



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

VITOR ARAUJO TARGINO

**ASPECTOS DE CRESCIMENTO, FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE
CAPUCHINHA SUBMETIDO À DOSES DE PROLINA COMO ATENUANTE DA
SALINIDADE**

AREIA

2024

VITOR ARAUJO TARGINO

**ASPECTOS DE CRESCIMENTO, FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE
CAPUCHINHA SUBMETIDO À DOSES DE PROLINA COMO ATENUANTE DA
SALINIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Agronomia Tropical. Linha de Pesquisa: Ciência e Tecnologia da Produção de Culturas.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Jardelino Dias
Coorientadora: Dra. Valéria Fernandes O. Sousa

**AREIA
2024**

Ficha catalográfica

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPB - Biblioteca Setorial do CCA-AREIA

T185a Targino, Vitor Araujo.

Aspectos de crescimento, fisiológicos e bioquímicos de capuchinha submetido à doses de prolina como atenuante da salinidade / Vitor Araujo Targino. -

Areia: UFPB/CCA, 2024.

66 f. : il.

Orientação: Thiago Jardelino Dias.

Valéria Fernandes de Oliveira Sousa.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Agronomia. 2. *Tropaeolum majus* L. 3. Estresse abióticos. 4. Osmoprotetores. I. Dias, Thiago Jardelino. II. Sousa, Valéria Fernandes de Oliveira. III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(043.3)

VITOR ARAUJO TARGINO

**ASPECTOS DE CRESCIMENTO, FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE
CAPUCHINHA SUBMETIDO À DOSES DE PROLINA COMO ATENUANTE DA
SALINIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Agronomia Tropical. Linha de Pesquisa: Ciência e Tecnologia da Produção de Culturas.

Aprovado em: 27 de fevereiro de 2024

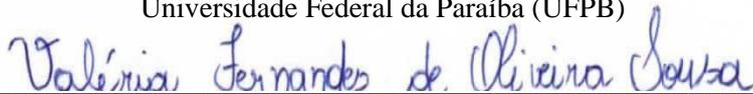
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Thiago Jardelino Dias – PPGA – UFPB
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Prof. Dr. Mailson Monteiro do Rego – PPGA – UFPB
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Dra. Valéria Fernandes de Oliveira Sousa – UFCG
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)



Prof. Dr. Diego Silva Batista – PPGA – UFPB
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Prof. Dr. João Everthon da Silva Ribeiro – UFERSA
Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA)

Presidente da Comissão Examinadora
Thiago Jardelino Dias - Orientador

À Deus e a minha mãe, Railda Araújo, que muito
acreditou nas minhas realizações.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Muitas foram as pessoas que passaram pela minha vida e contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho e, mesmo sabendo que é praticamente impossível, eu gostaria muito de não os esquecer nos meus agradecimentos. Assim sendo, começo agradecendo a todos. Obrigado!

Ao meu Deus, motivo de meus esforços e minha maior inspiração de vida, agradeço-te pelo dom da vida e pela determinação que me deste para enfrentar as adversidades que cruzam a minha jornada. Também te agradeço por me permitires crescer intelectualmente, desenvolvendo com prazer e amor o meu trabalho, e por me fortalecer perante as dificuldades da jornada do mestrado.

Dedico este trabalho e minha vida aos meus pais, Railda Araujo e Mauro Targino, pelo constante incentivo e apoio em tudo que necessito. Agradeço pelo amor e educação que sempre me dedicaram. Sem a presença de vocês, não estaria aqui escrevendo estas poucas palavras. Também expresso minha gratidão à minha irmã Vitória Targino por acompanhar-me nessa longa jornada que é a vida.

Aos meus padrinhos, Nego, Aparecida Targino, por dividirem comigo muitas aventuras, buscando meu crescimento humano e profissional.

Ao meu orientador, Thiago Jardelino Dias, por acreditar e confiar no meu trabalho, por me incentivar a buscar novos caminhos para a minha formação profissional e, principalmente, por ser meu maior exemplo de docente/pesquisador, a quem eu busco sempre me espelhar. A minha orientadora Valéria Fernandes por todo apoio e paciência.

Aos membros da banca, Diego Silva Batista e João Everthon da Silva Ribeiro, por todas as sugestões para melhorar este trabalho e por todo o ensinamento que me foi proporcionado.

A todos os docentes, estudantes e servidores do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, pelo companheirismo durante os anos em que estudei nessa instituição, em especial, aos que fazem parte do Setor de Solos do CCA/UFPB.

A minha namorada Mariana Melo, por todo companheirismo e cumplicidade. Por todos os seus esforços para me ajudar, pelos momentos de alegria e diversão, por me ajudar a superar os momentos de dificuldades, por sempre acreditar no meu potencial e me incentivar a crescer cada vez mais como pessoa e profissional.

Aos amigos Adjair José, Mariana, Júlio César, Tejó, Adailton Bernardo, Ramon Freire, Adriano Lopes, Márcia Paloma, João Henrique, Marlene Pereira e Danielle Batista, pelos

momentos de descontração na Estufa do Setor de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal do CCA/UFPB e por sempre estarem comigo nas análises e instalações dos experimentos.

Aos amigos que fiz nesta cidade e sempre estiveram comigo, Zélia Melo, Jhonatas, Juca, Bianca Marina, Guilherme Ramos, Craúna, Caboré, Luzia e Dona Zefinha, por serem tão especiais na minha vida, pelo carinho dedicado e por compartilharem momentos importantes durante nossos anos de amizades.

Agradeço aos amigos de Alagoa Nova, representados pela família Cirino: Seu Deco, Dona Lurdes, Daniel do gás, Fernanda Cirino, Linaldo, Neném, Fabiana, Luciana Santos, seu João, Gilberto e Jeane Melo, e aos meus sogros Ana Maria e Gilvan Melo por compartilharam comigo momentos importantes de descobrimentos, angústias e alegrias.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida através do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - PPGA, pelo projeto intitulado: “Ecofisiologia de capuchinha (*Tropaeolum majus* L.) submetido à doses de prolina como atenuante da salinidade”.

“Mesmo entre os espinhos afiados dos cactos, sempre brota uma bela flor. Assim, mesmo com todas as dificuldades, a seca e o calor da caatinga, nasceu e floresceu essa Dissertação”.

