

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

NATHÁLIA GABRIELLE DE ARAÚJO LEITE

CARACTERIZAÇÃO PROTÉICA DO ESTRESSE SALINO EM FEIJÃO-CAUPI
[*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

Recife
2017

NATHÁLIA GABRIELLE DE ARAÚJO LEITE

CARACTERIZAÇÃO PROTÉICA DO ESTRESSE SALINO EM FEIJÃO-CAUPI
[*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração Biotecnologia, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor (a) em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia de Menezes Lima

Recife
2017

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Leite, Nathália Gabrielle de Araújo

Caracterização proteica do estresse salino em Feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] / Nathália Gabrielle de Araújo Leite- Recife: O Autor, 2017.

130 folhas: fig., tab.

Orientadora: Vera Lúcia de Menezes Lima

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Ciências Biológicas, 2017.

Inclui referências e anexos

1. Feijão-caupi 2. Proteínas 3. Sal I. Lima, Vera Lúcia de Menezes (orientadora) II. Título

583.74

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-271

NATHÁLIA GABRIELLE DE ARAÚJO LEITE

CARACTERIZAÇÃO PROTÉICA DO ESTRESSE SALINO EM FEIJÃO-CAUPI

[*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor (a) em Ciências Biológicas.

Tese de Doutorado aprovada por:

Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia de Menezes Lima (Departamento de Bioquímica, UFPE).

Presidente da banca examinadora (orientadora).

Dr. Antonio Félix da Costa (Instituto Agrônômico de Pernambuco, IPA).

Membro titular da banca examinadora (co-orientador).

Prof.^a Dr.^a Márcia Vanusa da Silva (Departamento de Bioquímica, UFPE).

Membro titular da banca examinadora.

Dr.^a Emmanuelle Rodrigues Araújo (Instituto Agrônômico de Pernambuco, IPA).

Membro titular da banca examinadora.

Prof.^a Dr.^a Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho (Departamento de Bioquímica, UFPE).

Membro titular da banca examinadora.

Prof.^a Dr.^a Elba Verônica Matoso Maciel de Carvalho (Departamento de Bioquímica, UFPE).

Membro suplente da banca examinadora.

Prof.^a Dr.^a Maria Tereza dos Santos Correia (Departamento de Bioquímica, UFPE).

Membro suplente da banca examinadora.

Recife, 22 de Fevereiro de 2017.

À minha família
OFEREÇO

À minha amada mãe
DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pela maravilhosa oportunidade. Acredito que o conhecimento é a raiz de uma nação forte, a chave de mudanças indispensáveis, é por isso que há muito tempo tenho investido na construção desse conhecimento, e com o passar dos anos sinto que grande parte da recompensa por tamanho esforço já se encontra dentro de mim.

Família, a base de tudo, uma instituição sagrada. Agradeço a Deus pela família que tenho. Obrigada mãe, “pais”, avó, tios, primos e esposo. O amor que vocês têm por mim é evidente em cada passo que dou e em cada degrau que subo. Obrigada por tudo. Amo vocês.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) se tornou meu segundo lar desde 2006, dentro das suas paredes pude crescer como pessoa, aprendi a viver, ampliei meus horizontes. Com o coração apertado deixo na UFPE parte de mim. Serei eternamente e imensamente grata a todos que fazem parte dessa maravilhosa instituição.

Estendo meus sinceros agradecimentos ao Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), que me abriu as portas há quase dez anos atrás, e que desde então tem fornecido de inúmeras maneiras todo o suporte necessário aos meus estudos, sempre! Em especial, agradeço imensamente ao Dr. Antonio Félix da Costa, que me acolheu de forma tão generosa e calorosa a partir do momento que cheguei ao IPA. Dr. Félix tem me orientado de forma paciente, sempre com muito carinho, por muitos anos. Jamais esquecerei! Espero retribuir toda a sua dedicação. Agradeço a todos aqueles que fazem parte do Programa Feijão (IPA), ou que de alguma forma foram importantes para a realização deste trabalho. Sou grata especialmente a algumas pessoas que se tornaram muito especiais ao longo dessa jornada: Adenilda Lima (UFPE), Angela Mehta (Embrapa), Antonio Raimundo de Sousa (IPA), Cláudia Crasto (UFPE), Conceição Martiniano (IPA), Daiane Ribeiro (UnB), Emmanuelle Araújo (IPA), Fabíola Gomes (UFPE), Luis Gilvan “Nazaré” (IPA), Katiane Silva (IPA), Luciana Gonçalves (IPA), Márcia Vanusa (UFPE), Maria de Lourdes (IPA), Mariele Carneiro Leão (IPA), Nelson Canuto (IPA), Sueli Ferreira (IPA), Vânia Canuto (IPA), Venézio Santos (IPA) e Wagner Fontes (UnB).

Agradeço de coração à Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia de Menezes Lima, pela orientação e por todo o apoio concedido. Agradeço imensamente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (PPGCB), à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte fornecido, assim como pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

“A única forma de chegar ao impossível é acreditar que é possível.”

As aventuras de Alice no país das Maravilhas.

(Lewis Carroll)

RESUMO

O feijão-caupi é amplamente cultivado em regiões áridas e semiáridas, locais onde a salinização dos solos constitui-se em um dos principais estresses à cultura. Dentre os métodos que visam reduzir os danos causados pela salinidade, a utilização de genótipos menos sensíveis se constitui como o melhor método para a solução do problema. Diante do exposto, o presente trabalho objetivou identificar as proteínas diferencialmente abundantes em genótipos de feijão-caupi durante o estresse salino, como ponto de partida para a identificação dos genes associados aos mecanismos de tolerância ao estresse, visando à obtenção de genótipos que associem características desejáveis com a menor sensibilidade à salinidade. Nesse sentido, sementes de cinquenta genótipos de feijão-caupi foram submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de NaCl (0, 25, 50, 100 e 200 mM). Foram observadas alterações na taxa de germinação em função do aumento das concentrações de NaCl (sal). Dentre os genótipos avaliados, Maravilha, Paulistinha, Sempre Verde Baiano, e Sempre Verde Salgueiro demonstraram menor sensibilidade ao sal, enquanto BRS Pajeú, Mosqueado 383, Mut 300 gy, Mut 50 gy, e Pele de Moça foram os genótipos mais sensíveis ao sal. Esses genótipos, juntamente com o genótipo Pitiúba, foram novamente submetidos ao estresse salino nas cinco concentrações supracitadas, para realização da contagem de folhas, medição do comprimento caulinar, determinação da matéria seca e conteúdo iônico, assim como mensuração da condutividade elétrica do substrato, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio. Os resultados indicam que o incremento na concentração de sal reduziu a quantidade de matéria seca, comprimento do caule e número de folhas em todos os genótipos avaliados, causando aumento no teor de íons, justificado pelos valores de condutividade elétrica do substrato, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio. Sempre Verde Salgueiro foi o genótipo que demonstrou menor sensibilidade frente aos demais, enquanto que Mosqueado 383 foi selecionado como o genótipo de maior sensibilidade ao sal. Posteriormente, esses dois genótipos foram estressados com 100 mM de NaCl, para coleta das folhas, extração de proteínas totais, quantificação e identificação das proteínas diferencialmente abundantes, por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas, seguido por comparação com o banco de dados disponível no NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). A partir dessa avaliação, foi possível identificar 251 proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos (0 mM - controle, e 100 mM de NaCl) e entre os genótipos avaliados. Dessa forma, é possível inferir sobre a participação direta de algumas dessas proteínas em vias metabólicas que possam estar relacionadas com os mecanismos de tolerância ao estresse salino em feijão-caupi.

Palavras-chave: NaCl. Sensibilidade. Proteômica.

ABSTRACT

Cowpea is widely cultivated in arid and semi-arid regions, places where salinization of soils is one of the major stresses for this culture. Among the methods utilized to reduce the damage caused by salinity, the use of less sensitive genotypes constitutes the best method to solve the problem. By the way, the present work aimed to identify differentially abundant proteins in cowpea genotypes during saline stress, as a starting point for the identification of genes associated with stress tolerance mechanisms, in order to obtain genotypes associating desirable traits with lowest sensitivity to salinity. In this sense, seeds of fifty cowpea genotypes were submitted to treatments with different concentrations of NaCl (0, 25, 50, 100 and 200 mM). Alterations in germination rates were observed due to the increasing of NaCl (salt) concentrations. Among the evaluated genotypes, Maravilha, Paulistinha, Sempre Verde Baiano, and Sempre Verde Salgueiro showed lower salt sensitivity, while BRS Pajeú, Mosqueado 383, Mut 300 gy, Mut 50 gy, and Pele de Moça were the most salt sensitive genotypes. Those genotypes, including Pitiúba genotype, were submitted again to saline stress using the five NaCl concentrations mentioned above, for leaf counting, measurement of stem length, determination of dry matter and ion content, as well as measurement of electrical conductivity of the substrate, cation exchange capacity and sodium saturation. The results indicate that the increase in salt concentration reduced the amount of dry matter, stem length and number of leaves in all evaluated genotypes, causing an increase in ion content, justified by the values of electrical conductivity of the substrate, cation exchange capacity and sodium saturation. Sempre Verde Salgueiro was the genotype that showed less sensitivity in relation to the others, while Mosqueado 383 was selected as the genotype of greater salt sensitivity. After, these two genotypes were stressed with 100 mM NaCl, to collect leaves, total protein extraction, quantification of proteins, and identification of differentially abundant proteins, by liquid chromatography coupled to the mass spectrometer, followed by comparison with the available database on NCBI (National Center for Biotechnology Information). Through this evaluation, it was possible to identify 251 differentially abundant proteins between the treatments (0 mM - control, and 100 mM NaCl) and among the evaluated genotypes. Thus, it is possible to infer about the direct participation of some of these proteins in metabolic pathways that may be related to the mechanisms of tolerance to saline stress in cowpea.

Key-words: NaCl. Sensitivity. Proteomics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

FIGURA 1 - <i>Vigna unguiculata</i> subesp. <i>unguiculata</i>	19
FIGURA 2 - GRÃOS DE FEIJÃO FRADINHO	20
FIGURA 3 - VARIAÇÃO DE GRÃOS ENTRE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI ...	21
FIGURA 4 - GERMINAÇÃO E EMERGÊNCIA EM FEIJÃO-CAUPI.....	22
FIGURA 5 - CENTRO DE ORIGEM DO FEIJÃO-CAUPI.....	23
FIGURA 6 - COLHEITA DO FEIJÃO-CAUPI EM FAZENDA NO MATO GROSSO	24
FIGURA 7 - IRRIGAÇÃO EM LAVOURA DE FEIJÃO-CAUPI	27
FIGURA 8 - VARGENS VERDES DE FEIJÃO-CAUPI	29
FIGURA 9 - MAPA DAS MESORREGIÕES DE PERNAMBUCO: SERTÃO DO SÃO FRANCISCO E ITAPARICA (1), SERTÃO DO ARARIPE, CENTRAL DO PAJEÚ E DO MOXOTÓ (2), AGRESTE (3), ZONA DA MATA (4) E REGIÃO METROPOLITANA (5)	31
FIGURA 10 - EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA.....	33
FIGURA 11 - COLEÇÃO DE GERMOPLASMA DE FEIJÃO DO INSTITUTO AGRÔNOMICO DE PERNAMBUCO	34
FIGURA 12 - SEMIÁRIDO BRASILEIRO	35
FIGURA 13 - DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DOS SOLOS AFETADOS POR SAIS	36
FIGURA 14 - SOLO EM ESTÁGIO AVANÇADO DE SALINIZAÇÃO	37
FIGURA 15 - ESPÉCIE HALÓFITA <i>Atriplex nummularia</i>	38
FIGURA 16 - CULTIVO ADENSADO EM LAVOURA DE FEIJÃO	40
FIGURA 17 - ESPECTRÔMETRO DE MASSAS MULTIDIMENSIONAL	45
FIGURA 18 - IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS POR <i>SHOTGUN</i>	47
FIGURA 19 - ELETROFORESE BIDIMENSIONAL EM GEL DE POLIACRILAMIDA	48

CAPÍTULO 1

FIGURE 1 - GERMINATION PATTERNS OF COWPEA SEEDS ACCORDING THE INITIAL GERMINATION COUNT (IGC -▲) AND FINAL GERMINATION COUNT (FGC -◆).....	53
--	----

CAPÍTULO 3

FIGURA 1 - ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS RESULTANTES DA COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS E REPLICATAS DO GENÓTIPO SEMPRE VERDE SALGUEIRO	83
FIGURA 2 - ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS RESULTANTES DA COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS E REPLICATAS DO GENÓTIPO MOSQUEADO 383	83
FIGURA 3 - ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS RESULTANTES DA COMPARAÇÃO ENTRE AS REPLICATAS DOS GENÓTIPOS SEMPRE VERDE SALGUEIRO E MOSQUEADO 383, A 100 mM DE NaCl	84

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

TABELA 1 - ESTIMATIVA DA ÁREA CULTIVADA, PRODUÇÃO E
PRODUTIVIDADE DO FEIJÃO-CAUPI NO MUNDO, NO ANO DE 200729

TABELA 2 - ESTIMATIVA DA ÁREA CULTIVADA, PRODUÇÃO E
PRODUTIVIDADE DO FEIJÃO-CAUPI NO BRASIL, NO PERÍODO DE 2004 A 2008
.....30

CAPÍTULO 1

TABLE 1 - NaCl CONCENTRATIONS PER TREATMENT52

TABLE 2 - SUMMARY OF VARIANCE ANALYSIS FOR DATA OBTAINED 53

TABLE 3 - GERMINATION RATES OF COWPEA SEEDS ACCORDING THE
GENOTYPE, VARIABLE AND TREATMENT UTILIZED..... 56

CAPÍTULO 2

TABELA 1 - ACÚMULO DE MATÉRIA SECA, COMPRIMENTO DO CAULE E
NÚMERO DE FOLHAS EM GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*)
SUBMETIDOS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NaCl..... 66

TABELA 2 - TEOR DE POTÁSSIO E CÁLCIO EM MATÉRIA SECA DE
GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*) SUBMETIDOS A
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NaCl 67

TABELA 3 - TEOR DE MAGNÉSIO E SÓDIO EM MATÉRIA SECA DE
GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*) SUBMETIDOS A
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NaCl 68

TABELA 4 - CONDUTIVIDADE ELÉTRICA, CAPACIDADE DE TROCA
CATIÔNICA E SATURAÇÃO DE SÓDIO EM SUBSTRATO SOB APLICAÇÃO DE
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NaCl 69

CAPÍTULO 3

TABELA 1 - QUANTIDADE ESTIMADA DAS PROTEÍNAS TOTAIS PRESENTES
EM CADA REPLICATA ANALISADA, DE ACORDO COM O TRATAMENTO
APLICADO E O GENÓTIPO AVALIADO..... 80

TABELA 2 - PROTEÍNAS DIFERENCIALMENTE ABUNDANTES ENTRE OS
TRATAMENTOS E REPLICATAS DO GENÓTIPO SEMPRE VERDE SALGUEIRO
..... 85

TABELA 3 - PROTEÍNAS DIFERENCIALMENTE ABUNDANTES ENTRE OS
TRATAMENTOS E REPLICATAS DO GENÓTIPO MOSQUEADO 383 86

**TABELA 4 - PROTEÍNAS DIFERENCIALMENTE ABUNDANTES ENTRE AS
REPLICATAS DOS GENÓTIPOS SEMPRE VERDE SALGUEIRO E MOSQUEADO
383 A 100 mM DE NaCl.....93**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-DE	- <i>Two-Dimensional Gel Electrophoresis</i>
AFLP	- <i>Amplified Fragment Length Polymorphism</i>
AGC	- <i>Automatic gain control</i>
ANOVA	- Análise de variância
BAG	- Banco Ativo de Germoplasma
CID	- <i>Collision induced dissociation</i>
CNPq	- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DDA	- <i>Data dependent acquisition</i>
DIGE	- <i>Differential Gel Electrophoresis</i>
DNA	- <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EMBRAPA	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FACEPE	- Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco
FAO	- <i>Food and Agriculture Organization</i>
FGC	- <i>first germination count</i>
G	- Genótipos
GAT	- <i>Zentralinstitut für Genetik und Kulturpflanzenforschung</i>
GE	- <i>Gel Electrophoresis</i>
GRIN	- <i>Germplasm Resources Information</i>
HPLC	- <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGC	- <i>initial germination count</i>
IITA	- <i>International Institute of Tropical Agriculture</i>
IPA	- Instituto Agrônomo de Pernambuco
IPGRI	- <i>International Plant Genetic Resources Institute</i>
IRD	- <i>Institut Français de la Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération</i>
LC	- <i>Liquid Chromatography</i>
M	- Média
mRNA	- <i>Messenger RNA</i>
MS	- <i>Mass Spectrometry</i>
NCBI	- <i>National Center for Biotechnology Information</i>
PAB	- Pesquisa Agropecuária Brasileira

PAP - Pesquisa Agropecuária Pernambucana
RCA - Revista Ciência Agronômica
TI - Tempo de preenchimento
UFPE - Universidade Federal de Pernambuco
UnB - Universidade de Brasília
USDA - *United States Department of Agriculture*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 OBJETIVOS.....	18
1.1.1 Objetivo Geral.....	18
1.1.2 Objetivos Específicos.....	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 O FEIJÃO-CAUPI [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.]	19
2.1.1 Classificação botânica	19
2.1.2 Nomenclatura popular	20
2.1.3 Aspectos morfológicos e fenológicos.....	20
2.1.4 Centro de origem	22
2.1.5 Distribuição geográfica	24
2.1.6 Cultivo.....	25
2.1.7 Importância socioeconômica.....	28
2.1.8 Bancos de Germoplasma	31
2.1.9 Estresses bióticos e abióticos.....	34
2.2 O ESTRESSE SALINO	35
2.2.1 O processo de salinização	35
2.2.2 Efeitos do estresse salino	37
2.2.3 Respostas das plantas ao estresse salino	38
2.2.4 Alternativas ao estresse salino	39
2.2.5 Estresse salino em feijão-caupi.....	41
2.3 PROTEÔMICA	42
2.3.1 Histórico.....	42
2.3.2 Descrição.....	44
2.3.3 Aspectos da proteômica comparativa	45
2.3.4 Proteômica em plantas	47
2.3.5 Proteômica de plantas sob estresse salino	48
3 CAPÍTULO 1	50
4 CAPÍTULO 2	60
5 CAPÍTULO 3	75
6 CONCLUSÃO	104
REFERÊNCIAS	105

ANEXO A - INSTRUÇÕES PAP.....	111
ANEXO B - INSTRUÇÕES RCA	113
ANEXO C - INSTRUÇÕES PAB	120

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é conhecido por suportar altas temperaturas e baixo índice pluviométrico, em vista disso, seu cultivo no Brasil se concentra especialmente nas regiões áridas e semiáridas, locais onde algumas culturas igualmente importantes não conseguem se desenvolver satisfatoriamente (FREIRE FILHO et al., 2011). No âmbito global, dentre os países produtores de feijão-caupi, a Nigéria classifica-se como o maior produtor e consumidor mundial, por apresentar cerca de cinco milhões de hectares de área cultivada, o que reflete sua produção anual, estimada em dois milhões de toneladas. Após a Nigéria, Niger e Brasil são considerados os maiores produtores de feijão-caupi, apresentando uma safra anual estimada em 1.500,000 t e 600.000 t, respectivamente (FAOSTAT, 2013).

Apesar da sua notável adaptabilidade, em condições naturais o feijão-caupi está sujeito a estresses que podem afetar negativamente o seu crescimento e desenvolvimento. Dentre esses, o estresse salino é um dos principais, especialmente por ser recorrente em regiões áridas e semiáridas, e mesmo havendo outras técnicas que visem minimizar os efeitos desse estresse para a cultura, como por exemplo o cultivo adensado, esses métodos são dispendiosos e demorados, algo que os torna impraticáveis. Diante do exposto, a utilização de genótipos menos sensíveis ao estresse salino tem se tornado um dos métodos mais empregados para se contornar esse problema (COELHO, 2012; COSTA et al., 2013).

Durante décadas, para se obter genótipos com características de interesse comercial empregou-se amplamente o melhoramento genético clássico. Essa técnica utiliza características morfológicas para obter uma identidade para cada genótipo e assim estudar a variabilidade genética de cada amostra, visando o desenvolvimento de acessos que apresentem características de interesse, como por exemplo, genótipos menos sensíveis a um dado estresse. No entanto, esse tipo de caracterização é altamente influenciado por fatores ambientais, o que pode prejudicar a expressão dos caracteres estudados, camuflando a similaridade ou disparidade entre os indivíduos, o que altera significativamente sua eficácia (MELO, 2010).

Nesse contexto, perfis transcriptômicos passaram a ser produzidos para diversas espécies economicamente importantes, com o objetivo de identificar genes modulados por estresses. Contudo, esses perfis também se mostraram pouco eficazes, já que nem sempre os níveis de mRNA estão diretamente correlacionados com as proteínas em atividade (AMARAL, 2008). Dessa forma, em anos mais recentes, a proteômica, por meio de técnicas

mais específicas e atuais, tem passado a buscar informações diretas sobre a estrutura e a função das proteínas em diferentes sistemas biológicos, o que tem permitido uma melhor compreensão funcional dos genes e, conseqüentemente, uma seleção mais eficaz de genótipos menos sensíveis a um dado estresse (PATTERSON; AEBERSOLD, 2003).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Identificar as proteínas diferencialmente abundantes em genótipos de feijão-caupi durante o estresse salino, como ponto de partida para a identificação dos genes associados aos mecanismos de tolerância ao estresse, visando à obtenção de genótipos que associem características desejáveis com a menor sensibilidade à salinidade.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a sensibilidade ao estresse salino em sementes de feijão-caupi mantidas no Banco Ativo de Germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco;
- Identificar genótipos de feijão-caupi contrastantes quanto ao grau de sensibilidade ao estresse salino, utilizando-se testes fisiológicos e bioquímicos;
- Identificar as proteínas diferencialmente abundantes em genótipos contrastantes de feijão-caupi submetidos ao estresse salino.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O FEIJÃO-CAUPI [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

2.1.1 Classificação botânica

Em razão da grande diversidade genética existente na espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e nas espécies mais próximas, a classificação da espécie domesticada foi enormemente dificultada, de forma que o feijão-caupi, inicialmente, foi classificado dentro dos gêneros *Phaseolus* e *Dolichos*, sendo classificado dentro do gênero *Vigna* somente em 1894. Similarmente, em nível de espécie, também houve muitas classificações até que se chegasse à classificação atual. Nesse sentido, de acordo com a classificação atual, o feijão-caupi, é classificado como uma Angiosperma, pertencente à classe Dicotyledonea, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, seção Catyang, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie *unguiculata* (Figura 1) (FREIRE FILHO et al., 2011).

Sabe-se que o gênero *Vigna* é pantropical e altamente variável. Além do feijão-caupi, outros membros incluem o feijão-mungo (*V. radiata*), o feijão-azuki (*V. angularis*), o feijão-negro (*V. mungo*), e o amendoim bambara (*V. subterranea*). Adicionalmente, na espécie *V. unguiculata*, a subespécie *unguiculata* inclui as formas cultivadas de quatro cultigrupos: “*unguiculata*” (forma mais comum nas culturas que fornecem grãos), “*biflora*” ou “*cylindrica*” (forrageiras que são cultivadas frequentemente na Ásia), “*sesquipedalis*” (comum na Ásia como feijão de metro) e “*textilis*” (cultivado no oeste africano para produção de fibras). Vale salientar que no Brasil são cultivados apenas os cultigrupos *unguiculata*, para produção de grãos secos e verdes, e *sesquipedalis*, para produção de vagens (NIE et al., 2012).

Figura 1- *Vigna unguiculata* subesp. *unguiculata*



Fonte: www.payer.de (2016).

2.1.2 Nomenclatura popular

A espécie cultivada *V. unguiculata* é conhecida mundialmente como feijão-caupi, no entanto, existem uma grande variedade de nomes populares que culminam por dificultar o reconhecimento da espécie pela população, tais como: feijão de halo negro, ervilha de halo negro, ervilha sulista, lobia, niebé, niao, wake, luba hilu, nhemba, namerrua, feijão macúndi, feijão fradinho, frijol de castilla, camba, porotro e xpelon (FREIRE FILHO et al., 2011).

No Brasil, a espécie também apresenta diversas denominações, as quais variam em cada Estado ou Região, como por exemplo: feijão miúdo na Região Sul, feijão de praia, feijão da colônia, feijão de estrada e manteiguinha na Região Norte, assim como feijão de corda, feijão macassar e feijão macaça na Região Nordeste. Adicionalmente, em algumas regiões da Bahia e norte de Minas Gerais, o feijão-caupi também é chamado de feijão catador, feijão gurutuba e feijão fradinho (Figura 2) (RIBEIRO et al., 2013).

Figura 2 - Grãos de feijão fradinho



Fonte: O Autor (2016).

Além dos já citados, existem ainda outros nomes populares, a exemplo de boca preta, ervilha de vaca, feijão sempre verde, feijão do campo, feijão pardo, feijão verde, feijão manteiga, favalinha, feijão alfanje, feijão besugo, feijão careta, feijão chicote, feijão chinês, feijão congo, feijão de boi, feijão de frade, feijão de olho preto, feijão de vaca, feijão lagartixa, feijão macanha, feijão mineiro, feijãozinho da índia, mebauene e mucunha (WILK; BARBOSA, 2012).

2.1.3 Aspectos morfológicos e fenológicos

O feijão-caupi é uma planta herbácea, anual, de estações quentes, que necessita de uma temperatura mínima de 18 °C para se desenvolver bem, no entanto, seu crescimento ótimo encontra-se à temperatura de 28 °C. Devido às diferenças existentes entre os genótipos, as sementes dos tipos mais cultivados e conhecidos de feijão-caupi pesam entre 80 e 320 mg,

variam do formato arredondado até o reniforme e, frequentemente, apresentam um halo de formato irregular, na cor preta ou vermelha, que circunda o hilo (Figura 3). As mesmas têm a capacidade de permanecerem viáveis ou dormentes no solo até que a umidade esteja favorável, fato que caracteriza a germinação da espécie como de alta percentagem (KIGEL et al., 2015).

Figura 3 - Variação de grãos entre genótipos de feijão-caupi



Fonte: O Autor (2016).

O tegumento da semente varia em textura (lisa, enrugada ou áspera), coloração (branca, creme, verde, opaca, vermelha, marrom ou preta), e uniformidade (sólida, mesclada ou manchada) (Figura 3). A emergência da plântula, após a germinação, é considerada epígea (Figura 4), e esse tipo de emergência torna a plântula mais suscetível a injúria, visto que a mesma não consegue formar ramos abaixo da inserção dos cotilédones. As primeiras duas folhas verdadeiras são opostas, sésseis e inteiras, ao passo que as folhas restantes são alternadas, pecioladas e trifolioladas (TIMKO et al., 2007).

A estrutura da planta madura varia dependendo do genótipo, temperatura durante o crescimento e do fotoperíodo em que a planta cresce. O porte da planta está dividido em ereto, semiereto, semiprostrado e prostrado, enquanto o hábito de crescimento apresenta-se indeterminado, todavia, algumas das novas variedades com maturação precoce, apresentam fenótipo para crescimento determinado. O sistema radicular é formado por uma raiz principal, pivoltante, com ramificações laterais, que podem atingir mais de 2 m de profundidade, sendo essa, provavelmente, a razão da notável resistência do feijão-caupi à seca (TIMKO et al., 2007).

Figura 4 - Germinação e emergência em feijão-caupi



Fonte: es.123rf.com (2016).

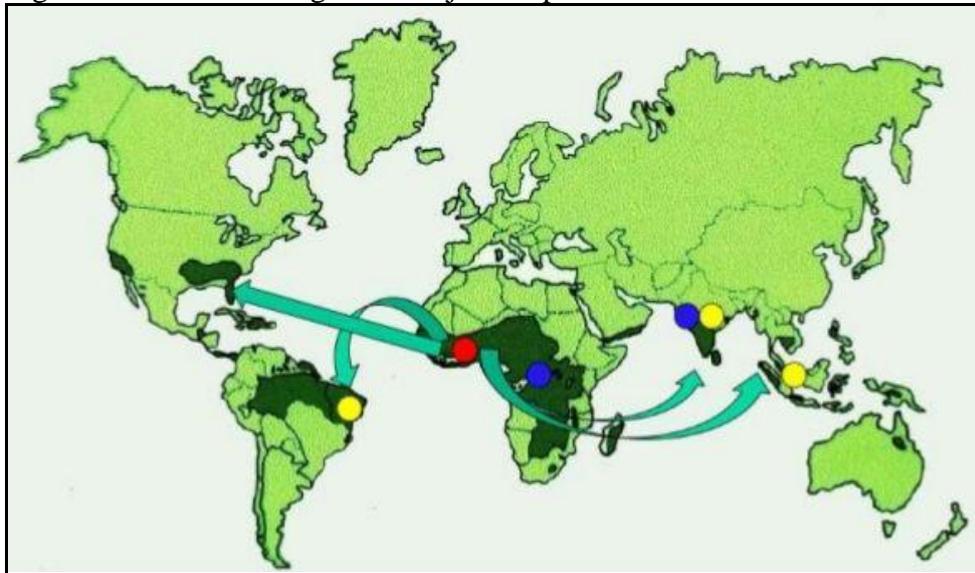
De maneira geral, as vagens contêm entre oito e 21 sementes, sendo cilíndricas, curvadas ou retas. Duas ou três vagens por pedúnculo são comuns, no entanto, se as condições de crescimento forem muito favoráveis, quatro ou mais vagens podem ser carregadas em um único pedúnculo. A presença de longos pedúnculos é uma característica marcante da espécie, sendo algo que facilita a colheita manual. Vale ressaltar que genótipos de feijão-caupi com floração precoce podem produzir vagens secas em até 60 dias, ao passo que genótipos com floração tardia podem requerer mais de 90 dias para a colheita, dependendo ainda do fotoperíodo (MEENA et al., 2015).

2.1.4 Centro de origem

A origem precisa das formas cultivadas de feijão-caupi tem sido alvo de especulação e discussão por diversos anos. Observações recentes deixam claro que os genótipos presentes na Ásia são muito diversificados e morfologicamente distintos daqueles cultivados na África, o que sugere que tanto a Ásia como a África podem ser centros independentes de origem da espécie cultivada, contudo, a ausência de genótipos selvagens na Ásia, os quais seriam possíveis progenitores, tem levantado questionamentos a respeito da validade da Ásia como centro de origem. Nesse aspecto, outras evidências têm sugerido fortemente que o feijão-caupi origina-se da África do Sul, no entanto, deve-se reconhecer a real dificuldade de se estabelecer em que lugar do continente Africano a espécie foi primeiramente domesticada (TIMKO; SINGH, 2008).

Com base na distribuição dos genótipos selvagens pelo Oeste Africano, da Etiópia até a África do Sul, alguns autores propuseram que o Oeste e Sul da África seriam o primeiro centro de diversidade, ao passo que o Este e a África Central seriam o segundo centro de diversidade (Figura 5). Esses pesquisadores também sugeriram a Ásia como o terceiro centro de diversidade. Adicionalmente, estudos mais recentes indicam a existência de uma maior diversidade genética entre os genótipos selvagens mais primitivos na Namíbia, Botsuana, Zâmbia, Zimbábue, Moçambique, Somália e África do Sul, havendo um maior número deles na Tanzânia, Cidade do Cabo e Somália (BADIANE et al., 2014).

Figura 5 - Centro de origem do feijão-caupi



Fonte: pt.slideshare.net (2016).

De acordo com essa observação, outros autores sugeriram o Sul da África como provável local de origem do feijão-caupi, havendo subsequente migração desses genótipos primitivos para outras partes do Sul e Oeste africano, e posteriormente para o Este africano e continente Asiático. Acredita-se que o tamanho reduzido da semente tenha facilitado sua dispersão pelos pássaros, todavia, a procura dos humanos por grãos maiores e com melhor desenvolvimento, possivelmente, levou à formação dos diversos cultigrupos e à sua domesticação na África e Ásia. Adicionalmente, estudos por análises de AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) sugerem que a domesticação ocorreu no Nordeste Africano, sendo o genótipo selvagem *Vigna unguiculata* subesp. *unguiculata* var. *spontanea* o provável progenitor do feijão-caupi cultivado (BADIANE et al., 2014).

A partir da África e Ásia, o feijão-caupi foi introduzido na Índia, onde exploradores espanhóis conseguiram as sementes que seriam levadas ao Novo Mundo em meados do

século 16. Provavelmente foi nesse mesmo período que o feijão-caupi chegou às Américas. Sendo assim, a espécie teria chegado à América Latina juntamente com os colonizadores espanhóis e portugueses, primeiramente nas colônias espanholas e, em seguida, no Brasil. Apesar disso, outros pesquisadores sugerem que o feijão-caupi entrou no País com os escravos, apenas no século 17. Contudo, mesmo havendo duas hipóteses, não existem evidências a favor de uma ou de outra, visto que ambas podem ser válidas, já que tanto os colonizadores como os escravos conheciam o valor desse grão na África, como base alimentar de várias populações nativas. Adicionalmente, no Brasil, supõe-se que a espécie chegou primeiramente ao Estado da Bahia, disseminando-se pela zona da mata de Alagoas e Pernambuco, chegando por fim ao semiárido, onde seu cultivo se concentrou. Consequentemente, foi apenas no século 18 que a espécie chegou à região Norte, por meio de colonizadores nordestinos, de forma que, atualmente, pode ser encontrada em todo o País (FREIRE FILHO et al., 2011).

2.1.5 Distribuição geográfica

Atualmente, a Nigéria, o Niger e o Brasil são os países que apresentam as maiores áreas cultivadas e as maiores produções de feijão-caupi. O Brasil apresenta cerca de 1.300.000 hectares de área cultivada, produção de 600.000 toneladas, e produtividade média de 462 kg/ha⁻¹ (FREIRE FILHO et al., 2011). O cultivo é predominante nas regiões Norte e Nordeste, no entanto, em anos recentes, tem se expandido também para a região Centro-Oeste, com ênfase para o Estado do Mato Grosso (Figura 6).

