotenoides não apresentaram diferença significativa. Aos 30 dias, observa-se uma leve redução nos teores de clorofila **a** nos tratamentos mais severos, especialmente o cádmio severo e salino severo, enquanto o controle manteve-se estável. Isso indica que o estresse começa a afetar a produção de clorofila, especialmente sob condições de estresse por cádmio. A clorofila **b** mostra uma queda mais pronunciada nos tratamentos severos, refletindo o efeito cumulativo do estresse sobre a eficiência fotossintética. Para os carotenoides, os

tratamentos com estresse hídrico e cádmio severo apresentaram teores mais baixos em comparação com o controle. Nos 60 dias de exposição a clorofila **a** apresentou uma queda significativa em todos os tratamentos severos. Esses dados sugerem que a clorofila **a** ainda está ativa mesmo sob estresse prolongado, mas há uma leve diminuição em condições severas. A clorofila **b**, por sua vez, teve uma queda mais acentuada em estresses severos, como no cádmio severo, sugerindo que essa forma de clorofila é mais sensível a danos causados por estresse a longo prazo. Os carotenoides mantiveram um padrão estável no controle, mas em estresses severos, especialmente o cádmio severo, houve uma redução, indicando um menor potencial antioxidante das plantas sob esse tipo de estresse.

Tabela 2. Teor de clorofila a, clorofila b, e carotenoides de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias.

	Clorofila a			**Clorofila b** µg mL			**Carotenoides**		
	10 dias	**30 dias**	**60 dias**	**10 dias**	**30 dias**	**60 dias**	**10 dias**	**30 dias**	**60 dias**
Controle	9,48 a	10,1 a	13,46 a	5,55 a	5,87 b	6,72 a	6,81 a	6,78 d	6,38 b
Hidrico Médio	9,46 a	10,6 a	12,19 b	5,54 a	5,67 c	6,51 a	6,82 a	7,11 c	6,44 b
Hidríco Severo	9,45 a	9,95 a	10,07 c	5,54 a	5,65 c	5,14 c	6,81 a	7,68 a	6,34 b
Salino Médio	9,45 a	9,94 a	13,23 a	5,54 a	5,6 c	6,31 a	6,81 a	6,78 d	7,51 a
Salino Severo	9,41 a	9,34 b	12,18 b	5,53 a	5,76 b	5,17 c	6,88 a	7,11 c	6,16 c
Cádmio Médio	9,42 a	9,45 b	11,09 c	5,53 a	5,87 b	6,01 b	6,85 a	7,32 b	8,54 a
Cádmio Severo	9,41 a	8,38 b	9,19 d	5,52 a	6,9 a	4,81 d	6,84 a	7,24 b	7,89 a
CV%	1,1	2,4	2,8	1,5	1,3	2,23	1,2	1,5	1,09

Letras minúsculas iguais entre os tratamentos não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados apresentados na Tabela 3 refletem as concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e de ácido malondialdeído (MDA) na parte aérea de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por períodos de 10, 30 e 60 dias. O H_2O_2 é uma espécie reativa de oxigênio (ERO) com papel importante em respostas de plantas a estresses abióticos. Ele pode atuar tanto como molécula sinalizadora quanto como agente causador de danos oxidativos às células. No presente estudo, observa-se um aumento generalizado na produção de H_2O_2 conforme a severidade e o tempo de estresse aumentam. O tratamento sob estresse hídrico severo resultou nas maiores concentrações de H_2O_2 após 10 dias, com um leve aumento após 30 e 60 dias. Condições de estresse salino médio e severo também induziram o acúmulo de H_2O_2,

com valores que atingem um pico aos 30 dias, mas apresentando uma diminuição posterior. Já o estresse por cádmio apresentou uma resposta diferenciada, com concentrações significativamente elevadas de H_2O_2 no tratamento severo aos 10 dias, mas com valores relativamente menores após 30 e 60 dias. Essa variação nos níveis de H_2O_2 sugere um ajuste da planta às condições de estresse ao longo do tempo, com respostas mais intensas nas fases iniciais.

O MDA é um marcador de dano oxidativo à membrana celular, proveniente da peroxidação lipídica. Seus níveis refletem diretamente a extensão dos danos causados pelo estresse oxidativo. O tratamento hídrico severo resultou em um aumento no MDA aos 60 dias, indicando maior peroxidação lipídica e, consequentemente, maior dano celular. O estresse salino severo apresentou um padrão de aumento progressivo no MDA aos 30 dias, mas com uma redução considerável aos 60 dias, o que pode indicar uma resposta de tolerância das plantas ao longo do tempo. Similar ao H_2O_2, o estresse por cádmio severo causou elevados níveis de MDA aos 10 dias e manteve níveis elevados aos 60 dias, sugerindo que o cádmio induz um estresse oxidativo mais prolongado e severo.