Mônica Peixoto

RESUMO

TARGINO, V. A., M.Sc., Universidade Federal da Paraíba, fevereiro de 2024. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos de capuchinha submetido à doses de prolina como atenuante da salinidade.** Orientador: Thiago Jardelino Dias. Coorientadora: Valéria Fernandes de Oliveira Sousa.

A salinidade é um dos grandes entraves na agricultura em regiões semiáridas, pois afeta os processos fisiológicos, crescimento e produção de diversas culturas. Assim, o uso de atenuadores do estresse salino é de extrema importância, pois permite o uso de águas salinas para fins agrícolas. Dentre estes, destacam-se a prolina, que pode ser uma alternativa para mitigar os danos causados por esse estresse. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de prolina como um agente atenuante dos efeitos prejudiciais do estresse salino no crescimento, trocas gasosas e metabolismo da capuchinha. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 (condutividades elétricas – CEa: 0,0; 1,50; 3,00; 4,5; 6,5 dS m⁻¹) x 4 (concentrações de prolina – Pro: 0,0; 5,00; 10,0; 15,00 mM), com seis repetições. No artigo I foram avaliados o crescimento, trocas gasosas, índice de clorofilas e fluorescência da clorofila *a*. No artigo II, o acúmulo de massa fresca e seca das folhas, caule e raiz, número e peso de flores, compostos fenólicos, vitamina C, açúcares redutores e solúveis. A aplicação de prolina foi benéfica as plantas de capuchinha, aumentando o número de folhas, diâmetro do caule, comprimento da raiz, acúmulo de biomassa, peso e número de flores, compostos fenólicos totais, teores de açúcares redutores e solúveis. Também promoveu um aumento na atividade de vitamina C em plantas submetidas a estresse salino severo 4,75 dS m⁻¹. A concentração de 15,0 mM de prolina associada à salinidade moderada da água de irrigação 3,0 dS m⁻¹ estimula as trocas gasosas, resultando em maior fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática de *T. majus*.

Palavras-chave: *Tropaeolum majus* L.; estresse abióticos; osmoprotetores.

ABSTRACT

TARGINO, V. A., M.Sc., Universidade Federal da Paraíba, February, 2024. **Physiological and biochemical aspects of nasturtium subjected to proline doses as a salinity mitigator.** Supervisor: Thiago Jardelino Dias. Co-adviser: Valéria Fernandes de Oliveira Sousa.

Salinity is one of the major obstacles in agriculture in semi-arid regions, as it affects the physiological processes, growth, and production of various crops. Therefore, the use of salinity stress alleviators is extremely important, as it allows for the use of saline water for agricultural purposes. Among these, proline stands out as an alternative to mitigate the damage caused by this stress. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of proline application as a mitigating agent for the detrimental effects of salt stress on the growth, gas exchange, and metabolism of nasturtium. The experimental design used was completely randomized in a 5 (electrical conductivities - ECe: 0.0; 1.50; 3.00; 4.5; 6.5 dS m⁻¹) x 4 (proline concentrations - Pro: 0.0; 5.00; 10.0; 15.00 mM) factorial scheme, with six replications. In article I, growth, gas exchange, chlorophyll index, and chlorophyll *a* fluorescence were evaluated. In article II, the accumulation of fresh and dry mass of leaves, stem and root, number and weight of flowers, phenolic compounds, vitamin C, reducing and soluble sugars were evaluated. The application of proline was beneficial to nasturtium plants, increasing the number of leaves, stem diameter, root length, biomass accumulation, weight and number of flowers, total phenolic compounds, levels of reducing and soluble sugars. It also promoted an increase in the activity of vitamin C in plants subjected to severe salt stress at 4.75 dS m⁻¹. The concentration of 15.0 mM proline associated with moderate salinity from irrigation water at 3.0 dS m⁻¹ stimulates gas exchange, resulting in higher net photosynthesis, transpiration and stomatal conductance of *T. majus*.

Keywords: *Tropaeolum majus* L.; abiotic stress; osmoprotectants.

LISTA DE FIGURAS

Artigo I:

- Figura 1.** Dados de temperatura e umidade relativa do ar na estufa durante o período experimental.....42
- Figura 2.** Parâmetros de crescimento de plantas de capuchinha cv. Anã sortida submetido a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e doses de prolina. Altura de planta (a); diâmetro de caule (b); número de folhas (c) sob aplicação de prolina. Diâmetro (d); número de folhas (e) e comprimento da raiz sob estresse salino.....47
- Figura 3.** Trocas gasosas de plantas de capuchinha cv. Anã sortida submetido a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e doses de prolina. (a) Fotossíntese líquida (A); (b) transpiração (E); e (c) condutância estomática (g_s). Os asteriscos indicam diferenças significativas pelo teste F a 0,05 (*) ou 0,01 (**) de probabilidade. Ns: não significativo.....49
- Figura 4.** Trocas gasosas de plantas de capuchinha cv. Anã sortida submetido a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e doses de prolina. (a) Eficiência da carboxilação instantânea (ECD); (b) eficiência no uso da água (EUA); e (c) eficiência intrínseca no uso da água ($EiUA$). Os asteriscos indicam diferenças significativas pelo teste F a 0,05 (*) ou 0,01 (**) de probabilidade. Ns: não significativo.....50
- Figura 5.** Fluorescência inicial sob estresse salino (F_0 ; a); fluorescência máxima (F_M ; b); relação dos processos fotoquímicos e não fotoquímicos (F_V/F_M ; c), e extravasamento de eletrólitos (EE ; d) de *Tropaeolum majus* sob estresse salino e aplicação de prolina. Os

asteriscos indicam diferenças significativas pelo teste F a 0,05 (*) ou 0,01 (**) de probabilidade. Ns: não significativo.....51

Artigo II:

Figura 1. Dados de temperatura e umidade relativa do ar na estufa durante o período experimental.....65

Figura 2. Produção de biomassa em plantas de capuchinha cv. Anã sortida em resposta a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e doses de prolina. Massa fresca da folha (a); massa fresca do caule (b) e massa fresca da raiz (c). ^{ns}, *, ** não significativo, significativo a $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente.....70