Figura 6 - Colheita do feijão-caupi em fazenda no Mato Grosso



Fonte: revistagloborural.globo.com (2016).

No Nordeste, a produção concentra-se nas áreas semiáridas, onde outras culturas, em razão da irregularidade das chuvas e das altas temperaturas, não conseguem se desenvolver satisfatoriamente. Esse cultivo é feito tanto por pequenos como por grandes produtores, mas, principalmente, pelos primeiros, que ainda utilizam práticas tradicionais, a chamada agricultura de subsistência. De modo contrário, na região Centro-Oeste, onde a espécie passou a ser cultivada em larga escala a partir de 2006, a produção provém principalmente de médios e grandes empresários, praticantes de uma lavoura altamente tecnificada. O grande atrativo dessa cultura para os grandes produtores tem sido o baixo custo de produção, comparativamente a outras leguminosas cultivadas, assim como o ciclo rápido de maturação e a possibilidade de cultivo como safrinha após outras culturas, ou mesmo como cultura principal (FREIRE FILHO et al., 2011).

Vale ressaltar que, atualmente, os países exportadores de feijão-caupi são: Estados Unidos, Peru e Brasil (América), Níger, Mali, Burkina Faso, Benin, Chad e República dos Camarões (África), assim como Mianmar e Tailândia (Ásia). Enquanto os maiores importadores são: Estados Unidos e Canadá (América), Portugal, Espanha, Grécia, Reino Unido e Bélgica (Europa), Argélia, Egito, Nigéria, Gana, Costa do Marfim, Togo e Gabão (África), assim como Emirados Árabes, Israel, Índia e Turquia (Ásia) (FREIRE FILHO et al., 2011).

2.1.6 Cultivo

A cultura do feijão-caupi prospera em clima quente, suportando temperaturas elevadas do ar e do solo, sendo intolerante ao frio e à geada. A planta encontra condições ideais de desenvolvimento em umidade muito baixa, sendo a cultura olerácea mais resistente à seca. O cultivo da espécie depende do regime pluviométrico e da regularidade na distribuição de chuvas, principalmente nas fases mais críticas (floração e enchimento de vagens), como também, apresenta riscos climáticos diferenciados em função da época de semeadura e do tipo de solo. No entanto, pode ser cultivada em quase todos os tipos de solo, merecendo destaque os Latossolos Amarelos, Latossolos Vermelho Amarelos, Argissolos e Neossolos, solos com regular teor de matéria orgânica, soltos, leves, profundos e arejados (BOUKAR et al., 2015).

Cerca de 70% da produção de feijão-caupi mundial ocorre nas zonas secas da Região Este e Centro-Africana, onde a cultura usualmente cresce de forma intercalada com a lentilha (*Lens culinaris* Medik.) ou com o sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. Nessas regiões, o feijão-caupi raramente é cultivado em monocultura ou de forma intercalada com o milho (*Zea mays* L.), a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), ou o algodão (*Gossypium* sp.). Outras áreas

de importante produção incluem as de baixa elevação do Oeste e Sul africano, as de baixa elevação na América do Sul (particularmente no Peru e no Nordeste do Brasil), partes da Índia, assim como as regiões Sudoeste e Sudeste da América do Norte (AKIBODE; MAREDIA, 2011).

No Brasil, o feijão-caupi geralmente é cultivado em monocultivo ou em consórcio com milho, mandioca, arroz, cana-de-açúcar, palma forrageira, café, cajueiro, seringueira, pimenta-do-reino, algodão e outras culturas. Os elementos do clima que exercem influência no crescimento e no seu desenvolvimento são: precipitação, temperatura do ar, fotoperíodo, vento e radiação solar, fatores que permitem verificar a viabilidade e a época adequada para a implantação da cultura. Para que haja produção sem a necessidade de irrigação, a espécie necessita de no mínimo 300 mm de precipitação. No Brasil, a limitação em termos hídricos encontra-se condicionada mais diretamente à irregularidade na distribuição das chuvas do que à quantidade total. Apesar de poder ser cultivado em quase todos os tipos de solo, a faixa de pH mais favorável está entre 5,5 e 6,5. Naqueles solos com baixa fertilidade é comum a aplicação de fertilizantes, quando possível. Recomenda-se a calagem (correção de acidez do solo com calcário) quando a percentagem de saturação de alumínio for igual ou maior que 20%, sendo este procedimento realizado com base nos resultados da análise química do solo. Para seu desenvolvimento completo, o feijão-caupi absorve uma quantidade superior a 100 kg/ha de nitrogênio (elemento altamente móvel na planta), e sendo considerada uma planta com eficiente sistema de fixação, normalmente dispensa adubação nitrogenada, todavia, em áreas com teor de matéria orgânica inferior a 10 g/kg, as quais geralmente apresentam deficiência de nitrogênio, recomenda-se a aplicação de até 40 kg de N/ha (ALBUQUERQUE et al., 2015).

Em cultivo destinado à produção de sementes se devem obedecer às normas de produção de cada cultura, já que a semente é o ponto de partida para se obter uma boa lavoura e, desta forma, uma boa matéria-prima. No caso da produção de sementes ser feita em cultivo de sequeiro, é importante que o plantio seja feito em uma época que possibilite a colheita no final do período chuvoso. Em paralelo, a lavoura também deve ter acompanhamento quanto à ocorrência de pragas e doenças, para que sejam tomadas medidas necessárias ao controle das mesmas. Atualmente, para se reduzir o risco relacionado à distribuição pluviométrica, no caso da agricultura de sequeiro, tem se utilizado o plantio escalonado ou o sistema policultivar. No plantio escalonado são distribuídas variedades com diferentes características de ciclo de desenvolvimento, em diferentes épocas, dentro do intervalo de tempo mais indicado para o

plântio da cultura em cada região, ao passo que no sistema policultivar, as variedades de ciclos diferentes são plantadas ao mesmo tempo (SINGH, 2014).

O feijão-caupi é cultivado em todo o território brasileiro, existindo, portanto, vários métodos de plântio, desde o mais rudimentar até a motomecanização com plantadeiras adubadeiras. O número de plantas por área (densidade) é uma função do espaçamento entre linhas de plântio e a densidade de sementes na linha. O espaçamento de 0,8 a 1,0 m entre linhas é o mais utilizado, enquanto que a densidade de sementes na linha de plântio mais comum varia de seis a oito plantas por metro. Dessa maneira, há um melhor aproveitamento da energia solar captada pelas plantas (OLIVEIRA et al., 2015a).

Adicionalmente, visando-se à obtenção de elevada produtividade de grãos, pode-se fazer uso dos sistemas de irrigação (Figura 7). No entanto, é preciso identificar quanto, quando e como irrigar a lavoura, levando-se em consideração as fases mais críticas do estresse hídrico, os sistemas de irrigação mais adequados e os métodos de manejo da irrigação. Visto que o consumo de água pelo feijão-caupi pode variar de 300 a 450 mm/ciclo, dependendo do genótipo, do solo e das condições climáticas locais, não existe um sistema de irrigação ideal, mas sim um sistema mais adequado a cada situação. Nesse aspecto, dentre os mais utilizados, o sistema de aspersão convencional tem importante destaque, por ser adaptável a qualquer taxa de infiltração de água no solo (FALOYE; ALATISE, 2015).

Figura 7 - Irrigação em lavoura de feijão-caupi



Fonte: Antonio Félix da Costa (2016).

Durante o cultivo do feijão-caupi é comum a ocorrência de espécies invasoras. Essas são chamadas de plantas daninhas, ou ervas daninhas. Para o controle das mesmas, diversas técnicas são normalmente empregadas. Na maioria dos casos, a fusão de algumas dessas técnicas tem sido bem-sucedida. No controle preventivo, utilizam-se sementes e adubos orgânicos livres de propágulos de espécies daninhas. Em paralelo, realiza-se a limpeza das máquinas antes do início das práticas agrícolas. Adicionalmente, a rotação de culturas e o controle mecânico (capina manual) também evitam o surgimento e o estabelecimento dessas espécies. Já o controle químico, realizado por meio da aplicação de herbicidas, apenas é empregado em grandes áreas, com mão de obra escassa. No entanto, o produtor deve estar ciente de que esse método é apenas um complemento de outras práticas de manejo, devendo ser utilizado somente com o objetivo de reduzir a necessidade de outros métodos (TAKIM et al., 2014).

2.1.7 Importância socioeconômica

O feijão-caupi tem importante papel na vida de milhões de pessoas, especialmente em países em desenvolvimento, por ser a principal fonte de proteínas complementar à dieta de tubérculos e cereais. O perfil nutricional do grão de feijão-caupi é similar ao de outras leguminosas, no entanto, seu nível de gorduras é significativamente mais baixo que as demais, ao passo que o conteúdo proteico pode ser de duas a quatro vezes maior que o encontrado em cereais e tubérculos. Seu grão é rico em aminoácidos do tipo lisina e triptofano, em comparação aos grãos de cereais, no entanto, seu nível de metionina e cisteína é baixo, quando comparado às proteínas de origem animal. O conteúdo total de proteína no grão varia de 23 a 32% do peso da semente. Adicionalmente, os grãos de feijão-caupi são uma rica fonte de vitaminas e minerais, contendo um dos maiores teores de ácido fólico, uma vitamina do complexo B necessária durante a gravidez para prevenção de defeitos no cérebro e espinha do feto (CAMPBELL et al., 2016).

No Sudoeste dos Estados Unidos, partes do Oeste Africano, Ásia e no Caribe, o consumo das sementes frescas e das vagens verdes (Figura 8) é preferido em comparação ao cozimento dos grãos secos. Em várias partes da África e Ásia, além dos grãos, as folhas frescas ou secas são também consumidas como um tipo de prato ou como parte de um assado, por conter valor nutricional significativo. Além do consumo humano, as folhas de feijão-caupi, assim como o caule, são também uma importante fonte de feno de alta qualidade para alimentação animal. Paralelamente, a espécie desempenha um papel particularmente crítico

em alimentar animais durante a estação seca em algumas partes do Oeste africano, como alternativa a outros grãos de custo mais elevado (SINGH, 2014).

É importante ressaltar que a produção de grãos secos é o único produto do feijão-caupi cuja produção estimada é registrada em uma base de dados mundial. De acordo com a *Food and Agricultural Organization* (FAO), aproximadamente quatro milhões de toneladas métricas (mmt) do grão seco de feijão-caupi são produzidas anualmente em cerca de 10 milhões de hectares ao redor do mundo (Tabela 1). Essa produção tem aumentado de uma média anual aproximada de 1,2 mmt nos anos 70 para cerca de 3,6 mmt de 1998 a 2003. Esse aumento na produção deve-se, em parte, à seca constante na zona desértica do Oeste africano, algo que tem levado os fazendeiros da localidade a aumentarem sua produção, já que a espécie apresenta tolerância à seca (SABO et al., 2014).

Figura 8 - Vargens verdes de feijão-caupi



Fonte: Antonio Fêlix da Costa (2016).

Tabela 1 - Estimativa da área cultivada, produção e produtividade do feijão-caupi no mundo, no ano de 2007

Países	Área colhida (ha)	Produção (t)	Produtividade (kg/ha ⁻¹)
Níger	4.768.138	1.001.139	210
Nigéria	4.491.000	1.168.000	260
Brasil	1.286.380	411.832	320
Burkina Faso	538.702	253.190	470
Mali	263.177	58.291	221
Senegal	168.825	59.812	354
Miamar	153.000	133.000	869
Repúblicas Unidas da Tanzânia	150.000	50.000	333
Quênia	130.163	83.251	640
República Democrática do Congo	110.000	55.000	500
Camarões	100.000	95.000	950
Outros	376.545	269.267	715
Total	12.535.930	3.637.782	290

Fonte: www.agencia.cnptia.embrapa.br (2017).

Ainda nesse contexto, Singh (2014) sugere que a produção de feijão-caupi e a área cultivada são maiores do que a FAO estima, sendo a produção mundial de 4,5 mmt e a área cultivada de 12 a 14 milhões de hectares, visto que a estimativa feita pela FAO não inclui a produção e área cultivada no Brasil, Índia e alguns outros países. O feijão-caupi é também um componente de valor dos sistemas de cultivo em áreas onde a fertilidade do solo é limitada, já que a espécie fixa bem o nitrogênio, forma simbioses efetivas com micorrizas e tem a habilidade de tolerar melhor uma larga escala de pH no solo, quando comparada a outras leguminosas produtoras de grãos. A espécie também é reconhecida como uma componente chave em esquemas de rotação de culturas, devido a sua habilidade em auxiliar na restauração da fertilidade do solo após culturas de cereais. Adicionalmente, se estiverem bem adaptadas, variedades com maturação precoce podem produzir sementes em até 60 dias após o plantio, suprimindo os produtores com a primeira fonte de alimento da colheita, anteriormente a qualquer outra cultura (FREITAS et al., 2012).

De acordo com Frota (2008), o Brasil (Tabela 2) contribui com cerca de 26% da produção mundial e 82% da produção do continente americano, e com base em dados do IBGE (2014) os principais produtores na Região Norte e Nordeste do país, em ordem de produção, são os Estados do Ceará (343.776 toneladas), Bahia (233.807 toneladas), Pernambuco (94.759 toneladas), Paraíba (79.030 toneladas), Piauí (76.202 toneladas), Rio Grande do Norte (67.491 toneladas), Pará (27.818 toneladas), Alagoas (27.169 toneladas), Maranhão (18.441 toneladas) e Rondônia (14.689 toneladas). Concomitantemente, esses Estados também apresentam as maiores áreas plantadas.

Tabela 2 - Estimativa da área cultivada, produção e produtividade do feijão-caupi no Brasil, no período de 2004 a 2008

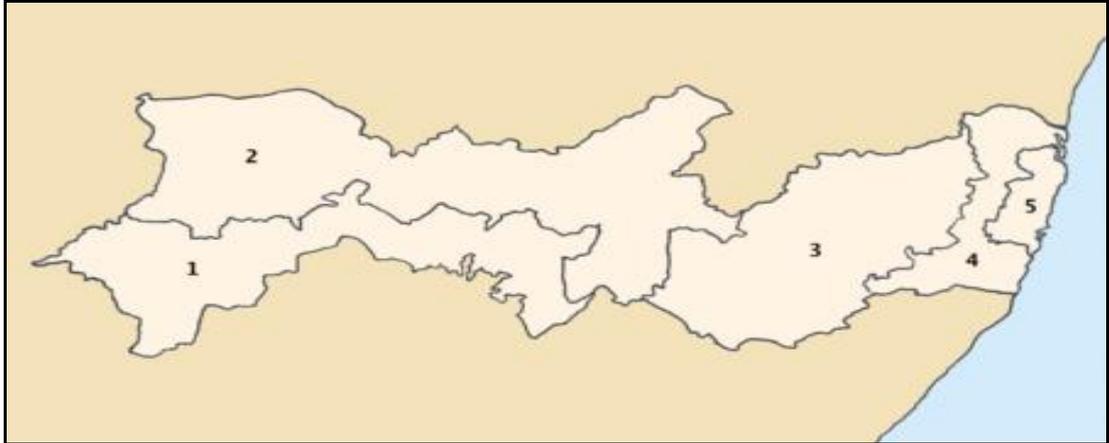
Região	Área cultivada (ha)	Produção (t)	Produtividade (kg/ha⁻¹)
Norte	55.824	47.915	858
Nordeste	1.285.826	421.199	328
Centro-Oeste	17.852	22.017	1.233
Brasil	1.319.168	482.324	366

Fonte: www.agencia.cnptia.embrapa.br (2017).

Dentre as culturas presentes no semiárido brasileiro, é o feijão-caupi que possui a segunda maior área cultivada. Em Pernambuco, as Zonas da Mata e Sertão (Figura 9) são as responsáveis pela maior parte do plantio do feijão-caupi irrigado como principal cultura

(sistema solteiro), já em outras regiões ele constitui uma cultura secundária (sistema consorciado) (FREIRE FILHO et al., 2011).

Figura 9 - Mapa das mesorregiões de Pernambuco: Sertão do São Francisco e Itaparica (1), Sertão do Araripe, Central do Pajeú e do Moxotó (2), Agreste (3), Zona da Mata (4) e Região Metropolitana (5)



Fonte: www.scielo.br (2016).

2.1.8 Bancos de Germoplasma

Existem diversas formas de conservação e utilização de germoplasma, podendo se destacar os Bancos de Germoplasma, os quais permitem que os melhoristas tenham a sua disposição um reservatório gênico de diversidade, ou recursos genéticos de qualidade. Esses Bancos possuem a matéria-prima para o melhoramento, e são considerados extremamente relevantes na pesquisa agropecuária, tendo produzido resultados que contribuíram significativamente para os principais ganhos qualitativos e quantitativos alcançados pela agricultura ao longo das últimas décadas. Os Bancos de Germoplasma têm o papel de conservar a agro-biodiversidade, funcionando como “depósitos genéticos” que procuram assegurar a variabilidade genética de espécies diversas, garantindo, assim, sua preservação para usos futuros (MACHADO, 2014).

As coleções de Germoplasma se dividem em: coleção base, nuclear, de trabalho, e ativa. A coleção base agrupa a possível variabilidade das espécies-alvo, incluindo parentais selvagens, cultivares tradicionais e elites. A coleção nuclear reúne a maior variabilidade genética de uma espécie no menor número possível de amostras. A coleção de trabalho, ou do melhorista, fornece material para o melhorista ou para instituições de pesquisa que fazem melhoramento, ao passo que a coleção ativa faz a conservação a curto e médio prazo, para gestão e distribuição de germoplasma (MACHADO, 2014).

Dada sua importância para programas de melhoramento, conservação de recursos e preservação da diversidade genética, os Bancos de Germoplasma funcionam também como um reservatório de alelos (genes que se localizam no mesmo lugar em cromossomos homólogos), aos quais os melhoristas podem recorrer sempre que for necessário. No entanto, devido à escassez de informações sobre os recursos genéticos disponíveis, a utilização desses Bancos tem sido limitada. Dentre os aspectos que impedem a maior utilização desses recursos, pode-se destacar a falta de caracterização e a documentação inadequada. Em paralelo, as atividades de manutenção e estudos relacionados aos recursos genéticos têm sido caracterizadas pelo alto custo e retorno em longo prazo (RANGEL et al., 2013).

No tocante ao Banco de Germoplasma do feijão-caupi, sua finalidade básica é ampliar e manter a variabilidade da espécie para oferecer aos melhoristas material genético de qualidade para a obtenção de novas cultivares. Tais bancos são mantidos em diversas coleções ao redor do mundo, as quais contam com uma variedade de níveis de acessibilidade e documentação. A maior coleção é mantida pelo IITA (*International Institute of Tropical Agriculture*), contendo mais de 14.000 acessos. Essa coleção pode ser acessada por meio de um banco de dados eletrônico mantido por meio do sistema CGIAR-SINGER (<http://singer.cgiar.org>). O *United States Department of Agriculture* (USDA) também mantém uma coleção, com cerca de 8.000 acessos. O acesso a essa coleção ocorre por meio do sistema GRIN (*Germplasm Resources Information*) (www.ars-grin.gov). A *University of California*, em Riverside, na Califórnia, tem uma coleção com cerca de 5.000 acessos, acessível em um banco de dados pelo sistema Microsoft. Existe ainda uma grande coleção com raças mediterrâneas e africanas, com cerca de 6.000 acessos, mantida pelo *Istituto di Genetica Vegetale at Bari*, na Itália (www.ba.cnr.it) (TIMKO; SINGH, 2008).

Outros centros mantêm sementes de genótipos selvagens e cultivados, incluindo os seguintes: a *Agricultural University*, em Wageningen, na Holanda, o *Botanical Research Institute*, em Pretoria, na África do Sul, o *Le Jardin Botanique National de Belgique*, em Meise, na Bélgica, o *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI), em Harare, no Zimbábue, o *Institut Français de la Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération* (IRD), em Montpellier, na França, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em Brasília, no Brasil, o *Zentralinstitut fur Genetik und Kulturpflanzenforschung* (GAT), em Gatersleben, na Alemanha, e o *National Bureau of Plant Genetic Resources*, em Nova Déli, na Índia. Adicionalmente a esses, outros programas de melhoramento do feijão-caupi na África (incluindo programas em Botsuana, Burkina Faso,

Gana, Quênia, Nigéria e Senegal) também possuem coleções de germoplasma substanciais (TIMKO; SINGH, 2008).

Conforme relatado, no Brasil, a EMBRAPA tem sido o órgão responsável pelo Banco Ativo de Germoplasma do feijão-caupi. A sua coleção base é constituída de aproximadamente 5.000 acessos do gênero *Vigna*, e se localiza na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Figura 10), em Brasília, no Distrito Federal. Desde 1991, a EMBRAPA Meio Norte tem coordenado o Programa Nacional de Pesquisa do Feijão-caupi, e atualmente essa rede de pesquisa tem se estendido pelas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, indo do Estado de Roraima ao do Mato Grosso do Sul e do Estado de Pernambuco ao de Rondônia (FREIRE FILHO et al., 2011).

Figura 10 - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



Fonte: O Autor (2017).

Adicionalmente, outras instituições de pesquisa no país também possuem coleções de germoplasma de feijão-caupi, e geralmente, os acessos mantidos por essas coleções não estão presentes na coleção da EMBRAPA. Dentre essas instituições, podemos destacar o Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). A coleção de germoplasma de feijão-caupi do IPA (Figura 11) localiza-se na sede do Instituto, em Recife, Pernambuco, e os acessos mantidos por essa coleção representam fielmente os mais cultivados no semiárido (ARAÚJO; WATT, 1988).

Figura 11 - Coleção de germoplasma de feijão do Instituto Agronômico de Pernambuco



Fonte: O Autor (2016).

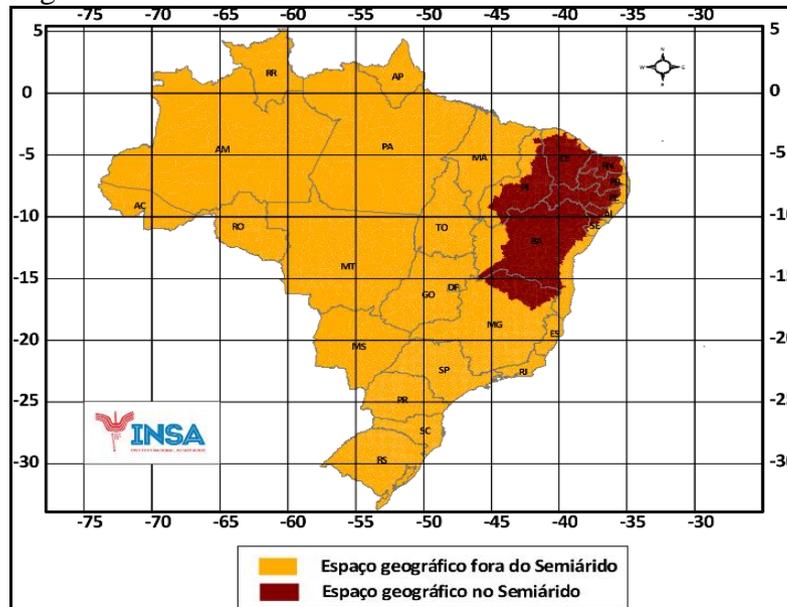
2.1.9 Estresses bióticos e abióticos

O feijão-caupi tem enfrentado limitações no que concerne ao seu cultivo, as quais ocorrem desde a sua implantação até a sua comercialização. Nos países em desenvolvimento, onde a fertilidade do solo é baixa, a chuva limitada, e a maioria do feijão é produzida sem o uso de fertilizantes ou outras medidas de proteção (ex.: pesticidas ou herbicidas), uma grande variedade de estresses bióticos e abióticos tem prejudicado de forma significativa o crescimento e produção da cultura. Os estresses bióticos compreendem aqueles causados por insetos, nematoides, bactérias, fungos e vírus, enquanto que nos estresses abióticos as plantas são expostas a fatores ambientais, como por exemplo: mudanças de temperatura e umidade relativa do ar, radiação solar, deficiência hídrica ou mineral, e salinização do solo. Essas condições de estresse são um desvio significativo das condições ótimas para o cultivo, e induzem mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, as quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanentes, sendo consideradas como um obstáculo à manutenção da produtividade agrícola, e podendo reduzir significativamente os rendimentos das plantas e pastagens, além de restringir as latitudes e os solos onde espécies comercialmente importantes podem ser cultivadas (TAIZ; ZEIGER, 2010).

Dentre os estresses abióticos que afetam negativamente o crescimento e o desenvolvimento do feijão-caupi, a deficiência hídrica é considerada por muitos autores como a principal limitação para a produção. Contudo, além do estresse hídrico, o estresse salino tem ganhado importância significativa, equiparando-se aos estudos sobre aumento da

produtividade do feijão em solos com estresse hídrico. Isto é compreensível, já que o processo de salinização dos solos vem ganhando espaço mundial, pois induz a redução da disponibilidade de água para a planta, além do efeito tóxico acarretado pelo aumento de Na^+ e Cl^- . Nesse sentido, a salinização dos solos tem se tornado um dos grandes problemas enfrentados pelos produtores de feijão-caupi, especialmente nas regiões áridas e semiáridas do Nordeste brasileiro (Figura 12), onde essa cultura tem maior concentração. Apesar disso, estima-se que mais de 6% dos solos mundiais e 30% das áreas irrigadas já possuam problemas de salinização, principalmente em razão da intensa evapotranspiração, baixas precipitações e irrigação com água apresentando maior nível de salinidade (COELHO et al., 2013).

Figura 12 - Semiárido brasileiro



Fonte: www.insa.gov.br (2016).

2.2 O ESTRESSE SALINO

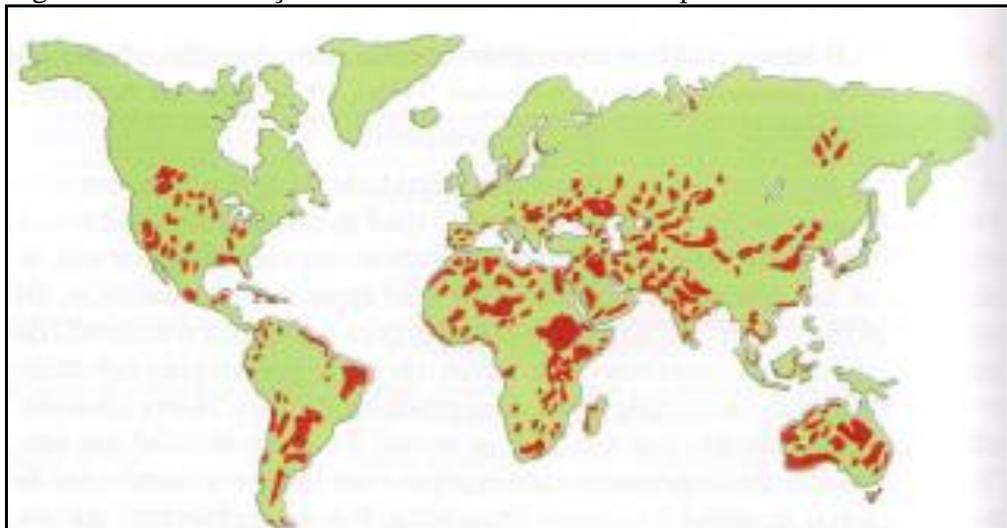
2.2.1 O processo de salinização

A salinização (do solo, das águas de irrigação ou das águas subterrâneas) pode ser definida como a presença de vários solutos minerais em concentrações prejudiciais, resultando na acumulação dos sais dissolvidos para um ponto que culmina por inibir o crescimento das plantas. Em decorrência das propriedades osmóticas dos sais, o potencial hídrico do solo passa a ser reduzido, de modo que o fluxo hídrico normal no sistema solo - planta - atmosfera é alterado, o que gera um déficit hídrico. Esse problema tem se tornado um

dos mais importantes estresses abióticos, por limitar a produção agrícola em regiões áridas e semiáridas ao redor do mundo (Figura 13), locais onde o conteúdo de sais no solo é naturalmente elevado e a precipitação se torna insuficiente para a lixiviação. Esse processo pode resultar de fatores naturais ou antrópicos. Dentre os fatores naturais, estão as baixas umidades associadas à intensa evapotranspiração. Em paralelo, o homem, por meio de um inadequado manejo do solo e da água, pode também induzir ou agravar o processo de salinização, resultando em quedas na produtividade (CASTRO; SANTOS, 2015; GONÇALVES et al., 2015).

Além da irrigação, a adição de sais ao solo por influência humana pode acontecer devido à presença de salmouras, resíduos industriais, ou por meio de uso excessivo ou inadequado de fertilizantes, estimando-se que dentre os 20% das terras irrigadas com excesso de sais, 10% sejam de causa antrópica. Vale ressaltar que a incompatibilidade da irrigação com as características físicas, químicas e mineralógicas do solo é a causa apontada como a principal fonte de salinização dos mesmos, especialmente em áreas onde o clima é árido ou semiárido. Adicionalmente, a qualidade da água, drenagem deficitária e a presença de águas subterrâneas ricas em sais hidrossolúveis também são citadas como agravantes da salinidade. Nesse aspecto, previsões pessimistas sobre a expansão da salinização dos solos indicam o avanço desse problema e sua ocorrência em 50% das terras cultiváveis no mundo até o ano de 2050 (ANDRADE, 2015; PEDROTTI et al., 2015).

Figura 13 - Distribuição mundial dos solos afetados por sais



Fonte: www.ccta.ufcg.edu.br (2016).

2.2.2 Efeitos do estresse salino

O estresse salino afeta significativamente a produção agrícola, pois restringe não só a produtividade das culturas em um determinado ciclo de crescimento, como também deteriora os solos (Figura 14) e a água de irrigação, agravando ainda mais os efeitos prejudiciais do excesso de sais. Em muitos países onde a água já é escassa e as secas são recorrentes, a salinidade tornou-se um dos principais entraves na produtividade, afetando negativamente grande parte das terras cultivadas, além de reduzir o rendimento das culturas, que, em sua maioria, dependem de água doce para atingir o seu máximo potencial de rendimento (PEDROTTI et al., 2015).

Figura 14 - Solo em estágio avançado de salinização



Fonte: uol.com.br (2016).

De maneira geral, a salinidade aparece principalmente na forma de aumento no teor de sódio presente no solo, afetando as plantas de duas maneiras: altas concentrações de sais no solo dificultam a absorção de água pelas raízes, e altas concentrações de sais na planta podem ser tóxicas, prejudicando seu crescimento e desenvolvimento, e podendo reduzir a sua sobrevivência. A presença de sais no solo tem um efeito imediato sobre o crescimento celular associado ao metabolismo, enquanto que as concentrações tóxicas no interior da planta se acumulam por maiores períodos, antes de afetar suas funções fisiológicas. Nesse sentido, os efeitos do estresse salino podem ser classificados em primários e secundários. Os primários, portanto, incluem os efeitos tóxicos específicos dos íons, os danos na permeabilidade das membranas celulares e de organelas citoplasmáticas, o desequilíbrio metabólico nos processos fotossintético e respiratório, anabolismo e catabolismo de aminoácidos, proteínas e ácidos

nucleicos, assim como danos às reações enzimáticas e conversões de fitormônios. Em contrapartida, os efeitos secundários incluem alterações osmóticas e deficiência de nutrientes induzida pela competição dos íons Na^+ e Cl^- com os demais, durante o processo de absorção (ZANANDREA et al., 2014). Dessa forma, os sais solúveis presentes na solução do solo são capazes de afetar negativamente as plantas em todos os seus estádios de desenvolvimento, no entanto, em culturas mais sensíveis pode haver maior prejuízo em estádios específicos, os quais normalmente variam entre os primeiros e os últimos (ABREU, 2012).

2.2.3 Respostas das plantas ao estresse salino

A evolução das plantas superiores é caracterizada por sua constante adaptação a estresses bióticos e abióticos. Essa flexibilidade em se adaptar às diversas condições de crescimento é o que garantiu a sua sobrevivência. As diversas condições ambientais existentes no planeta normalmente caracterizam um estresse. Esse termo pode ser definido como um desvio relevante das condições ótimas para o crescimento, de forma que a planta precisa aumentar seu gasto energético a fim de suportá-lo. A intensidade e o tempo de duração do estresse podem induzir respostas reversíveis ou irreversíveis em todos os níveis funcionais do organismo, podendo influenciar em novos padrões fisiológicos de maneira positiva ou negativa. Nesse sentido, a resposta das plantas à salinidade é um fenômeno complexo, envolvendo alterações em processos fisiológicos, bioquímicos e nutricionais. Certas respostas irão causar mudanças morfológicas e alterações no crescimento que prejudicarão a produtividade das plantas. Por outro lado, outras respostas específicas irão resultar na sobrevivência e na produtividade eficiente de certas plantas (SOUSA et al., 2012).

As plantas podem ser divididas em glicófitas e halófitas (Figura 15). As glicófitas são incapazes de tolerar altos teores de sais, já as halófitas podem tolerar altas concentrações de sais.

Figura 15 - Espécie halófitas *Atriplex nummularia*



Fonte: www.pinterest.com (2016).

Tais espécies resultaram de adaptações evolutivas, as quais produziram diferentes capacidades para tolerar níveis elevados de sal, visando à conclusão do ciclo de vida. Em consequência disso, sua adaptação em ambos os grupos exige respostas celulares que atenuem o efeito tóxico dos íons, visto que embora difiram na sua capacidade de tolerar sal, seu sistema citosólico e organelas, tanto em glicófitas como em halófitas, parece ser igualmente sensível ao Na^+ e Cl^- . Dessa forma, a tolerância à salinidade em halófitas parece depender de vários aspectos fisiológicos interligados, incluindo: compartimentação de íons, produção de osmólitos, adaptação osmótica, seletividade no transporte de íons, respostas enzimáticas e excreção de sais, sendo sua habilidade em manter baixas as concentrações citosólicas de sódio um processo essencial para seu crescimento em ambientes salinos (TAIZ; ZEIGER, 2010).