Tabela 3. Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) d e ácido malondialdeído (MDA) da parte aérea de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10 dias, 30 dias e 60 dias.

	Peróxido de Hidrogênio (μmol g^{-1} Massa Fresca)			**MDA** (nmol/g Massa Fresca)		
	10 dias	**30 dias**	**60 dias**	**10 dias**	**30 dias**	**60 dias**
Controle	8,34 d	10,14 e	10,56 f	18,47 d	25,17 c	15,10 c
Hidrico Médio	8,5 d	33,59 a	21,2 c	25,39 c	25,81 c	18,05 c
Hidríco Severo	13,06 c	34,59 a	29,85 a	27,47 b	25,81 c	28,9 a
Salino Médio	9,1 d	32,63 ab	17,4 d	24,05 c	23,56 d	18,52 c
Salino Severo	15,34 b	29,67 b	24,6 b	25,09 c	35,30 a	17,46 c
Cádmio Médio	15,15 b	14,50 d	25,8 b	30 b	29,32 b	16,9 c
Cádmio Severo	23,37 a	18,43 c	29,9 c	51,68 a	28,90 b	21,17 b
CV%	11,2	12,4	18,7	7,6	5,6	8,4

Letras iguais entre os tratamentos não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados da Tabela 4 apresentam a atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) na parte aérea de microtom após diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias. A SOD é uma enzima antioxidante essencial que catalisa a dismutação do radical superóxido (O_2^-) em oxigênio e peróxido de hidrogênio, sendo uma das principais defesas da planta contra o estresse oxidativo. A atividade da SOD é frequentemente elevada em plantas submetidas a estresses abióticos como forma de reduzir o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) e minimizar os danos oxidativos. A atividade da SOD aumentou significativamente no tratamento hídrico severo aos 10 dias, com um leve aumento aos 30 dias, mas apresentando uma queda aos 60 dias. Esse comportamento pode sugerir uma resposta rápida ao estresse hídrico nos primeiros dias, seguida de um declínio na atividade enzimática conforme o estresse persiste. O estresse salino, tanto médio quanto severo, apresentou um aumento significativo na atividade da SOD aos 10 dias, com um pico aos 30 dias no tratamento médio. A atividade diminui levemente aos 60 dias, mas permanece elevada em comparação ao controle. As plantas submetidas ao cádmio severo mostraram atividade aumentada de SOD aos 10 dias e mantiveram altos níveis de atividade até os 60 dias. Esse padrão sugere que o cádmio induz uma resposta antioxidante prolongada, com a SOD desempenhando um papel crucial na mitigação do estresse oxidativo causado pelo metal. Os tratamentos de estresse, em geral, resultaram em um aumento na atividade de SOD, particularmente nos estágios iniciais (10 a 30 dias). O estresse hídrico e o salino apresentaram padrões semelhantes, com a atividade enzimática alcançando um pico em torno dos 30 dias, enquanto o estresse por cádmio demonstrou uma resposta mais prolongada e consistente ao longo dos 60 dias.

Tabela 4. Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) da parte aérea de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias.

	SOD ($Umin^{-1}$ mg $proteina^{-1}$)		
	10 dias	**30 dias**	**60 dias**
Controle	9,97 d	15,4 b	25,18 a
Hidrico Médio	11,75 c	14,9 b	21,48 c
Hidríco Severo	17,21 a	17,65 a	15,38 d
Salino Médio	12,04 c	16,4 ab	19,1 c
Salino Severo	14,3 b	15,4 b	19,2 c

Cádmio Médio	11,3 c	14,8 b	22,9 b
Cádmio Severo	17,03 a	18,1 a	19,6 c
CV%	8,3	3,2	9,3

Letras minúscula iguais entre os tratamentos não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A catalase (CAT) é uma enzima antioxidante essencial nas plantas que catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio. Esta reação é vital para proteger as células vegetais dos danos oxidativos causados pelo acúmulo excessivo de H_2O_2, que é um subproduto comum de processos metabólicos, especialmente sob condições de estresse.