Figura 3. Produção de biomassa em plantas de capuchinha cv. Anã sortida em resposta a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e doses de prolina. Massa seca da folha (a); massa seca do caule (b) e massa seca da raiz (c). ^{ns}, *, ** não significativo, significativo a $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente.....71

Figura 4. Número de flores (NF, a) e peso das flores (b) em plantas de capuchinha submetido a irrigação com águas salinizadas e doses de prolina. ^{ns}, *, ** não significativo, significativo a $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente.....72

Figura 5. Açúcares redutores (a), açúcares solúveis totais (b), compostos fenólicos (c) e vitamina c (d) em plantas de capuchinha submetido a irrigação com águas salinizadas e doses de prolina. ^{ns}, *, ** não significativo, significativo a $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente.....73

LISTA DE TABELAS

Artigo I:

Tabela 1. Caracterização química do substrato.....43

Artigo II:

Tabela 1. Caracterização química do substrato.....66

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Capuchinha (<i>Tropaeolum majus</i> L.).....	16
2.2 Prolina	17
REFERÊNCIAS	20
ARTIGO I.....	24
1 INTRODUÇÃO	27
2 METODOLOGIA	29
2.1 Local e delineamento experimental	29
2.2 Material vegetal	30
2.3 Variáveis analisadas	31
2.4 Crescimento de plantas	31
2.5 Trocas gasosas	31
2.6 Análise estatística	32
3 RESULTADOS.....	33
4 DISCUSSÃO	38
5 CONCLUSÕES	40
6 AGRADECIMENTOS.....	40
REFERÊNCIAS	41
ARTIGO II.....	45
1 INTRODUÇÃO	48
2 METODOLOGIA	50
2.1 Local e delineamento experimental	50
2.2 Material vegetal	51
2.3 Variáveis analisadas	52
2.4 Análise estatística	54
3 RESULTADOS.....	55
4 DISCUSSÃO	60
5 CONCLUSÕES	62
6 AGRADECIMENTOS.....	62
REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO GERAL

A capuchinha (*Tropaeolum majus* L. – Tropaeolaceae), também conhecida como chaguinha e nastúrcio no Brasil, é uma planta versátil com propriedades comestíveis, ornamentais e medicinais. Suas flores, que podem ser simples ou dobradas, crescem até 2-3 cm, enquanto a planta atinge cerca de 30-40 cm (Melo et al., 2018). As flores vibrantes da capuchinha em tons de vermelho, laranja e amarelo têm um sabor picante distintivo e são ideais para realçar saladas, molhos, pratos grelhados e outras preparações culinárias (Koike et al., 2015). Além disso, as flores da capuchinha são ricas em compostos bioativos, incluindo flavonoides como quercetina e isoquercitrina, ácidos graxos como oleico e linoleico, vitamina C e tiocianato de benzila (Bazylko et al., 2013).

Cultivada globalmente, a capuchinha enfrenta vários estresses abióticos que podem afetar seu crescimento e produção, incluindo temperaturas extremas, seca, salinidade, inundações, poluição e estresse oxidativo (Forni et al., 2017). As mudanças climáticas estão aumentando esses estresses em todo o mundo (Phour e Sindhu, 2020), o que representa uma ameaça significativa à segurança alimentar global, com possíveis perdas de até 50% na produtividade agrícola mundial (Kumar e Verma, 2018).

A salinidade do solo afeta cerca de 20% das áreas irrigadas globalmente, resultando em uma considerável diminuição na produção das culturas (Negrão et al., 2017; Phour e Sindhu, 2020). Esse desafio é mais comum em regiões áridas, semiáridas e costeiras, e é ampliado por práticas inadequadas de irrigação e drenagem, baixa precipitação, alta evaporação e uso de águas salinas (Ibrahim et al., 2016).

A elevada salinidade no solo resulta na acumulação de altas concentrações de Na^+ e Cl^- nas células vegetais, induzindo estresse oxidativo, impactando a integridade da bicamada lipídica e o metabolismo celular (Shahzad et al., 2017). A salinidade reduz a absorção de água e nutrientes, resultando em estresse osmótico, toxicidade iônica, desequilíbrios nutricionais, afetando negativamente a fotossíntese e causando danos às folhas (Hanin et al., 2016; Ilangumaran e Smith, 2017). O estresse salino também impacta o estresse biótico, diminuindo a diversidade microbiana e fertilidade do solo, intensificando a competição por recursos nutricionais (Phour e Sindhu, 2020).

O estresse salino diminui a produção de novas folhas e promove a ausência e queda delas, resultando em uma redução significativa da área foliar. Além disso, a menor concentração interna de CO_2 durante a seca é responsável pela redução na fotossíntese, seja inibindo a enzima

no local aceitador da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) ou por inibir diretamente enzimas fotossintéticas, como RuBisCO ou ATP sintase (Farooq et al., 2017).

Os osmoprotetores, também chamados de solutos compatíveis, são moléculas orgânicas pequenas que atuam como osmólitos, proporcionando aos organismos, como as plantas, maior capacidade de sobrevivência em situações de estresse osmótico, como o estresse salino. Eles desempenham um papel fundamental na manutenção do turgor celular, atuando como força motriz para a absorção de água e têm a capacidade de sequestrar radicais livres. Além disso, são altamente solúveis em pH fisiológico, possuem carga neutra e baixa toxicidade (Hossain et al., 2019). A prolina é amplamente estudada como um dos principais osmoprotetores nas plantas, desempenhando um papel crucial na sobrevivência das plantas em condições de estresse abiótico (Ghosh et al., 2022). A prolina atua como antioxidante e reguladora de sinais, desempenhando múltiplas funções vitais para a adaptabilidade das plantas ao estresse (Sharma et al., 2021).

A proteção osmótica aumenta significativamente o sistema de defesa antioxidante, auxiliando na homeostase iônica celular e aumentando a biossíntese e acumulação de diferentes osmoprotetores, como prolina, trealose e glicina betaína no citoplasma das plantas, para manter as funções celulares normais (Kusale et al., 2021). Diante desse contexto, o artigo I, tem como abjetivo avaliar o efeito da aplicação de prolina no crescimento e fisiologia da capuchinha. O artigo II, avaliar o efeito da Pro nos componentes de produção e biomassa de *Tropaeolum majus*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Capuchinha (*Tropaeolum majus* L.)