É importante ressaltar que além de variar com a espécie, os mecanismos de tolerância podem também variar de acordo com o genótipo, fazendo com que dentro de uma mesma espécie existam genótipos mais ou menos sensíveis ao estresse salino. Os mecanismos de tolerância podem incluir alterações morfológicas e fisiológicas, como inibição no crescimento, controle sobre a transpiração, fechamento estomático e aumento na profundidade do sistema radicular, como ainda alterações metabólicas devido ao aumento nos níveis de prolina, glicina-betaína e de alguns açúcares. Nesse aspecto, a adaptação ao estresse é muito útil, permitindo a seleção de culturas e genótipos mais tolerantes e capazes de produzir bem, mesmo em ambientes com excesso de sais (SILVA et al., 2014).

Vários critérios têm sido relatados como indicadores da tolerância à salinidade, como porcentagem de folhas mortas, vigor, fluorescência da clorofila, assim como crescimento da planta e produção de sementes. Outro aspecto relacionado à seleção de plantas tolerantes trata-se dos diferentes estádios de desenvolvimento em que a planta se encontra quando é submetida ao estresse, já que de acordo com a idade da planta pode haver uma redução drástica na sua produtividade, ou até mesmo a sua perda completa (FREITAS et al., 2013; HARTER et al., 2014; LEMES; LOPES, 2013; SÁ et al., 2014).

2.2.4 Alternativas ao estresse salino

Em muitas regiões pode se obter produção de grãos durante todo o ano, utilizando-se águas salinas na estação seca e água da chuva na estação úmida, sem alterar significativamente o ambiente, já que o acúmulo de sais pode ser revertido total ou parcialmente. Contudo, vale ressaltar que esse processo de lavagem dependerá do total de precipitação anual, da intensidade das precipitações e das características físicas do solo. Algo que também pode reduzir a concentração de sais e aumentar a disponibilidade de água é

utilizar misturas de águas de diferentes qualidades. Todavia, essa mistura só é viável quando se dispõe de mais de uma fonte, algo possível em muitas situações práticas, especialmente quando se dispõe tanto de fontes superficiais como subterrâneas (ARAÚJO, 2015; COSTA et al., 2013).

Em alguns cultivos sob estresse salino, a redução na produção culmina por ser maior que o previsto, isso pode ocorrer devido à maior sensibilidade durante a fase de estabelecimento da plântula, o que acarreta em grandes reduções no estande. Uma alternativa pouco econômica para se resolver esse problema seria usar uma quantidade de sementes acima da média necessária para o plantio. Ainda outra alternativa seria a manutenção de baixos níveis de sais na zona de plantio, pelo menos nos estádios iniciais de crescimento da plântula, de forma que a escolha do método correto de irrigação seria de fundamental importância para o sucesso da colheita (SCHOSSLER et al., 2012).

Outro método seria fazer uso de cultivos adensados (Figura 16), já que nessas condições a redução do espaçamento de plantio resultaria em ganhos de rendimento e na eficiência do uso da água, o que, conseqüentemente, aumentaria a eficiência de uso da terra. Essa é uma estratégia bastante promissora para culturas anuais, podendo ser associada com a rotação de culturas e com outras técnicas de manejo, sendo bastante aplicável sob condições salinas (SCHOSSLER et al., 2012).

Figura 16 - Cultivo adensado em lavoura de feijão



Fonte: Antonio Félix da Costa (2016).

O uso de rotação de culturas pode ser mais uma alternativa para regiões que apresentem problemas de salinidade. Essa estratégia se mostra bastante promissora para

culturas anuais, principalmente para solos com boa drenagem, ou ainda estando associada a outras estratégias que favoreçam a lixiviação, podendo contribuir para aumentar a eficiência do uso da terra e da conservação do solo. Para obtenção dos melhores resultados com o uso de rotação de culturas utilizando-se águas salinas, deve-se cultivar a espécie mais tolerante durante a estação seca, quando se utiliza principalmente águas de maior salinidade. Algumas pesquisas têm apontado ainda a técnica da fitorremediação como alternativa de manejo em áreas degradadas pelo excesso de sais, por meio do cultivo de plantas capazes de acumular os sais em excesso, retirando-os do solo. Essa técnica apresenta-se como um método de custo razoável, ambientalmente mais seguro e de maior aceitação pelo público, em comparação aos métodos tradicionais, mais agressivos ao ambiente (SILVA, 2015).

Diante do exposto, apesar dos diversos métodos existentes apresentarem vantagens relevantes, essas técnicas não são inteiramente aplicáveis a toda e qualquer região que apresente problemas relacionados ao excesso de sais, já que seus métodos envolvem práticas que podem não ser acessíveis a todos os produtores, e nem sempre reproduzíveis em qualquer situação de estresse. Nesse sentido, a utilização de genótipos tolerantes, ou menos sensíveis ao estresse salino, é comprovadamente a melhor alternativa para solução do problema, já que o emprego desses genótipos apresenta vantagens superiores às anteriormente mencionadas, tratando-se de uma alternativa limpa, que não agride o ambiente, acessível a todo e qualquer produtor, aplicável em qualquer tipo de solo, a mais econômica, não exigindo maiores gastos ou cuidados durante o cultivo e, principalmente, por resultar em aumento expressivo na produção e conseqüente melhoria no mercado de grãos (COELHO, 2012).

2.2.5 Estresse salino em feijão-caupi

O feijão-caupi é considerado uma espécie moderadamente tolerante à salinidade, suportando condutividade elétrica (CE) da água até $3,3 \text{ dSm}^{-1}$. Apesar disso, pesquisas têm demonstrado que a elevação da salinidade pode inibir o desenvolvimento das plantas de feijão-caupi, em consequência de alterações nos parâmetros fisiológicos, de crescimento e de rendimento da cultura (OLIVEIRA et al., 2015b).

De uma maneira geral, o excesso de sais pode alterar a anatomia radicular e foliar do feijão-caupi (GARZÓN; GARCÍA, 2011), podendo ocorrer redução da matéria seca e da nodulação, devido aos efeitos tóxicos e nutricionais que afetam a assimilação líquida de CO_2 , inibem a expansão foliar, reduzem a área fotossintética e a produção de fotoassimilados (LIMA et al., 2007; NEVES et al., 2009), reduzem o teor de proteína dos grãos (DANTAS et al., 2002), assim como a área foliar, com vistas a elevação do potencial hídrico da planta, já

que o déficit hídrico na zona radicular promove a senescência e abscisão das folhas (DANTAS et al., 2003), aumento de Na^+ e redução da extração de N, K, Ca, P, Fe, Mn, Zn e Cu, à medida que a irrigação com água salina se torna constante (NEVES et al., 2009).

Em estudo desenvolvido por Furtado et al. (2014) com a cultura do feijão-caupi sob condições de salinidade, os autores observaram que a salinidade do solo provocou retardamento da floração e elevou a taxa de abortamento das flores, de forma proporcional ao aumento da salinidade. Contudo, vale ressaltar que o grau de sensibilidade do feijão-caupi ao estresse salino pode variar entre os genótipos (COELHO et al., 2013), já que outros autores, ao trabalhar com diferentes genótipos de feijão-caupi, verificaram comportamento diverso entre os mesmos, principalmente entre materiais de procedência distinta.

Nesse contexto, a obtenção de genótipos de feijão-caupi com menor sensibilidade à salinidade e sua utilização em programas de melhoramento genético vegetal têm possibilitado um melhor rendimento na produção, o que permite a utilização de técnicas mais modernas de cultivo, com conseqüente incremento na produção (FAGERIA; GHEYI, 1997). Adicionalmente, a manipulação desse caráter tem originado diferentes classes genotípicas, favorecendo, portanto, a seleção dos genótipos mais adaptados para o cultivo em diferentes ambientes agrícolas (YOKOI et al., 2002).

2.3 PROTEÔMICA

2.3.1 Histórico

Proteínas são polímeros de aminoácidos resultantes da tradução das informações genéticas contidas no DNA de um genoma. Estão presentes em grande diversidade nas membranas, no citoplasma e no interior do núcleo, atuando como enzimas, anticorpos, componentes estruturais, receptores celulares, agentes de sinalização, dentre outras funções. Com base nessa diversidade funcional, as proteínas desempenham papéis fundamentais em quase todos os fenômenos biológicos, como produção de energia, comunicação celular, defesa, contração muscular, atividades neuroquímicas, reprodução, dentre outras (ZAHA et al., 2014).

A proteômica busca descrever o conjunto completo de proteínas como produto da expressão gênica. A definição de proteoma foi proposta pela primeira vez por Wilkins, no ano de 1995, segundo o qual toda proteína equivale ao genoma de um ser vivo. Todavia, posteriormente, verificou-se que o genoma representa um elo entre os genes e as proteínas, de forma que o proteoma da célula seria puramente um reflexo do ambiente celular. Nesse

sentido, a definição de proteômica leva em consideração a natureza altamente dinâmica das proteínas, referindo-se, portanto, ao equivalente do genoma expresso na célula (CAMPOS, 2012).

Entre os anos de 1995 e 2000, a proteômica tinha como objetivo separar e detectar o maior número possível de proteínas expressas em um ser, possibilitando que as mesmas fossem catalogadas e analisadas, o que deu nome à chamada Proteômica Estrutural. Posteriormente, a Proteômica Funcional objetivou compreender o papel das proteínas diferencialmente expressas, avaliando seu envolvimento em rotas metabólicas, de defesa, ou em mecanismos diversos (PINTO, 2014).

Embora um grande número de genomas já tenha sido identificado, sua natureza é estática, ao passo que o proteoma de cada célula é dinâmico, estando em constante mudança. Mudanças no padrão de expressão das proteínas podem ocorrer em todo o ciclo celular, em resposta ao estado metabólico da célula, bem como à percepção de sinais intra e extracelulares (temperatura, estresses, sinais apoptóticos). Adicionalmente, a ocorrência de processamento alternativo (*splicing* alternativo), assim como de modificações pós-transcripcionais, deixa claro que a ideia de que um único gene dá origem a uma única proteína não reflete a realidade. Dessa forma, o genoma não permite se inferir sobre a funcionalidade de uma determinada proteína, já que não se sabe com certeza quais genes são expressos e em que momento específico do ciclo celular isso ocorre (BUENO-SILVA, 2012).

As proteínas expressas podem sofrer modificações pós-transcripcionais, tendo sido relatadas mais de 200 alterações possíveis. Vale salientar ainda que um grande número de proteínas são frequentemente expressas em baixa concentração, o que dificulta e limita a capacidade de identificação das mesmas, visto que grande parte das análises proteômicas são apenas de caráter qualitativo, ou seja, buscam determinar a presença ou ausência de proteínas de interesse (CRUZ; CARVALHOLL, 2010).

Apesar disso, o interesse na proteômica de plantas tem aumentado rapidamente em anos recentes. Áreas de maior interesse incluem o estudo da expressão de proteínas em diferentes órgãos vegetais, como resposta às variações fisiológicas. Similarmente, a Proteômica Funcional em plantas também tem ganhado espaço ao buscar o monitoramento e análise (espacial e temporal) da atividade molecular das células, a elucidação do papel de proteínas desconhecidas, bem como a definição e compreensão de mecanismos celulares a nível molecular (CRUZ; CARVALHOLL, 2010).

2.3.2 Descrição

Para se analisar as proteínas expressas pelo genoma de um organismo ou tecido aplicam-se técnicas de proteômica, cujo objetivo é isolar e identificar proteínas, estudar suas propriedades, seus níveis de expressão, funções, modificações pós-transducionais, interações protéicas e mecanismos regulatórios. Uma descrição completa do proteoma de um organismo fornece, não apenas um catálogo do conjunto de proteínas que ele possui, mas sim uma imagem dinâmica que contém dados da expressão proteica em condições específicas, bem como sua distribuição na célula (FONSECA, 2014).

Os complexos de proteínas representam o primeiro nível de organização do proteoma de uma célula. A proteômica, como já relatado, fornece uma ligação entre as proteínas e seus genes codificadores, representando, portanto, uma ligação entre a fisiologia celular e a genética. Esse fato é relevante, já que inúmeros projetos envolvendo genoma, ao sequenciar genes de organismos inteiros, são responsáveis por gerar grande quantidade de informações, as quais, de forma independente, não são capazes de traduzir o real funcionamento das complexas redes reguladoras, assim como do metabolismo celular (PINTO, 2014).

As técnicas relativas aos estudos proteômicos estão inseridas em diversas áreas da biologia, da bioquímica e da toxicologia, sendo comumente aplicadas em estudos do proteoma de organismos, na análise de sua patogenicidade e adaptação ao hospedeiro. Adicionalmente, são empregadas na análise de diversas doenças, como as de natureza cardiovascular, neurológica, diabetes e obesidade, assim como as parasitárias e as infectocontagiosas, rejeição de órgãos em transplantes e na oncologia. A proteômica se aplica, ainda, na busca de biomarcadores e alvos terapêuticos que possam auxiliar no diagnóstico e tratamento de doenças, bem como na pesquisa de novos fármacos (com maior especificidade e menores efeitos colaterais) (BARBOSA et al., 2012).

As três áreas que compõem a proteômica podem ser divididas em: expressão proteômica (representando a abundância de proteínas em atividade na célula), o mapeamento celular (ou proteômica celular, delimitando as interações proteína - proteína e distribuição protéica organela - específica) e a proteômica estrutural (caracterizando a estrutura tridimensional das proteínas). Com base nessas abordagens, as proteínas são estudadas em escala global mediante a combinação de tecnologias bem-sucedidas, a exemplo da eletroforese uni e bidimensional em gel de poliacrilamida, espectrometria de massas (Figura 17), cromatografia líquida multidimensional, assim como técnicas de bioinformática (GULCICEK et al., 2005).

Figura 17 - Espectrômetro de massas multidimensional



Fonte: ca.iq.usp.br (2016).

2.3.3 Aspectos da proteômica comparativa

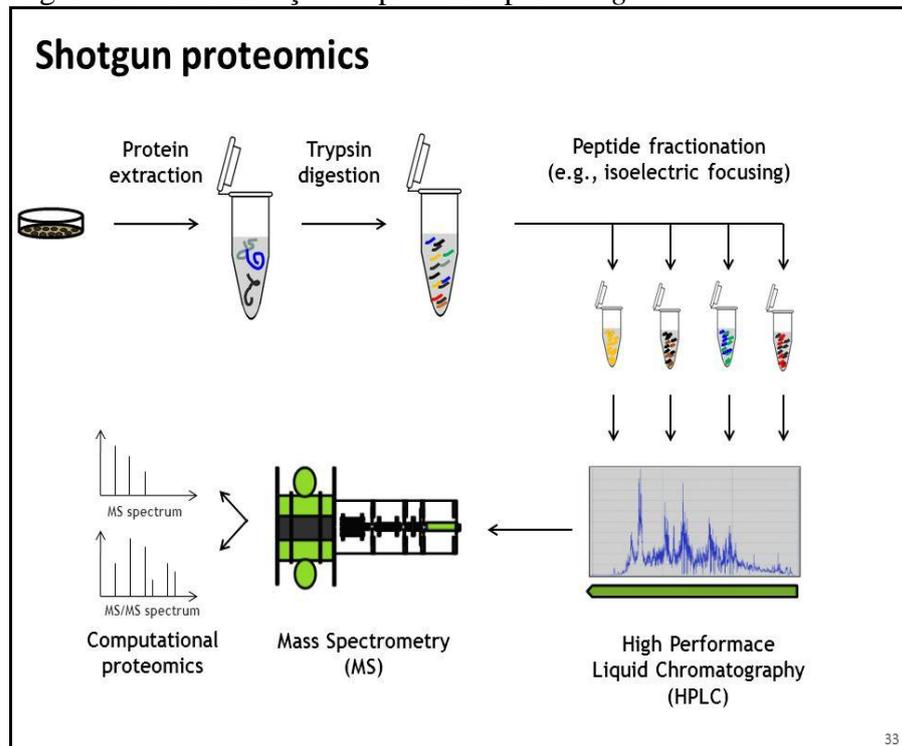
A proteômica tem sido empregada como uma ferramenta para análise do perfil de proteínas expressas em diversos organismos. Essa análise necessita de amostras proteicas de qualidade e boa resolução, em associação a métodos confiáveis de identificação de proteínas. De uma maneira geral, os métodos utilizados na preparação de amostras incluem etapas de solubilização diferencial de proteínas e remoção de contaminantes, a exemplo de lipídeos, ácidos nucleicos e polissacarídeos. Tais métodos devem ser adequados a cada modelo de estudo, sendo adaptados com base nas moléculas presentes na amostra. Quanto mais pura estiver a amostra, melhores serão os resultados obtidos, contudo, as etapas de manipulação e exposição da amostra permitem que essas técnicas estejam sujeitas a uma maior quantidade de erros experimentais (JÚNIOR et al., 2013).

As técnicas mais empregadas para separação de proteínas são: a eletroforese em gel de poliacrilamida (GE) e a cromatografia líquida (LC). Ambas já estão bastante estabelecidas, havendo diversas variações e protocolos disponíveis na literatura. Paralelamente, com relação às técnicas para identificação de proteínas, a espectrometria de massas (MS) tem importante destaque, a partir do desenvolvimento de equipamentos rápidos, precisos e altamente confiáveis. No entanto, a dificuldade para reprodução de experimentos envolvendo proteômica tem sido bastante discutida na literatura e entre os pesquisadores, o que tem gerado diversos questionamentos. Nesse aspecto, dois pontos fundamentais para a credibilidade dos experimentos são: a descrição detalhada dos métodos de preparação das amostras e os parâmetros utilizados para o processamento dos dados obtidos por espectrometria de massas (BARBOSA et al., 2012; JÚNIOR et al., 2013).

Outro ponto bastante discutido está relacionado à descrição dos experimentos em artigos científicos, já que nem sempre os protocolos utilizados para se analisar uma amostra específica em determinado laboratório podem ser corretamente reproduzidos em outro laboratório, devido à falta de detalhamento do método. Nesse sentido, a descrição detalhada dos métodos de preparação das amostras, bem como dos parâmetros utilizados para processamento dos dados via espectrometria de massas são ainda mais importantes ao se tratar de experimentos envolvendo proteômica comparativa, visto que nesses casos se deseja obter informações sobre proteínas expressas diferencialmente entre duas condições distintas. Portanto, é de extrema relevância que variações experimentais sejam evitadas ao máximo. Nesse aspecto, a espectrometria de massas é uma técnica de grande sensibilidade, de forma que pequenas diferenças de processamento poderão originar alterações detectáveis, que, no entanto, não irão representar variações reais (ABREU, 2012; GAMES et al., 2013).

Em anos recentes, a técnica de DIGE (*Differential Gel Electrophoresis*), que utiliza marcadores fluorescentes e eletroforese bidimensional, foi apontada como uma alternativa às análises tradicionais por géis bidimensionais para proteômica comparativa. Nesse método, cada amostra é marcada com uma cianina fluorescente, de forma que as amostras podem ser comparadas e separadas em um mesmo gel de eletroforese. Ao fim da separação, o gel pode ser lido em um *scanner* de fluorescência, nos comprimentos de onda emitidos pelos fluoróforos utilizados, gerando duas ou mais imagens a partir de um mesmo gel. Tal procedimento facilita a etapa de comparação dos géis. Contudo, erros experimentais na etapa de extração de proteínas não são evitados e as limitações de géis bidimensionais no que concerne à separação de proteínas básicas, hidrofóbicas e de grande peso molecular permanecem (MINDEN, 2012; POMASTOWSKI; BUSZEWSKI, 2014).

Devido a essas dificuldades, desenvolveu-se a técnica de *Shotgun* (Figura 18), a qual procura contornar esses problemas por acoplar um espectrômetro de massas à cromatografia líquida de alta resolução (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC). Nessa abordagem, as proteínas de uma mistura complexa são digeridas por uma protease, resultando em peptídeos, os quais são separados pelo HPLC. Em seguida, com o HPLC acoplado ao espectrômetro de massa, os peptídeos são injetados na fonte de íons e analisados via sequenciamento. Posteriormente, as sequências dos peptídeos são comparadas a bancos de dados de proteínas com o auxílio de ferramentas de bioinformática, possibilitando, assim, a identificação dos mesmos (ROEPSTORFF, 2012).

Figura 18 - Identificação de proteínas por *Shotgun*

Fonte: slideplayer.com (2016).

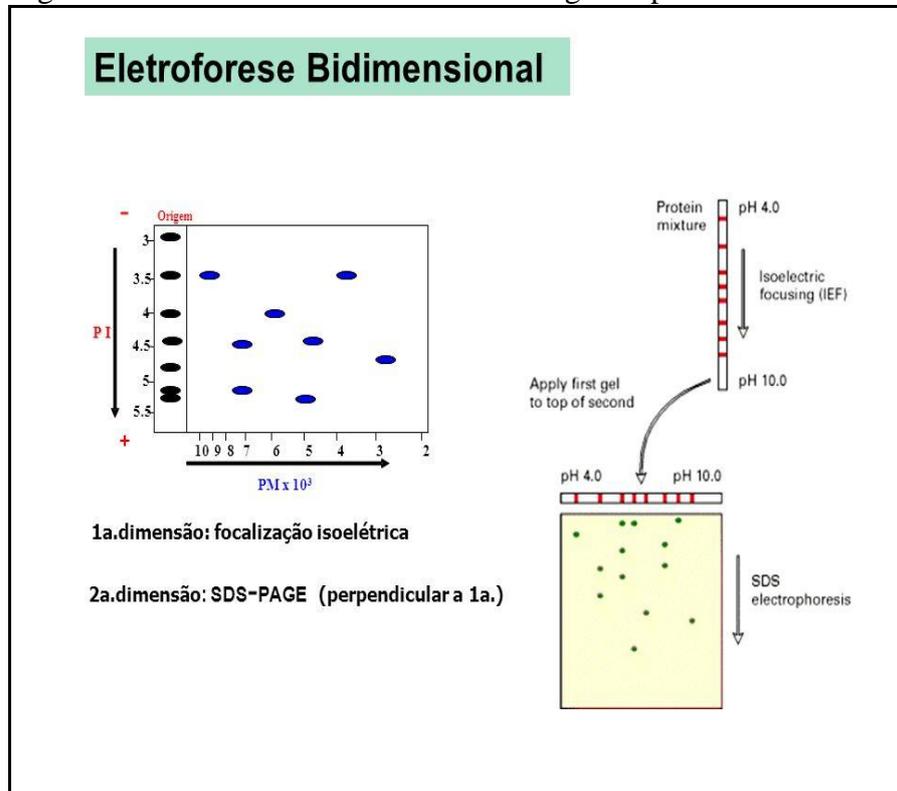
2.3.4 Proteômica em plantas

Levando-se em consideração as estratégias adotadas, o estudo proteômico em plantas é bastante semelhante aos estudos envolvendo proteômica realizados em sistemas animais e de microorganismos, por consistir principalmente da análise proteômica. Tal análise envolve a separação das proteínas por meio da eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida (Figura 19), identificação e isolamento a partir do gel, digestão e identificação da proteína por espectrometria de massas, e posterior comparação com os bancos de dados disponíveis (GAMES et al., 2013).

Dentre as dificuldades comumente encontradas estão a extração e preparação da amostra, uma vez que em plantas estão presentes uma série de compostos que por vezes dificultam a análise proteica (proteases, compostos fenólicos, e metabólitos secundários), tendo efeito deletério durante o processo de extração. Outra dificuldade bastante encontrada na análise proteômica de plantas é a disponibilidade limitada de informações sobre o genoma, de forma que técnicas que incluam o acesso à sequência de aminoácidos das proteínas são necessárias para incrementar a abrangência desses experimentos. Apesar disso, em anos recentes, a análise proteômica tem sido cada vez mais empregada no estudo de vários processos do desenvolvimento vegetal, incluindo aspectos bioquímicos e moleculares

envolvidos na embriogênese, assim como o completo desenvolvimento da semente até a germinação (LIVRAMENTO, 2014).

Figura 19 - Eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida



Fonte: slideplayer.com (2016).

2.3.5 Proteômica de plantas sob estresse salino

Em anos recentes, a análise sistemática das proteínas expressas (proteoma), tornou-se um dos enfoques mais promissores para se compreender a função e a regulação dos genes responsáveis pelos mecanismos de adaptação das plantas aos estresses ambientais. A partir das análises proteômicas, dados importantes podem ser obtidos a respeito dos produtos gênicos que estão sendo transcritos ou traduzidos, incluindo suas concentrações relativas e as modificações pós-traducionais que são essenciais para a atividade de muitas proteínas (RAMPITSCH; SRINIVASAN, 2006).

Nesse sentido, grande parte das investigações sobre a composição do proteoma, em condições de salinidade, tem comparado as proteínas isoladas a partir de plantas não estressadas (controle) com as de plantas em condições de estresse. Outras abordagens incluem a comparação de proteomas a partir de dois genótipos ou espécies diferentes, com níveis contrastantes de tolerância ao estresse salino (KOSOVÁ et al., 2011). Dessa forma, a análise de proteínas diferencialmente expressas pode ser empregada com o intuito principal de

fornecer base à descoberta de novos marcadores moleculares, já que muitas dessas proteínas podem revelar funções consistentes com relação à resposta ao estresse salino. O próximo passo seria verificar se o comportamento das proteínas cosegrega com a característica de interesse ou com um QTL (locos de caracteres quantitativos), permitindo a integração de genes de interesse em programas de melhoramento genético assistido por marcadores moleculares, ou, ainda, em programas que incluam a transformação genética (SALEKDEH; KOMATSU, 2007).

Uma comparação das mudanças no proteoma sob estresse salino em *Arabidopsis thaliana*, uma glicófita, e em *Thellungiella halophila*, uma halófita, revelou que o estresse salino provocou menos alterações em *T. halophila* do que em *A. thaliana*, havendo a expressão diferencial de 37 e 88 proteínas, respectivamente (PANG et al., 2010). Similarmente, nas folhas da halófita *Suaeda aegyptica*, um estudo proteômico, com base nos efeitos provocados pelo NaCl, evidenciou um aumento notável na expressão de várias proteínas relacionadas com o estresse oxidativo por influência do excesso de sal (ASKARI et al., 2006).

Diante do exposto, os estudos do proteoma realizados em um determinado órgão, tecido, célula, ou compartimento subcelular, proveniente de plantas estressadas ou não, com posterior identificação das proteínas mais relevantes, poderão contribuir para um maior entendimento dos mecanismos que controlam as respostas ao estresse salino. Dessa forma, os produtos dos genes relacionados ao estresse poderão ser futuramente empregados em programas de melhoramento e em pesquisas que busquem reduzir a sensibilidade de plantas não halófitas ao estresse salino (KOSOVÁ et al., 2011).

3 CAPÍTULO 1 - submetido ao periódico Pesquisa Agropecuária Pernambucana (PAP)**SENSITIVITY OF COWPEA SEEDS TO SALINE STRESS****SENSIBILIDADE DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI AO ESTRESSE SALINO****ABSTRACT**

Cowpea is a global crop, representing one of the principals in northeastern Brazil, with strong socio-economic importance. Its cultivation has been affected, however, by soil salinization, resulting in metabolic disturbances and consequent restrictions of plant growth and productivity. The present work aimed to assess the sensitivity to salt stress among seeds of fifty genotypes of cowpea maintained in the Active Germplasm Bank of the Instituto Agronômico de Pernambuco. The seeds of these genotypes were submitted to five treatments with different concentrations of NaCl (0, 25, 50, 100 and 200 mM). Increasing salt concentrations were observed greater or lesser alterations of germination rates on different genotypes. Among the genotypes tested, Maravilha, Paulistinha, Sempre Verde Baiano, and Sempre Verde Salgueiro demonstrated the least sensitivity to salinity, while BRS Pajeú, Mosqueado 383, Mut 300 gy, Mut 50 gy, and Pele de Moça were the most sensitive. The results indicated that the various genotypes responded differently to saline stress according to their respective genotype and initial viability of seeds.

Key-words: *Vigna unguiculata*. NaCl. Tolerance.

RESUMO

O feijão-caupi é uma cultura global, representando uma das principais culturas no nordeste do Brasil e apresentando grande importância socioeconômica. Seu cultivo tem sido afetado, no entanto, pela salinização do solo, o que resulta em distúrbios metabólicos e consequente restrição no crescimento e produtividade da planta. Nesse aspecto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade ao estresse salino em sementes de cinquenta genótipos de feijão-caupi mantidas no Banco Ativo de Germoplasma do Instituto Agronômico de Pernambuco. As sementes desses genótipos foram submetidas a cinco tratamentos com diferentes concentrações de NaCl (0, 25, 50, 100 e 200 mM). Aumentando-se as concentrações de sal observaram-se maiores ou menores alterações nas taxas de germinação em diferentes genótipos. Entre os genótipos testados, Maravilha, Paulistinha, Sempre Verde Baiano, e Sempre Verde Salgueiro demonstraram menor sensibilidade à salinidade, enquanto que BRS Pajeú, Mosqueado 383, Mut 300 gy, Mut 50 gy, e Pele de Moça foram os mais sensíveis. Os resultados indicaram que os vários genótipos responderam de forma diferente ao estresse salino, de acordo com seu respectivo genótipo e viabilidade inicial.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*. NaCl. Tolerância.

INTRODUCTION

Cowpea is a tropical legume of family Fabaceae. This plant is cultivated on approximately one million hectares throughout Brazil, but 90% of the production occurs in

the semiarid northeastern region (ALCANTARA et al., 2002). With the expansion of this crop, new markets have appeared and demand has risen, generating the necessity of producing beans of superior quality and competitiveness. To guarantee a greater market share, it will be necessary to both develop genotypes that are less sensitive to salinity and to improve production techniques (JAYNE et al., 2014).

Irrigation has been largely responsible for the salinization of soils in the dry northeastern region of Brazil. Although this technology was introduced to increase seed production and quality, its inadequate use and the excessive applications of fertilizers, associated with the dry climate, have resulted in drastic increases in soil salinity. The high temperatures and low rainfall rates encountered in the caatinga dryland biome result in high evapotranspiration rates that, in association with the use of high mineral-content irrigation waters and inefficient drainage, favor the accumulation of salts on the soil surface (RYAN et al., 2013).

During the germination phase, when the seeds and seedlings are most exposed and most sensitive to abiotic stress, excess salt will inhibit seedling growth and negatively affect their physiological potential (CORDEIRO et al., 2014). Parallel to this, metabolic disturbances caused by excess salt result in growth and developmental restrictions that can cause significant productivity losses.

It is important to emphasize that the consequences of salt stress in plants are not the result of isolated factors, but rather reflect the association of stress conditions with the genotypic characteristics of the plants. Therefore, the search for genotypes less sensitive to the negative effects of salinity is of considerable importance to the development of productive and economically viable cultivars (ISLAM et al., 2015). In this sense, the present work aimed to assess the sensitivity to salt stress among seeds of fifty genotypes of cowpea maintained in the Active Germplasm Bank of the Instituto Agrônomo de Pernambuco.

MATERIALS AND METHODS

Seeds of fifty genotypes were tested, derived from the Active Germplasm Bank of the Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA): Aracê, Araripina 1, Araripina 2, Bastião, Bastiãozinho, BR9 Longá, BR10 Piauí, BR14 Mulato, BRS Guariba, BRS17 Gurguéia, BRS Itaim, BRS Marataoã, BRS Novaera, BRS Pajeú, BRS Paraguaçu, BRS Tumucumaque, Canapu, Canapu Belém, Canapu Mossoró, Canapuzinho, Canapuzinho Sede, Caupi Mulato, Chico Joaquim, CNC 0434, Costela de Vaca, EPACE 10, Inhuma, IPA 206, Macaíbo, Manteiga, Maravilha, Miranda IPA 207, Mosqueado 383, Mut 300 gy, Mut 50 gy,

Paulistinha, Pele de Moça, Pingo de Ouro 2, Portalegre 1, Portalegre 2, Rabo de Tatu, Rajado, Rasga Letra, Safrinha, Salgueiro 1, Sempre Verde Baiano, Sempre Verde Luis Eduardo Magalhães, Sempre Verde Salgueiro, Sopinha 382 and Vigna 384.

The germination tests were undertaken at the Laboratory of Seed Analysis at the Instituto Agronômico de Pernambuco at a mean temperature of 25 °C. The experiments used as the basic substrate washed and sieved sand that was sun-dried, sterilized in an autoclave at 120 °C, and subsequently distributed (300 g each) into 750 transparent plastic germination cases (Gerbox-type, 11 x 11 x 3 cm).

Different concentrations of NaCl solutions were used for the stress analyses: 0 mM (control), 25, 50, 100, and 200 mM (Table 1).

Table 1 - NaCl concentrations per treatment

Treatments	NaCl (g/L)	Molarities (mM)
1	0.0	0.0
2	1.46	25.0
3	2.92	50.0
4	5.84	100.0
5	11.68	200.0

Source: The Author (2015).

The experiment design was randomized and was composed of five treatments with three repetitions of 10 seeds each. The following variables were analyzed during the experiments: initial germination count (IGC) and final germination count (FGC). The initial germination count was made five days after sowing and the final germination count after eight days (BRASIL, 2009). The data was submitted to variance analysis (Table 2) and the means subsequently grouped for comparisons using the Scott-Knott test at 5% level probability using SASM-Agri software (CANTERI et al., 2001).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of variance analysis are presented on Table 2. The coefficient of variation reveals that results obtained are statistically significant.