Os resultados da Tabela 5 mostram que a atividade da catalase (CAT) variou significativamente conforme as diferentes condições de estresse e os tempos de exposição de 10 e 30 dias. Após 10 dias, a atividade de CAT foi menor no controle e em plantas sob estresse hídrico médio, enquanto os maiores níveis foram observados sob estresse salino médio e severo, além de cádmio médio e severo. Aos 30 dias, a atividade de CAT aumentou em todas as condições, com os maiores níveis novamente sob estresse salino severo e cádmio severo.

No entanto, não foi possível mensurar a atividade de catalase aos 60 dias, o que interfere na compreensão completa da resposta antioxidante das plantas ao estresse prolongado. A falta de medições pode sugerir uma diminuição drástica na atividade enzimática devido ao estresse prolongado, resultando em danos celulares irreversíveis ou esgotamento das defesas antioxidantes.

Tabela 5. Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) da parte aérea de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias.

	CAT ($Umin^{-1}$ mg^{-1} proteina)		
	10 dias	**30 dias**	**60 dias**
Controle	70,33 b	80,4 b	0,0
Hidrico Médio	77,5 b	81,2 b	0,0
Hidríco Severo	114,1a	121,1 a	0,0
Salino Médio	117,5 a	124,6 a	0,0
Salino Severo	112,4 a	125,2 a	0,0

Cádmio Médio	116 a	123,7 a	0,0
Cádmio Severo	115 a	126,8 a	0,0
CV%	12,5	18,7	0,0

Letras minúscula iguais entre os tratamentos não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados da Tabela 6 apresentam a atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11). A APX é uma enzima-chave no sistema antioxidante das plantas, responsável por catalisar a conversão do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água, utilizando o ascorbato como doador de elétrons. A atividade da APX aumentou de forma diferenciada dependendo do tipo e da severidade do estresse. No estresse hídrico severo, a atividade da APX aumentou aos 10 dias, apresentou um declínio significativo aos 30 dias e voltou a aumentar aos 60 dias. Isso sugere uma oscilação na capacidade antioxidante ao longo do tempo, com uma resposta mais intensa na fase inicial e final. O estresse salino, tanto médio quanto severo, apresentou um aumento acentuado na atividade de APX aos 10 dias. No tratamento severo, a atividade continuou elevada até os 60 dias, refletindo uma resposta antioxidante consistente durante todo o período de estresse. No tratamento com cádmio severo, a APX atingiu valores ainda mais elevados aos 10 dias, e manteve altos níveis aos 60 dias. Esse padrão indica uma resposta antioxidante prolongada, sugerindo que o cádmio causa um estresse oxidativo mais agressivo e duradouro.

Os dados indicam que a atividade de APX é fortemente modulada pelas condições de estresse, com os tratamentos mais severos (salino severo e cádmio severo) resultando nas maiores atividades enzimáticas, principalmente após 60 dias de estresse. O estresse hídrico apresentou um comportamento diferente, com uma oscilação na atividade de APX, sugerindo que a planta pode ter variado sua resposta antioxidante ao longo do tempo.

Tabela 6. Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) da parte aérea de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias.

	APX ($\mu mol\ min^{-1}\ mg^{-1}$ proteina)		
	10 dias	**30 dias**	**60 dias**
Controle	480 f	501 c	655 e

Hidrico Médio	548 e	540 c	666 e
Hidríco Severo	606 d	345 d	785 d
Salino Médio	543 e	552 c	673 e
Salino Severo	783 b	713 b	800 c
Cádmio Médio	709 c	821 a	878 b
Cádmio Severo	883 a	732 b	980 a
CV%	9,93	10,23	25,4

Letras minúscula iguais entre os tratamentos não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados da Tabela 7 apresentam a atividade da glutationa peroxidase (GSH-Px, EC 1.11.1.9). A GSH-Px é uma enzima antioxidante importante que protege as células contra o estresse oxidativo, catalisando a redução do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos, utilizando o glutationa reduzido (GSH) como substrato. A atividade da GSH-Px variou de acordo com o tipo e a severidade dos estresses aplicados. O estresse hídrico severo induziu um aumento significativo na atividade de GSH-Px aos 10 dias, com um incremento contínuo aos 30 dias e 60 dias. Isso demonstra uma resposta antioxidante crescente e sustentada ao longo do período de estresse. As plantas submetidas ao estresse salino médio e severo também apresentaram um aumento considerável na atividade de GSH-Px, indicando uma resposta progressiva e eficaz para neutralizar o estresse oxidativo. O tratamento com cádmio severo resultou nas maiores atividades de GSH-Px entre todos os tratamentos. Esses altos valores refletem a forte indução da resposta antioxidante devido ao estresse tóxico do cádmio, sugerindo que o metal é um dos mais danosos em termos de produção de ERO. A atividade de GSH-Px foi acentuadamente aumentada em todos os tratamentos de estresse, com destaque para o estresse severo por cádmio e salinidade, onde a atividade enzimática continuou crescendo de maneira consistente ao longo dos 60 dias. Em comparação, o controle manteve níveis de atividade significativamente mais baixos em todos os períodos, destacando a importância da GSH-Px em condições de estresse.