A capuchinha (*Tropaeolum majus* L.) é uma planta herbácea anual, pertencente à família Tropaeolaceae. É totalmente glabra e aromática quando amassada, apresentando ramos rasteiros ou escandentes retorcidos, com 70-140 cm de comprimento. Sua origem está nas regiões montanhosas do México e Peru. Suas folhas são simples, longas-pecioladas, de lâmina orbicular peltada, membranácea, com 5-7 nervuras principais partindo do ponto de inserção do pecíolo, e de cor mais clara na face inferior, medindo 5-9 cm de diâmetro. Suas flores são solitárias e longo-pedunculadas, podendo apresentar cores vermelhas, alaranjadas, brancas ou amarelas (Kinupp et al., 2014).

A intensificação das relações econômicas e culturais entre diferentes países e regiões tem levado a um aumento da consciência do consumidor em relação às práticas alimentares tradicionais, como o consumo de flores comestíveis. Esse fenômeno é impulsionado por fatores como a preocupação crescente com a saúde e o meio ambiente, juntamente com a curiosidade em experimentar novos sabores e ingredientes (Rop et al., 2012).

Ao longo dos séculos, as flores comestíveis desempenharam um papel essencial na nutrição humana. Inicialmente utilizadas como elementos decorativos em pratos servidos à nobreza, especialmente em eventos festivos e banquetes, essas flores também ganharam destaque como guarnições e ornamentos em diversas refeições e buffets frios. Suas pétalas são frequentemente empregadas para enfeitar saladas, sobremesas, sorvetes, bebidas, entre outros. Além de sua função estética, as flores comestíveis proporcionam sabores e aromas distintivos (Mlcek e Rop, 2011). As principais fontes de flores comestíveis são vegetais, frutas, plantas medicinais e ornamentais (Rop et al., 2012).

As folhas e flores da capuchinha têm sido utilizadas como recurso terapêutico para diversas condições, incluindo hipertensão, inflamação, infecções do trato urinário, feridas, distúrbios da vesícula biliar, propriedades afrodisíacas, e no tratamento de doenças crônicas, como a doença pulmonar obstrutiva, infecções nos rins e na bexiga, além de serem consideradas como potencial anticarcinogênico (Valsalam et al., 2019). Tanto as flores quanto as folhas são reconhecidas como uma fonte dietética valiosa de luteína, contribuindo para a redução do risco de degeneração macular. Além disso, apresentam propriedades diuréticas e anti-hipertensivas, com efeitos benéficos também no controle da diabetes (Jurca et al., 2018).

2.2 Prolina

A prolina é amplamente estudada como um dos principais osmoprotetores nas plantas, desempenhando um papel crucial na sobrevivência das plantas em condições de estresse abiótico (Ghosh et al., 2022). Além de sua função osmoprotetora, a prolina atua como antioxidante e reguladora de sinais, desempenhando múltiplas funções vitais para a adaptabilidade das plantas ao estresse (Sharma et al., 2021). Os mecanismos de sinalização que promovem a síntese de prolina em resposta ao estresse, especialmente salinidade, envolvem o ácido abscísico, espécies reativas de oxigênio, íons de cálcio e possivelmente outros mediadores hormonais desconhecidos (Parkash et al., 2020).

A aplicação externa de compostos de baixo peso molecular, como a prolina, pode reduzir os efeitos negativos do estresse salino nas plantas, permitindo que elas tolerem melhor esse tipo de estresse. Isso ocorre porque as moléculas ajudam a resgatar as plantas, promovendo uma regulação osmótica para aumentar sua tolerância (Noreen et al., 2019). Este aminoácido atua como um osmólito, quelante de metais e ligante, mantendo a estrutura das membranas, prevenindo a perda de eletrólitos e reduzindo o nível de espécies reativas de oxigênio, auxiliando as plantas a lidarem com o estresse (Shahid et al., 2022).

Os pesquisadores têm demonstrado grande interesse na investigação da prolina, especialmente em sua aplicação exógena sob estresses abióticos, revelando potencial para aprimorar os efeitos do estresse em várias culturas agrícolas (Ojewumi et al., 2022). Além disso, a prolina apresenta efeito protetor em relação a fosfolipídios, plasmalema, mitocôndrias e membranas plastídicas. Com base nas pesquisas realizadas com o uso de prolina nas plantas, percebe-se que sua aplicação pode ajudar a enfrentar o estresse salino (Khalid et al., 2022).

A prolina, um aminoácido de estrutura cíclica, se destaca por seu grupo amino secundário, sendo considerada um osmoprotetor eficaz e uma molécula sinalizadora importante no metabolismo primário. Diversas pesquisas destacam sua correlação positiva com a tolerância das plantas aos estresses abióticos, tornando-se um elemento crucial na resposta fisiológica das plantas ao estresse salino (Khalid et al., 2022). Além disso, devido à sua competência na formação de ligações de hidrogênio, a prolina contribui para a estabilidade das proteínas, a integridade da membrana celular, a proteção celular e o aumento da capacidade de absorção de água, bem como a ativação de enzimas (Khalid et al., 2022).

Esse osmoprotetor, além de atuar como osmólito e antioxidante potente, também exerce funções de quelante de metais, estabilizador de proteínas e inibidor da morte celular programada (Hosseinfard et al., 2022). O uso exógeno de prolina pode garantir a turgescência da célula em

condições estressantes, protegendo a planta e promovendo o aumento do crescimento e desenvolvimento, bem como a melhoria da fotossíntese, transpiração, condutância estomática e antioxidantes. No entanto, é importante controlar seu uso para evitar efeitos tóxicos (Khalid et al., 2022; Ilyas e Amjid, 2020).