It was noted that there was low germination at the time of the first evaluation (five days), in relation to the final count (eight days) (Figure 1). Those results were expected, as stored seeds tend to first lose their vigor, and later their viability (CHENOLL et al., 2009). As such, seeds with less vigor will require longer periods to germinate (ROBERTS, 2012). Additionally, even the lowest salt concentration tested (25 mM) reduced the physiological potential of the seeds as compared to the control (0 mM). Similar results were reported by

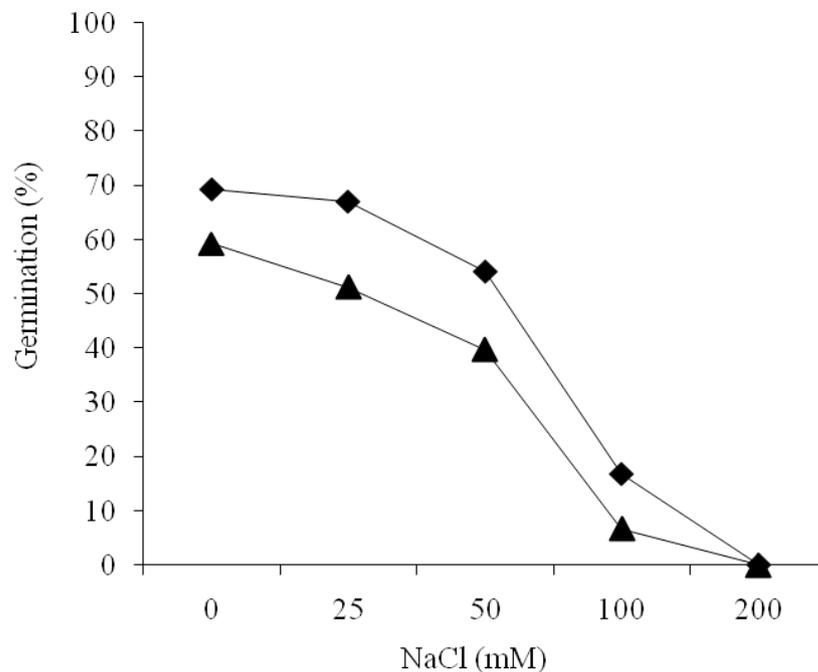
Thiam et al. (2013). Also working with cowpea, they reported that high concentrations of NaCl significantly reduced and retarded the germination of all 15 cultivars tested.

Table 2 - Summary of variance analysis for data obtained

Variation Cause	Degrees of freedom	Chi-square	
		initial germination count	final germination count
Genotypes (A)	49	2.6795	2.5599
NaCl concentrations (B)	4	71.2028	91.3155
A*B	196*	0.6087	0.6325
Treatment	249	2.1502	2.4686
Residue	500	0.0955	0.0899
Total	749	-	-
Mean (%)	-	31.39	41.44
Coefficient of variation (%)	-	16.86*	14.52*

*Significant data. Source: The Author (2015).

Figure 1 - Germination patterns of cowpea seeds according the initial germination count (IGC- ▲) and final germination count (FGC- ◆).



* $y_{IGC}=63.92-0.6978x+0.00186x^2(R^2=0.9622)$. * $y_{FGC}=76.01-0.6397x+0.00126x^2(R^2=0.9499)$. Source: The Author (2015).

The observed decreases in emergence velocity of the seeds exposed to higher salt concentrations reflect the reduction of the osmotic potential, increasing the time necessary for the imbibitions of water by the seed and prolonging the emergence periods of the seedlings

(Figure 1). Excess salt also retards metabolism and reserve transport to the embryo, likewise delaying emergence (JAFAR et al., 2012). Similarly, the presence of high levels of ions in non-halophytic plants can provoke adverse effects on cell membrane permeability and contribute to reductions of the physiological potentials of seeds (SHABALA, 2013).

Treatments with increasing concentrations of salt resulted in the formation of a different number of germination groups (Scott-Knott) of varying compositions (Table 3). These variations can be seen in the variables analyzed (initial and final germination counts) as well as in each treatment (0, 25, 50, 100 and 200 mM). Many cowpea genotypes, such as BRS Tumucumaque, demonstrated heterogeneous variations, with no apparent pattern with respect to increases or decreases in their mean germination rates, after exposure to different saline solutions.

According to Yang et al. (2011), the re-activation of embryo metabolism during the process of seed germination initiates with the absorption of water by the seed, and the velocity of water uptake by the seed tissues is a decisive factor in germination success. In this sense, seeds with low water contents experience increases in solute leaching when subjected to rapid hydration due to the immediate transition of membrane phospholipids from a gel to liquid-crystalline phase during imbibitions, possibly causing damage to the seeds, abnormal seedling growth, or even a lack of germination (CHENOLL et al., 2009). Singh et al. (2010) likewise reported that dry seeds sown onto very humid substrates can absorb water too rapidly, without sufficient time to allow for the re-organization of their membranes. As such, the heterogeneous variations in seed germination, observed in many genotypes, may reflect the fact that the seeds did not have sufficient time to restructure their membrane systems, resulting in the lack of a consistent germination pattern.

It is also worth noting that some genotypes demonstrated very low emergence percentages even under control conditions, with Bastião, Bastiãozinho, and EPACE 10 demonstrating zero (Bastião and Bastiãozinho) or near zero (3.33%, EPACE 10) emergence at the first evaluation, even without the addition of salt (Table 3). Additionally, treatments with 200 mM NaCl totally inhibited seed germination in all of the genotypes, resulting in zero emergence (0%). Lim et al. (2015) reported that genotypes demonstrating low emergence percentages even without the presence of NaCl likewise showed low emergence with the addition of salt, probably reflecting the use of defective seeds. As such, the results obtained here indicated that the seeds of these genotypes (among others) had low vigor at the very start of the testing, even though exposure to salt may have retarded seedling emergence even more.

According to Farooq et al. (2015), increasing levels of salt have greater influence on the initial germination count than on the final germination count, retarding the rate of seedling emergence. In this sense, the results obtained were able to identify those genotypes with greater or lesser sensitivity to saline stress. Those lesser sensitive reflect the good quality of their seeds and indicate that their germination was little affected by increases in NaCl concentrations (saline stress). Those greater sensitive reflect the quality of their seeds but the significant susceptibility of those genotypes to incremental saline stress.

The genotypes Maravilha, Paulistinha, Sempre Verde Baiano, and Sempre Verde Salgueiro stood out as exhibiting excellent germination under all treatment conditions (except exposure to 200 mM), as compared to the controls (Table 3). On the other hand, the genotypes BRS Pajeú, Mosqueado 383, Mut 300 gy, Mut 50 gy, and Pele de Moça stood out as showing excellent germination under control conditions (0 mM) but significant and progressive reductions in germination percentages in treatments with 25, 50, 100, and 200 mM.

The responses of the different cowpea genotypes to saline stress will allow their optimized use in seed improvement programs, in physiological, genetic and molecular biology studies, and also provide information concerning the necessity of renewal of seed stocks in the Active Germplasm Bank (ARAÚJO et al., 2015).

According to Araújo et al. (2015), most legume species are sensitive to salinity conditions (with alfalfa being one of the few exceptions). As such, the results obtained here indicated that saline stress negatively affected the germination of a large majority of the cowpea genotypes tested. Alcantara et al. (2002) observed that responses to saline stress varied among species and that even within a given species sensitivities will vary among individuals with different genotypes and according to the developmental states of the plants.

Our results likewise demonstrated that the various genotypes of cowpea tested responded differently to saline stress according to their respective genotypes and their initial viability. Among the treatments utilized, NaCl concentrations of 200 mM are not indicated for germination tests with cowpea seeds, as high concentrations of that salt totally inhibited germination of all of the genotypes tested. The genotypes Maravilha, Paulistinha, Sempre Verde Baiano, and Sempre Verde Salgueiro showed less sensitivity to saline stress, while BRS Pajeú, Mosqueado 383, Mut 300 gy, Mut 50 gy, and Pele de Moça were identified as the most sensitive. We also recommend the renewal of the stocks of Bastião, Bastiãozinho, and EPACE 10 in the Active Germplasm Bank.

Table 3 - Germination rates of cowpea seeds according the genotype, variable and treatment utilized

Genotypes	Treatments									
	0 mM		25 mM		50 mM		100 mM		200 mM	
	IGC	FGC	IGC	FGC	IGC	FGC	IGC	FGC	IGC	FGC
Aracê	46.67b	50c	73.33a	70a	16.67c	16.67c	6.67d	26.67d	0a	0a
Araripina 1	63.33b	70b	23.33c	53.3b	0d	0d	0d	0f	0a	0a
Araripina 2	36.67b	46.67c	40c	63.33a	0d	0d	0d	0f	0a	0a
Bastião	0d	26.67d	3.33d	33.33c	0d	10d	0d	0f	0a	0a
Bastiãozinho	0d	43.33c	30c	53.33b	0d	6.67d	0d	0f	0a	0a
BR10 Piauí	96.67a	100a	93.33a	100a	33.33b	76.67a	0d	16.67d	0a	0a
BR14 Mulato	86.67a	90a	20d	90a	63.33a	93.33a	0d	10e	0a	0a
BR9 Longá	96.67a	100a	83.33a	100a	73.33a	100a	0d	50c	0a	0a
BRS Guariba	13.33c	13.33d	30c	33.33c	20c	26.67c	13.33d	20d	0a	0a
BRS17 Gurguéia	56.67b	73.33b	50b	86.67a	3.33d	30c	3.33d	16.67e	0a	0a
BRS Itaim	43.33b	50c	46.67c	60b	46.67b	83.33a	0d	6.67f	0a	0a
BRS Marataoã	56.67b	80b	53.33b	90a	60a	90a	0d	3.33f	0a	0a
BRS Novaera	60b	60b	53.33b	63.3b	50b	66.67b	20c	53.33c	0a	0a
BRS Pajeú	66.67b	96.67a	46.67b	86.67a	66.67a	86.67a	3.33d	3.33f	0a	0a
BRS Paraguaçu	46.67b	66.67b	20d	43.33c	13.33c	43.33b	6.67d	16.67d	0a	0a
BRS Tumucumaque	86.67a	93.33a	40c	40c	70a	83.33a	10d	10e	0a	0a
Canapu	53.33b	56.67b	20d	26.67c	0d	13.33c	0d	0f	0a	0a
Canapu Belém	90a	93.33a	73.33a	86.67a	66.67a	93.33a	0d	53.33c	0a	0a
Canapu Mossoró	16.67c	20d	30c	33.33c	16.67c	16.67c	0d	3.33f	0a	0a
Canapuzinho	10c	10d	13.33d	13.33c	6.67d	6.67d	0d	6.67f	0a	0a
Canapuzinho Sede	93.33a	100a	53.33b	90a	73.33a	93.33a	0d	20d	0a	0a
Caupi Mulato	46.67b	86.67a	70a	93.33a	46.67b	63.33b	0d	3.33f	0a	0a
Chico Joaquim	16.67c	20d	6.67d	23.33c	10c	23.33c	0d	0f	0a	0a
CNC 0434	70b	70b	53.33b	53.33b	80a	86.67a	3.33d	56.67c	0a	0a
Costela de Vaca	56.67b	60b	43.33c	56.67b	40b	50b	0d	0f	0a	0a
EPACE 10	3.33d	10d	26.67c	73.33a	33.33b	73.33a	3.33d	6.67f	0a	0a
Inhuma	60b	70b	26.67c	36.67c	60a	90a	0d	0f	0a	0a
IPA 206	30c	70b	40c	63.33b	0d	0d	0d	0f	0a	0a

Continuation of Table 3

Macaíbo	23.33c	26.67d	3.33d	20c	6.67d	10d	20c	23.33d	0a	0a
Manteiga	90a	93.33a	80a	96.67a	90a	96.67a	0d	0f	0a	0a
Maravilha	100a	100a	100a	100a	80a	86.67a	73.33a	96.67a	0a	0a
Miranda IPA 207	16.67c	70b	6.67d	30c	0d	3.33d	0d	0f	0a	0a
Mosqueado 383	93.33a	96.67a	96.67a	96.67a	60a	93.33a	0d	3.33f	0a	0a
Mut 300 gy	93.33a	100a	70a	100a	43.33b	56.67b	0d	0f	0a	0a
Mut 50 gy	100a	100a	86.67a	100a	53.33b	76.67a	0d	0f	0a	0a
Paulistinha	96.67a	100a	90a	96.67a	83.33a	86.67a	20c	70b	0a	0a
Pele de Moça	93.33a	96.67a	83.33a	96.67a	50b	83.33a	0d	3.33f	0a	0a
Pingo de Ouro 2	90a	96.67a	90a	96.67a	66.67a	83.33a	33.33c	50c	0a	0a
Portalegre 1	60b	70b	56.67b	66.67a	0d	26.67c	0d	0f	0a	0a
Portalegre 2	66.67b	70b	40c	50b	13.33c	16.67c	0d	0f	0a	0a
Rabo de Tatu	6.67d	40c	30c	40c	0d	3.33d	0d	0f	0a	0a
Rajado	46.67b	66.67b	6.67d	33.33c	0d	20c	0d	0f	0a	0a
Rasga Letra	40b	40c	40c	40c	56.67b	56.67b	0d	10e	0a	0a
Safrinha	50b	50c	50b	50b	43.33b	53.33b	0d	10e	0a	0a
Salgueiro 1	66.67b	73.33b	16.67d	46.67b	0d	3.33d	0d	0f	0a	0a
S. V. Baiano	100a	100a	83.33a	90a	100a	100a	43.33b	66.67b	0a	0a
S. V. Luis Eduardo Magalhães	96.67a	100a	80a	93.33a	83.33a	90a	26.67c	46.67c	0a	0a
S. V. Salgueiro	90a	100a	93.33a	96.67a	90a	93.33a	50b	70b	0a	0a
Sopinha 382	53.33b	56.67b	93.33a	93.33a	46.67b	63.33b	0d	0f	0a	0a
Vigna 384	90a	93.33a	100a	100a	66.67a	80a	0d	3.33f	0a	0a
Coefficient of variation (%)	13.67*	10.83*	17.56*	14.55*	17.43*	15.44*	17.90*	16.90*	0	0

IGC: initial germination count. FGC: final germination count. S. V.: Sempre Verde. *Significant data. Means (%) followed by the same letter in the column belong to the same group, according to Scott-Knott clustering method at 5% probability. Source: The Author (2015).

CONCLUSIONS

The genotypes of cowpea tested responded differently to saline stress. The genotype and seed viability has influence on the response to saline stress. Maravilha, Paulistinha, Sempre Verde Baiano, and Sempre Verde Salgueiro were the least sensitive genotypes. BRS Pajeú, Mosqueado 383, Mut 300 gy, Mut 50 gy, and Pele de Moça were the most sensitive genotypes.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), for granting scholarships and financial resources necessary to this work.

REFERENCES

- ALCANTARA, J. D. P.; MONTEIRO, I. D.; VASCONCELOS, O. L.; FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q. BRS Paraguaçu, novo cultivar de caupi de porte "enramador" e tegumento branco para o estado da Bahia. **Revista Ceres**, v.45, n.286, p.695-703, 2002.
- ARAÚJO, S. S.; BEEBE, S.; CRESPI, M.; DELBREIL, B.; GONZÁLEZ, E. M.; GRUBER, V.; LEJEUNE-HENAUT, I.; LINK, W.; MONTEROS, M. J.; PRATS, E.; RAO, I. Abiotic stress responses in legumes: strategies used to cope with environmental challenges. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.34, p.237-280, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399p.
- CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. D.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos de Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, p.18-24, 2001.
- CHENOLL, C.; BETORET, N.; FITO, P. Analysis of chickpea (var. "Blanco Lechoso") rehydration. Part I. Physicochemical and texture analysis. **Journal of Food Engineering**, v.95, n.2, p.352-358, 2009.
- CORDEIRO, M. A.; MORIUCHI, K. S.; FOTINOS, T. D.; MILLER, K. E.; NUZHIDIN, S. V.; VON WETTBERG, E. J.; COOK, D. R. Population differentiation for germination and early seedling root growth traits under saline conditions in the annual legume *Medicago truncatula* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, v.101, p.488-498, 2014.

FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; WAKEEL, A.; SIDDIQUE, K. H. Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p.461-481, 2015.

ISLAM, M.; BEGUM, S. N.; HOQUE, N.; SAHA, M. K. Molecular breeding for salt stress tolerance in plants. In: **Managing Salt Tolerance in Plants: Molecular and Genomic Perspectives**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2015. p.291-318.

JAFAR, M. Z.; FAROOQ, M.; CHEEMA, M. A.; AFZAL, I.; BASRA, S. M. A.; WAHID, M. A.; SHAHID, M. Improving the performance of wheat by seed priming under saline conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.198, p.38-45, 2012.

JAYNE, T. S.; STURGESS, C.; KOPICKI, R.; SITKO, N. **Agricultural commodity exchanges and the development of grain markets and trade in Africa: a review of recent experience**. Zambia: Indaba Agricultural Policy Research Institute-IAPRI, 2014. 88p.

LIM, C. A. A.; AWAN, T. H.; CRUZ, P. C. S.; CHAUHAN, B. S. Influence of environmental factors, cultural practices, and herbicide application on seed germination and emergence ecology of *Ischaemum rugosum* Salisb. **PLoS one**, v.10, n.9, p.137-256, 2015.

ROBERTS, E. H. **Viability of seeds**. New York: Springer Science & Business Media, 2012. 447p.

RYAN, J.; IBRIKCI, H.; DELGADO, A.; TORRENT, J.; SOMMER, R.; RASHID, A. Significance of phosphorus for agriculture and the environment in the west Asia and north Africa region. **Advances in Agronomy**, v.114, p.91, 2013.

SHABALA, S. Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. **Annals of Botany**, v.2013, p. 205, 2013.

SINGH, K. K.; GURUNG, B.; RAI, L. K.; NEPAL, L. H. The influence of temperature, light and pre-treatment on the seed germination of critically endangered Sikkim Himalayan rhododendron (*R. niveum* Hook f.). **Journal of American Science**, v.6, n.8, p.173-177, 2010.

THIAM, M.; CHAMPION, A.; DIOUF, D.; OURÈYE SY, M. NaCl effects on in vitro germination and growth of some senegalese cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivars. **ISRN Biotechnology**, v.11, p.1, 2013.

YANG, X.; ZHANG, W.; DONG, M.; BOUBRIAK, I.; HUANG, Z. The achene mucilage hydrated in desert dew assists seed cells in maintaining DNA integrity: adaptive strategy of desert plant *Artemisia sphaerocephala*. **PLoS One**, v.6, p.11, 2011.

4 CAPÍTULO 2 - submetido ao periódico Revista Ciência Agronômica (RCA)

USO DE TESTES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM GENÓTIPOS DE *Vigna unguiculata* SUBMETIDOS AO ESTRESSE SALINO

USE OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL TESTS IN *Vigna unguiculata*
GENOTYPES SUBMITTED TO SALINE STRESS

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo identificar genótipos de feijão-caupi contrastantes quanto ao grau de sensibilidade ao estresse salino, utilizando-se testes fisiológicos e bioquímicos. Nesse sentido, sementes de dez genótipos de feijão-caupi foram semeadas em vasos contendo 3 kg de solo. Ao atingir o estágio de plântula, as mesmas foram submetidas a diferentes concentrações de NaCl (0, 25, 50, 100 e 200 mM). Ao se completarem 30 dias de estresse foram feitas análises fisiológicas, como contagem de folhas, medição do comprimento caulinar e determinação da matéria seca das plântulas, assim como análises bioquímicas: determinação do conteúdo iônico das plântulas, mensuração da condutividade elétrica, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio do substrato. Os resultados obtidos revelaram que o aumento na concentração salina afeta o acúmulo de matéria seca, o comprimento do caule e o número de folhas dos genótipos avaliados, causando incremento no teor dos íons pesquisados, fato comprovado pelos valores de condutividade elétrica, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio do substrato. Entre os genótipos avaliados, Sempre Verde Salgueiro é o que absorve a maior quantidade de sódio a 200 mM de NaCl, sendo, ao mesmo tempo, capaz de absorver bem os demais íons. Com base nos testes fisiológicos e bioquímicos realizados é possível identificar o genótipo Sempre Verde Salgueiro como o de menor sensibilidade ao estresse salino, enquanto que o genótipo Mosqueado 383 é o selecionado como o de maior sensibilidade.

Palavras-chave: Feijão-caupi. Salinidade. Sensibilidade.

ABSTRACT

This study aimed to identify cowpea genotypes with contrasting degrees of sensitivity to salt stress, using physiological and biochemical tests. In this sense, seeds of ten cowpea genotypes were sown in pots containing 3 kg of soil. Reaching the seedling stage, they were exposed to different concentrations of NaCl (0, 25, 50, 100 and 200 mM). After 30 days of stress, physiological analyses were realized: leaves count, measuring of stem length and determination of dry matter, as well as biochemical analyses: ionic content of seedlings, measurement of electrical conductivity, cation exchange capacity and sodium saturation of substrate. The results obtained revealed that increasing salt concentration affects the amount of dry matter, stem length and number of leaves in evaluated genotypes, causing an increase in seedling's ionic content, fact exposed by the electrical conductivity values, cation exchange capacity and sodium saturation of substrate. Among the evaluated genotypes, Sempre Verde Salgueiro was the one who absorbs higher amounts of sodium at 200 mM of NaCl, while absorbs satisfactory amounts of the other ions. Also, based in the physiological and biochemical tests realized, it is possible to identify Sempre Verde Salgueiro genotype as the

least sensitive to salt stress, while Mosqueado 383 genotype was selected as the most sensitive.

Key-words: Cowpea. Salinity. Sensitivity.

INTRODUÇÃO

O estresse salino é responsável por restringir mundialmente a produção de alimentos, já que, atualmente, grandes proporções de áreas cultiváveis encontram-se salinizadas (SANTOS et al., 2009). Estima-se que 20% das áreas cultivadas e 33% das áreas irrigadas do planeta estejam afetadas pelo excesso de sal. Em âmbito nacional, cerca de 2% dos solos irrigados estão comprometidos pela salinidade (SANTOS et al., 2009). Contudo, aproximadamente 20% das áreas pertencentes aos projetos públicos de irrigação do país apresentam problemas de salinidade. Essas áreas concentram-se na Região Nordeste, principalmente no semiárido (FAGERIA et al., 2011).

Na presença de elevado teor de sal as plantas sofrem redução expressiva no crescimento e desenvolvimento. Tamaña redução é consequência dos efeitos osmótico e iônico, os principais causadores da toxicidade em resposta ao estresse (TAIZ; ZEIGER, 2013). O efeito osmótico decorre da alta concentração de sais no ambiente radicular, provocando diminuição no potencial hídrico do solo e redução na disponibilidade de água para a planta. Em contrapartida, o efeito iônico decorre do acúmulo de íons específicos, o que provoca desequilíbrio nutricional, toxidez, ou ambos (MUNNS; TESTER, 2008).

Nesse sentido, com vistas ao restabelecimento das condições homeostáticas, aclimação ao novo ambiente e retomada do crescimento e desenvolvimento, as plantas desenvolveram mecanismos de adaptação capazes de minimizar os danos provocados pelo excesso de sal, algo que pode torná-las menos sensíveis ao estresse (KANTAR et al., 2011).

Segundo Rajendran et al. (2009), a menor sensibilidade das plantas à salinidade depende, especialmente, do controle na absorção e transporte dos sais, algo que pode ocorrer em diferentes graus, variando conforme a espécie e/ou genótipo. Similarmente, Nascimento et al. (2013) afirmam que a resposta ao estresse salino pode variar com a espécie, com o genótipo e ainda com o estágio de desenvolvimento em que a planta se encontra. Dessa forma, algumas espécies, ou genótipos, podem ser mais eficientes em equilibrar as condições desfavoráveis, impostas pelo excesso de sal, sendo, portanto, menos sensíveis (SANTOS et al., 2009).

Dentre as espécies mais cultivadas no semiárido, o feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] apresenta importante destaque, por ser um dos alimentos mais substanciais para as

populações dessas regiões (MAIA et al., 2012). Soma-se a isso, o fato da espécie possuir plasticidade fenotípica, suportando as altas temperaturas e a baixa disponibilidade hídrica presentes no semiárido (DUTRA et al., 2011).

Alguns autores afirmam que o feijão-caupi é capaz de suportar condutividade elétrica até $2,2 \text{ dS m}^{-1}$ (22 mM de NaCl), algo que o tornaria uma cultura sensível à salinidade (BEZERRA et al., 2010). Contudo, outros autores afirmam que a espécie é moderadamente sensível ao estresse salino, por suportar salinidade em torno de $4,9 \text{ dS m}^{-1}$ (49 mM de NaCl) (FAGERIA et al., 2011). Adicionalmente, Almeida et al. (2011) afirmam que o grau de sensibilidade do feijão-caupi ao estresse salino é incerto, podendo variar entre os genótipos.

Diante do exposto, é notável a extensão dos problemas relacionados ao estresse salino, especialmente no semiárido, justificando a necessidade de se prospectar genótipos de feijão-caupi com diferentes graus de sensibilidade. Esses estudos, além de auxiliarem as pesquisas em melhoramento genético, serão de grande importância na tomada de decisão do genótipo a ser utilizado nos diferentes níveis/condições de estresse. Nesse sentido, o presente trabalho objetivou identificar genótipos de feijão-caupi contrastantes quanto ao grau de sensibilidade ao estresse salino, utilizando-se testes fisiológicos e bioquímicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os genótipos de feijão-caupi [*V. unguiculata* (L.) Walp.] utilizados no presente estudo foram: Pitiúba - 1, Maravilha - 2, Sempre Verde Baiano - 3, Sempre Verde Salgueiro - 4, Paulistinha - 5, Mut 300 gy - 6, Mut 50 gy - 7, Pele de Moça - 8, BRS Pajeú - 9, e Mosqueado 383 - 10, selecionados a partir de 50 genótipos em ensaios anteriores. As sementes desses genótipos foram obtidas a partir do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), em Recife (PE).

Como substrato, foi utilizado um solo Neossolo Regolítico, proveniente do município de São Bento do Una (PE). Após análise química e física desse solo, aplicou-se calcário dolomítico para correção do pH (750 g de calcário para 1.000 kg de solo). Em seguida, para adubação de fundação, 12 g de KCl e 37 g de superfosfato simples foram incorporados ao solo. Posteriormente, 250 vasos com capacidade para 3,8 kg foram preenchidos, cada um com 3 kg do solo supracitado.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada na sede do IPA, sob temperatura média de $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, e os tratamentos utilizados foram compostos por soluções com diferentes concentrações de NaCl diluído em água destilada (0 mM - controle, 25, 50, 100 e

200 mM). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e cinco repetições, em esquema fatorial (10 x 5 x 5).

O plantio foi realizado semeando-se cinco sementes por vaso, e o substrato irrigado diariamente, no limite da capacidade de campo, com água destilada, até o sétimo dia após o plantio. No oitavo dia após o plantio foi realizado o desbaste, de modo a permanecer apenas uma plântula por vaso. Ao fim desta etapa, as plântulas passaram a receber as soluções salinas supracitadas, com exceção do controle.

Todos os tratamentos tiveram duração de trinta dias, sendo no trigésimo dia realizadas as seguintes análises: contagem de folhas, medição do comprimento caulinar, determinação da matéria seca (análises fisiológicas), determinação do conteúdo iônico, mensuração da condutividade elétrica, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio (análises bioquímicas).

A contagem das folhas (trifoliadas) foi realizada visualmente por meio de um exame manual detalhado de cada planta. Ao passo que a medição do comprimento (altura) do caule, em centímetros, foi procedida com auxílio de uma trena. Para essa medição, a trena foi posicionada na base do caule de cada planta e estendida até o ápice, de modo a alcançar o comprimento total (BRASIL, 2009).

A determinação da matéria seca da parte aérea de cada planta foi realizada conforme descrito por Maia et al. (2010). Nesse sentido, amostras de caules, ramos e folhas foram secas em estufa de ventilação forçada, a 70 °C por 72 horas, em seguida, a matéria seca obtida foi pesada em balança analítica de precisão. Para a determinação do conteúdo iônico (teores de K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} e Na^+), a matéria seca anteriormente obtida foi moída, em um moinho tipo Willey[®], para obtenção de um pó seco, e em seguida de um extrato para análise em fotômetro de chama, conforme descrito por Maia et al. (2010).

Posteriormente, amostras do solo de cada vaso foram coletadas e combinadas de acordo com os tratamentos e genótipos avaliados, perfazendo um total de 50 amostras. Essas amostras foram empregadas na mensuração da condutividade elétrica, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio, de acordo com o protocolo descrito por EMBRAPA (1997).

Após o término das avaliações supracitadas, as médias obtidas (matéria seca, comprimento do caule, número de folhas e conteúdo iônico) foram comparadas por meio do método de agrupamento Scott-Knott a 5% de probabilidade. Essas análises foram realizadas com auxílio do programa computacional SASM-Agri (CANTERI et al., 2001). Os demais valores obtidos (condutividade elétrica, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio) foram avaliados com base na linha de tendência das médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme apresentado na Tabela 1, os resultados obtidos revelam que o incremento na concentração de NaCl causou uma redução progressiva no acúmulo de matéria seca, no comprimento do caule e número de folhas em todos os genótipos avaliados. Resultados similares foram obtidos por Silva et al. (2008), ao trabalharem com mamoneira. Esses autores também observaram decréscimos na fitomassa da parte aérea, altura da planta e número de folhas, após exposição a cinco níveis de salinidade. Do mesmo modo, Silva et al. (2009), ao avaliarem 50 genótipos de feijão-caupi, concluíram que quando houve aumento da salinidade, ocorreu redução na produção de matéria seca em todos os genótipos estudados.

Concomitantemente, além dos notórios efeitos negativos ocasionados pelos componentes osmótico e iônico (MUNNS; TESTER, 2008), a redução no crescimento e desenvolvimento do feijoeiro frente à salinidade pode ser atribuída também a efeitos adversos sobre a absorção e utilização de nutrientes, eficiência fotossintética, utilização eficiente da água, bem como a danos oxidativos em proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (MAIA et al., 2013). Adicionalmente, sabe-se que o déficit hídrico, resultante da salinidade, limita não apenas o tamanho, mas também o número de folhas, como consequência do decréscimo na quantidade e na taxa de crescimento dos ramos foliares (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Apesar de todos os genótipos terem sofrido decréscimo no acúmulo de matéria seca, comprimento do caule e número de folhas de forma proporcional ao incremento na concentração de NaCl, todavia, é possível se observar diferenças entre suas médias. Essas diferenças podem ser fundamentadas com base na média geral (M) de cada genótipo para cada variável supracitada (Tabela 1), já que se apresentam diferentemente agrupadas pelo teste de Scott-Knott. Este fato permite inferir, antecipadamente, sobre a existência de diferentes graus de sensibilidade ao estresse salino entre os genótipos avaliados.

Nesse contexto, diversos autores têm relatado diferenças consideráveis entre genótipos de feijão-caupi quanto ao grau de sensibilidade ao estresse salino (ALMEIDA et al., 2011; MAIA et al., 2010). De acordo com Esteves e Suzuki (2008), essas diferenças podem estar condicionadas a diferentes mecanismos metabólicos relacionados com a manutenção da homeostase hídrica e iônica da planta, bem como com a produção de enzimas antioxidantes e de hormônios.

Numa análise conjunta do conteúdo iônico (K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , e Na^+) da parte aérea das plântulas, observa-se, de um modo geral, um crescente acúmulo dos mesmos em todos os

genótipos avaliados, à medida que houve incremento na concentração de NaCl (Tabela 2, Tabela 3).

De acordo com Craig Plett e Moller (2010), o aumento na concentração de sal ocasiona o influxo crescente de íons para o interior da planta, o que leva ao aumento progressivo na concentração desses íons no citosol e vacúolos. Similarmente, Neves et al. (2009), ao trabalharem com feijão-caupi cultivado em solução nutritiva, evidenciaram que o estresse salino, além de inibir fortemente o crescimento e provocar distúrbios no balanço hídrico, ocasiona também a elevação no teor de íons nas diferentes partes da planta.

Como já esperado, paralelamente ao acúmulo de íons, o incremento na concentração de NaCl também resultou em um aumento progressivo nas médias de condutividade elétrica, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio (Tabela 4), já que essas variáveis se relacionam entre si, tendo em vista a conexão existente entre planta e substrato. De uma forma geral, esse acréscimo foi proporcional ao incremento na concentração de NaCl, havendo poucas variações entre as linhas de tendência das médias, de acordo com cada genótipo.

Resultados similares foram obtidos por Moraes II e Selbach II (2011). Esses autores verificaram que o incremento no teor de sais presentes na solução do solo resultou na elevação da condutividade elétrica, capacidade de troca de cátions e saturação de sódio. Ademais, de acordo com Dutra et al. (2011), o acúmulo de sais na zona radicular pode ocorrer também devido a água que é evapotranspirada em seu estado puro, deixando para trás os sais dissolvidos, que passam a se concentrar na água remanescente do solo.

Tabela 1 - Acúmulo de matéria seca, comprimento do caule e número de folhas em genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) submetidos a diferentes concentrações de NaCl

G	Concentrações de NaCl					M(1)	G	Concentrações de NaCl					M(2)	G	Concentrações de NaCl					M(3)
	(mM)							(mM)							(mM)					
	0	25	50	100	200			0	25	50	100	200			0	25	50	100	200	
1	6,566	4,304	3,232	2,208	1,014	3,465b	1	59,8	48,4	26,9	10,7	7,3	30,62a	1	8,60	6,00	4,40	3,00	2,40	4,88a
2	6,660	4,608	3,298	1,934	0,832	3,466b	2	29,5	19,7	12,8	10,4	7,7	16,02c	2	6,20	4,80	4,00	4,00	1,80	4,16b
3	6,186	4,274	3,890	2,102	0,754	3,441b	3	42,9	33,0	24,1	12,0	8,9	24,18b	3	6,80	4,80	3,80	2,80	2,00	4,04b
4	7,514	5,492	3,402	2,362	0,820	3,918a	4	62,4	51,6	40,2	13,1	7,2	34,92a	4	8,20	6,00	5,40	3,20	3,40	5,24a
5	6,816	5,270	3,982	2,006	1,388	3,892a	5	56,8	39,3	23,0	12,1	8,9	28,02b	5	7,40	5,80	3,60	3,20	2,00	4,40b
6	6,944	4,256	3,216	2,000	0,814	3,446b	6	56,0	49,6	21,5	12,2	9,5	29,76a	6	6,80	5,20	4,20	3,20	2,00	4,28b
7	8,164	5,458	3,436	1,778	1,534	4,074a	7	53,0	33,5	19,9	11,3	8,5	25,24b	7	6,80	5,20	4,20	3,00	2,20	4,28b
8	7,152	5,350	3,794	1,638	0,808	3,748a	8	58,8	44,3	32,5	12,5	8,3	31,28a	8	8,00	5,80	6,00	3,20	2,00	5,00a
9	7,072	4,748	2,804	2,062	0,858	3,509b	9	58,6	31,8	18,6	11,8	8,4	25,84b	9	8,00	5,60	4,40	3,40	2,20	4,72a
10	6,750	4,698	2,860	1,652	0,854	3,363b	10	62,4	32,6	19,0	10,9	7,1	26,40b	10	7,80	5,60	5,80	4,20	2,40	5,16a
M(1)	6,982	4,846	3,391	1,974	0,968	-	M(2)	54,03	38,38	23,85	11,70	8,18	-	M(3)	7,46	5,48	4,58	3,32	2,24	-

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o método de agrupamento Scott-Knott a 5% de probabilidade. (1- acúmulo de matéria seca): g, (2- comprimento do caule): cm, (3- número de folhas): n°. G: Genótipos. M: Médias. Fonte: O Autor (2016).