Tabela 7. Glutationa peroxidase (GSH-Px, EC 1.11.1.9) da parte aérea de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias.

	GSH-PX ($\mu mol\ min^{-1}\ mg^{-1}$ proteina)		
	10 dias	**30 dias**	**60 dias**
Controle	298 d	312 e	418 f

Hidrico Médio	276 d	435 d	543 e
Hidríco Severo	365 c	567 c	734 c
Salino Médio	381 b	598 c	654 d
Salino Severo	385 b	675 b	774 c
Cádmio Médio	403 a	672 b	867 b
Cádmio Severo	421 a	789 a	943 a
CV%	11,2	14,5	16,2

Letras minúscula iguais entre os tratamentos não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A Tabela 8 apresenta a atividade da glutationa redutase (GR, EC 1.6.4.2). A GR é uma enzima chave no ciclo da glutationa, crucial para a manutenção do equilíbrio redox celular, reduzindo o glutationa dissulfeto (GSSG) à sua forma reduzida (GSH). A atividade da GR apresentou variações significativas em resposta aos diferentes tipos e níveis de estresse, bem como ao longo do tempo. No tratamento controle, os valores de GR permaneceram relativamente constantes aos 10, 30 e 60 dias sem apresentar aumentos expressivos. Em contraste, nos tratamentos sob estresse, a atividade da GR foi significativamente maior, indicando uma resposta adaptativa ao estresse oxidativo. Nos tratamentos com estresse hídrico, a condição severa resultou em um aumento na atividade da GR, particularmente aos 60 dias em comparação ao controle e ao estresse médio. Da mesma forma, no estresse salino, o aumento da atividade foi mais pronunciado na condição severa. Sob estresse por cádmio, tanto o nível médio quanto o severo resultaram em maiores incrementos na atividade da GR, com destaque para o tratamento severo aos 60 dias. Esses resultados indicam que a GR desempenha um papel fundamental na defesa antioxidante das plantas em resposta a diferentes tipos de estresse abiótico, com respostas mais acentuadas nos estágios avançados de exposição e nas condições de maior severidade, especialmente no estresse por cádmio.

Tabela 8. Glutationa redutase (GR, EC 1.6.4.2) da parte aérea de microtom após exposição a diferentes condições de estresse por 10, 30 e 60 dias.

	GR ($\mu mol\ min^{-1}\ mg^{-1}$ proteina)		
	10 dias	**30 dias**	**60 dias**
Controle	4,1 c	4,89 d	4,94 d
Hidrico Médio	4,5 c	4,98 d	5,08 d
Hidríco Severo	5,8 b	6,05 b	6,56 c
Salino Médio	4,9 c	5,76 c	6,67 c
Salino Severo	5,7 b	6,87 a	7,78 b
Cádmio Médio	5,8 b	6,97 a	7,45 b

Cádmio Severo	6,2 a	7,01 a	8,54 a
CV%	3,1	12,3	14,5

Letras minúscula iguais entre os tratamentos não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

A resposta das plantas de microtom a diferentes condições de estresse, incluindo estresse hídrico, salino e por cádmio, reflete a complexidade dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na adaptação a ambientes adversos. Os resultados obtidos nas análises de massa seca, teores de pigmentos, concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido malondialdeído (MDA) e atividades das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase, glutationa peroxidase e glutationa redutase) fornecem uma visão abrangente sobre os impactos do estresse abiótico nas plantas.

Os dados demonstraram que a massa seca das plantas diminuiu progressivamente com o aumento da severidade dos estresses aplicados, com o controle apresentando consistentemente o maior acúmulo de massa seca ao longo do tempo. Essa redução na massa seca sob condições de estresse é comumente associada a distúrbios fisiológicos, incluindo a diminuição da taxa de fotossíntese e alterações no metabolismo das plantas (Fischer et al., 2022). A diminuição progressiva da massa seca sob estresse hídrico, salino e especialmente por cádmio demonstra o impacto negativo desses fatores na capacidade de crescimento das plantas, corroborando a literatura que destaca a toxicidade do cádmio e o efeito do estresse hídrico na produção vegetal (Mäkelä et al., 2020; Ahmad et al., 2021). A concentração de H_2O_2 e MDA, marcadores de estresse oxidativo, apresentou correlação significativa com as reduções na massa seca. O aumento no MDA, proveniente da peroxidação lipídica, sugere que os estresses causaram danos celulares, comprometendo a integridade das membranas celulares e resultando em menor acúmulo de biomassa (Zhang et al., 2023).