A aplicação exógena de prolina promove o aumento da clorofila, conteúdo de água relativo, transpiração e condutância estomática em plantas, atenuando o estresse causado por altas concentrações de sais no solo (Khalid et al., 2022). Em *Capsicum annum*, a pulverização de 0,8 mM de prolina aumentou a tolerância ao sal nos genótipos testados, melhorando o crescimento, produção de frutos, relações hídricas e trocas gasosas das plantas sob estresse salino (Butt et al., 2016). Em dois genótipos de pimenta (*Capsicum annuum* L.), a aplicação exógena de 0,8 mM de prolina promoveu crescimento, atributos fisiológicos, iônicos e bioquímicos em ambos os genótipos testados, apesar das condições salinas (Butt et al., 2020). Portanto, a prolina estimula o crescimento, as características físico-químicas e anatômicas das plantas quando aplicada via foliar em culturas suscetíveis ao estresse salino, auxiliando no estímulo das propriedades fisiológicas das plantas.

Além disso, a aplicação exógena de prolina via foliar regula a expressão de vários genes associados a enzimas antioxidantes sob condições de estresse salino. Entre esses genes, a 1-pirrolina-5-carboxilato sintetase é responsável pela regulação positiva do acúmulo de prolina induzido pelo estresse salino (Kim et al., 2013). Estudos recentes destacam a relevância do uso de tratamentos exógenos de prolina para mitigar o estresse causado pela salinidade em plantações (Rady et al., 2019; Freitas et al., 2019; El Moukhtari et al., 2020; Hosseinifard et al., 2022; Orsini et al., 2018), pois favorecem a estrutura vegetal ao atenuar o estresse e aumentar a fixação de carbono e os teores de nitrogênio (Khalid et al., 2022).

As plantas possuem a capacidade de desenvolver tolerância ao estresse salino, adaptando seu metabolismo para proteger processos celulares vitais, como a fotossíntese e a respiração (Safdar et al., 2019). Isso envolve modificações nos metabolismos e estimula a síntese de compostos químicos em resposta ao estresse (Acosta-Motos et al., 2017).

A quantidade de prolina em condições adversas é regulada pelo controle da transcrição dos genes P5CS e ProDH, os quais são ajustados em resposta ao estresse abiótico. Além disso, o metabolismo da prolina é influenciado por diversas condições ambientais, como a luz (Alvarez et al., 2022). Este processo envolve enzimas que catalisam a síntese e o catabolismo da prolina, assim como uma via alternativa de síntese através da ornitina (Singh et al., 2017).

Os efeitos da aplicação de prolina no crescimento, fisiologia e metabolismo de *T. majus* ainda não foi esclarecido, entretanto, existem estudos preliminares com aclimatização da

capuchinha sob estresse salino com outros mitigadores (Silva et al., 2022), porém não sabe-se os efeitos com aplicação de prolina. Com isso, estudos sobre a aplicação de prolina como atenuante do estresse salino são de crucial importância.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MOTOS, J. R.; ORTUÑO, M. F.; BERNAL-VICENTE, A.; DIAZ-VIVANCOS, P.; SANCHEZ-BLANCO, M. J.; HERNANDEZ, J. A. Respostas das plantas ao estresse salino: mecanismos adaptativos. **Agronomia**, v. 7, p. 1-18, 2017. Doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy7010018>.
- ALVAREZ, M. E.; SAVOURÉ, A.; SZABADOS, L. Proline metabolism as regulatory hub. **Trends in Plant Science**, v.27, p. 39–55, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.07.009>.
- BAZYLKO, A.; GRANICA, S.; FILIPE K. A.; PIWOWARSKI, J.; STEFÁNSKA, J.; OSINSKA, E.; KISS, A. K. Comparison of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of *Tropaeolum majus* L. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 88–94, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.003>.
- BUTT, M.; SATTAR, A.; ABBAS, T.; SHER, A.; IJAZ, M.; UL-ALLAH, S. Foliage applied proline induces salt tolerance in chili genotypes by regulating photosynthetic attributes, ionic homeostasis, and antioxidant defense mechanisms. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 61, p. 693–702, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13580-020-00236-8>.
- BUTT, M.; AYYUB, C. M.; AMJAD, M.; AHMAD, R. Proline application enhances growth of chilli by improving physiological and biochemical attributes under salt stress. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53, 2016. Doi: <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/16.4623>.
- EL MOUKHTARI, A.; CABASSA-HOUTON, C.; FARISSI, M.; SAVOURÉ, A. How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development. **Frontiers in plant science**, v.11, p.1127. 2020. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01127>.
- FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BARROWA, B.; BHARADWAJ, N.; ALGHAMDI, S. S.; SIDDIQUE, K. H. M. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, p. 81–102, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1111/jac.12169>.
- FICHMAN, Y.; GERDES, S.Y.; KOVÁCS, H.; SZABADOS, L.; ZILERSTEIN, A.; CSONKA, L. N. Evolution of proline biosynthesis: enzymology, bioinformatics, genetics, and transcriptional regulation. **Biological Reviews**, v.90, p.1065–1099, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1111/brv.12146>.
- FORNI, C.; DUCA, D.; GLICK, B. R. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. **Plant and Soil**, v. 410, p. 335–356, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3007-x>.
- FREITAS, P. F. ; CARVALHO, H. H. ; COSTA, J. H. ; MIRANDA, R. D. S. ; SARAIVA, K. D. C. ; OLIVEIRA, F. B. Salt acclimation in sorghum plants by exogenous proline: physiological and biochemical changes and regulation of proline metabolism. **Plant cell reports**, v.38, p. 403–416, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02382-5>.

FURLAN, A. L.; BIANUCCI, E.; GIORDANO, W.; CASTRO, S.; BECKER, D. F. Proline metabolic dynamics and implications in drought tolerance of peanut plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 151, p. 566–578, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.04.010>.

GHOSH, K.; ISLAM, N.; SIDDIQUI, N.; CAO, X.; KHAN, R. Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. **Plant Biology**, v. 24, p. 227–239, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1111/plb.13363>.

HANIN, M.; EBEL, C.; NGOM, M.; LAPLAZE, L.; MASMOUDI, K. New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1787, 2016. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01787>.

HOSSAIN, M. A.; KUMAR, V.; BURRITTI, D. J.; FUJITA, M.; MAKELÃ, P. S. Osmoprotectant-mediated abiotic stress tolerance in plants. Proline Metabolism and Its Functions in Development and Stress Tolerance. **Springer**. p. 41–72, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-27423-8>.