Tabela 2 - Teor de Potássio e Cálcio em matéria seca de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) submetidos a diferentes concentrações de NaCl

G	Concentrações de NaCl (mM)					G	Concentrações de NaCl (mM)				
	0	25	50	100	200		0	25	50	100	200
1	21,7b	26,2b	30,2b	31,5b	43,9a	1	19,0a	37,4a	31,8a	33,7b	51,1a
2	19,4b	27,0b	32,5a	30,0b	31,7b	2	21,7a	29,3a	31,7a	47,0a	29,4c
3	17,8b	25,2b	26,4b	27,9b	33,5b	3	17,8a	29,1a	26,7a	27,7b	38,6b
4	18,1b	23,4b	23,7b	33,5b	45,5a	4	17,3a	23,4b	22,1a	27,4b	49,0a
5	14,3b	29,2b	26,8b	34,5b	41,9a	5	16,0a	29,1a	29,1a	33,1b	39,1b
6	19,9b	31,4a	32,8a	37,4a	39,7a	6	16,8a	27,1a	30,6a	29,8b	35,4b
7	18,6b	33,2a	38,4a	42,9a	44,8a	7	16,3a	27,9a	24,3a	31,8b	35,0b
8	30,9a	34,8a	35,1a	37,1a	39,5a	8	18,2a	21,8b	26,4a	27,4b	31,1c
9	16,9b	26,1b	24,5b	36,1a	44,1a	9	13,8a	21,1b	23,2a	24,4b	25,3c
10	21,9b	28,3b	27,8b	34,0b	33,7b	10	9,4a	13,7b	29,5a	50,9a	40,4b
M(1)	19,95	28,48	29,82	34,49	39,83	M(2)	16,63	25,99	27,54	33,32	37,48

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o método de agrupamento Scott-Knott a 5% de probabilidade. (1- teor de potássio): g/kg, (2- teor de cálcio): g/kg. G: Genótipos. M: Médias. Fonte: O Autor (2016).

Tabela 3 - Teor de Magnésio e Sódio em matéria seca de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) submetidos a diferentes concentrações de NaCl

G	Concentrações de NaCl (mM)					G	Concentrações de NaCl (mM)				
	0	25	50	100	200		0	25	50	100	200
1	3,54a	5,72a	3,90b	4,30b	5,80b	1	0,598a	3,660a	8,680a	17,42b	53,25b
2	3,88a	4,52a	4,44a	6,66b	7,04a	2	1,178a	1,252a	8,480a	17,72b	31,34d
3	3,88a	4,98a	4,90a	5,34b	7,04a	3	0,710a	3,880a	9,320a	15,56b	26,08d
4	4,06a	3,80b	3,72b	4,64b	8,46a	4	0,484a	2,054a	7,180a	25,02a	83,36a
5	4,08a	5,08a	4,98a	5,58b	6,68b	5	1,320a	6,980a	8,820a	30,06a	57,32b
6	3,70a	4,46a	4,66a	4,42b	5,86b	6	0,386a	6,140a	5,520a	14,92b	66,14b
7	2,62a	3,48b	2,88b	4,10b	5,32b	7	0,328a	3,848a	10,44a	40,04a	64,68b
8	2,28a	2,48b	3,12b	2,98b	5,72b	8	0,550a	1,942a	8,088a	23,74a	42,12c
9	4,62a	4,94a	5,62a	5,02b	6,52b	9	1,214a	3,728a	8,556a	27,31a	43,78c
10	3,28a	2,92b	6,00a	9,50a	7,96a	10	0,762a	4,568a	14,66a	26,97a	64,38b
M(1)	3,594	4,238	4,422	5,254	6,64	M(2)	0,753	3,8052	8,9744	23,846	53,245

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o método de agrupamento Scott-Knott a 5% de probabilidade. (1- teor de magnésio): g/kg, (2- teor de sódio): g/kg, G: Genótipos. M: Médias. Fonte: O Autor (2016).

Tabela 4 - Condutividade elétrica, capacidade de troca catiônica e saturação de sódio em substrato sob aplicação de diferentes concentrações de NaCl

G	Concentrações de NaCl (mM)					G	Concentrações de NaCl (mM)					G	Concentrações de NaCl (mM)				
	0	25	50	100	200		0	25	50	100	200		0	25	50	100	200
1	928,6	7,241	7,086	11,001	25,75	1	5,3	7,2	7,1	10,3	14,0	1	4,53	27,78	33,80	58,25	70,00
2	298,6	5,150	10,436	14,055	24,82	2	5,2	6,3	8,2	11,9	15,8	2	1,92	11,11	42,68	60,50	72,15
3	446,7	5,368	9,527	13,476	19,696	3	5,5	6,9	9,6	9,4	12,3	3	1,82	27,54	45,83	57,45	68,29
4	329,0	5,607	11,584	18,597	34,28	4	4,4	6,2	9,0	10,5	5,8	4	2,05	25,81	44,44	59,05	20,69
5	319,4	5,290	10,963	14,402	30,56	5	5,0	6,1	8,4	10,5	14,6	5	2,60	29,51	47,62	55,24	68,49
6	288,9	5,033	8,591	20,23	21,72	6	5,3	7,1	8,7	12,5	17,5	6	1,89	29,58	41,38	60,80	74,29
7	293,7	6,327	9,450	26,49	21,64	7	5,4	7,6	9,1	15,1	14,3	7	2,04	30,26	44,95	66,23	68,53
8	275,2	6,058	8,632	14,203	18,032	8	5,5	7,6	9,7	11,9	11,9	8	1,82	26,32	47,42	60,50	66,55
9	314,7	5,808	8,161	16,302	19,488	9	5,5	6,8	7,7	9,6	14,3	9	1,64	32,35	42,86	54,17	68,53
10	324,0	7,359	13,578	16,724	24,28	10	5,3	8,3	10,0	5,4	14,0	10	2,08	26,51	48,00	14,07	71,43
M(1)	381,91	5,9241	9,8008	16,548	24,0266	M(2)	5,24	7,01	8,75	11,25	13,45	M(3)	2,239	26,677	43,898	54,626	64,895

(1- condutividade elétrica): $\mu\text{S/mS}$, (2- capacidade de troca catiônica): cmolc/dm^3 , (3- saturação de sódio): %. G: Genótipos, M: Médias. Fonte: O Autor (2016).

Diante do exposto, e levando-se em consideração todos os resultados obtidos (Tabela 1, Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4), ficou claro que o genótipo Sempre Verde Salgueiro (4) foi o que expressou melhor desempenho frente ao estresse, em comparação aos demais. Em contrapartida, o genótipo Mosqueado 383 (10) foi o escolhido como o de maior sensibilidade frente à salinidade, dentre os demais genótipos avaliados.

Nesse sentido, observando-se os resultados obtidos para o acúmulo de matéria seca, comprimento do caule e número de folhas (Tabela 1), verifica-se a diferenciação dos genótipos em dois grupos distintos nas três variáveis supracitadas, segundo a análise estatística por meio do método de agrupamento Scott-Knott. Com base nessa observação, é possível notar que o genótipo Sempre Verde Salgueiro (4) obteve maiores valores ao ser comparado com Mosqueado 383 (10).

Conforme mencionado anteriormente, o incremento na concentração de NaCl é capaz de limitar o número de folhas que a planta irá desenvolver (TAIZ; ZEIGER, 2013), contudo, em resultados apresentados por Campos e Cavalcante (2009) verificou-se que o estresse salino não foi capaz de causar redução no número de folhas das plantas de pimentão, havendo redução apenas na área foliar das mesmas. Do mesmo modo, o estresse salino pode ter ocasionado redução somente na área foliar das plântulas de Mosqueado 383 (10), ao invés de afetar diretamente o número de folhas deste genótipo, já que o mesmo acumulou o menor valor de matéria seca frente ao estresse, sendo, portanto, um dos genótipos com maior sensibilidade ao sal, dentre os demais genótipos avaliados.

Adicionalmente, o fato de o genótipo Mosqueado 383 (10) apresentar uma quantidade significativa de folhas, ao passo que a altura do caule foi reduzida, pode sinalizar para uma mudança de comportamento, sugerindo haver um crescimento vegetativo exacerbado, porém, incapaz de alcançar a fase reprodutiva, havendo ainda a possibilidade dessa fase ser insuficiente ou limitada (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Com relação ao teor de íons acumulados (Tabelas 2 e 3), ao se observar a maior concentração (200 mM de NaCl), verifica-se que o genótipo Sempre Verde Salgueiro (4) foi o único que se manteve no grupo "a" em todas as análises realizadas, de acordo com o teste estatístico por meio do método de agrupamento Scott-Knott. Em contrapartida, nessa mesma concentração, o genótipo Mosqueado 383 (10) obteve médias inferiores, quando comparado ao genótipo Sempre Verde Salgueiro (4), com exceção do íon Mg^{+2} , o qual foi o único acumulado de forma satisfatória por este genótipo.

Com exceção do Na^+ , os íons K^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2} são vitais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, especialmente sob estresse salino, estando respectivamente

associados ao bom funcionamento dos estômatos, à integridade da membrana e parede celular, bem como à eficiência fotossintética (DAVID et al., 2007; WILLADINO; CAMARA, 2010). De modo contrário, altos teores de Na^+ resultam em toxicidade iônica, afetando diretamente a absorção e transporte dos demais componentes e causando prejuízos ao crescimento e desenvolvimento das plantas (KADDOUR et al., 2012). Nesse sentido, genótipos capazes de equilibrar a absorção dos demais íons (K^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2}) com a alta concentração de Na^+ demonstram menor sensibilidade ao estresse salino (SILVEIRA et al., 2010).

De acordo com Dias e Blanco (2010), plantas com menor sensibilidade à salinidade são capazes de aumentar a concentração de sais em seu interior, visando à manutenção de um gradiente osmótico favorável à absorção de água pelas raízes. Esse processo se dá com o acúmulo dos íons em vacúolos presentes nas células foliares, de forma que a concentração de sais no citosol se mantém a níveis baixos, não interferindo, portanto, com mecanismos enzimáticos e metabólicos, nem sequer com a hidratação das proteínas celulares. Nesse sentido, o fato de o genótipo Sempre Verde Salgueiro (4) ter obtido a maior média em acúmulo de sódio na maior concentração de sal (Tabela 3) pode sugerir que este genótipo seja capaz de acumular o sódio em vacúolos específicos, fato que teria possibilitado a absorção satisfatória dos demais íons analisados (K^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2}), permitindo assim seu maior crescimento e melhor desenvolvimento.

Como já mencionado, os resultados referentes ao substrato (Tabela 4) apresentam conformidade com os demais resultados obtidos, sendo similares aos dados referentes ao acúmulo de íons (Tabela 2, Tabela 3), conferindo, assim, solidez aos resultados. Nesse aspecto, ao se observar as médias de Sempre Verde Salgueiro (4), verifica-se que seu substrato obteve a maior condutividade elétrica na maior concentração de sal (Tabela 4), sugerindo haver um intenso fluxo de íons no substrato (MORAES II; SELBACH II, 2011). Este fato já era esperado, uma vez que a 200 mM, esse genótipo foi exposto à maior concentração de sal do experimento, o que, conseqüentemente, resultou em um maior fluxo de íons. Paralelamente, suas médias para capacidade de troca catiônica e saturação de sódio foram as menores entre os genótipos na maior concentração de sal (Tabela 4), refletindo uma intensa absorção de íons pela plântula, especialmente do íon Na^+ (Tabelas 2 e 3), que se supõe ser armazenado em vacúolos (DIAS; BLANCO, 2010).

De modo contrário, ao se observar as médias do genótipo Mosqueado 383 (10) verifica-se que seu substrato obteve a maior condutividade elétrica a 25 e 50 mM de NaCl (Tabela 4), em comparação aos demais, sugerindo haver um intenso fluxo de íons no substrato

sob o mínimo estresse (MORAES II; SELBACH II, 2011). Paralelamente, suas médias para capacidade de troca catiônica e saturação de sódio foram as menores a 100 mM de NaCl (Tabela 4), refletindo a intensa absorção de íons pela planta previamente aos demais genótipos, especialmente do íon Na^+ em detrimento ao K^+ (Tabelas 2 e 3), algo que pode estar relacionado a sua maior sensibilidade ao estresse salino (SILVEIRA et al., 2010).

Diante do exposto, a partir dos resultados obtidos, foi possível inferir o efeito do estresse salino frente ao crescimento, desenvolvimento e conteúdo iônico em dez genótipos de feijão-caupi. O presente estudo permitiu a seleção de dois genótipos com maior e menor sensibilidade ao estresse salino: Mosqueado 383 (10) e Sempre Verde Salgueiro (4), respectivamente.

CONCLUSÕES

Entre os genótipos selecionados para a identificação de diferentes graus de sensibilidade ao estresse salino, o genótipo Sempre Verde Salgueiro é o menos sensível, ao passo que o genótipo Mosqueado 383 é o mais sensível.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão de bolsas e pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, W. S.; BELÉM, F. R. F.; MAGALHÃES BERTINI, C. H. C.; SOUZA PINHEIRO, M.; TEÓFILO, E. M. Identificação de genótipos de feijão-caupi tolerantes a salinidade avaliados por meio de métodos multivariados. **Ciência Rural**, v.41, n.11, p.1884-1889, 2011.
- BEZERRA, A. K. P.; LACERDA, C. F.; HERNANDEZ, F. F. F.; SILVA, F. B.; GHEYI, H. R. Rotação cultural feijão-caupi/milho utilizando-se águas de salinidades diferentes. **Ciência Rural**, v. 40, n.10, p.1075-1082, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399p.
- CAMPOS, V. B.; CAVALCANTE, L. F. Salinidade da água e biofertilizante bovino: efeito sobre a biomassa do pimentão. **Holos**, v.2, n.25, p.10-20, 2009.
- CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas

pelos métodos de Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.1, p.18-24, 2001.

CRAIG PLETT, D. A. R. E. N.; MOLLER, I. S. Na⁺ transport in glycophytic plants: what we know and would like to know. **Plant, Cell & Environment**, v.33, n.4, p.612-626, 2010.

DAVID, E.; PIROZZI, D.; BRAGA, J. F.; IKEJIRI, L.; CAMILLI, L.; BOARO, C. Desenvolvimento do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) cultivado em solução nutritiva com diferentes níveis de magnésio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.4, p.15-22, 2007.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010. cap. 9, p.129-141.

DUTRA, A. T.; SILVA, E. N.; RODRIGUES, C. R.; VIEIRA, S. A.; ARAGÃO, R. M.; SILVEIRA, J. A. Temperaturas elevadas afetam a distribuição de íons em plantas de feijão Caupi pré-tratadas com NaCl. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.4, p. 403-409, 2011.

EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. **Manual de métodos e análise do solo**. Rio de Janeiro, 1997. 221p.

ESTEVES, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n.4, p.662-679, 2008.

FAGERIA, N. K.; STONE, L. F.; SANTOS, A. B. Melhoramento para tolerância a salinidade. In: FRITSCH NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. p.151-176.

KADDOUR, R.; MAHMOUD, H.; BAÂTOUR, O.; TARCHOUN, I.; NASRI, N.; SALEH, I. B.; BERTHOMIEU, P.; GRUBER, M.; LACHAÂL, M. Physiological and molecular responses of two *Arabidopsis* accessions to calcium amendment and salt constraint. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n.2, p.439-450, 2012.

KANTAR, M.; LUCAS, S. J.; BUDAK, H. Drought stress: molecular genetics and genomics approaches. **Advances in Botanical Research**, v.57, n.1, p.445-493, 2011.

MAIA, J. M. M.; VOIGT, E. L.; MACÊDO, C. E. C.; FERREIRA-SILVA, S.; SILVEIRA, J. A. G. Salt-induced changes in antioxidative enzyme activities in root tissues do not account for the differential salt tolerance of two cowpea cultivars. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.22, n. 1, p.113-122, 2010.

MAIA, J. M. M.; VOIGT, E. L.; FERREIRA SILVA, S. L.; FONTENELE, A. D. V.; MACÊDO, C. E.; SILVEIRA, J. A. Differences in cowpea root growth triggered by salinity and dehydration are associated with oxidative modulation involving types I and II peroxidases and apoplastascorbate. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, p.376-387, 2013.

MAIA, J. M.; FERREIRA SILVA, S. L.; VOIGT, E. L.; MACÊDO, C. E. C. D.; PONTE, L. F. A.; SILVEIRA, J. A. G. Activities of antioxidant enzymes and root growth inhibition in

cowpea seedlings exposed to different salt levels. **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.2, p.342-349, 2012.

MORAES II, A. D. K. S. P.; SELBACH II, P. A. Propriedades químicas de um Argissolo tratado sucessivamente com composto de lixo urbano. **Ciência Rural**, v.41, n.3, p.1-7, 2011.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, n.2, p.651-681, 2008.

NASCIMENTO, R. D.; ANDRADE, J. R.; MAIA JÚNIOR, S. D. O.; BARBOSA, J. W. D. S.; ALENCAR, A. E. V. D.; SOUSA, J. S. Crescimento de genótipos de feijão-caupi irrigados com água salina. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.9, n.4, p.41-45, 2013.

NEVES, A. L.; LACERDA, C. D.; GUIMARÃES, F. V.; GOMES FILHO, E.; FEITOSA, D. R. Trocas gasosas e teores de minerais no feijão-de-corda irrigado com água salina em diferentes estádios. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, p.873-881, 2009.

RAJENDRAN, K.; TESTER, M.; ROY, S. J. Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. **Plant, Cell & Environment**, v.32, n.3, p.237-249, 2009.

SANTOS, P. R.; RUIZ, H. A.; NEVES, J. C. L.; SANTOS FREIRE, M. B. G.; FREIRE, F. J. Acúmulo de cátions em dois cultivares de feijoeiro crescidos em soluções salinas. **Ceres**, v.56, n.5, p.666-678, 2009.

SILVA, F. E. O.; MARACAÇA, P. B.; MEDEIROS, J. F.; OLIVEIRA, F. D. A.; OLIVEIRA, M. K. T. Desenvolvimento vegetativo do feijão caupí irrigado com água salina em casa de vegetação. **Revista Caatinga**, v.22, n.3, p.156-159, 2009.

SILVA, S. M.; ALVES, A. N.; GHEYI, H. R.; BELTRÃO, N. D. M.; SEVERINO, L. S.; SOARES, F. A. Desenvolvimento e produção de duas cultivares de mamoneira sob estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.4, p.335-342, 2008.

SILVEIRA, J. A.; SILVA, S. L.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N.; LACERDA, S. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010. cap.11, p.161-180.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, v.6, n.11, p.1-23, 2010.

5 CAPÍTULO 3 - à ser submetido ao periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)

**ANÁLISE PROTEÔMICA EM GENÓTIPOS DE *Vigna unguiculata*
SUBMETIDOS AO ESTRESSE SALINO**

PROTEOMIC ANALYSIS IN *Vigna unguiculata* GENOTYPES
SUBMITTED TO SALINE STRESS

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo identificar as proteínas diferencialmente abundantes em dois genótipos de feijão-caupi submetidos ao estresse salino. Com base em estudos prévios, esses genótipos (Sempre Verde Salgueiro e Mosqueado 383) são contrastantes quanto ao grau de sensibilidade ao estresse salino. Nesse sentido, as sementes dos genótipos escolhidos foram semeadas em delineamento experimental de blocos ao acaso, com dois tratamentos (0 mM - controle, e 100 mM de NaCl), três repetições e um tempo de coleta. Após oito dias do início do estresse, as folhas de ambos os genótipos foram coletadas para extração das proteínas totais, quantificação, e identificação das proteínas diferencialmente abundantes por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas, seguida por comparação com banco de dados. Os resultados obtidos permitiram a identificação de 251 proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos e entre os genótipos avaliados. A partir dessa identificação é possível inferir sobre a participação de algumas dessas proteínas em vias metabólicas que possam estar relacionadas com os mecanismos de tolerância ao estresse salino em feijão-caupi.

Palavras-chave: Feijão-caupi. Salinidade. Proteínas.

ABSTRACT

The present study aimed to identify the differentially abundant proteins in two genotypes of cowpea submitted to saline stress. Based on previous studies, those genotypes (Sempre Verde Salgueiro and Mosqueado 383) are contrasting in relation to the degree of sensitivity to salt stress. In this sense, the seeds of the selected genotypes were sown in a randomized block design, with two treatments (0 mM - control, and 100 mM NaCl), three replicates and one time to collect. After eight days of treatment, the leaves of both genotypes were collected for total protein extraction, quantification, and identification of differentially abundant proteins by liquid chromatography coupled to mass spectrometry, followed by comparison with database. The results obtained allowed the identification of 251 differentially abundant proteins among the treatments and evaluated genotypes. Through this identification it is possible to infer about the participation of some of these proteins in metabolic pathways that may be related to the mechanisms of tolerance to saline stress in cowpea.

Key-words: Cowpea. Salinity. Proteins.

INTRODUÇÃO

Os estudos envolvendo o genoma de plantas têm contribuído significativamente para a compreensão dos vegetais e das suas respostas a diferentes estresses ambientais (ZHANG et al., 2012). No entanto, apesar desses estudos fornecerem informações válidas, apenas os dados do genoma não são suficientes para revelar a verdadeira complexidade existente nessas respostas moleculares, já que existem, por exemplo, mecanismos regulatórios adicionais que controlam a intensidade e a especificidade dessas respostas, como as modificações pós-traducionais que ocorrem nas proteínas recém-sintetizadas. Adicionalmente, outros estudos têm revelado que nem sempre a quantidade e a diversidade de transcritos estão diretamente relacionadas com as proteínas em atividade na célula (BAERENFALLER et al., 2012). Nesse sentido, a fim de minimizar ou até mesmo solucionar esse problema, as técnicas relacionadas à proteômica passaram a ser cada vez mais empregadas em estudos envolvendo algum tipo de estresse.

A proteômica é capaz de fornecer uma descrição global das proteínas presentes em diversos sistemas biológicos, permitindo assim sua caracterização e, conseqüentemente, uma análise de suas modificações perante os estresses ambientais (VANDERSCHUREN et al., 2013). Inicialmente, a proteômica foi bastante empregada em estudos qualitativos, os quais buscavam discernir sobre a natureza das proteínas presentes na amostra, contudo, devido ao desenvolvimento da espectrometria de massas, bem como de análises que permitem alto rendimento, foi possível empregar a proteômica também em estudos quantitativos, os quais buscam inferir sobre a abundância das proteínas presentes na amostra (THAKUR et al., 2011).

Dentre as técnicas mais empregadas em anos recentes, a proteômica *Shotgun* se destaca por estar em rápido desenvolvimento e contínuo aperfeiçoamento. Essa técnica é baseada na cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (LC-MS), e em épocas mais recentes tem se consagrado como a base da proteômica atual. De acordo com Thakur et al. (2011), os equipamentos mais modernos de LC-MS são capazes de identificar proteínas em amostras complexas, possibilitando, inclusive, a identificação de proteínas pouco abundantes, aliando praticidade, menor tempo e baixo custo.

Dentre os estresses ambientais existentes, o estresse salino representa um dos fatores abióticos que mais prejudicam a produtividade de alimentos no mundo, especialmente em regiões áridas e semiáridas, a exemplo do Nordeste brasileiro. Essas regiões são mais suscetíveis ao estresse salino por apresentarem déficit hídrico, solos rasos impermeáveis, além

de um alto índice de evaporação e evapotranspiração (GHEYI, 2000). Adicionalmente, estimativas apontam que aproximadamente 7% das áreas utilizadas para agricultura estejam afetadas pelo excesso de sais e, devido a técnicas inadequadas de manejo do solo e da irrigação, essa porcentagem tende a crescer de forma exponencial nos próximos anos (RENGASAMY, 2010).

O excesso de sais no solo prejudica as plantas por meio de dois efeitos principais: o efeito osmótico e o efeito iônico. O efeito osmótico é resultado de um desequilíbrio no potencial hídrico entre a raiz da planta e o solo, o que causa menor absorção de água e consequente desidratação e redução da biomassa do organismo. Em contrapartida, o efeito iônico é resultado do acúmulo de íons no solo, o que causa um influxo crescente de íons para as raízes e consequente acúmulo desses íons no citoplasma em quantidades que podem se tornar tóxicas. É importante ressaltar, contudo, que as plantas podem diferir em sua habilidade de lidar com o estresse, podendo ser mais ou menos sensíveis dependendo do mecanismo de resposta que apresentem. Adicionalmente, essa variação quanto ao grau de sensibilidade ao estresse pode ocorrer tanto entre espécies diferentes como entre genótipos diferentes, de forma que dentro de uma mesma espécie podem existir indivíduos (genótipos) mais ou menos sensíveis ao estresse salino que outros (KOSOVÁ et al., 2013).

Dentre as espécies mais afetadas pelo estresse salino pode-se destacar o feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], já que a espécie é amplamente cultivada em regiões áridas e semiáridas por ser bastante adaptável às condições existentes nessas regiões, como as altas temperaturas e o baixo índice pluviométrico. Alguns autores afirmam que o feijão-caupi é capaz de suportar condutividade elétrica até $2,2 \text{ dS m}^{-1}$ (22 mM de NaCl), algo que o tornaria uma cultura sensível à salinidade (BEZERRA et al., 2010). No entanto, outros autores afirmam que a espécie é moderadamente sensível ao estresse salino, por suportar salinidade em torno de $4,9 \text{ dS m}^{-1}$ (49 mM de NaCl) (FAGERIA et al., 2011). Adicionalmente, Almeida et al. (2011) afirmam que o grau de sensibilidade do feijão-caupi ao estresse salino é incerto, podendo variar entre os genótipos.

Diante do exposto, é notável a urgência em se realizar estudos, especialmente em espécies que apresentem importância socioeconômica, a exemplo do feijão-caupi. O investimento em estudos que busquem identificar as proteínas que possam estar relacionadas com as respostas das plantas aos estresses ambientais permitiria inferir sobre o mecanismo de defesa da planta, consequentemente a utilização desse conhecimento poderia levar ao melhoramento de muitas outras espécies economicamente importantes, evitando assim grandes perdas na agricultura e na economia do país e do mundo. Nesse sentido, o presente

estudo teve como objetivo identificar as proteínas diferencialmente abundantes em dois genótipos de feijão-caupi submetidos ao estresse salino. De acordo com estudos prévios, os genótipos escolhidos são contrastantes quanto ao grau de sensibilidade ao estresse salino.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de feijão-caupi [*V. unguiculata* (L.) Walp.] foram fornecidas pelo Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), em Recife (PE). Essas sementes são referentes aos genótipos Sempre Verde Salgueiro, menos sensível ao estresse salino, e Mosqueado 383, mais sensível ao estresse salino, de acordo com ensaios prévios. As sementes de ambos os genótipos foram semeadas em vasos contendo areia lavada, umedecida com água destilada, e deixadas em casa de vegetação, no IPA. Em cada vaso foram semeadas oito sementes, em delineamento experimental de blocos ao acaso, com dois tratamentos (0 mM - controle, e 100 mM de NaCl), três repetições e um tempo de coleta.

Nos primeiros sete dias após o plantio, as regas foram feitas diariamente apenas com água destilada, em um volume aproximado de 100 ml, suficiente para manutenção da umidade do substrato. No oitavo dia após o plantio foi realizado o desbaste, de modo a restar quatro plântulas em cada vaso. Após esse período, as regas passaram a ocorrer de acordo com os tratamentos supracitados (0 mM - controle, e 100 mM de NaCl), durante oito dias. Ao término desse período, procedeu-se a coleta das folhas, com vistas à extração das proteínas. Para isso, todo o material coletado foi armazenado em freezer a - 80 °C pertencente ao Laboratório de Genômica do IPA, local onde posteriormente também procedeu-se a extração das proteínas.

As folhas de ambos os genótipos submetidos aos tratamentos 0 mM (controle) e 100 mM de NaCl, durante oito dias, foram maceradas na presença de nitrogênio líquido até a obtenção de um pó com textura fina. Em seguida, os extratos proteicos foram obtidos de acordo com o protocolo descrito por Wang et al. (2003). Adicionalmente, para determinar a quantidade de proteínas obtidas no processo de extração, empregou-se o método descrito por Bradford (1976). Esse procedimento foi realizado no Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas, localizado na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em Recife (PE).

Em paralelo, as amostras foram digeridas com tripsina (Promega), e dessalinizadas de acordo com o protocolo descrito por Rappsilber et al. (2007), com modificações. Para esse procedimento, foi feito o preparo das ponteiras (P200 µL) com discos Empore C18, contendo um disco cada ponteira. Em seguida, as ponteiras contendo os discos foram lavadas com 20 µL de metanol, centrifugadas a 2000 rcf por 30s (com o auxílio de microtubos de 1,5 mL) e o metanol foi descartado. Posteriormente, foram acrescentados 20 µL de resina POROS® R2 e

as ponteiros foram novamente centrifugadas a 2000 rcf por 30s. Duas lavagens foram realizadas com 20 μ L de Solvente A (ácido fórmico 0,1% + acetonitrila 2%) para cada ponteira contendo os discos Empore. Para retirar o resíduo de acetonitrila, as ponteiros foram novamente centrifugadas. Em seguida, as amostras foram solubilizadas em Solvente A, inseridas nas ponteiros e centrifugadas a 2000 rcf por dois minutos. Posteriormente, as amostras foram eluídas com 20 μ L de solvente B (ácido fórmico 0,1% + acetonitrila 98%) e secas em centrífuga a vácuo. Após o término desse processo, foi feita uma quantificação adicional das amostras por NanoDrop (A280). Esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas, pertencente ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (UnB), em Brasília (DF), local onde também se procedeu a identificação das proteínas.

Após a quantificação por NanoDrop, as amostras foram aplicadas em cromatógrafo líquido Dionex, para nanocromatografia nas seguintes condições: alíquotas de 3 μ g das amostras foram injetadas em uma coluna de aprisionamento (*trap-column*) com 2 cm x 100 μ m, contendo partículas de C18 5 μ m. Os peptídeos foram eluídos dessa coluna para uma coluna analítica (32 cm x 75 μ m, C18 3 μ m) e desta para a fonte de ionização do espectrômetro. O gradiente de eluição foi composto por ácido fórmico 0,1% em água (solvente A) e ácido fórmico 0,1% em acetonitrila (solvente B), em um gradiente de 2 a 35% de solvente B durante 180 minutos.

As frações eluídas diretamente na fonte de ionização do espectrômetro de massa, do tipo Orbitrap Elite, foram analisadas em modo DDA (aquisição dependente de dados), gerando espectros MS1 no analisador Orbitrap (com resolução de 120.000 FWHM a 400 m/z) entre as massas 350-1650 m/z, e exclusão dinâmica de 10 ppm. Para cada espectro MS1 foram escolhidos automaticamente os 20 íons mais intensos com cargas acima de 2 e direcionados à fragmentação por CID (*collision induced dissociation*) com o ganho automático controle (AGC) de 1×10^6 e tempo de preenchimento máximo (maximum TI) de 120 ms. A configuração para CID foi: janela de isolamento de 2,0 m/z em 20s, com AGC de 5×10^4 , maximum TI de 100 ms, com energia de colisão normalizada em 35% e limiar para a seleção de 3000.

Os espectros obtidos foram alinhados e a quantificação de cada peptídeo foi calculada a partir da área de intensidade integrada por meio dos picos gerados pelos respectivos íons. Esses cálculos foram realizados com auxílio do software Progenesis[®]. Uma vez quantificados e agrupados os eventos correspondentes a peptídeos, a identificação de proteínas foi procedida com auxílio do software Peaks[®], que deduziu sequências a partir das informações de

fragmentação e realizou a busca no banco de dados do NCBI. As informações de identificação das proteínas foram inseridas no software Progenesis[®], que as comparou com os dados quantitativos gerados anteriormente.

Ainda utilizando o software Progenesis[®], foi realizada uma análise estatística multivariada para avaliação das diferenças entre os tratamentos e entre as replicatas, esperando-se encontrar na análise de PCA um agrupamento entre as replicatas e distanciamento entre os tratamentos. Em seguida, foi realizado um teste ANOVA para seleção das proteínas que apresentaram abundância com diferenças significativas entre os grupos. Dessa forma, as proteínas reguladas foram agrupadas conforme seu perfil de abundância nos tratamentos estudados.

Posteriormente, as proteínas identificadas foram manualmente anotadas por meio da ferramenta BLASTx[®], para sua classificação de acordo com os processos biológicos em que participam, sua localização subcelular, e suas funções moleculares. Dessa forma, foram buscadas correlações entre as proteínas presentes em quantidades diferentes entre os tratamentos e entre os genótipos avaliados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores apresentados na Tabela 1, abaixo, revelam a quantidade aproximada das proteínas totais presentes nas replicatas dos genótipos avaliados no presente estudo, de acordo com os tratamentos aplicados.

Tabela 1 - Quantidade estimada das proteínas totais presentes em cada replicata analisada, de acordo com o tratamento aplicado e o genótipo avaliado

Genótipo	Tratamento	Replicata	Proteínas totais (µg/µL)
<u>Sempre Verde Salgueiro</u>	0 mM	1	2,57
		2	0,51
		3	1,87
		4	1,53
	100 mM	5	3,23
		6	3,08
		7	1,44
<u>Mosqueado 383</u>	0 mM	8	1,67
		9	1,20
	100 mM	10	1,31
		11	1,50
		12	1,86

Fonte: O Autor (2017).