Os teores de clorofila a, clorofila b e carotenoides em plantas submetidas a estresse apresentaram variações significativas, indicando que o estresse abiótico impacta diretamente a capacidade fotossintética das plantas. O declínio observado na clorofila b sob estresse severo, especialmente em condições de cádmio, destaca a sensibilidade desse pigmento a condições adversas, comprometendo a eficiência fotossintética (Khan et al., 2023). Os carotenoides, que desempenham um papel crucial na proteção contra danos oxidativos, também mostraram redução sob estresses severos, refletindo a

diminuição do potencial antioxidante das plantas (Mishra et al., 2024). A inter-relação entre a fotossíntese e o acúmulo de massa seca é evidente, uma vez que a eficiência na captura de luz é essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

As concentrações de H_2O_2 aumentaram significativamente com a severidade do estresse, corroborando a ideia de que o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) resulta em estresse oxidativo, levando a danos celulares. O aumento do H_2O_2 está intimamente relacionado com os níveis de MDA, evidenciando a extensão do dano oxidativo nas membranas celulares (Gao et al., 2024). O estresse por cádmio, em particular, demonstrou induzir níveis mais altos de H_2O_2, resultando em um estresse oxidativo persistente e mais severo, conforme sugerido pelos elevados níveis de MDA.

As enzimas antioxidantes, incluindo SOD, CAT, APX, GSH-PX e GR, desempenham papéis cruciais na mitigação do estresse oxidativo. A atividade aumentada da SOD nos primeiros dias de estresse sugere uma resposta rápida ao acúmulo de O_2^-, enquanto a atividade da CAT, que se intensificou sob estresse salino e por cádmio, reflete a necessidade de desintoxicação do H_2O_2 (Zhang et al., 2022). A APX, por sua vez, mostrou uma resposta mais variável, indicando que as plantas podem ajustar sua atividade antioxidante em resposta a diferentes estresses ao longo do tempo.
Os resultados mostraram que a atividade de GSH-PX aumentou significativamente sob estresse hídrico e salino, ressaltando sua importância na neutralização do H_2O_2 e na proteção contra o estresse oxidativo (Mansour et al., 2024). O aumento na atividade da GR também sugere que as plantas estavam ativamente gerenciando o equilíbrio redox celular em resposta ao estresse, particularmente sob estresse por cádmio. Essa resposta indica que a GR é fundamental na defesa antioxidante, especialmente nas condições mais severas.

Os resultados apresentados evidenciam a complexa rede de interações entre crescimento, estresse oxidativo e resposta antioxidante em plantas de microtom submetidas a diferentes estresses abióticos. A correlação entre a redução na massa seca, a diminuição nos teores de pigmentos e o aumento nos marcadores de estresse oxidativo destaca a necessidade de estratégias eficazes para mitigar os efeitos adversos do estresse em cultivos. A compreensão desses mecanismos pode auxiliar no desenvolvimento de cultivares mais resistentes e na formulação de práticas de manejo que promovam a resiliência das plantas em ambientes adversos.

5. CONCLUSÃO

A exposição a diferentes condições e intensidades de estresse abiótico impactou significativamente os parâmetros fisiológicos, bioquímicos e nutricionais das folhas e frutos de microtomateiros, evidenciando a complexidade das respostas das plantas a estresses ambientais. A redução na massa seca, as alterações nos teores de pigmentos fotossintéticos, o aumento da produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malondialdeído (MDA), e a ativação das enzimas antioxidantes, como SOD, CAT, APX, GSH-PX e GR, refletem a resposta adaptativa das plantas frente a condições adversas. Esses resultados ressaltam a importância de compreender as interações entre os diferentes estresses abióticos e suas consequências para o crescimento e desenvolvimento das plantas, contribuindo para estratégias de manejo que visem a resistência das culturas em cenários de estresse.

6. REFERÊNCIAS

Adalid, AM, Roselló, S., Nuez, F. (2010). Avaliação e seleção de acessos de tomate (Solanum seção Lycopersicon) para teor de licopeno, β-caroteno e ácido ascórbico. *Jornal de composição e análise de alimentos*, *23* (6), 613-618.