HOSSEINIFARD, M.; STEFANIAK, S.; GHORBANI, J. M.; SOLTANI, E.; WOJTYLA, L.; GARNCZARRSKA, M. Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 51-86, 2022, Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23095186>.

IBRAHIM, E. A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. **Journal of Plant Physiology**, v.192, p. 38–46, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011>.

ILANGUMARAN, G.; SMITH, D. L. Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 17-68, 2017. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01768>.

ILAS, N.; AMJID, W.; SALEEM, M. A.; KHAN, W.; WATTOO, F. M.; RANA, R. M. Quantitative trait loci (QTL) mapping for physiological and biochemical attributes in a Pasban90/Frontana recombinant inbred lines (RILs) population of wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress condition. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, p. 341–351, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.10.003>.

JURCA, T.; BALDEA, I.; FILIP, G. A.; OLTEANU, D.; CLICHICI, S.; PALLAG, A.; PALLAG, A.; VICAS, L.; MARIAN, E.; MICLE, O.; MURESAN, M. The effect of *Tropaeolum majus* L. on bacterial infections and in vitro efficacy on apoptosis and DNA lesions in hyperosmotic stress. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, p. 391–401, 2018. <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.3.06>.

KHALID, M.; REHMAN, H. M.; AHMED, N.; NAWAZ, S.; SALEEM, F.; AHMAD, S.; UZAIR, M.; RANA, I. A.; ATIF, R. M.; Zaman, Q. U. Using Exogenous Melatonin, Glutathione, Proline, and Glycine Betaine Treatments to Combat Abiotic Stresses in Crops. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 129, 2022. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms232112913>.

- KIM, G. B.; NAM, Y.W. A novel 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene of *Medicago truncatula* plays a predominant role in stress-induced proline accumulation during symbiotic nitrogen fixation. **Journal of plant physiology**, v.170, p. 291–302, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.10.004>.
- KOIKE, A.; BARREIRA, J. C.; BARROS, L.; SANTOS-BUELGA, C.; VILLAVICENCIO, A. L.; FERREIRA, I. C. Irradiation as a novel approach to improve quality of *Tropaeolum majus* L. flowers: Benefits in phenolic profiles and antioxidant activity. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 30, p. 138–144, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.009>.
- KUMAR, A.; VERMA, J. P. Does plant-microbe interaction confer stress tolerance in plants: a review, **Microbiological Research**, v. 207, p. 41–52, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.004>.
- KUSALE, P.; ATTAR, C.; SAYYED, Z.; EL ENSHASY, H.; HANAPI, Z.; ILYAS, N.; ELGORBAN, M.; BAHKALI, H.; MARRAIKI, N. Inoculation of *Klebsiella variicola* alleviated salt stress and improved growth and nutrients in wheat and maize. **Agronomy**, v.11, p. 9927, 2021. Doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050927>.
- MELO, A. C.; COSTA, S. C. A.; CASTRO, A. F.; SOUZA, A. N. V.; SATO, S. W.; LÍVERO, F. A. R.; LOURENÇO, E. L. B.; BARETTA, I. P.; LOVATO, E. C. W. Hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* promotes anxiolytic effects on rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 589–593, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.006>.
- MLCEK, J.; ROP, O. Fresh edible flowers of ornamental plants—A new source of nutraceutical foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 561–569, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.006>.
- NEGRÃO, S.; SCHMOCKEL, S. M.; TESTER, M. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. **Annals of Botany**, v. 119, p. 1–11, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mcw191>.
- NOREEN, S.; FAIZ, S.; AKHTER, S.; SHAH, H. Influence of foliar application of osmoprotectants to ameliorate salt stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Sarhad J. Agric**, v.35, p.1316–1325, 2019. Doi: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2019/35.4.1316.1325>.
- OJEWUMI, A. W.; JUNAID, O. E.; FEYIBUNMI, G. O. Morpho-Physiological Assessment of Water Stress Ameliorative Potential of Some Osmoprotectants on Growth Performance and Chlorophyll Contents of Cayenne Pepper (*Capsicum annum*). **Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 7, p. 13–20, 2022. Doi: <https://doi.org/10.55518/fjpas.uord3136>.
- OESINI, F.; PENNISI, G.; MANCARELLA, S.; AL NAYET, M.; SANOUBAR, R.; NICOLA, S.; GIANQUINTO, G. Hydroponic lettuce yields are improved under salt stress by utilizing white plastic film and exogenous applications of proline. **Scientia Horticulturae**, v. 233, p. 283–293, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.019>.

PARKASH, V.; SINGH, S. A. Review on potential plant-based water stress indicators for vegetable crops. **Sustainability**, v. 12, p. 3945, 2020. Doi: <https://doi.org/10.3390/su12103945>.

PHOUR, M.; SINDHU, S. S. Amelioration of salinity stress and growth stimulation of mustard (*Brassica juncea* L.) by salt-tolerant *Pseudomonas* species. **Applied Soil Ecology**, v. 149, p. 103-518, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103518>.

RADY, M. M.; KUSVURAN, A.; ALHARBY, H. F.; ALZHRANI, Y.; KUSVURAN, S. Pretreatment with proline or an organic bio-stimulant induces salt tolerance in wheat plants by improving antioxidant redox state and enzymatic activities and reducing the oxidative stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.38, p. 449–462, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9860-5>.

ROP, O.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T.; NEUGEBAUEROVA, J.; VABKOVA, J. Edible flowers-a new promising source of mineral elements in human nutrition. **Molecules**, v. 17, p. 6672–6683, 2012. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules17066672>.

SAFDAR, H.; AMIN, A.; SHAFIQ, Y.; ALI, A.; YASIN, R.; SHOUKAT, A. A review: **Impact of salinity on plant growth**. *Nat. Sci*, v.17, p. 34–40, 2019. Doi: <https://doi.org/10.7537/marsnsj170119.06>.

SHAHID, S.; SHAHBAZ, M.; MAQSOOD, M.F.; FARHAT, F.; ZULFIQAR, U.; JAVED, T.; FRAZ Ali, M.; ALHOMRANI, M.; ALAMRI, A. S. Proline-Induced Modifications in Morpho-Physiological, Biochemical and Yield Attributes of Pea (*Pisum sativum* L.) Cultivars under Salt Stress, **Sustainability**, v. 14, p. 35-79, 2022. Doi: <https://doi.org/10.3390/su142013579>.