Os valores apresentados foram obtidos por meio da quantificação do material por NanoDrop (A280). Adicionalmente, a observação desses valores nos permite afirmar que as replicatas em questão apresentam um bom rendimento no que diz respeito à quantidade de proteínas totais presentes em cada uma, algo que reflete a boa execução do processo de extração das proteínas, inicialmente realizado. Ademais, é possível observar que as quantidades obtidas variam para cada replicata e de acordo com o tratamento e genótipo avaliado, sugerindo, assim, que diferentes genótipos em diferentes condições (tratamentos) refletem diretamente na quantidade de proteínas em abundância na célula.

Diante do contexto, as Figuras 1, 2 e 3 exibem, de uma maneira geral, o resultado de uma análise estatística multivariada para a avaliação das diferenças entre os tratamentos (0 e 100 mM de NaCl), e entre as replicatas dos genótipos avaliados (Sempre Verde Salgueiro e Mosqueado 383). A observação conjunta dessas Figuras revela a ocorrência de uma maior aproximação entre as replicatas, e um maior distanciamento entre os tratamentos aplicados (0 e 100 mM de NaCl), algo esperado, já que as replicatas de um mesmo genótipo submetidas ao mesmo tratamento tendem a exibir uma resposta similar, e portanto se agrupar, ao passo que as replicatas de genótipos diferentes, ou que foram submetidas a tratamentos distintos, tendem a exibir respostas variadas, e portanto se distanciar. Nesse sentido, as análises dos componentes principais realizadas nos permitem afirmar com segurança sobre a ocorrência de um verdadeiro contraste (distanciamento) entre os tratamentos aplicados e genótipos avaliados, o que traz confiabilidade aos resultados obtidos.

Nesse sentido, os resultados apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4 mostram as proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos e replicatas dos genótipos Sempre Verde Salgueiro, Mosqueado 383, e entre as replicatas dos genótipos Sempre Verde Salgueiro e Mosqueado 383 a 100 mM de NaCl, respectivamente. De uma maneira geral, foi possível identificar 251 proteínas diferencialmente abundantes nas três análises comparativas realizadas, havendo maior número delas na análise comparativa realizada entre as replicatas dos genótipos Sempre Verde Salgueiro e Mosqueado 383 a 100 mM de NaCl (Tabela 4: 124 proteínas) e menor número delas na análise comparativa realizada entre os tratamentos e replicatas do genótipo Sempre Verde Salgueiro (Tabela 2: oito proteínas).

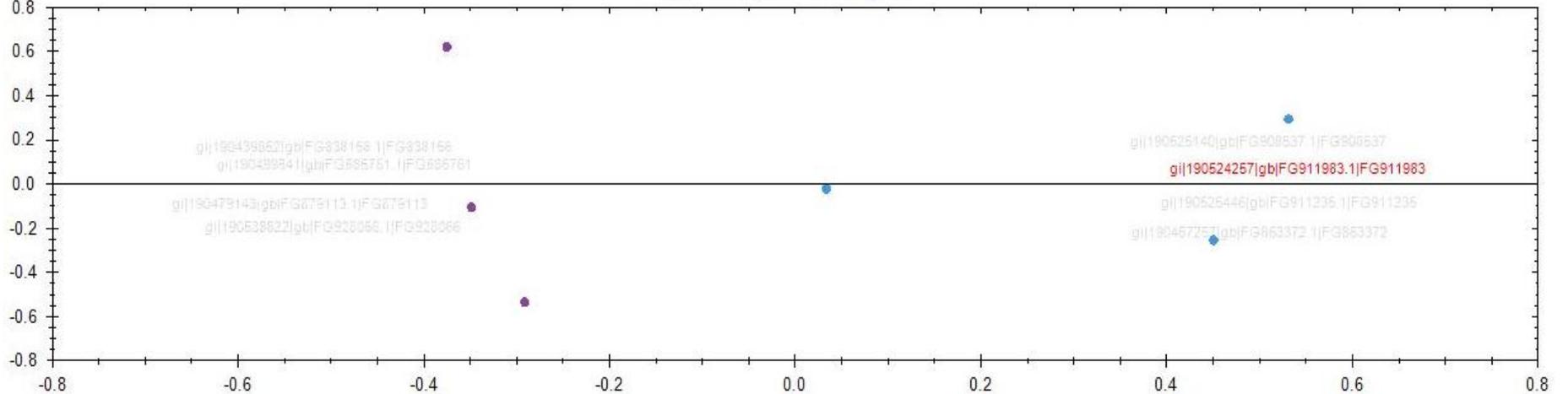
O número de proteínas diferencialmente abundantes, identificadas nas três comparações realizadas, pode estar fortemente relacionado ao grau de sensibilidade ao estresse salino demonstrado por cada genótipo avaliado, já que o grau de sensibilidade atua como um fator determinante no que diz respeito ao tipo de comportamento que um determinado genótipo apresentará quando submetido, ou não, a um dado estresse. Dessa

forma, a abundância de uma determinada proteína poderia ser consequência desse comportamento.

A identificação de apenas oito proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos aplicados e entre as replicatas do genótipo Sempre Verde Salgueiro (Tabela 2), por exemplo, pode estar relacionada com o fato desse genótipo ser menos sensível ao estresse salino que o genótipo Mosqueado 383 (Tabela 3), que apresenta 119 proteínas diferencialmente abundantes. O menor número de proteínas diferencialmente abundantes identificado ao se comparar as replicatas estressadas com as replicatas não estressadas indicaria, portanto, que o genótipo Sempre Verde Salgueiro (Tabela 2) suportou bem o estresse, ao contrário do genótipo Mosqueado 383 (Tabela 3), cuja grande quantidade de proteínas diferencialmente abundantes refletiria o fato de que esse genótipo não suportou bem o estresse salino imposto.

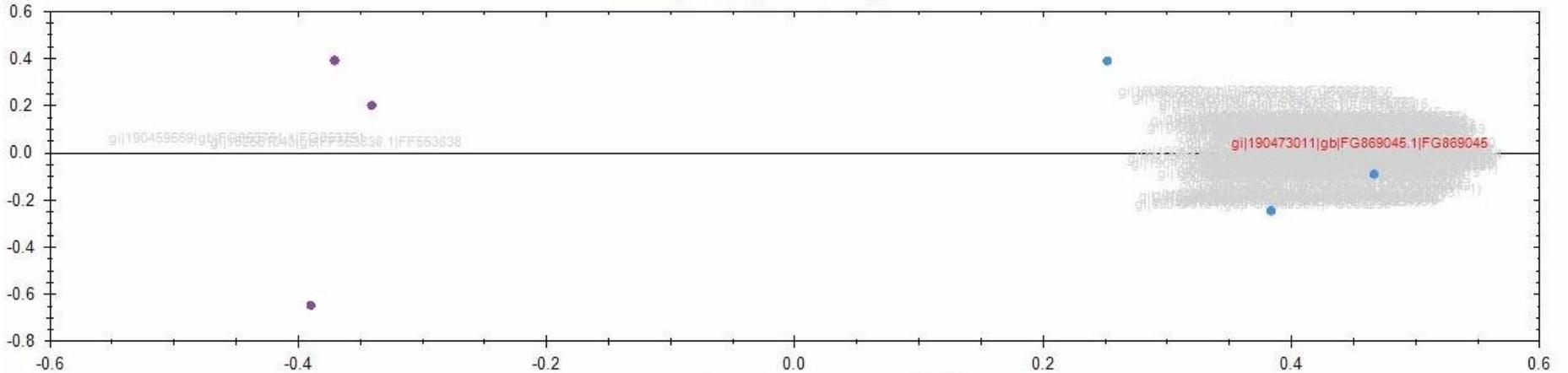
Ainda nesse contexto, a identificação de um menor número de proteínas diferencialmente abundantes permite inferir, portanto, sobre a ausência de alterações significativas na fisiologia do organismo frente ao estresse salino, por outro lado, a identificação de um maior número de proteínas diferencialmente abundantes permite inferir, portanto, sobre a ocorrência de alterações significativas na fisiologia do organismo frente ao estresse salino, essas alterações seriam significativas ao ponto de serem capazes de afetar a abundância de um número expressivo de proteínas dentre a quantidade total anteriormente identificada.

Figura 1 - Análise dos componentes principais resultantes da comparação entre os tratamentos e replicatas do genótipo Sempre Verde Salgueiro



Fonte: O Autor (2017).

Figura 2 - Análise dos componentes principais resultantes da comparação entre os tratamentos e replicatas do genótipo Mosqueado 383



Fonte: O Autor (2017).

Tabela 2 - Proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos e replicatas do genótipo Sempre Verde Salgueiro

Acesso (gi)	Anova (p)	Proteínas	Abundância normalizada					
			0 mM			100 mM		
			1	2	3	4	5	6
190524257	0,019748642	transketolase, chloroplástico [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	214573,1	309125,4	334135,6	175568,2	159409,9	164076,1
190479143	0,021016692	probable zinc metalloprotease EGY2, chloroplástico [<i>V. angularis</i>]	2441,478	1368,726	1290,338	3144,411	4230,818	3739,268
190439852	0,026311184	glucose-1-phosphate adenylyltransferase large subunit 3, chloroplástico/amyloplástico [<i>V. angularis</i>]	3472,764	1945,866	2642,828	6730,555	4652,827	4757,846
190538822	0,031731985	UPF0603 protein At1g54780, chloroplástico [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	8465,072	7561,081	3885,152	12044,5	16634,64	16077,68
190499841	0,03460233	cysteine synthase-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1646,874	1685,828	988,3086	3902,541	3041,525	2214,035
190525140	0,039482023	polygalacturonase inhibitor-like [<i>V. angularis</i>]	5774,272	8939,357	9817,089	5113,155	4503,695	3262,645
190525446	0,041650311	phosphoglycolate phosphatase 1B, chloroplástico-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	31410,58	57824,98	52606,42	22316,37	26918,01	27006,46
190467257	0,048482356	ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH 2, chloroplástico [<i>V. angularis</i>]	3225,826	6074,79	4932,132	1565,126	2013,446	3093,205

Fonte: O Autor (2017).

Tabela 3 - Proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos e replicatas do genótipo Mosqueado 383

Acesso (gi)	Anova (p)	Proteínas	Abundância normalizada					
			0 mM			100 mM		
			7	8	9	10	11	12
190473011	1,07E-05	CPRD46 protein [<i>V. unguiculata</i>]	35347,88	35760,45	41733,62	7168,435	7170,427	7758,86
190493106	1,36E-05	annexin-like protein RJ4 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	38362,47	40450,29	37129,4	18040,04	17790,43	18729,16
190472049	0,0001795	geranylgeranyl diphosphate reductase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	7552,155	7323,424	6381,727	1878,618	2392,121	1932,616
190427283	0,0002354	isoflavone reductase-like protein [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	50609,08	44779,9	44358,95	23844,83	21000,19	23237,53
190480584	0,0002841	CPRD46 protein [<i>V. unguiculata</i>]	103276,8	122150,6	159982,1	15559,49	21604,29	19535,46
190447036	0,0003111	4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase, chloroplastic/chromoplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2746,69	3062,469	2762,199	1626,112	1758,2	1756,95
190497501	0,0003156	tryptophan aminotransferase-related protein 4-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	116251,2	108938,2	151499,5	33175,31	35531,61	37931,65
190524474	0,0003418	CPRD46 protein [<i>V. unguiculata</i>]	196639,7	317494,3	281797	41106,17	30054,75	38812,98
190429517	0,0004298	CPRD46 protein [<i>V. unguiculata</i>]	34964,22	26810,75	21601,88	4923,968	3857,863	5157,595
190480330	0,0005201	glutamate decarboxylase-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	12067,2	11745,24	12471,86	4081,287	5140,841	5438,558
190460024	0,0005748	fruit protein pKIWI502 isoform X1 [<i>V. angularis</i>]	54248,56	69917,29	45181,36	14613,75	16139,58	14475,79
190438104	0,0006718	ferredoxin--NADP reductase, leaf isozyme, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	12723,89	12744,97	11722,58	8483,601	7706,94	8521,264
190418970	0,0007502	putative rubisco activase, partial [<i>V. unguiculata</i>]	46674,13	38035,94	40640,13	22458,24	21337,31	23543,73
190423895	0,0008068	phenolic glucoside malonyltransferase 1-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	4207,152	3349,373	5451,729	1161,102	1204,613	1101,129
190459569	0,000838	29 kDa ribonucleoprotein A, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	1188,702	1270,291	1307,683	3379,525	4753,774	5319,764
190433854	0,0010508	glucose--fructose oxidoreductase isoform X3 [<i>V. angularis</i>]	15849,37	14536,44	12914,95	8349,572	8437,868	8802,705
190414316	0,0011844	ferredoxin-thioredoxin [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	5720,208	5783,855	5128,487	3359,22	3151,825	2738,771

Continuação da Tabela 3

190513616	0,0015417	glutamate-glyoxylate aminotransferase 2 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1551,501	1429,986	1363,234	819,0736	644,709	613,4781
190418679	0,001835	CPRD46 protein [<i>V. unguiculata</i>]	106551,4	143411,6	197673,8	24616,97	31123,05	36634,32
190495614	0,0025087	allene oxide synthase 1, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	6867,569	11719,7	12819,62	2438,999	2808,223	2667,556
190474146	0,0027366	ATP synthase subunit beta, mitochondrial [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	130522,6	115334,8	130649,2	76363,64	90038,01	81954,49
190423418	0,0028714	ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	1471426	1482229	1337799	981740,7	856243,4	1020606
190522086	0,0029087	isoflavone reductase-like protein [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	6977,005	6900,351	7773,8	2552,136	3209,19	3877,032
190529474	0,0029595	28 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	204634,6	193765,3	167308,4	120586,2	113380,9	127466,9
190439370	0,0030452	glycine-rich RNA-binding, abscisic acid-inducible protein [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	8833,426	9180,605	10192,97	3376,253	4865,819	4680,201
190517128	0,0032884	20 kDa chaperonin, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	72661,15	71688,23	62291,96	43417,84	44394,51	49733,36
190505270	0,0038833	aspartate aminotransferase P2, mitochondrial [<i>V. angularis</i>]	3233,029	3458,691	2766,213	1829,523	2119,886	1863,099
221049535	0,004332	S-adenosylmethionine synthase [<i>V. angularis</i>]	4081,745	2930,69	2124,348	992,737	1000,931	899,6184
190439014	0,0046515	fructose-1,6-bisphosphatase, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	55071,96	43255,67	42303,21	28122,51	29252,28	28426,41
190472712	0,0047589	Coproporphyrinogen-III oxidase [<i>Morus notabilis</i>]	7705,149	6183,487	7434,008	3724,591	3821,223	4662,132
190429939	0,0049253	lectin precursor [<i>V. unguiculata</i>]	7037,566	7425,027	5947,861	3421,281	3092,955	4243,375
182660096	0,0052833	nucleoside diphosphate kinase 1 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	12876,51	15810,88	12685,74	5592,562	7664,462	7580,262
190494985	0,0055185	chloroplast stem-loop binding protein of 41 kDa b, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	32506,13	30221,88	29183,52	17377,58	22431,08	19818,91
190458549	0,0055921	synthase, chloroplastic/chromoplastic [<i>V. angularis</i>]	11001,05	14442,31	9947,433	6245,607	4997,911	6010,741
190523886	0,0056774	seed linoleate 9S-lipoxygenase-like [<i>V. angularis</i>]	1598,655	1750,658	2802,763	546,9091	634,8518	799,5574

Continuação da Tabela 3

182660292	0,0061067	mannose-specific lectin alpha chain-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	14511,39	87143,54	61325,44	2716,01	1698,89	2128,087
190461641	0,0061569	hypothetical protein VIGAN_01490300 [<i>V. angularis</i> var. <i>angularis</i>]	2899,447	3104,673	2201,816	1474,539	1439,223	1615,053
190497741	0,0062758	allene oxide synthase 1, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	25115,58	50251,07	31757,42	12587,62	10887,82	10360,67
190511701	0,0064338	iron-superoxide dismutase precursor [<i>V. unguiculata</i>]	31772,07	18646,59	23185,94	2542,775	6768,336	4833,852
190551218	0,0064672	uncharacterized protein LOC108341985 [<i>V. angularis</i>]	3517,241	2986,951	3666,418	1646,929	830,7203	1056,524
190540913	0,0065018	elongation factor 1 beta [<i>V. unguiculata</i>]	10749,18	10636,39	7773,549	5223,409	5756,356	5109,429
190444744	0,0066142	2-methylene-furan-3-one reductase-like [<i>V. angularis</i>]	59621,43	67456,93	62686,5	39355,54	34133,06	45613,31
190525140	0,0071675	polygalacturonase inhibitor-like [<i>Vigna angularis</i>]	37181,74	19502,26	20174,58	8181,597	6924,354	8868,534
190412448	0,007196	trypsin inhibitor A-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	16454,84	83094,29	48499,62	3151,971	4044,647	3491,927
190438281	0,0076869	40S ribosomal protein AS [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	15705,2	12266,14	12432,54	7706,117	7762,356	9193,973
190452852	0,0079826	stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	9400,825	8439,364	7695,988	3801,418	4904,56	5453,148
190516549	0,0090454	2-methylene-furan-3-one reductase-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1525,644	1667,387	2002,57	1016,262	1109,13	1199,524
190435363	0,0095108	CBS domain-containing protein CBSX1, Chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	5604,281	3787,398	4845,654	2182,143	2809,888	2504,196
182659142	0,0095545	ATP synthase CF1 beta subunit (chloroplast) [<i>V. unguiculata</i>]	488253,9	507166,5	391026,3	314186,8	256792,1	294030,9
190495886	0,0103908	malate dehydrogenase, glyoxysomal [<i>V. angularis</i>]	38839,71	29473,28	42387,86	22606,56	21314,99	22150,43
190487807	0,0104227	UDP-glycosyltransferase 84B2-like [<i>V. angularis</i>]	5264,335	2768,208	3347,154	1123,605	1270,315	1651,964
182661426	0,0108704	isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase I [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	3977,444	3075,76	2746,49	1928,022	1243,848	1415,156
221049446	0,0114568	cyanate hydratase [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1369,521	1936,085	1608,798	1012,248	1009,246	1075,582
190485268	0,0122357	oxygen-evolving enhancer protein 1, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	264114,3	345543,2	195696	126659,5	67928,53	85108,8

Continuação da Tabela 3

190515706	0,0122968	phosphoglycolate phosphatase 1B, chloroplastic-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2337,422	2858,387	2002,806	1594,353	1349,931	1310,173
190463483	0,0125508	proteasome subunit alpha type-5 [<i>Glycine max</i>]	4271,35	3980,869	3451,545	1728,167	2600,042	2267,813
190471808	0,0129548	hsp70-Hsp90 organizing protein 3-like [<i>V. angularis</i>]	1735,676	1370,916	1302,702	785,5517	984,2854	684,0246
190471896	0,0130482	uncharacterized protein LOC108323022 [<i>V. angularis</i>]	4213,943	4896,622	2390,756	1261,764	1597,477	1148,842
190442647	0,0130701	chaperone protein ClpC, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	28640,44	15841,45	18938,42	10095,81	8419,027	9667,581
190414913	0,013421	chlorophyll a-b binding protein CP29.3, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	15596,42	16821,6	12794,2	7802,285	9868,407	10070,32
190411775	0,0146594	ribulose biphosphate carboxylase small chain 1, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	4876841	4371292	3579908	3028255	2395923	2575093
190449706	0,015993	GDSL esterase/lipase At5g33370-like [<i>V. angularis</i>]	18514,1	22177,99	15329,53	11590,63	6777,244	8114,742
190521857	0,01711	L-glyceraldehyde 3-phosphate reductase isoform X1 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2491,916	1934,128	1645,828	1160,651	1314,274	1139,895
182660060	0,0175533	cytochrome f (chloroplast) [<i>V. unguiculata</i>]	189697,4	164929,9	141748,9	78966,76	105845,9	110106,7
190450370	0,0179126	ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	4374,351	3423,721	5338,771	1863,911	2529,729	2526,042
190554630	0,0179926	uncharacterized protein LOC108343949 [<i>V. angularis</i>]	5166,048	3676,636	4003,403	1882,913	2742,587	2504,615
190547794	0,0200591	tryptophan aminotransferase-related protein 4-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	18145,54	25831,32	12784,46	8733,311	5087,501	7403,923
190468544	0,0200844	probable xyloglucaendotransglucosylase/hydrolase protein 23 [<i>V. angularis</i>]	5801,579	3253,105	3561,436	2045,25	1694,644	2177,179
190550936	0,0202537	Calvin cycle protein CP12 [<i>Glycine soja</i>]	86839,62	74700,54	35995,35	19799,94	22022,07	11021,03
190517444	0,0206611	ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	144614,3	95613,81	143075,1	44054,25	68554,12	69242,07
190437328	0,0219686	ribulose-phosphate 3-epimerase, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	21459,09	23147,7	14340,5	10637,4	10364,25	11927,15

Continuação da Tabela 3

190472064	0,0224412	gamma-glutamyl hydrolase-like [<i>V. angularis</i>]	8354,519	9220,027	7718,419	4543,519	6378,33	5904,795
190493138	0,0226403	ruBisCO large subunit-binding protein subunit alpha [<i>V. angularis</i>]	1299,506	1730,643	990,9807	436,7136	744,1172	609,4336
190525703	0,0226919	ruBisCO large subunit-binding protein subunit alpha [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	12708,53	12284,05	10313,97	9056,34	6078,036	6694,981
190483919	0,0227392	phosphoribulokinase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	97559,58	73825,88	58458,04	43490,55	45255	35360,75
190417988	0,0228579	CPRD46 protein [<i>V. unguiculata</i>]	7157,859	12746,07	11087,65	1303,97	3892,154	3268,501
190479522	0,022865	40S ribosomal protein S19-1 [<i>V. angularis</i>]	5744,821	5025,346	3588,402	2522,723	2488,534	3074,938
190522234	0,0230789	phosphoribulokinase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	169606,2	215566	137183,9	114510,1	77501,22	85955,6
190542742	0,0231497	cysteine synthase, chloroplastic/chromoplastic [<i>V. angularis</i>]	30082,51	22262,54	20570,29	14943,48	14220,97	16784,82
190478281	0,0235575	probable aspartyl aminopeptidase [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2524,876	2213,254	1362,844	1045,829	980,213	990,986
190478138	0,0256606	Stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic [<i>Glycine soja</i>]	70962,97	45225,32	51903,81	34168,08	35524,19	34073,73
190477103	0,0271811	protein THYLAKOID FORMATION1, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	8816,651	7660,524	7352,636	4205,488	6168,963	5359,003
190469602	0,0275385	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	17901,51	11377,32	13379,05	7499,027	9639,856	7992,135
190421774	0,0276621	ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	119760,3	106911,8	143214,3	94980,47	69311,24	78131,36
190552841	0,0281702	2-alkenal reductase (NADP(+)-dependent)-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2435,012	2750,446	3465,991	1321,163	1853,363	1922,575
190462394	0,028269	malate dehydrogenase, cytoplasmic [<i>V. angularis</i>]	7547,039	6321,911	4122,955	3135,007	3049,827	3313,15
190500691	0,0283571	mitochondrial outer membrane protein porin of 36 kDa-like [<i>V. angularis</i>]	1367,294	1031,465	861,585	578,2713	525,8925	736,9777
190516206	0,0289356	40S ribosomal protein S30 [<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>]	628,1865	849,3292	715,8812	399,3583	544,1123	495,4063
190475055	0,0295244	photosystem I chlorophyll a/b-binding protein 6, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	1642,362	1238,87	1555,395	863,3265	849,3999	1156,811
190453993	0,030047	chlorophyll a-b, chloroplastic-like [<i>V. radiata</i>]	925411,3	994039,8	553456,5	411424,3	440742,4	445733,7

Continuação da Tabela 3

190435164	0,0300904	magnesium-chelatase subunit ChII, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1452,1	873,7601	909,7208	562,476	521,4769	670,0595
190509345	0,0313167	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate-- homocysteine methyltransferase [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	46756,36	40322,81	30141,38	23020,11	10268,37	17357,71
190543462	0,0318567	putative phosphatidylglycerol/phosphatidylinositol transfer protein DDB_G0282179 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	4183,805	3544,084	2858,59	2631,59	1978,677	2047,54
190462777	0,0323628	aldo-keto reductase family 4 member C9-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	12356,83	8868,912	8519,118	5307,931	7255,283	5471,808
190471558	0,0327428	50S ribosomal protein L6, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	9425,057	7649,02	7287,125	6402,217	4618,914	4204,747
190480279	0,0334743	chlorophyll a-b binding protein CP26, chloroplastic [<i>Glycine max</i>]	464186,7	447715,5	299988,1	211617,3	254384,3	262915,9
190458082	0,033525	photosystem I P700 apoprotein A2 (chloroplast) [<i>V. unguiculata</i>]	128443,8	167220,8	125433	106346,4	68673,62	82740,26
190482062	0,0337813	40S ribosomal protein S18 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	6861,9	10377,73	8469,453	5625,067	5936,604	4524,764
190468191	0,0356133	glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	19632,51	16222,97	12714,24	11689,77	7741,62	8603,316
190434987	0,0358663	50S ribosomal protein L12, chloroplastic-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	22356,18	14216,16	13732,46	6642,296	8915,248	10593,89
190427949	0,0365488	copper transport protein ATX1 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	8651,357	5012,143	5187,926	3826,144	2806,481	3341,629
190501012	0,0367256	30S ribosomal protein S9, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	13492,81	19002,26	13033,29	10596,56	7123,77	9349,072
182661040	0,0386683	phospholipase D alpha 1-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	12210,16	6147,839	9214,702	15874,95	15559,22	21008,75
190470134	0,0403978	cytochrome c oxidase subunit 2, mitochondrial [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1560,793	2340,936	1648,358	1256,18	522,4918	694,3477
190418847	0,0415356	60S acidic ribosomal protein P2B-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	6101,07	4307,548	3159,69	2697,148	2400,924	2156,676

Continuação da Tabela 3

190533371	0,0420389	serine hydroxymethyltransferase 4 [<i>V. angularis</i>]	4167,747	2855,322	3479,842	2349,09	782,3745	1061,835
190435480	0,0426524	60S ribosomal protein L5-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2123,333	2796,994	2040,529	1310,51	1755,93	1013,066
190522242	0,043533	peroxidase E5-like [<i>V. angularis</i>]	18959,45	21183,26	9731,242	8139,646	8049,06	6471,735
190507186	0,0444511	pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump [<i>V. angularis</i>]	2184,999	1415,807	1233,364	995,8553	959,4968	786,0305
190538822	0,0444905	UPF0603 protein At1g54780, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	43085,63	29415,83	25531,77	19496,92	19870,63	21168,84
190474999	0,0452586	porphobilinogen deaminase, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	8251,83	4238,715	6241,813	2909,152	3960,48	2680,038
190507280	0,0459614	2-alkenal reductase (NADP(+)-dependent)-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	7065,771	7574,751	9452,301	3403,84	5170,732	5844,788
182661400	0,046286	uncharacterized protein LOC108320644 isoform X1 [<i>V. angularis</i>]	4376,869	3302,594	2735,767	1049,343	1910,925	2137,599
190455714	0,0468599	40S ribosomal protein S13 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1360,723	1457,729	1013,015	834,9639	934,4824	612,5221
190473773	0,04741	glutathione S-transferase U18 [<i>V. angularis</i>]	23589,05	14951,84	11762,8	6903,452	9339,565	9332,239
190430110	0,0481676	50S ribosomal protein L1, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	5240,324	3854,124	3193,467	2331,321	2026,769	2953,261
190524413	0,0485044	uncharacterized protein LOC106756427 isoform X2 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2635,101	1918,231	1330,276	1043,754	1006,583	1165,293
190485360	0,049312	thioredoxin M-type, chloroplastic-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	37405,85	36015,54	22726,91	17884,13	20075,97	21031,59
190468727	0,0517875	aldo-keto reductase family 4 member C9-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	14415,48	11311,69	13703,85	6369,925	10556,66	8604,489

Fonte: O Autor (2017).

Tabela 4 - Proteínas diferencialmente abundantes entre as replicatas dos genótipos Sempre Verde Salgueiro e Mosqueado 383 a 100 mM de NaCl

Acesso (gi)	Anova (p)	Proteína	Abundância normalizada					
			SVS			M383		
			4	5	6	10	11	12
190555720	1,73E-05	albumin-2-like [<i>V. angularis</i>]	9916,237	11274,95	10866,03	31220,91	33267,04	30781,99
182658828	0,000112973	probable protein disulfide-isomerase A6 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1056,326	1212,531	1101,011	566,4969	530,2677	568,4192
190459489	0,000167214	ruBisCO large subunit-binding protein subunit alpha [<i>Glycine max</i>]	55044,79	58785,07	55232,21	35337,8	33746,7	31712,81
190422734	0,000211463	60S ribosomal protein L10-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1332,857	1211,451	1394,423	741,1715	769,1476	737,4924
190476059	0,000304872	ribulose biphosphate carboxylase small chain 1, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	2682346	2404735	2453287	1517206	1607360	1473174
182660096	0,000311376	nucleoside diphosphate kinase 1 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	18932,37	17845,11	19403,54	7367,937	8825,374	9035,825
190422463	0,000446712	cyclophilin [<i>V. mungo</i>]	14128,83	30115,68	28738,18	1487,725	1744,483	1676,905
190515648	0,000455519	ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	2246099	2042709	1982236	1059953	862076,7	1004134
190456818	0,000524873	chlorophyll a-b binding protein CP29.3, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	54481,71	53191,04	49289,11	31889,31	28132,01	32093,51
190423303	0,000537354	protochlorophyllide reductase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	5976,761	5107,292	6341,591	2174,675	2250,593	2652,427
190502022	0,000843244	haloacid dehalogenase-like hydrolase domain- containing protein At3g48420 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	13784,76	14480,24	12812,88	8601,79	9521,416	8840,333
190414167	0,000987253	GDP-mannose 3,5-epimerase 2 [<i>V. angularis</i>]	2697,182	2906,135	2610,021	1346,882	1356,816	1045,161
190414913	0,001082533	chlorophyll a-b binding protein CP29.3, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	17698,14	22355,23	17985,76	8323,265	9545,622	9575,475
190435164	0,001327035	magnesium-chelatase subunit ChII, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2570,204	2280,598	1720,803	860,503	788,6247	785,6193
190524649	0,001357164	ATP synthase gamma chain, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	78873,32	87884,78	82777,42	56391,21	49870,64	47144,63

Continuação da Tabela 4

190449863	0,001559479	catalase 2, partial [<i>V. unguiculata</i>]	169539,8	174373	146686,1	75012,64	52228,9	68405,13
190514098	0,001779956	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase B, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	172176	147614	140691,3	96071,21	97950,7	91577,78
190461477	0,00185799	ferredoxin-dependent glutamate synthase, chloroplastic isoform X1 [<i>V. angularis</i>]	8950,284	9836,313	11905,51	4934,178	5230,264	4291,268
190526756	0,001943882	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	5381,641	5522,019	5001,068	3731,05	3136,087	3524,608
190498989	0,00224212	superoxide dismutase [Cu-Zn], chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	11698,66	6966,96	5601,908	55514,97	42998,11	36211,45
190556330	0,002537213	L-3-cyanoalanine synthase 2, mitochondrial isoform X2 [<i>V. angularis</i>]	1952,938	1901,11	1766,071	942,7407	614,1767	822,0694
190442647	0,002791036	chaperone protein ClpC, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	25558,11	24685,83	19203,56	11502,63	8331,232	9867,701
190482062	0,002905216	40S ribosomal protein S18 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	10929,02	9816,424	11612,86	6078,315	5834,9	4512,439
190547642	0,002976256	aminomethyltransferase, mitochondrial [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	123590,9	130355,3	122325,3	89791,34	71503,11	74045,79
190414316	0,003084088	ferredoxin-thioredoxin reductase, variable chain [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	10041,78	12856,8	11076,59	6504,86	5251,207	4882,187
190500691	0,003308903	mitochondrial outer membrane protein porin of 36 kDa-like [<i>V. angularis</i>]	4194,141	4976,406	4074,303	2470,495	2916,351	2689,736
190446266	0,003379899	ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH 2, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	28828,97	34907,71	29021,43	19999,88	17241,51	16204,68
190451226	0,003387303	catalase [<i>V. angularis</i>]	35477,51	51163,87	42163,5	22372,33	18370,99	19516,14
190473939	0,0036618	60S acidic ribosomal protein P2-1-like [<i>V. angularis</i>]	8338,989	7867,57	6150,314	4224,42	3483,422	3536,148
190488920	0,004051703	iron-superoxide dismutase precursor [<i>V. unguiculata</i>]	26755,6	16733,52	17345,29	1775,119	4545,626	3430,245
190504541	0,004179809	40S ribosomal protein S28 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2294,729	2907,603	2085,043	1276,534	997,2186	913,7577