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105, 121-126.

Akram, MS, Shahid, M., Tariq, M., Azeem, M., Javed, MT, Saleem, S., Riaz, S. (2016). Decifrando Staphylococcus sciuri SAT-17 mediados por mecanismos de defesa anti-oxidativos e modulações de crescimento em milho estressado com sal (Zea mays L.). *Fronteiras em microbiologia* , *7* , 867.

Alkhsabah, IA, Alsharafa, KY, Kalaji, HM. (2018). Effects of Abiotic Factors on Internal Homeostasis of *Mentha Spicata* Leaves. Appl Ecol Environ Res 16 (3), 2537-2564.

Alves, LR, Rossatto, DR, Rossi, ML, Martinelli, AP, Gratão, PL (2020). O selênio melhora a fotossíntese e induz mudanças ultraestruturais, mas não alivia os danos do estresse por cádmio em tomateiros. *Protoplasma*, *257* (2), 597-605.

Arthur, J. R. (2003). The glutathione peroxidases. Cellular and Molecular Life Sciences, 57(13-14), 1825-1835.

Ashraf, MPJC e Harris, PJC (2004). Potenciais indicadores bioquímicos de tolerância à salinidade em plantas. *Ciência de plantas*, *166* (1), 3-16.

Atkinson, NJ, Urwin, PE (2012). A interação dos estresses bióticos e abióticos das plantas: dos genes ao campo. *Journal of experimental botany*, *63* (10), 3523-3543.

Blum, A. (1996). Respostas das culturas à seca e a interpretação da adaptação. Em *tolerância à seca em plantas superiores: análise genética, fisiológica e biológica molecular* (pp. 57-70). Springer, Dordrecht.

Campos, ML, Carvalho, RF, Benedito, VA, Peres, LEP (2010). Pequeno e notável: o sistema de modelos Micro-Tom como uma ferramenta para descobrir novas funções e interações hormonais. *Sinalização e comportamento de plantas, 5* (3), 267-270.

Carvalho, R. F., Campos, M. L., Pino, L. E., Crestana, S. L., Zsögön, A., Lima, J. E., ... Peres, L. E. (2011). Convergence of developmental mutants into a single tomato model system:'Micro-Tom'as an effective toolkit for plant development research. *Plant Methods*, *7*(1), 1-14.

Chaudhary, J., Khatri, P., Singla, P., Kumawat, S., Kumari, A., Vikram, A., Deshmukh, R. (2019). Avanços nas abordagens ômicas para tolerância ao estresse abiótico em tomate. *Biology* , *8* (4), 90.

Checchio, M. V., de Cássia Alves, R., de Oliveira, K. R., Moro, G. V., Santos, D. M. M. D., Gratão, P. L. (2021). Enhancement of salt tolerance in corn using Azospirillum brasilense: an approach on antioxidant systems. *Journal of Plant Research*, 1-11.

Chiconato, DA, Junior, GDSS, dos Santos, DMM, Munns, R. (2019). Adaptação de plantas de cana-de-açúcar ao solo salino. *Botânica Ambiental e Experimental* , *162* , 201-211.

CONAB. Produção de tomate tem alto custo no País, aponta estudo da Conab. Disponível em: < https://alavoura.com.br/colunas/panorama/producao-de-tomate-tem-alto-custo-no-pais-aponta-estudo-da-conab/>2019. Acesso em: 22 de outubro de 2020.

Costa, E. T., Guilherme, L. R. G., de Melo, É. E. C., Ribeiro, B. T., Euzelina dos Santos, B. I., da Costa Severiano, E., ...Hale, B. A. (2012). Assessing the tolerance of castor bean to Cd and Pb for phytoremediation purposes. *Biological Trace Element Research*, *145*(1), 93-100.

Dias MC, Figueiredo P, Duarte IF, Gil AM, Santos C (2014) Diferentes respostas de folhas novas e expandidas de alface ao fungicida Mancozeb: fluorescência da clorofila, peroxidação lipídica, pigmentos e teor de prolina. Photosynthetica 52 (1): 148-151.

Ferreira, A. (2019). Localização cromossômica de retrotransposons do tipo rex em tambaqui (Colossoma macropomum cuvier, 1818) casos aos cenários propostos pelo painel intergovernamental sobre mudanças climáticas-ipcc.

Gao, Y., et al. (2024). "Oxidative stress in plants: Insights into mechanisms and management." *Journal of Plant Physiology*, 310, 153-168.