SHAHZAD, R.; KHAN, A. L.; BILAL, S.; WAGAS, M.; KANG, S. M.; LEE, I. J. Inoculation of abscisic acid-producing endophytic bacteria enhances salinity stress tolerance in *Oryza sativa*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 136, p. 68–77, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.010>.

SHARMA, A.; SHAHZAD, B.; KUMAR, V.; KOHLI, K.; SIDHU, S.; BALI, S.; ZHENG, B. Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. **Biomolecules**, v. 9, p. 285, 2019. Doi: <https://doi.org/10.3390/biom9070285>.

SINGH, A.; SHARMA, M. K.; SENGAR, R. S. Osmolytes: Proline metabolism in plants as sensors of abiotic stress. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 9, p. 2079–2092, 2017. Doi: <https://doi.org/10.31018/jans.v9i4.1492>.

VALSALAM, S.; AGASTIAN, P.; ARASU, M. V.; AL-DHABI, N. A.; GHILAN, A. K. M.; KAVIYARASU, K.; RAVIDRAN, B.; CHANG, S. W.; AROKIYARAJ, S. Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced in-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 191, p. 65–74, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.010>.

ARTIGO I

**CRESCIMENTO E TROCAS GASOSAS DE (*Tropaeolum majus* L.) SUBMETIDO À
CONCENTRAÇÕES DE PROLINA E SALINIDADE**

RESUMO

A salinidade representa um dos maiores desafios para a agricultura em regiões semiáridas, impactando os processos fisiológicos, o crescimento e a produção de diversas culturas. Assim, a utilização de água salina na produção agrícola vem se tornando uma realidade em várias regiões do mundo, tendo em vista a escassez de água, tanto na agricultura irrigada, como no abastecimento urbano e industrial. Diante desse contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos das aplicações de prolina como atenuante dos danos causados pelo estresse salino sobre o comportamento do crescimento e fisiológico. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 (condutividades elétricas – CEa: 0,0; 1,50; 3,00; 4,5; 6,5 dS m⁻¹) x 4 (concentrações de prolina – Pro: 0,0; 5,00; 10,0; 15,0 mM), com seis repetições. Foram avaliados o crescimento, trocas gasosas, índice de clorofilas e fluorescência da clorofila *a*. A aplicação de prolina foi benéfica em plantas de capuchinha, aumentando o número de folhas, diâmetro do caule e o comprimento da raiz. A dose de 15,0 mM associada à salinidade moderada da água de irrigação 3,0 dS m⁻¹ estimula as trocas gasosas, resultando em maior fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática de *T. majus*.

Palavras-chave: Capuchinha; estresse abióticos; osmoprotetores.

ABSTRACT

The salinity represents one of the greatest challenges for agriculture in semi-arid regions, impacting physiological processes, growth, and production of various crops. Thus, the use of saline water in agricultural production is becoming a reality in several regions of the world, given the water scarcity in both irrigated agriculture and urban/industrial supply. In this context, the study aimed to evaluate the effects of proline applications as a mitigator of damage caused by saline stress on growth and physiological behavior. The experimental design used was completely randomized in a factorial scheme 5 (electrical conductivities – ECw: 0.0; 1.50; 3.00; 4.5; 6.5 dS m⁻¹) x 4 (proline concentrations – Pro: 0.0; 5.00; 10.0; 15.0 mM), with six replications. Growth, gas exchange, chlorophyll index, and chlorophyll a fluorescence were evaluated. The application of proline was beneficial in nasturtium plants, increasing the number of leaves, stem diameter, and root length. The dose of 15.0 mM associated with moderate salinity of irrigation water at 3.0 dS m⁻¹ stimulates gas exchange, resulting in higher net photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance of *Tropaeolum majus*.

Keywords: Nasturtium; abiotic stress; osmoprotectants.

1 INTRODUÇÃO

A capuchinha (*Tropaeolum majus* L. – Tropaeolaceae), também conhecida como chaguinha e nastúrcio no Brasil, é uma planta versátil com propriedades comestíveis, ornamentais e medicinais. Suas flores, que podem ser simples ou dobradas, crescem até 2-3 cm, enquanto a planta atinge cerca de 30-40 cm (Melo et al., 2018). As flores vibrantes da capuchinha em tons de vermelho, laranja e amarelo têm um sabor picante distintivo e são ideais para realçar saladas, molhos, pratos grelhados e outras preparações culinárias (Koike et al., 2015). Além disso, as flores da capuchinha são ricas em compostos bioativos, incluindo flavonoides como quercetina e isoquercitrina, ácidos graxos como oleico e linoleico, vitamina C e tiocianato de benzila (Bazylo et al., 2013).

As folhas e flores da capuchinha têm sido utilizadas como recurso terapêutico para diversas condições, incluindo hipertensão, inflamação, infecções do trato urinário, feridas, distúrbios da vesícula biliar, propriedades afrodisíacas, e no tratamento de doenças crônicas, como a doença pulmonar obstrutiva, infecções nos rins e na bexiga, além de serem consideradas como potencial anticarcinogênico (Valsalam et al., 2019). Tanto as flores quanto as folhas são reconhecidas como uma fonte dietética valiosa de luteína, contribuindo para a redução do risco de degeneração macular. Além disso, apresentam propriedades diuréticas e anti-hipertensivas, com efeitos benéficos também no controle da diabetes (Jurca et al., 2018).

A salinidade compromete diversos processos metabólicos das plantas, afetando negativamente as trocas gasosas, a absorção e balanceamento nutricional e o equilíbrio osmótico, causando diminuição do crescimento (Alavi et al., 2020). Esses efeitos ocorrem devido à baixa disponibilidade hídrica causada pela redução do potencial osmótico, à alteração na atividade enzimática e ao estresse oxidativo causado pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e toxicidade iônica, principalmente Na^+ e Cl^- (Faghih et al., 2019; Silva et al., 2019).