Continuação da Tabela 4

190556099	0,004328632	triosephosphate isomerase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	63239,59	84262,28	78003,04	45960,92	41274,75	44368,19
190553596	0,004401162	leghemoglobin reductase [<i>V. angularis</i>]	8149,844	9573,7	9766,1	5211,181	6106,373	6128,814
190464784	0,004718454	chlorophyll a-b binding protein CP24 10A, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	42331,13	62332,84	50945,86	21098,93	25545,46	26371,5
190483926	0,00473592	L-glyceraldehyde 3-phosphate reductase isoform X1[<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1427,626	1729,82	1883,004	1076,264	948,1984	974,5471
190442055	0,00474689	ketol-acid reductoisomerase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	4749,487	5434,016	4100,423	3026,954	2556,287	2686,78
190498340	0,005104681	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase [<i>V. angularis</i>]	10637,39	14088,32	11647,84	7056,852	5364,437	5033,673
190455379	0,005405042	uncharacterized protein LOC106770165 isoform X2 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	12708,02	10768,21	8330,802	4631,229	3331,407	4730,175
190550235	0,00559717	phosphoglucomutase, cytoplasmic [<i>V. angularis</i>]	1584,474	1402,183	1093,241	645,1531	680,4103	770,2126
190431002	0,005721637	ferredoxin-dependent glutamate synthase, chloroplastic isoform X1[<i>V. angularis</i>]	19162,05	24333,01	21731,72	14797,13	13365,86	14785,53
190446318	0,006083608	glycine dehydrogenase (decarboxylating), mitochondrial [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	54063,33	80368,39	60892,58	27967,87	22835,47	33073,99
182660903	0,006114066	carbonic anhydrase, chloroplastic isoform X1 [<i>V. angularis</i>]	599597,2	694077,9	610771,5	360034	451028,3	426461,4
190548553	0,006673128	20 kDa chaperonin, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	81677,7	106865,4	79367,23	54244,09	49419,23	54712,36
190475866	0,006975045	adenylosuccinate synthetase 2, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2251,839	2382,182	2139,934	871,5742	321,227	436,906
190415249	0,007610756	malate dehydrogenase, glyoxysomal [<i>V. angularis</i>]	46793,51	68493,61	55492,28	27724,54	29533,73	33779,01
190550897	0,007803874	linolenate hydroperoxide lyase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	3543,274	3764,304	2303,377	8422,335	6502,772	7185,623
190430050	0,007830794	lectin precursor [<i>V. unguiculata</i>]	8862,563	10942,99	9118,822	5939,403	4493,569	5996,788
190447235	0,007883286	protochlorophyllide reductase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	2238,404	2992,859	1933,376	802,0507	1054,213	1186,534

Continuação da Tabela 4

221049446	0,008129666	cyanate hydratase [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1646,489	2765,526	2578,459	1065,776	961,4932	1018,236
190415581	0,008431068	thiol protease aleurain-like [<i>V. angularis</i>]	1178,198	1739,19	1547,836	2462,986	2724,658	2920,957
190554957	0,008575351	glucose-1-phosphate adenylyltransferase large subunit 3, chloroplastic/amyloplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	4526,368	6941,25	6778,406	2763,466	3237,011	2593,67
190509447	0,009239907	malate dehydrogenase, cytoplasmic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2161,916	1646,146	1515,337	881,3998	572,559	449,6288
190419476	0,010334472	transketolase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	130623,1	201286,5	185957,9	88815,05	96820,43	81310,2
190444684	0,011293653	26S protease regulatory subunit S10B homolog B [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	3688,262	5572,175	4718,81	2591,142	1737,523	2286,409
190501543	0,011311368	biotin carboxylase 1, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	882,2718	1381,54	1327,341	419,2441	526,6355	626,4351
190422555	0,012454644	40S ribosomal protein S4-1 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	8381,134	7393,377	7085,122	3686,487	5460,777	4337,278
190466199	0,012583986	50S ribosomal protein L5, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	11039,6	8933,231	7951,833	5284,158	6013,427	6168,787
190468749	0,012631339	carbonic anhydrase [<i>V. unguiculata</i>]	13280,96	17251,28	11872,94	8846,529	8621,085	8469,882
190445528	0,012714229	plastocyanin [<i>V. angularis</i>]	436437,6	618627,1	464232,3	759120,4	980666,7	952632,2
190478520	0,013393581	ribosome-recycling factor, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	15117,56	18965,29	13930,58	9350,231	10567,87	10890,62
190491751	0,014535675	ACT domain-containing protein ACR11-like [<i>V. angularis</i>]	39585,02	38747,36	42000,58	18357,96	22677,25	29075,18
190468739	0,014732521	uncharacterized protein LOC108333254 [<i>V. angularis</i>]	6739,468	3832,447	3585,237	9664,743	14562,63	17469,95
190514805	0,014763291	phosphoribulokinase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	2885,425	6555,913	6355,483	1062,234	1428,644	1785,385
190465893	0,015692942	probable aldo-keto reductase 1 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	1378,806	1930,457	1304,103	894,2204	521,8421	678,0057
190430839	0,015758681	elongation factor 1-alpha [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	57885,9	71512,91	72784,47	36301,21	49256,47	42086,4
190468191	0,016200161	glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	19570,54	27043,76	19295,77	14202,09	9445,479	9660,281

Continuação da Tabela 4

190429049	0,016205737	60S acidic ribosomal protein P2B-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	3860,097	4291,4	3306,414	2809,861	2324,286	2072,614
190513970	0,016333668	60S ribosomal protein L7-2 isoform X1 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	9680,459	13967,79	10984,92	7587,555	6361,434	7314,144
190468562	0,016503117	glutamine synthetase [<i>V. unguiculata</i>]	10155,23	12801,72	12031,51	24534,49	16596,28	18965,32
190447515	0,016961539	tubulin alpha-3 chain [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	9833,125	8407,85	5927,619	4309,391	3762,702	4557,521
190461641	0,017707481	uncharacterized protein LOC108336226 isoform X1 [<i>V. angularis</i>]	1319,848	1517,294	1539,227	948,553	782,9205	1112,739
190498981	0,017883578	proteasome subunit alpha type-7 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	10061,35	8049,156	7501,043	18556,43	13918,7	12677,81
190529285	0,018680473	macrophage migration inhibitory factor homolog [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2524,045	5561,813	4291,359	1589,278	1577,137	1656,763
190430579	0,018745275	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate homocysteine methyltransferase [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	159621,6	119320,7	104125,3	65865,31	55906,34	80927,82
182659142	0,019134216	membrane-bound ATP synthase subunit B, partial (chloroplast) [<i>V. unguiculata</i>]	486032,4	722192,1	503082,8	366936	276879,8	312310,7
190453891	0,019714183	transketolase, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	13471,52	10057,21	11447,83	6208,264	8553,396	7059,609
190472712	0,01993465	oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	6226,819	7084,041	5028,221	3906,282	3608,93	4360,917
190554630	0,020320974	uncharacterized protein LOC108343949 [<i>V. angularis</i>]	7515,287	4805,567	4090,778	2299,574	2684,118	2805,321
190468723	0,020403262	40S ribosomal protein S5 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	6775,256	6057,611	4660,484	3884,875	2428,39	2718,683
182660872	0,022065323	uncharacterized protein LOC106775053 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	10817,2	6522,404	5612,769	2534,966	3449,291	3695,475
190544348	0,022730149	elongation factor 2 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	9124,736	6411,169	6772,73	5246,62	4419,388	4615,628
190527190	0,022751758	ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	19541,13	15618,91	12360,45	10155,01	8973	9423,322

Continuação da Tabela 4

190455048	0,023141153	UPF0051 protein ABCI8, chloroplastic-like isoform X1 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	792,8878	959,9746	614,097	509,3678	304,8165	320,0672
190440131	0,023868848	fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [<i>V. angularis</i>]	36772,55	57161,01	42012,6	24436,94	27260,5	29448,15
190443411	0,024453145	malate dehydrogenase, cytoplasmic [<i>V. angularis</i>]	7169,608	9437,551	9513,511	4461,506	6378,629	5204,332
190521131	0,025286001	glutamine synthetase leaf isozyme, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	204526,7	242184,9	155625,4	135356,2	99261,69	110392,4
190426913	0,025490277	tubulin beta-1 chain [<i>V. angularis</i>]	3150,826	2283,577	1956,91	1486,395	1253,143	1528,08
190555780	0,026290349	ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	51381,32	68877,18	46633,48	38094,87	27757,46	33535,42
190503461	0,026487961	fructokinase-2-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	3866,023	2430,399	2058,887	1199,861	1352,026	1516,395
190502511	0,027483699	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	10860,17	18383,84	14953,21	7923,367	9285,829	7428,929
190500173	0,027857682	serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial [<i>V. angularis</i>]	50652,21	73855,31	70334,6	42535,27	44422,26	41024,77
190473773	0,027864587	glutathione S-transferase U18 [<i>V. angularis</i>]	4901,459	4780,068	5522,642	3045,633	4174,341	2856,431
190471542	0,028635805	uncharacterized protein LOC108323022 [<i>V. angularis</i>]	2241,829	3320,63	2147,381	1325,317	1726,558	1220,481
190421774	0,029204799	ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	480125	332819	253882	201551,4	162898,3	176960,6
190460422	0,030125741	cell division protein FtsZ homolog 2-1, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2055,718	3417,804	1457,491	1065,395	585,3224	828,0543
190474999	0,030498422	porphobilinogen deaminase, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	4559,4	3537,426	3761,358	2686,621	2829,988	1907,79
190480505	0,031195157	stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	11084,66	18761,6	16580,67	5983,412	8828,166	8817,634
190500028	0,031638334	serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial [<i>V. angularis</i>]	121730	134569,3	92188,88	76727,97	33495,5	37801,97
190472064	0,031776279	gamma-glutamyl hydrolase-like [<i>V. angularis</i>]	11120,77	20109,25	16717,26	9337,068	8680,335	7954,745

Continuação da Tabela 4

190444294	0,032046101	thylakoid lumenal protein TL20.3, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	4639,762	7072,288	8031,327	4086,522	3458,445	2968,211
182661210	0,032403793	patellin-3-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	13123,18	20542,18	16351,14	29184,8	23347,94	26082,36
190494985	0,032607516	chloroplast stem-loop binding protein of 41 kDa b, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	24596,92	39210,52	34704,7	18000,59	22061,27	19586,57
190446735	0,032608678	heat shock protein 90-5, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	9177,585	7520,964	6084,414	4634,96	5494,898	4671,529
190465020	0,03271758	uncharacterized protein LOC106753668 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	2897,27	3009,384	2281,311	2046,313	1295,012	1642,117
190494827	0,033728195	nudix hydrolase 3-like [<i>V. angularis</i>]	63811,31	108432,7	83458,94	52311,2	34975,1	48503,72
190430110	0,034306697	50S ribosomal protein L1, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	6181,644	9029,299	5384,989	4135,621	3715,491	4285,258
190475699	0,035105887	phosphoglycerate kinase, cytosolic [<i>V. angularis</i>]	14237,37	25112,57	16147,68	9955,368	9226,145	11336,7
190424471	0,035664588	polyadenylate-binding protein 2-like [<i>V. angularis</i>]	1564,207	2477,756	1865,438	1203,145	1022,776	1355,468
190442105	0,036919007	rhodanese-like domain-containing protein 14, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	2415,666	3322,924	2221,327	1276,041	1708,718	1807,138
190416918	0,037822272	10 kDa chaperonin [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	6655,623	5599,855	5101,521	4598,22	2834,647	3258,317
190467695	0,040628442	bifunctional purple acid phosphatase 26-like [<i>V. angularis</i>]	8103,89	12978,44	11290,95	6014,839	6737,855	7459,768
190461764	0,04128346	thylakoid lumenal 29 kDa protein, chloroplastic isoform X1 [<i>V. angularis</i>]	29046,09	50130,51	36149,01	26147,6	16130,32	18647,07
190434678	0,041673202	ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	28058,31	48371,15	38999,69	25066,35	17319,67	22180,43
190446683	0,042654586	pectinesterase-like [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	935,4828	1284,959	1261,725	1459,555	2195,901	1895,032
190491863	0,044133417	uncharacterized protein At5g02240-like isoform X1 [<i>V. angularis</i>]	9222,53	6259,36	5802,476	15643,79	10282,05	11135,97
190541239	0,045651378	serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial [<i>V. angularis</i>]	7525,077	11381,57	10354,62	5955,594	7262,421	6205,727
190522234	0,045816753	phosphoribulokinase, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	159217,6	172459,4	133875,6	127852,6	76623,34	81889,79

Continuação da Tabela 4

190422228	0,046245652	probable ribose-5-phosphate isomerase 3, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	47098,15	62530,35	46475,43	26708,11	37991,25	37339,52
190478138	0,046802802	stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic [<i>V. angularis</i>]	40382,58	62557,23	55997,33	38009,96	34899	32952,37
190448777	0,047408308	actin-11 [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	60983,58	50091,55	41776,89	39384,53	26544,21	31979,43
190449275	0,047600631	chlorophyll a-b binding protein CP26, chloroplastic [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	29633,28	30409,61	21172,1	17296,93	15450,91	20816,57
190459569	0,047711586	29 kDa ribonucleoprotein A, chloroplastic-like [<i>V. angularis</i>]	500,0534	1342,715	2048,823	382,0031	18,91061	45,15324
190463327	0,049188211	leghemoglobin reductase [<i>V. angularis</i>]	10915,99	15957,7	10325,37	9059,741	5265,79	6565,418
190541292	0,049321341	malate dehydrogenase, mitochondrial [<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>]	23391,98	26552,25	12629,96	12474,98	5414,741	6845,205

SVS: Sempre Verde Salgueiro. M383: Mosqueado 383. Fonte: O Autor (2017).

Como já mencionado anteriormente, o maior número de proteínas diferencialmente abundantes foi identificado por meio da análise comparativa realizada entre as replicatas dos genótipos Sempre Verde Salgueiro e Mosqueado 383, a 100 mM de NaCl (Tabela 4: 124 proteínas). O grande número de proteínas identificadas por meio dessa análise pode refletir os diferentes graus de sensibilidade ao estresse salino entre os genótipos avaliados, já que esses diferentes graus de sensibilidade podem gerar diferentes comportamentos frente ao estresse salino, algo que pode afetar diretamente a abundância de um número significativo de proteínas.

Dentre as 124 proteínas diferencialmente abundantes identificadas na referente análise, 113 proteínas foram mais abundantes no genótipo Sempre Verde Salgueiro e menos abundantes no genótipo Mosqueado 383, ao passo que 11 proteínas foram mais abundantes no genótipo Mosqueado 383 e menos abundantes no genótipo Sempre Verde Salgueiro (Tabela 4). O fato de a maior abundância pertencer ao genótipo Sempre Verde Salgueiro pode indicar a ocorrência de uma possível redução no metabolismo e funcionamento celular do genótipo Mosqueado 383 frente ao estresse salino, algo que claramente refletiria sua maior sensibilidade ao estresse em comparação ao genótipo Sempre Verde Salgueiro.

É importante ressaltar que todas as proteínas identificadas abrem parênteses para uma profunda discussão acerca da complexidade que envolve os mecanismos de tolerância ao estresse salino, sendo possível inferir sobre a participação de algumas dessas proteínas nas vias metabólicas que possam estar relacionadas com esses mecanismos. Dentre as proteínas identificadas, pode-se destacar a presença da rubisco (ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase) em maior abundância no genótipo Sempre Verde Salgueiro. Essa proteína é uma enzima chave na fotossíntese, além de ser a proteína mais abundante no planeta, representando até 40% do total das proteínas solúveis presentes na maioria das folhas, contudo, vale salientar que fatores do ambiente ou ligados à própria planta, que afetam a fotossíntese, e, portanto, a produtividade biológica, podem ter ação na rubisco (CAMILLI et al., 2008).

Nesse sentido, a presença dessa proteína em maior abundância no genótipo Sempre Verde Salgueiro pode estar associada a sua menor sensibilidade ao estresse salino, já que a presença do estresse não foi capaz de reduzir sua abundância, em comparação ao genótipo Mosqueado 383. Adicionalmente, podemos destacar a presença de um precursor de lectina em maior abundância no genótipo Sempre Verde Salgueiro. Esse fato é notável, já que diversas lectinas foram anteriormente isoladas a partir de plantas, contudo, vale salientar que a função biológica da grande maioria destas permanece desconhecida (SILVA et al., 2015). Dessa

forma, seria possível supor a existência de uma lectina vegetal associada aos mecanismos de tolerância ao estresse salino em feijão-caupi, e, conseqüentemente, lançar a base para estudos futuros e promissores acerca do tema.

CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu a identificação de 251 proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos 0 mM (controle) e 100 mM de NaCl, e entre os genótipos Sempre Verde Sagueiro e Mosqueado 383. A partir dessa identificação é possível inferir sobre a participação de algumas dessas proteínas nas vias metabólicas que possam estar relacionadas com os mecanismos de tolerância ao estresse salino em feijão-caupi.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), à Universidade de Brasília (UnB), à EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão de bolsas e pelo apoio concedido.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, W. S.; BELÉM, F. R. F.; MAGALHÃES BERTINI, C. H. C.; SOUZA PINHEIRO, M.; TEÓFILO, E. M. Identificação de genótipos de feijão-caupi tolerantes a salinidade avaliados por meio de métodos multivariados. **Ciência Rural**, v.41, n.11, p.1884-1889, 2011.
- BAERENFALLER, K.; MASSONNET, C.; WALSH, S.; BAGINSKI, S.; BUHLMANN, P.; HENNIG, L. Systems-based analysis of *Arabidopsis* leaf growth reveals adaptation to water deficit. **Molecular Systems Biology**, v.8, n.1, p.606, 2012.
- BEZERRA, A. K. P.; LACERDA, C. F.; HERNANDEZ, F. F. F.; SILVA, F. B.; GHEYI, H. R. Rotação cultural feijão-caupi/milho utilizando-se águas de salinidades diferentes. **Ciência Rural**, v.40, n.10, p.1075-1082, 2010.
- 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, 1976.
- CAMILLI, L.; IKEJIRI, L.; RODRIGUES, J. D.; BOARO, C. S. F. Produtividade e estimativa da eficiência de carboxilação in vivo da enzima rubisco em girassol ornamental cultivado em lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, n.2, p.858, 2008.

FAGERIA, N. K.; STONE, L. F.; SANTOS, A. B. Melhoramento para tolerância a salinidade. In: FRITSCH NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. p.151-176.

GHEYI, H. R. Problemas de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T.; ASSIS, R. N.; ROMERO, R. E.; SILVA, J. R. C. **Agricultura, sustentabilidade e o semiárido**. Fortaleza: DCS/UFC, 2000. p.329-346.

KOSOVÁ, K.; PRÁŠIL, I. T.; VÍTÁMVÁS, P. Protein contribution to plant salinity response and tolerance acquisition. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n. 4, p.6757-6789, 2013.

RAPPSILBER, J.; MANN, M.; ISHIHAMA, Y. Protocol for micro-purification, enrichment, pre-fractionation and storage of peptides for proteomics using StageTips. **Nature Protocols**, v.2, n.8, p.1896-1906, 2007.

RENGASAMY, P. Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. **Functional Plant Biology**, v.37, n.7, p.613-620, 2010.

SILVA, S. B.; MELLO DUARTE, M. V.; PATARROYO, A.; CARDOSO, S. A. Presença de lectinas em plantas e suas funções biológicas. Anais **SIMPAC**, v.5, n.1, p.177-312, 2015.

THAKUR, S. S.; GEIGER, T.; CHATTERJEE, B.; BANDILLA, P.; FROHLICH, F.; COX, J.; MANN, M. Deep and highly sensitive proteome coverage by LC/MS-MS without pre-fractionation. **Molecular & Cellular Proteomics**, v.10, n.8, p.M110-003699, 2011.

VANDERSCHUREN, H.; EZEQUIEL, L.; ZAINUDDIN, I.; GRUISSEM, W. Proteomics of model and crop plant species: Status, current limitations and strategic advances for crop improvement. **Journal of Proteomics**, v.93, p.5-19, 2013.

WANG, W.; SCALI, M.; VIGNANI, R.; SPADAFORA, A.; SENSI, E.; MAZZUCA, S.; CRESTI, M. Protein extraction for two-dimensional electrophoresis from olive leaf, a plant tissue containing high levels of interfering compounds. **Electrophoresis**, v.24, n.14, p. 2369-2375, 2003.

ZHANG, G.; LIU, X.; QUAN, Z.; CHENG, S.; XU, X.; PAN, S. Genome sequencing of foxtail millet (*Setaria italica*) provides insights into grass evolution and biofuel potential. **Nature Biotechnology**, v.30, n.6, p.539-545, 2012.

6 CONCLUSÃO

A avaliação de 50 genótipos de feijão-caupi, por meio de um teste germinativo, seguido por análises fisiológicas e bioquímicas naqueles genótipos mais contrastantes com relação ao grau de sensibilidade ao estresse salino, permitiu a seleção de dois genótipos com menor e maior sensibilidade ao referido estresse: Sempre Verde Salgueiro e Mosqueado 383, respectivamente. Posteriormente, a realização de análises proteômicas a partir desses genótipos, durante o estresse salino, possibilitou a identificação de 251 proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos 0 mM (controle) e 100 mM de NaCl, e entre os genótipos avaliados, sendo possível inferir sobre a participação de algumas dessas proteínas em vias metabólicas que possam estar relacionadas com os mecanismos de tolerância ao estresse salino em feijão-caupi.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. E. B. D. **Análise fisiológica, bioquímica e proteômica de respostas ao estresse salino em plantas de feijão de corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2012. 153p.
- AKIBODE, S.; MAREDIA, M. **Global and regional trends in production, trade and consumption of food legume crops**. Michigan: State University - Department of Agricultural, Food and Resource Economics, 2011. 87p.
- ALBUQUERQUE, J. A. A.; OLIVA, L. S. C.; ALVES, A. J. M.; UCHÔA, S. C. P.; MELO, D. A. Cultivation of cassava and cowpea in intercropping systems held in Roraima's savannah, Brazil. **Revista Ciência Agronômica**, v.46, n.2, p.388-395, 2015.
- AMARAL, D. O. J.; LIMA, M. M. A.; RESENDE, L. V.; SILVA, M. V. Differential gene expression in tomato induced by salicylic acid and *Fusarium oxysporum* F. sp. Lycopersici. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.8, p.1017-1023, 2008.
- ANDRADE, E. M. A irrigação e suas implicações sobre o capital natural em regiões áridas e semi-áridas: uma revisão. **Ceres**, v.56, n.4, p.22, 2015.
- ARAÚJO, G. G. L. Os impactos das mudanças climáticas sobre os recursos hídricos e a produção animal em regiões semiáridas (Impacts of climate change on water resources and animal production in semi-arid regions). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.8, p.598-609, 2015.
- ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA/EMBRAPA, 1988. 722p.
- ASKARI, H.; EDQVIST, J.; HAJHEIDARI, M.; KAFI, M.; SALEHKDEH, G. H. Effect of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptica* leaves. **Proteomics**, v.6, p.2546–2554, 2006.
- BADIANE, F. A.; DIOUF, M.; DIOUF, D. Cowpea. In: SINGH, M.; BISHT, I. S.; DUTTA, M. **Broadening the genetic base of grain legumes**. India: Springer India, 2014. p.95-114.
- BARBOSA, E. B.; VIDOTTO, A.; POLACHINI, G. M.; HENRIQUE, T.; MARQUI, A. B. T. D.; TAJARA, E. H. Proteomics: methodologies and applications to the study of human diseases. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.58, n.3, p.366-375, 2012.
- BOUKAR, O.; FATOKUN, C. A.; ROBERTS, P. A.; ABBERTON, M.; HUYNH, B. L.; CLOSE, T. J.; KYEI-BOAHEN, S.; HIGGINS, T. J.; EHLERS, J. D. Cowpea. In: BOUKAR, O.; FATOKUN, C. A.; ROBERTS, P. A.; ABBERTON, M.; HUYNH, B. L.; CLOSE, T. J.; KYEI-BOAHEN, S.; HIGGINS, T. J.; EHLERS, J. D. **Grain legumes**. New York: Springer New York, 2015. p.219-250.
- BUENO-SILVA, M. Genética molecular e sistemática animal: um breve histórico, contribuições e desafios. **Estudos de Biologia**, v.34, n.83, p.157-163, 2012.
- CAMPBELL, L.; EUSTON, S. R.; AHMED, M. A. Effect of addition of thermally modified cowpea protein on sensory acceptability and textural properties of wheat bread and sponge cake. **Food Chemistry**, v.194, p.1230-1237, 2016.

CAMPOS, J. M. **Alterações hepatoesplênicas associadas à infecção por *Schistosoma mansoni* no modelo murino**. Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto, 2012. 113p.

CASTRO, F. C.; SANTOS, A. M. Suscetibilidade ambiental a salinização das terras em municípios da microrregião de Petrolina – Pernambuco - Brasil. **Caminhos de Geografia**, v.16, n.56, p.160-172, 2015.

COELHO, B.; BARROS, M. F. C.; BEZERRA NETO, E.; CORREA, M. M. Comportamento hídrico e crescimento do feijão vigna cultivado em solos salinizados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.4, p.379-385, 2013.

COELHO, J. B. M. **Potencial osmótico, solutos orgânicos e comportamento hídrico do feijão *Vigna* cultivado em solos salinizados**. 2012. 73p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

COSTA, M. E.; MORAIS, F. A.; SOUZA, W. C. M.; GURGEL, M. T.; OLIVEIRA, F. H. T. Estratégias de irrigação com água salina na mamoneira. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.1, p. 34-43, 2013.

CRUZ, F. S. M. C.; CARVALHO, G. Métodos e estratégias em proteômica e suas aplicações na área vegetal. **Ciência Rural**, v.40, n.3, p.727-734, 2010.

DANTAS, J. P.; FERREIRA, M. M. M.; MARINHO, F. J. L.; NUNES, M. S. A., QUEIROZ, M. F.; SANTOS, P. T. A. Efeito do estresse salino sobre a germinação e produção de sementes de caupi. **Agropecuária Técnica**, v.24, n.2, p.119-130, 2003.

DANTAS, J. P.; MARINHO, F. J. L.; FERREIRA, M. M. M.; AMORIM, S.N.; ANDRADE, S. I. O.; SALES, A. L. Avaliação de genótipos de caupi sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.3, p.425-430, 2002.

FAGERIA, N. K.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético das culturas e seleção de cultivares. In: GEHYI, H. R.; QUEIROZ, J. E.; MEDEIROS, J. F. (Eds.). **Manejo e controle da salinidade na agricultura irrigada**. Campina Grande: UFPB, 1997. 383p.

FALOYE, O. T.; ALATISE, M. O. Effect of varying water applications on evapotranspiration and yield of cowpea under sprinkler irrigation system. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v.8, n.3, p.307, 2015.

FAOSTAT, F. **Agriculture organization of the united nations (2013)**. FAO. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/S>>. Acesso em: 12 Jan. 2016.

FONSECA, J. G. **Caracterização do proteoma da parede celular de folhas e entrenós jovens e maduros de cana-de-açúcar**. 2014. 103p. Dissertação (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2014.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. D.; SILVA, K. J.; NOGUEIRA, M. S.; RODRIGUES, E. V. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84p.

- FREITAS, A. D. S.; SILVA, A. F.; SAMPAIO, E. V. D. S. B. Yield and biological nitrogen fixation of cowpea varieties in the semi-arid region of Brazil. **Biomass and Bioenergy**, v.45, p. 109-114, 2012.
- FREITAS, V. S.; MARQUES, E. C.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Crescimento e acúmulo de íons em plantas de cajueiro anão precoce em diferentes tempos de exposição à salinidade. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34 (Supl. 1), p.3341-3352, 2013.
- FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-Lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. **Journal of Food Science**, v.73, n.9, p.235-240, 2008.
- FURTADO, G. F.; SOUSA JUNIOR, J. R.; XAVIER, D. A.; ANDRADE, E. M. G.; SOUSA, J. R. M. Componentes de produção do feijão *Vigna* sob estresse salino e doses de nitrogênio. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.8, n.5, p.130-136, 2014.
- GAMES, P. D.; FONTES, P. P.; CARRIJO, L. C.; JÚNIOR, M. J.; PEREIRA, P. R. G.; BARACAT-PEREIRA, M. C. Plantas de pimentão submetidas à injúria mecânica modificam a expressão de proteínas em plantas vizinhas não injuriadas. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v.3, n.1, p.30-39, 2013.
- GARZÓN, P.; GARCÍA, M. Efecto del estrés por NaCl sobre La anatomia radical y foliar em dos genótipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Bioagro**, v.23, n.3, p.153-160, 2011.
- GONÇALVES, M. C; MARTINS, J. C.; RAMOS, T. B. A salinização do solo em Portugal: Causas, extensão e soluções. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, n.4, p.574-86, 2015.
- GULCICEK, E. E.; COLANGELO, C. M.; MCMURRAY, W.; STONE, K.; WILLIAMS, K.; WU, T.; ZHAO, H.; SPRATT, H.; KUROSUKY, A.; WU, B. Proteomics and the analysis of proteomic data: an overview of current protein-profiling technologies. **Current Protocols in Bioinformatics**, v.13, n.1, p.1-40, 2005.
- HARTER, L. S.; HARTER, F. S.; DEUNER, C.; MENEGHELLO, G. E.; VILLELA, F. A. Effect of salinity on physiological performance of mogango seeds and seedlings. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.1, p.80-85, 2014.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola 2014**. Disponível em: <[http://www.ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Comentarios/lspa_201407comentarios.pdf](http://www.ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Comentarios/lspa_201407comentarios.pdf)>. Acesso em: 25 Out. 2015.
- JÚNIOR, R. Q. B.; MARTINS, G. R.; BARROSO, I. C.; MARINHO, R. C.; AGUIAR, T. D. A. F.; SILVA TEIXEIRA, M. F. Eletroforese bidimensional associada à espectrometria de massa como ferramenta proteômica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.7, n.2, p.100-112, 2013.
- KIGEL, J.; ROSENTAL, L.; FAIT, A. Seed physiology and germination of grain legumes. In: THARANATHAN, R. N.; MAHADEVAMMA, S. **Grain legumes**. New York: Springer New York, 2015. p.327-363.

KOSOVÁ, K.; VÍTÁMVÁS, P.; PRÁŠIL, I. T.; RENAUT, J. Plant proteome changes under abiotic stress - contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Journal of Proteomics**, v.74, p.1301 - 1322, 2011.

LEMES, E. Q.; LOPES, J. C. Qualidade fisiológica de *Cupania vernalis* cambess sob diferentes níveis de salinidade. **Revista Trópical: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.6, n.3, p.144-153, 2013.

LIMA, C. J. G. S.; OLIVEIRA, F. A.; MEDEIROS, J. F.; OLIVEIRA, M. K. T.; ALMEIDA JÚNIOR, A. B. Resposta do feijão caupi a salinidade da água de irrigação. **Revista Verde**, v.2, n. 2, p.79-86, 2007.

LIVRAMENTO, K. G. D. **Proteômica diferencial de café arábica submetido a diferentes processamentos e secagem**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2014. 80p.

MACHADO, J. L. **Divergência genética e caracterização da anatomia foliar de acessos do banco de germoplasma de café de Minas Gerais**. 2014. 103p. Dissertação (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

MEENA, H. K.; KRISHNA, K. R.; SINGH, B. Genetic variability, heritability and genetic advance in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **The Journal of Plant Science Research**, v.31, n.1, p. 13, 2015.

MELO, R. A. **Caracterização morfo-agronômica e molecular, processamento mínimo e utilização de raio-X em sementes de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]**. 2010. 103p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2010.

MINDEN, J. S. DIGE: past and future. In: MINDEN, J. S. **Difference gel electrophoresis (DIGE)**. New Jersey: Humana Press, 2012. p. 3-8.

NEVES, A. L. R.; LACERDA, C. F.; GUIMARÃES, F. V. A.; HERNANDEZ, F. F. F.; SILVA, F. B.; PRISCO, J. T.; GHEJI, H. R. Acumulação de biomassa e extração de nutrientes por plantas de feijão-de-corda irrigadas com água salina em diferentes estágios de desenvolvimentos. **Ciência Rural**, v.39, n.3, 2009.

NIE, P.; WU, D.; YANG, Y.; HE, Y. Fast determination of boiling time of yardlong bean using visible and near infrared spectroscopy and chemometrics. **Journal of Food Engineering**, v.109, n. 1, p.155-161, 2012.

OLIVEIRA, F. D. A.; MEDEIROS, J. F.; ALVES, R. D. C.; LIMA, L. A.; SANTOS, S. T.; LÚCIA, R. D. L. Produção de feijão-caupi em função da salinidade e regulador de crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.19, n.11, p.1049-1056, 2015(a).

OLIVEIRA, S. R. M.; ANDRADE JÚNIOR, A. S.; RIBEIRO, V. Q.; BRITO, R. R.; CARVALHO, M. W. Interaction between levels of water and plant density on growth and yield of cowpea in Teresina, PI. **Irriga**, v.20, n.3, p.502-513, 2015(b).

- PANG, Q.; CHEN, S.; DAI, S.; CHEN, Y.; WANG, Y.; YAN, X. Comparative proteomics of salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila*. **Journal of Proteome Research**, v. 9, p.2584-2599, 2010.
- PATTERSON, S. D.; AEBERSOLD, R. H. Proteomics: the first decade and beyond. **Nature Genetics**, v.33, p.311-323, 2003.
- PEDROTTI, A.; CHAGAS, R. M.; RAMOS, V. C.; NASCIMENTO PRATA, A. P.; LUCAS, A. A. T.; SANTOS, P. B. Causas e consequências do processo de salinização dos solos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.19, n.2, p.1308-1324, 2015.
- PINTO, J. R. A. D. S. **Análise estrutural das proteínas da seda da teia da aranha *Nephila clavipes* por uma abordagem proteômica**. São Paulo: Universidade Estadual de São Paulo, 2014. 287p.
- POMASTOWSKI, P.; BUSZEWSKI, B. Two-dimensional gel electrophoresis in the light of new developments. **Trac Trends in Analytical Chemistry**, v.53, p.167-177, 2014.
- RAMPITSCH, C.; SRINAVASAN, M. The application of proteomics to plant biology: a review. **Canadian Journal of Botany**, v.84, p.883-892, 2006.
- RANGEL, P. H. N.; OLIVEIRA, J. P.; COSTA, J. G. C.; FERREIRA, M. E.; ABREU, A. G. **Banco ativo de germoplasma de arroz e feijão: passado, presente e futuro**. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2013. 68p.
- RIBEIRO, G. S.; FERREIRA, A. F.; LYRA NEVES, C. M.; MERCÊS SOUSA, F. S.; OLIVEIRA, C.; ALVES, E. M.; SILVA SODRÉ, G.; CARVALHO, C. A. L. Aspects of the floral biology and pollen properties of *Vigna unguiculata* L. Walp (Fabaceae). **African Journal of Plant Science**, v. 7, n.5, p.149-154, 2013.
- ROEPSTORFF, P. Mass spectrometry based proteomics, background, status and future needs. **Protein Cell**, v.3, n.9, p.641-647, 2012.
- SÁ, F. P.; SÁ, C. O.; SÁ, J. L.; AMORIM, J. A. E.; MENEZES, T. S. A.; LÉDO, A. S. **Desenvolvimento inicial *in vitro* de gliricídia em diferentes níveis de salinidade**. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2014. 7p.
- SABO, E.; BASHIR, R. M.; GIDADO, A. S.; SANI, R. M.; ADENIJI, O. T. Investigation on production constraints and adoption of inorganic insecticides and spraying regime in management of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) insects in mubi zone, Nigeria. **Journal of Agricultural Extension and Rural Development**, v.6, n.1, p.11-20, 2014.
- SALEKDEH, G. H.; KOMATSU, S. Crop proteomics: aim at sustainable agriculture of tomorrow. **Proteomics**, v.7, n.16, p.2976-2996, 2007.
- SCHOSSLER, T. R.; MACHADO, D. M.; ZUFFO, A. M.; ANDRADE, F. R.; PIAULINO, A. C.; PIAUÍ, B. J. B. Salinidade: efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, p.1563-1578, 2012.