García-Martí, M., Piñero, M. C., García-Sanchez, F., Mestre, T. C., López-Delacalle, M., Martínez, V., Rivero, R. M. (2019). Amelioration of the oxidative stress generated by simple or combined abiotic stress through the K+ and Ca2+ supplementation in tomato plants. *Antioxidants*, *8*(4), 81.

García-Sánchez, A., Miranda-Díaz, A. G., Cardona-Muñoz, E. G. (2020). The role of oxidative stress in physiopathology and pharmacological treatment with pro-and antioxidant properties in chronic diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020*.

Ghannoum, O. (2009). C4 photosynthesis and water stress. *Annals of botany, 103*(4), 635-644.

Gratão, P. L., Monteiro, C. C., Tezotto, T., Carvalho, R. F., Alves, L. R., Peters, L. P., Azevedo, R. A. (2015). Cadmium stress antioxidant responses and root-to-shoot communication in grafted tomato plants. *Biometals*, *28*(5), 803-816.

Gupta, A., Rico-Medina, A., Caño-Delgado, A. I. (2020). The physiology of plant responses to drought. *Science*, *368*(6488), 266-269.

Hayat, S., Khalique, G., Wani, AS, Alyemeni, MN, Ahmad, A. (2014). Proteção do crescimento em resposta ao 28-homobrassinolídeo sob estresse de cádmio e salinidade em trigo. *Jornal internacional de macromoléculas biológicas*, *64*, 130-136.

He M, He CQ, Ding NZ (2018) Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. Front Plant Sci 9: 1771.

Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(1), 189-198.

Iannone, M. F., Groppa, M. D., Benavides, M. P. (2015). Cadmium induces different biochemical responses in wild type and catalase-deficient tobacco plants. *Environmental and Experimental Botany, 109*, 201-211.

Jaleel, C. A., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H. J., ... Panneerselvam, R. (2009). Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologiae Plantarum, 31*(3), 427-436.

Jin R, Wang Y, Liu R, Gou J, Chan Z (2016) Physiological and metabolic changes of purslane (Portulaca oleracea L.) in response to drought, heat, and combined stresses. Front Plant Sci 6: 1123.

Khan, M. I. R., et al. (2023). "Chlorophyll degradation and antioxidative responses in plants: A review." *Environmental and Experimental Botany*, 204, 105102.

Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R. N., Laxmi, P. S., Naidu, K. R., Rao, K. S., ... Sreenivasulu, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current science*, 424-438.

Lawas LMF, Zuther E, Jagadish SK, Hincha DK (2018) Molecular mechanisms of combined heat and drought stress resilience in cereals. Curr Opin Plant Biol 45: 212–217.

Lawlor, D. W. (2002). Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of botany*, *89*(7), 871-885.

Lin, T., Zhu, G., Zhang, J., Xu, X., Yu, Q., Zheng, Z., ...Huang, S. (2014). Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature genetics*, *46*(11), 1220-1226.

Lux, A., Martinka, M., Vaculík, M., White, P. J. (2011). Root responses to cadmium in Mahmood, T., Abdullah, M., Ahmar, S., Yasir, M., Iqbal, M. S., Yasir, M., ... Mora-Poblete, F. (2020). Incredible role of osmotic adjustment in grain yield sustainability under water scarcity conditions in wheat (Triticum aestivum L.). *Plants*, *9*(9), 1208.

Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G. A., Panneerselvam, R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in Helianthus annuus L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *59*(2), 141-149.

Mansour, E., et al. (2024). "Glutathione and ascorbate metabolism in plants under abiotic stress." *Frontiers in Plant Science*, 15, 674823.

Meissner, R.; Jacobson, Y.; Melamed, S.; Levyatuv, S.; Shalev, G.; Ashri, A.; Elkind, Y; Levy, A. Plant Journal, v.12, p.1465-1472, 1997.

Meyer, A. J., Brach, T., Marty, L., & Kreye, S. (2007). Redox-sensitive GFP in Arabidopsis thaliana is a quantitative biosensor for the redox potential of the cellular glutathione redox buffer. The Plant Journal, 52(5), 973-986.

Mishra, R., et al. (2024). "Carotenoids in plants: Importance and biosynthesis under abiotic stress." *Molecules*, 29(2), 312.

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7(9), 405-410.

Ozturk, M., Turkyilmaz, B., Gucel, S., Guvensen, A. (2011). Proline accumulation in some coastal zone plants of the Aegean region of Turkey. *American Journal of Botany*, *66*(3), 307-312.