SILVA, G. G. D. **Desenvolvimento do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) colorido BRS Rubi sob estresse salino em função da adubação orgânica.** Catolé do Rocha: Universidade Estadual da Paraíba, 2015. 47p.

SILVA, L. D. A.; BRITO, M. E.; SÁ, F. V. D. S.; MOREIRA, R. C.; SOARES FILHO, W. D. S.; FERNANDES, P. D.; MIRANDA, R. D. S.; MESQUITA, R. O.; FREITAS, N. S.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Mecanismos fisiológicos em híbridos de citros sob estresse salino em cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, Suplemento, p.1-7, 2014.

SINGH, B. B. Improved cowpea cultivation and seed production. In: SINGH, B. B. **Cowpea: The food legume of the 21st century.** Madison: Crop Science Society of America, 2014. p.87-123.

SOUSA, A. E. C.; LACERDA, C. F.; GHEYI, H. R.; SOARES, F. A. L.; UYEDA, C. A. Teores de nutrientes foliares e respostas fisiológicas em pinhão manso submetido a estresse salino e adubação fosfatada. **Revista Caatinga**, v.25, n.2, p.144-152, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology.** 5.ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc. Publishers, 2010. 180p.

TAKIM, F. O.; FADAYOMI, O.; EKELEME, F. Influence on cropping system and weed management practice on emergence, growth of weeds, yield of maize (*Zea mays* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L.). **Poljoprivreda**, v.20, n.1, p.10-15, 2014.

TIMKO, M. P.; EHLERS, J. D.; ROBERTS, P. A. **Cowpea.** Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2007. p.49-67.

TIMKO, M. P.; SINGH, B. B. Cowpea, a multifunctional legume. In: TIMKO, M. P.; SINGH, B. B. **Genomics of tropical crop plants.** New York: Springer New York, 2008. p.227-258.

WILK, R.; BARBOSA, L. **Rice and beans: a unique dish in a hundred places.** London: Berg, 2012. 282p.

YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. Salt stress tolerance of plants. **Jircas Working Report**, v.23, n.1, p.25-33, 2002.

ZAHA, A.; FERREIRA, H. B.; PASSAGLIA, L. M. **Biologia molecular básica.** 5.ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2014. 577p.

ZANANDREA, I.; LIMA NASSI, F.; TURCHETTO, A. C.; BOLACEL BRAGA, E. J.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. **Current Agricultural Science and Technology**, v.12, n.2, p.157-161, 2014.

ANEXO A - INSTRUÇÕES PAP



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Revisão mais recente: 12 de dezembro de 2012

A revista **Pesquisa Agropecuária Pernambucana - PAP** é editada pelo Instituto Agronômico de Pernambuco - IPA nos formatos eletrônico e impresso e destina-se à divulgação de trabalhos técnico-científicos originais e inéditos, notas científicas e artigos de revisão (a convite), elaborados em português, inglês e espanhol, oriundos de pesquisas de interesse agropecuário e da extensão rural.

Política Editorial

Os trabalhos enviados à PAP não podem ser publicados ou submetidos à publicação em outra revista simultaneamente. O conteúdo dos artigos e os conceitos apresentados nesta revista são de exclusiva responsabilidade dos respectivos autores. A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação para utilização por parte da PAP ou do IPA.

Os trabalhos submetidos à publicação são avaliados inicialmente pelos editores que observarão se os manuscritos se enquadram no escopo da revista e apresentam mérito para publicação. Trabalhos que não atendam às “instruções aos Autores” serão devolvidos para nova submissão. Após esta fase inicial, o trabalho é encaminhado para no mínimo dois revisores especialistas.

O parecer final é encaminhado aos autores, com as indicações de correções e, sendo o caso, a necessidade de submissão de nova versão. Os autores devem apresentar juntamente com a nova versão do trabalho as justificativas, caso discordem das correções, e as respostas a possíveis indagações dos editores e revisores. Uma vez aceito, o trabalho é encaminhado para revisão gramatical e diagramação, o texto é submetido a correções finais pelos autores e pelo comitê editorial.

Os manuscritos estão sujeitos a alterações no texto e nas figuras para que sejam legíveis e claros e para que os documentos estejam em conformidade com o estilo da revista. Os autores receberão as provas dos artigos aceitos e serão bem-vindos a discutir as mudanças sugeridas. Entretanto a PAP se reserva o direito de tomar a decisão final sobre questões de estilo e do tamanho das figuras.

Por fim os editores se reservam o direito de rejeitar um artigo, mesmo depois de aceito, se ficar evidente que há problemas graves com o conteúdo científico ou com violação das políticas de publicação.

Ahead of Print

A revista PAP trabalha no sistema *Ahead of Print*, onde os artigos são publicados on-line antes da publicação impressa, beneficiando os autores com uma data de publicação anterior e permitindo aos nossos leitores o acesso a artigos aceitos antes da versão impressa. Os trabalhos publicados on-line são

definitivos e recebem o identificador de objetos digitais, DOI, que pode ser usado para referenciar o artigo antes da publicação do número completo.

Tipos de Contribuições

Os textos enviados para a PAP deverão apresentar características que permitam enquadrá-los em uma das seguintes seções:

- *Artigos Originais*: Trabalhos oriundos de pesquisas originais.
- *Artigos de Revisão*: análises críticas sobre temas atuais. Estas são publicadas a convite do editor.
- *Notas Científicas*: breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito e de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico.

Preparo dos Originais

A submissão dos manuscritos será exclusivamente pelo portal da revista no endereço <http://www.ipa.br/pap>, sendo preenchido apenas pelo autor correspondente que se responsabilizará pelo artigo em nome dos demais autores.

Os artigos oriundos de pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.

O manuscrito deve ser apresentado em editor de texto compatível com o formato *.doc (Word)*, em folha A4, margens de 2,5 cm, páginas e linhas numeradas, espaçamento duplo e fonte Times New Roman em tamanho 12. As principais divisões do texto [Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências] devem estar em maiúsculo e negrito. Notas científicas não apresentam as divisões mencionadas. Para artigos e revisões o tamanho máximo é de 20 páginas e para as notas científicas até 10 páginas, incluindo tabelas e figuras.

O artigo deve ser submetido ao editor pelo sistema online incluindo:

1. Folha de rosto em arquivo *Word* contendo:
 - a. Título sintético e preciso, com até 15 palavras, refletindo o conteúdo do trabalho e não deve ter subtítulo, abreviações, fórmulas ou símbolos.

- b. Nome completo do autor e dos coautores separados por vírgula, e somente a primeira letra do nome e dos sobrenomes deve ser maiúscula. Estes devem estar na ordem em que aparecerão no trabalho final e contendo numeração única ao final do último sobrenome referenciando a filiação institucional de cada um dos autores.
- c. A filiação institucional de cada autor deve estar numerada de acordo com o item anterior e deve conter o nome do laboratório ou do departamento, nome da instituição, cidade, estado e país.
- d. Bolsistas de órgãos de fomento devem indicar o tipo de bolsa e a instituição como filiação.
- e. Endereço completo do autor, incluindo endereço para correspondência, e-mail, telefone e fax.
- . Manuscrito em arquivo *Word* como especificado acima, contendo:
- a. Título igual ao apresentado na folha de rosto, e título em inglês com tradução fiel do título no idioma do artigo.
- b. Resumo com no máximo 250 palavras para artigos e revisões e 150 palavras para notas científicas, resumo no idioma do artigo e *abstract* em inglês com tradução fiel do resumo.
- c. Palavras-chave no idioma do artigo e *key words* em inglês, mínimo de 3 e máximo de 6 palavras chaves, separadas por vírgula e não incluindo palavras do título.
- d. As citações devem ser apresentadas conforme norma da ABNT usando o sistema autor-data. Quando houver mais de três autores, deve ser citado o primeiro seguido da expressão "et al.". Citações com menos de três linhas devem estar contidas entre aspas duplas, e citações com mais de três linhas devem ser destacadas com recuo no texto. Não são aceitas citações de dados não publicados, comunicação pessoal, resumo e publicações no prelo.
- e. As referências bibliográficas devem seguir o padrão ABNT sem modificações; sendo apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores. Quando houver mais de três autores, apresentar o primeiro nome, seguido da expressão "et al.". Exemplos ao final destas instruções.
- f. Não deverá existir no texto palavras em negrito.
- g. As grandezas devem ser expressas no Sistema Internacional (SI) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais.
- . Tabelas e figuras:
- a. As figuras, na forma de gráficos, devem ser apresentadas em *Excel (.xls)* ou *Word (.doc)*.
- b. As figuras, como fotografias, imagens, desenhos devem ser escaneadas com resolução de 300 dpi em formato *TIFF* e

enviadas separadamente pelo portal da revista indicando no nome do arquivo o sobrenome do autor e número da figura (ex: sobrenome_figura1.tiff).

- c. As figuras devem ser enviadas pelos autores nos tamanhos 9, 12 ou 18 cm de largura, não devendo apresentar bordas e as curvas dos gráficos com espessura de 0,5 pt.
- d. As tabelas devem ser apresentadas em *Word*, em páginas separadas, somente com linhas horizontais, seguindo o padrão de fonte e tamanho do texto.
- e. Tabelas e gráficos coloridos devem ser evitados, e considerados como último recurso pelos autores

Exemplos de referências bibliográficas:

- **Livros**
KONHNKE, H. *Soil physics*. 2nd ed. New York: MacGraw Hill, 1969. 224 p.
- **Capítulos de Livros**
WARWICK, D. R. N.; LEAL, E. C. Doenças do coqueiro. In: FERREIRA, J. M. S.; FONTES, H. R. (Eds.). **Produção integrada de coco: identificação de pragas, doenças e desordens nutricionais e fisiológicas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 71-80.
- **Artigos de periódicos**
COSTA, A. F.; MIRANDA, P.; ARAÚJO, A. D. *Blainvillea rhomboidea* Cass., planta nativa hospedeira de *Bemisia tabaci*, no Agreste de Pernambuco, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v. 3, n. 2, p. 209-213, 1979.
- **Teses e dissertações**
BLANCO, F. F. **Tolerância do pepino enxertado à salinidade em ambiente protegido e controle da salinização do solo**. 1999. 104 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.
- **Eventos**
RIZZARDI, M. A. Conceituações e terminologias sobre rotação de culturas e adubação verde. In: REUNIÃO CENTRO-SUL DE ADUBAÇÃO VERDE E ROTAÇÃO DE CULTURAS, 4., 1993, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1994. p. 28-33.
- **Fontes eletrônicas**
HOLMGREN, P. K.; HOLMGREN, N. H. **Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff**. Botanical Garden, 1998. Disponível em: <<http://www.sciweb.nybg.org/science2/IndexHerbariorum.asp>>. Acesso em: 25 jul. 2011.



ANEXO B - INSTRUÇÕES RCA

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Atenção: As normas da Revista Ciência Agronômica podem sofrer alterações, portanto não deixe de consultá-las antes de fazer a submissão de um artigo. Elas são válidas para todos os trabalhos submetidos neste periódico. Um modelo de artigo pode ser visto em “MODELO ARTIGO” no endereço <http://www.ccarevista.ufc.br>.

1. Política Editorial

A Revista Ciência Agronômica destina-se à publicação de **artigos científicos, artigos técnicos e notas científicas que sejam originais e que não foram publicados (as) ou submetidos (as) a outro periódico, inerentes às áreas de Ciências Agrárias e Recursos Naturais**. Os artigos poderão ser submetidos na Revista Ciência Agronômica nos idiomas português ou inglês. Para artigos submetidos em inglês, os autores deverão providenciar uma versão com qualidade (**tradução feita por um nativo ou empresa especializada**). **Todos os artigos serão publicados em inglês**. O texto em inglês, dos artigos aceitos para publicação, serão submetidos à correção e custeado pelos autores. O texto em português, dos artigos aceitos para publicação, serão traduzidos para o inglês e custeado pelos autores, e o comprovante enviado para a sede da RCA no ato da submissão através da nossa página no campo “Transferir Documentos Suplementares”.

Os trabalhos submetidos à RCA serão **avaliados preliminarmente pelo Comitê Editorial** e só então serão enviados para pelo menos dois (2) revisores da área e publicados, somente, se aprovados por eles e pelo Comitê Editorial. A publicação dos artigos será baseada na originalidade, qualidade e mérito científico, **cabendo ao Comitê Editorial a decisão final do aceite**. O sigilo de identidade dos autores e revisores será mantido durante todo o processo. A administração da revista tomará o cuidado para que os revisores de cada artigo sejam, obrigatoriamente, de instituições distintas daquela de origem dos autores. **O artigo que apresentar mais de cinco autores não terá a sua submissão aceita pela Revista Ciência Agronômica, salvo algumas condições especiais (ver Autores)**. Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores *a posteriori*.

2. Custo de publicação

O custo é de **R\$ 45,00 (quarenta e cinco reais) por página editorada** no formato final. No ato da submissão é **requerido um depósito de R\$ 100,00 (cem reais) não reembolsáveis**. Se o trabalho for rejeitado na avaliação prévia do Comitê Editorial, a taxa paga não poderá ser reutilizada para outras submissões dos autores. O comprovante de depósito ou transferência deve ser enviado ao e-mail da RCA (ccarev@ufc.br). No caso do trabalho conter impressão colorida deverá ser pago um **adicional de R\$ 80,00 (oitenta reais) por página**. Os depósitos ou transferências deverão ser efetuados em nome de:

CETREDE CIENCIA AGRONOMIC

Banco do Brasil: Agência bancária: 3653-6 - Conta corrente: 46.375-2

As opiniões emitidas nos trabalhos são de exclusiva responsabilidade de seus autores. A Revista Ciência Agronômica reserva-se o direito de adaptar os originais visando manter a uniformidade da publicação. A RCA não mais fornece separatas ou exemplares aos autores. A distribuição na forma impressa da RCA é de responsabilidade da Biblioteca de Ciência e Tecnologia da Universidade Federal do Ceará sendo realizada por meio de permuta com bibliotecas brasileiras e do exterior. Na submissão online é requerido:

1. A concordância com a declaração de responsabilidade de direitos autorais;

2. Que o autor que fizer a submissão do trabalho **cadastre todos os autores no sistema**;
3. Identificação do autor de correspondência com endereço completo.

3. Formatação do Artigo

DIGITAÇÃO: no máximo 20 páginas digitadas em espaço duplo (exceto Tabelas), fonte Times New Roman, normal, tamanho 12, recuo do parágrafo por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. As linhas devem ser numeradas de forma contínua.

ESTRUTURA: o trabalho deverá obedecer à seguinte ordem: título, título em inglês, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências.

TÍTULO: deve ser escrito com apenas a inicial maiúscula, em negrito e centralizado na página com no **máximo 15 palavras**. Como chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a **natureza do trabalho** (se extraído de tese/dissertação, se pesquisa financiada,...) e referências às instituições colaboradoras. Os subtítulos: Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências devem ser escritos em caixa alta, em negrito e centralizados.

AUTORES: na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé deverão ser omitidos. Somente na versão final o artigo deverá conter o nome de todos os autores com identificação em nota de rodapé, inclusive a do título. Os nomes completos (sem abreviaturas) deverão vir abaixo do título, somente com a primeira letra maiúscula, um após outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, deve-se indicar, de cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, estado e país), endereço eletrônico e endereço completo do autor correspondente. O autor de correspondência deve ser identificado por um "*". **Só serão aceitos artigos com mais de cinco autores, quando, comprovadamente, a pesquisa tenha sido desenvolvida em regiões distintas (diferentes).**

RESUMO e ABSTRACT: devem começar com estas palavras, na margem esquerda, em caixa alta e em negrito, contendo no máximo **250 palavras**.

PALAVRAS-CHAVE e KEY WORDS: devem conter entre três e cinco termos para indexação. Os termos usados não devem constar no título. Cada **palavra-chave e key word** deve iniciar com letra maiúscula e ser seguida de ponto.

INTRODUÇÃO: deve ser compacta e objetiva contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa. As citações presentes na introdução devem ser empregadas para fundamentar a discussão dos resultados, criando, assim, uma contextualização entre o estudo da arte e a discussão dos resultados. Não deve conter mais de **550 palavras**.

CITAÇÃO DE AUTORES NO TEXTO: a NBR 10520/2002 estabelece as condições exigidas para a apresentação de citações em documentos técnico-científicos e acadêmicos. Nas citações, quando o sobrenome do autor, a instituição responsável ou título estiver incluído na sentença, este se apresenta em letras maiúsculas/minúsculas, e quando estiverem entre parênteses, em letras maiúsculas.

Ex: Santos (2002) ou (SANTOS, 2002); com dois autores ou três autores, usar Pereira e Freitas (2002) ou (PEREIRA; FREITAS, 2002) e Cruz, Perota e Mendes (2000) ou (CRUZ;

PEROTA; MENDES, 2000); com mais de três autores, usar Xavier *et al.* (1997) ou (XAVIER *et al.*, 1997).

VÁRIOS AUTORES CITADOS SIMULTANEAMENTE: havendo citações indiretas de diversos documentos de vários autores mencionados simultaneamente e que expressam a mesma idéia, separam-se os autores por ponto e vírgula, **em ordem alfabética**, independente do ano de publicação.

Ex: (FONSECA, 2007; PAIVA, 2005; SILVA, 2006).

SIGLAS: quando aparecem pela primeira vez no texto, deve-se colocar o nome por extenso, seguido da sigla entre parênteses.

Ex: De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) [...].

TABELAS: devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Usar espaço simples. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho.

FIGURAS: gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura** sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte superior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. As figuras devem apresentar 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A fonte Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. A Revista Ciência Agronômica reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com o papel na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após a sua primeira citação.**

Obs.: As figuras devem ser também enviadas em arquivos separados e com RESOLUÇÃO de no mínimo 500 dpi através do campo “Transferir Documentos Suplementares”.

EQUAÇÕES: devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. O padrão de tamanho deverá ser:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

ESTATÍSTICA:

1. Caso tenha realizado análise de variância, apresentar o "F" e a sua significância;
2. Dados quantitativos devem ser tratados pela técnica de análise de regressão;
3. Apresentar a significância dos parâmetros da equação de regressão;
4. Dependendo do estudo (ex: função de produção), analisar os sinais associados aos parâmetros.
5. É requerido, no mínimo, quatro pontos para se efetuar o ajuste das equações de regressão.
6. Os coeficientes do modelo de regressão devem apresentar o seguinte formato:

$$y = a + bx + cx^2 + \dots;$$
7. O Grau de Liberdade do resíduo deve ser superior a 12.

CONCLUSÕES: quando escritas em mais de um parágrafo devem ser numeradas.

AGRADECIMENTOS: logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos direcionados a pessoas ou instituições, em estilo sóbrio e claro, indicando as razões pelas quais os faz.

REFERÊNCIAS: são elaboradas conforme a ABNT NBR 6023/2002. Inicia-se com a palavra REFERÊNCIAS (escrita em caixa alta, em negrito e centralizada). Devem ser digitadas em fonte tamanho 12, espaço duplo e justificadas. **UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS. Não são contabilizadas neste percentual de 60% referências de livros, teses, anais,...** Com relação aos periódicos, é dispensada a informação do local de publicação, porém os títulos não devem ser abreviados. Recomenda-se um total de 20 a 30 referências.

Alguns exemplos:

- **Livro**

NEWMANN, A. L.; SNAPP, R. R. **Beef cattle**. 7. ed. New York: John Willey, 1977. 883 p.

- **Capítulo de livro**

MALAVOLTA, E.; DANTAS, J. P. Nutrição e adubação do milho. *In*: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargil, 1987. cap. 13, p. 539-593.

- **Monografia/Dissertação/Tese**

EDVAN, R. L. **Ação do óleo essencial de alecrim pimenta na germinação do matapasto**. 2006. 18 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

SILVA, M. N. da. **População de plantas e adubação de nitrogenada em algodoeiro herbáceo irrigado**. 2001. 52 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

- **Artigo de revista**

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M.; BOTREL, M. A. Resposta de *Cratylia argentea* à aplicação em um solo ácido. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 1, p. 14-18, 1997.

ANDRADE, E. M. *et al.* Mapa de vulnerabilidade da bacia do Acaraú, Ceará, à qualidade das águas de irrigação, pelo emprego do GIS. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 3, p. 280-287, 2006.

- **Resumo de trabalho de congresso**

SOUZA, F. X.; MEDEIROS FILHO, S.; FREITAS, J. B. S. Germinação de sementes de cajazeira (*Spondias mombin* L.) com pré-embebição em água e hipoclorito de sódio. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 11., 1999, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Foz do Iguaçu: ABRATES, 1999. p. 158.

- **Trabalho publicado em anais de congresso**

BRAYNER, A. R. A.; MEDEIROS, C. B. Incorporação do tempo em SGBD orientado a objetos. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BANCO DE DADOS, 9., 1994, São Paulo. **Anais...** São Paulo: USP, 1994. p. 16-29.

- Trabalho de congresso em formatos eletrônicos

SILVA, R. N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. *In*: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife: UFPe, 1996. Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais/educ/ce04.htm>>. Acesso em: 21 jan. 1997.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. *In*: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.

UNIDADES e SÍMBOLOS: As unidades e símbolos do Sistema Internacional adotados pela Revista Ciência Agronômica.

Grandezas básicas	Unidades	Símbolos	Exemplos
Comprimento	metro	m	
Massa	quilograma	kg	
Tempo	segundo	s	
Corrente elétrica	amper	A	
Temperatura termodinâmica	Kelvin	K	
Quantidade de substância	mol	mol	
Unidades derivadas			
Velocidade	---	$m s^{-1}$	$343 m s^{-1}$
Aceleração	---	$m s^{-2}$	$9,8 m s^{-2}$
Volume	metro cúbico, litro	m^3 , L*	$1 m^3$, 1 000 L*
Frequência	Hertz	Hz	10 Hz
Massa específica	---	$kg m^{-3}$	$1.000 kg m^{-3}$
Força	newton	N	15 N
Pressão	pascal	Pa	$1,013 \cdot 10^5 Pa$
Energia	joule	J	4 J
Potência	watt	W	500 W
Calor específico	---	$J (kg \text{ } ^\circ C)^{-1}$	$4186 J (kg \text{ } ^\circ C)^{-1}$
Calor latente	---	$J kg^{-1}$	$2,26 \cdot 10^6 J kg^{-1}$
Carga elétrica	coulomb	C	1 C
Potencial elétrico	volt	V	25 V
Resistência elétrica	ohm	Ω	29Ω
Intensidade de energia	Watts/metros quadrado	$W m^{-2}$	$1.372 W m^{-2}$
Concentração	mol/metro cúbico	$mol m^{-3}$	$500 mol m^{-3}$
Condutância elétrica	siemens	S	300 S
Condutividade elétrica	desiemens/metro	$dS m^{-1}$	$5 dS m^{-1}$
Temperatura	grau Celsius	$^\circ C$	$25 \text{ } ^\circ C$
Ângulo	grau	$^\circ$	30°

Percentagem --- % 45%

Números mencionados em seqüência devem ser separados por ponto e vírgula (;). Ex: 2,5; 4,8; 25,3.

4. Lista de verificação - Revista Ciência Agronômica

Visando a maior agilidade no processo de submissão de seu artigo, o Comitê Editorial da Revista Ciência Agronômica, elaborou uma lista de verificação para que o autor possa conferir toda a formatação do manuscrito de sua autoria, **ANTES** de submetê-lo para publicação. A lista foi elaborada de acordo com as normas da Revista Ciência Agronômica. Respostas **NEGATIVAS** significam que seu artigo ainda deve ser adaptado às normas da revista e a submissão de tais artigos implicará na sua devolução e retardo na tramitação.

Respostas **POSITIVAS** significam que seu artigo está em concordância com as normas, implicando em maior rapidez na tramitação.

A. Referente ao trabalho

1. O trabalho é original?
2. O trabalho representa uma contribuição científica para a área de Ciências Agrárias?
3. O trabalho está sendo enviado com exclusividade para a Revista Ciência Agronômica?

B. Referente à formatação

4. O trabalho pronto para ser submetido online está omitindo os nomes dos autores na versão Word?
5. O trabalho contém no máximo 20 páginas, está no formato A4, digitado em espaço duplo, incluindo as referências; fonte Times New Roman tamanho 12, incluindo títulos e subtítulos?
6. As margens foram colocadas a 2,5 cm, a numeração de páginas foi colocada na margem superior, à direita e as linhas foram numeradas de forma contínua?
7. O recuo do parágrafo de 1 cm foi definido na formatação do parágrafo? Lembre-se que a revista não aceita recuo de parágrafo usando a tecla "TAB" ou a "barra de espaço".
8. A estrutura do trabalho está de acordo com as normas, ou seja, segue a seguinte ordem: título, título em inglês, autores, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências?
9. O título contém no máximo 15 palavras?
10. O resumo e o abstract apresentam no máximo 250 palavras?
11. As palavras-chave (key words) contém entre três e cinco termos, iniciam com letra maiúscula e são seguidas de ponto?
12. A introdução contém citações atuais que apresentam relação com o assunto abordado na pesquisa e apresenta no máximo 550 palavras?
13. As citações apresentadas na introdução foram empregadas para fundamentar a discussão dos resultados?
14. As citações estão de acordo com as normas da revista?
15. As tabelas e figuras estão formatadas de acordo com as normas da revista e estão inseridas logo em seguida à sua primeira citação? Lembre-se, não é permitido usar "enter" nas células que compõem a(s) tabela(s).
16. As tabelas estão no formato retrato?
17. As figuras apresentam boa qualidade visual?
18. As unidades e símbolos utilizados no seu trabalho se encontram dentro das normas do Sistema Internacional adotado pela Revista Ciência Agronômica?
19. Os números estão separados por ponto e vírgula? As unidades estão separadas do número por um espaço? Lembre-se, não existe espaço entre o número e o símbolo de %.

20. O seu trabalho apresenta entre 20 e 30 referências sendo 60% destas publicadas com menos de 10 anos em periódicos indexados?
21. Todas as referências estão citadas ao longo do texto?
22. Todas as referências citadas ao longo do texto estão corretamente descritas, conforme as normas da revista, e aparecem listadas?

C. Observações:

1. Lembre-se que **SE** as normas da revista não forem seguidas rigorosamente, seu trabalho não irá tramitar. Portanto, é melhor retardar o envio por mais alguns dias e conferir todas as normas. A consulta de um trabalho já publicado na sua área pode lhe ajudar a sanar algumas dúvidas e pode servir como um modelo (acesse aos periódicos no site <http://www.ccarevista.ufc.br/busca>).
2. Caso suas respostas sejam todas **AFIRMATIVAS** seu trabalho será enviado com maior segurança. Caso tenha ainda respostas **NEGATIVAS**, seu trabalho irá retornar retardando o processo de tramitação.
Lembre-se: A partir da segunda devolução, por irregularidade normativa, principalmente em se tratando das referências, o mesmo terá a submissão cancelada e **não haverá devolução da taxa de submissão**. Portanto é muito importante que os autores verifiquem cuidadosamente as normas requeridas pela Revista Ciência Agronômica.
3. Procure **SEMPRE** acompanhar a situação de seu trabalho pela página da revista (<http://ccarevista.ufc.br>) no sistema online de gerenciamento de artigos.
4. Esta lista de verificação não substitui a revisão técnica da revista, a qual todos os artigos enviados serão submetidos.

ANEXO C - INSTRUÇÕES PAB

Diretrizes para Autores

Escopo e política editorial

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas e Revisões a convite do Editor.

Análise dos artigos

A Comissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos (não terem dados – tabelas e figuras – publicadas parcial ou integralmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica, como boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas etc.) e não podem ter sido encaminhados simultaneamente a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

- São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.
- Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.
- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

Informações necessárias na submissão on-line de trabalhos

No passo 1 da submissão (Início), em "comentários ao editor", informar a relevância e o aspecto inédito do trabalho.

No passo 2 da submissão (Transferência do manuscrito), carregar o trabalho completo em arquivo Microsoft Word.

No passo 3 da submissão (Inclusão de metadados), em "resumo da biografia" de cada autor, informar o link do sistema de currículos lattes (ex.: <http://lattes.cnpq.br/0577680271652459>). Clicar em "incluir autor" para inserir todos os coautores do trabalho, na ordem de autoria.

Ainda no passo 3, copiar e colar o título, resumo e termos para indexação (key words) do trabalho nos respectivos campos do sistema.

No passo 4 da submissão (Transferência de documentos suplementares), carregar, no sistema on-line da revista PAB, um arquivo Word com todas as cartas (mensagens) de concordância dos coautores coladas conforme as explicações abaixo:

- Colar um e-mail no arquivo word de cada coautor de concordância com o seguinte conteúdo:

"Eu, ..., concordo com o conteúdo do trabalho intitulado "....." e com a submissão para a publicação na revista PAB.

Como fazer:

Peça ao coautor que lhe envie um e-mail de concordância, encaminhe-o para o seu próprio e-mail (assim gerará os dados da mensagem original: assunto, data, de e para), marque todo o email e copie e depois cole no arquivo word. Assim, teremos todas as cartas de concordâncias dos co-autores num mesmo arquivo.

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

Título

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.
- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como "efeito" ou "influência".
- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.
- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.
- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção "e", "y" ou "and", no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.
- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.
- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que compoñham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no [AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus](#) ou no [Índice de Assuntos da base SciELO](#).

Introdução

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

Resultados e Discussão

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com "Ao, Aos, À ou Às" (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

- A palavra *Referências* deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

- Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

- Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

- Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

- Teses

HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste**: relatório do ano de 2003. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: . Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

- Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Redação das citações dentro de parênteses
- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.
- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.
- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.
- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.
- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.
- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão "citado por" e da citação da obra consultada.
- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.
- Redação das citações fora de parênteses
- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.
- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

Tabelas

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.

- Devem ser auto-explicativas.
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.
- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.
- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.
- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.
- Notas de rodapé das tabelas
- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- Devem ser auto-explicativas.
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.
- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

Notas Científicas

- Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

Apresentação de Notas Científicas

- A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras.

- As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:

- Resumo com 100 palavras, no máximo.

- Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.

- Deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

Outras informações

- Não há cobrança de taxa de publicação.

- Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.

- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.

- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.

- Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231, via e-mail: sct.pab@embrapa.br ou pelos correios:

Embrapa Informação Tecnológica Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB

Caixa Postal 040315 CEP 70770 901 Brasília, DF

Condições para Submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. O manuscrito deve ser inédito e não pode ter sido submetido, simultaneamente, a outro periódico, e seus dados (tabelas e figuras) não podem ter sido publicados parcial ou totalmente em outros meios de publicação técnicos ou científicos (boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas, etc.).

2. O texto deve ser submetido no formato do Microsoft Word, em espaço duplo, escrito na fonte Times New Roman 12, tamanho de papel A4, com páginas e linhas numeradas; e o arquivo não deve ultrapassar o tamanho de 20 MB.
3. O artigo deve ter, no máximo, 20 páginas e tem que estar organizado na seguinte ordem: Título; nome completo dos autores, seguido de endereço institucional e eletrônico; Resumo; Termos para indexação; Title, Abstract; Index terms; Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusões; Agradecimentos; Referências; tabelas e figuras.
4. Os padrões de texto e de referências bibliográficas devem ser apresentados de acordo com as orientações, para a apresentação de manuscritos, estabelecidas nas Diretrizes aos autores, as quais se encontram na página web da revista PAB.
5. Mensagens de concordância dos coautores com o conteúdo do manuscrito e sua submissão à revista devem ser compiladas pelo autor correspondente em um arquivo do Microsoft Word e carregadas no sistema como um documento suplementar, no quarto passo do processo de submissão.
6. Diante do grande número de trabalhos recebidos para publicação (média de 110 por mês), solicitamos sua concordância com os seguintes procedimentos adotados pela revista PAB:

Os trabalhos são analisados pela Comissão Editorial, antes de serem submetidos à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se os seguintes aspectos, entre outros: escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista; formulação do objetivo de forma clara; clareza da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura; resultados com contribuição significativa; qualidade das tabelas e figuras; e, finalmente, originalidade e consistência das conclusões.

Após a aplicação desses critérios, caso o número de trabalhos aprovados ultrapasse a capacidade de publicação mensal, é aplicado o critério da **relevância relativa**. Segundo esse critério, os trabalhos com contribuição mais significativa para o avanço do conhecimento científico são aprovados. Esse critério é aplicado apenas aos trabalhos que atendam aos requisitos de qualidade, mas que, por excederem a capacidade de publicação mensal da revista, não podem ser todos aprovados. Por esse mesmo motivo, informamos que não aceitamos pedido de reconsideração.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Embrapa Informação Tecnológica

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (final) Caixa Postal 040315 -
Brasília, DF - Brasil - 70770-901

Fone: +55 (61) 3448-4231 / 3448-4162 - Fax: (61) 3272-4168