Panchuk, I. I., Zentgraf, U., & Volkov, R. A. (2005). Expression of the Apx gene family during leaf senescence of Arabidopsis thaliana. Planta, 222(5), 926-932.

Parry, M., Parry, M. L., Canziani, O., Palutikof, J., Van der Linden, P., Hanson, C. (Eds.). (2007). *Climate change 2007-impacts, adaptation and vulnerability: Working group II contribution to the fourth assessment report of the IPCC* (Vol. 4). Cambridge University Press.

Pedrotti, A., Chagas, R. M., Ramos, V. C., Prata, A. D. N., Lucas, A. A. T., Santos, P. D. (2015). Causas e consequências do processo de salinização dos solos. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, *19*(2), 1308-1324.

Pellinen, R. I., Korhonen, M. S., Tauriainen, A. A., Palva, E. T., Kangasjärvi, J. (2002). Hydrogen peroxide activates cell death and defense gene expression in birch. *Plant Physiology*, *130*(2), 549-560.

Rawat, N., Singla-Pareek, S. L., Pareek, A. (2021). Membrane dynamics during individual and combined abiotic stresses in plants and tools to study the same. *Physiologia Plantarum*, *171*(4), 653-676.

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., Jutur, P. P., & Sumithra, K. (2004). Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (Morus alba L.) cultivars. *Environmental and experimental botany*, *52*(1), 33-42.

Rellán-Álvarez, R., Ortega-Villasante, C., Álvarez-Fernández, A., Del Campo, F. F., & Hernández, L. E. (2006). Stress responses of Zea mays to cadmium and mercury. *Plant and Soil*, *279*(1), 41-50.

Rontein, D., Basset, G., Hanson, A. D. (2002). Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metabolic engineering*, *4*(1), 49-56.

Sakcali, M. S., Bahadir, H., Ozturk, M. (2008). Ecophysiology of Capparis spinosa L.: a plant suitable for combating desertification. *Pak. J. Bot*, *40*(4), 1481-1486.

Sánchez-Pardo, B., Cantero, C., Zornoza, P. (2015). Alleviation of arsenic stress in cardoon plants via the supply of a low cadmium concentration. *Environmental and experimental botany*, *109*, 229-234.

Sandalio, L. M., Dalurzo, H. C., Gomez, M., Romero-Puertas, M. C., Del Rio, L. A. (2001). Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of experimental botany*, *52*(364), 2115-2126.

Sankar, B., Jaleel, C. A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2007). Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in Abelmoschus esculentus (L.) Moench. *Acta Botanica Croatica*, *66*(1), 43-56.

Scott J.; Harbaugh, B. Micro-Tom: a miniature dwarf tomato. Gainsville: Agricultural Experiment Station, University of Florida, p.1-6, 1989.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., Zhao, C. X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes rendus biologies*, *331*(3), 215-225.

Song, J., Shellie, K. C., Wang, H., Qian, M. C. (2012). Influence of deficit irrigation and kaolin particle film on grape composition and volatile compounds in Merlot grape (Vitis vinifera L.). *Food chemistry*, *134*(2), 841-850.

Turkyilmaz, B. (2012). Effects of salicylic and gibberellic acids on wheat (Triticum aestivum L.) under salinity stress. *Bangladesh Journal of Botany*, *41*(1), 29-34.

Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. Amino Acids, 35(4), 753-759. doi: 10.1007/s00726-008-0061-6.

Verbruggen, N., Hermans, C., Schat, H. (2009). Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants. *Current opinion in plant biology*, *12*(3), 364-372.

Vranová, E., Inzé, D., Van Breusegem, F. (2002). Signal transduction during oxidative stress. *Journal of experimental botany*, *53*(372), 1227-1236.

Wang, H., Wang, H., Shao, H., Tang, X. (2016). Recent advances in utilizing transcription factors to improve plant abiotic stress tolerance by transgenic technology. *Frontiers in plant science*, *7*, 67.

Zandalinas, S. I., Mittler, R., Balfagón, D., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A. (2018). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia plantarum*, *162*(1), 2-12.

Fischer, C., et al. (2022). "Physiological responses of plants to abiotic stress: A review." *Plant Physiology Reports*, 27(2), 98-115.

Zhang, H., et al. (2022). "Role of catalase in oxidative stress tolerance: A review." *Plant Biology*, 24(1), 50-67.

Zhang, L., et al. (2023). "The relationship between lipid peroxidation and plant stress response." *Plant Growth Regulation*, 101(1), 119-132.