A procura por produtos que possam reduzir e atenuar os efeitos do estresse salino sobre as plantas é crescente, dentre eles, destaca-se o uso de prolina. A prolina desempenha um papel importante como osmólito, atuando como quelante de metais e ativando o sistema antioxidante celular para lidar com condições estressantes, como escassez de água e nutrientes (Godoy et al., 2021). A aplicação exógena de prolina pode ajudar as plantas a se desenvolverem e melhorar sua atividade fotossintética e nutrição mineral, regulando o potencial osmótico do vegetal, reduzindo o efeito de íons tóxicos e estimulando o sistema de enzimas antioxidantes (Zouari, et al., 2019).

Considerando o atual cenário de mudanças climáticas e a redução da disponibilidade hídrica para a agricultura, torna-se crescente a necessidade do uso de águas salinas na irrigação. Assim, formulou-se a hipótese de que a aplicação de prolina reduza os efeitos do estresse salino na capuchinha. Diante desse contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de prolina no crescimento e trocas gasosas da *Tropaeolum majus*.

2 METODOLOGIA

2.1 Local e delineamento experimental

O experimento foi conduzido na área experimental do Setor de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal do Departamento de Biociências do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, Brasil, cujas coordenadas geográficas são 6°57',48" S e 35°41',30" O, com altitude de 618 m. De acordo com a classificação de Köppen, o clima local é do tipo 'As' com período de estiagem seco e quente e chuvas no inverno (Alvares et al., 2013). Durante o experimento (agosto a outubro de 2023), foram registradas as temperaturas mínimas e máximas diárias e a umidade relativa do ar utilizando um termo-higrômetro digital (AKSO® AK28new) instalado dentro da estufa, com valores médios de 28,2°C; 45,8°C; 20,4°C e 65,6% (temperatura média, temperatura máxima, temperatura mínima e umidade relativa do ar, respectivamente).

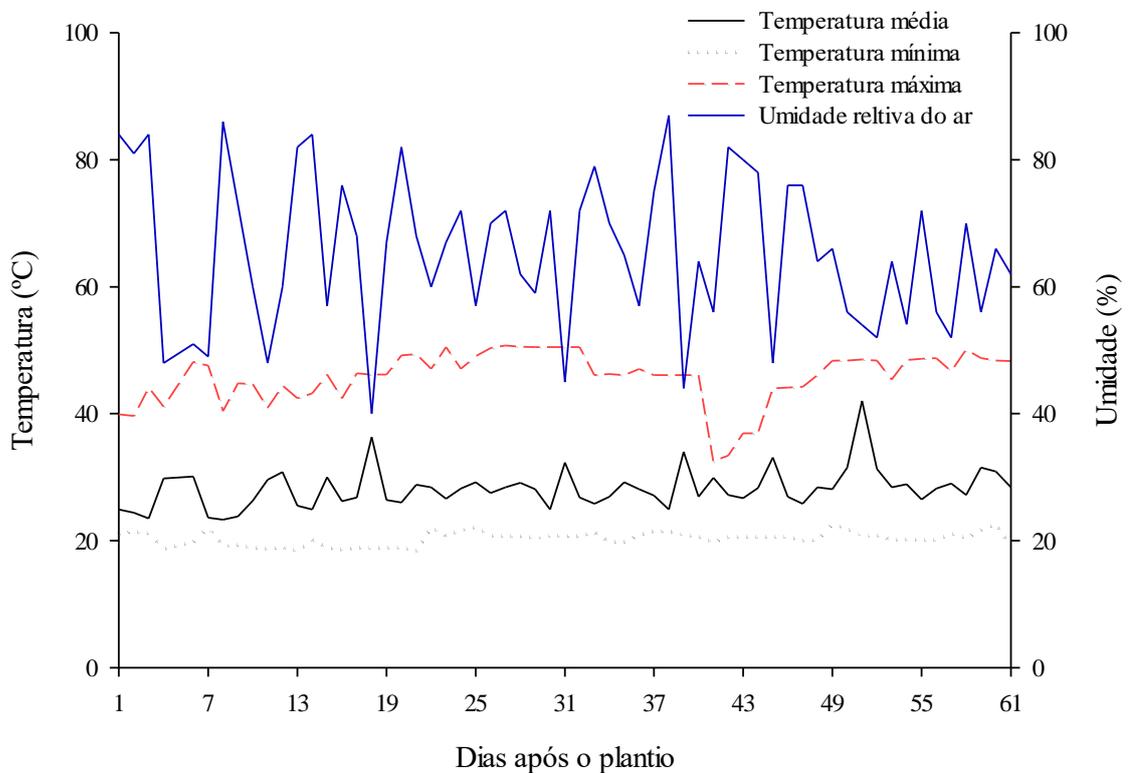


Figura 1. Dados de temperatura e umidade relativa do ar na estufa durante o período experimental.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 (condutividades elétricas – CEa: 0,0; 1,50; 3,00; 4,5; 6,5 dS m⁻¹) x 4 (concentrações de prolina – Pro: 0,0; 5,00; 10,0; 15,0 mM), com seis repetições.

2.2 Material vegetal

As mudas foram produzidas em vasos de polietileno com capacidade de 5,0 dm³. As sementes de capuchinha (*Tropaeolum majus*, cv. Anã sortida – Isla[®]) foram semeadas duas sementes por vaso, a uma profundidade de aproximadamente 2 cm. O desbaste foi realizado aos 10 dias após a semeadura (DAS), mantendo-se a planta mais vigorosa por vaso. O substrato utilizado foi o Mecplant[®] (Telêmaco Borba, Paraná, Brasil), que é composto por 60% de casca de pinus, 15% de vermiculita de grau fino, 15% de vermiculita superfina e 10% de húmus. A caracterização química do substrato utilizado está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização química do substrato:

pH (H ₂ O, 1:2,5)	P	Na	H+Al	Al	Ca	Mg	K	C
	mg kg ⁻¹	cmolc kg ⁻¹						g kg ⁻¹
5.00	233.27	14.69	20.62	0	8.9	8.9	97.59	35.25

P and K- Extração Mehlich; C- Carbono; Al, Ca e Mg- KCL; H⁺Al⁻ Acetato de cálcio.

Antes da aplicação com as águas salinas, realizou-se uma padronização para altura, diâmetro na altura do colo e dois pares de folhas, para reduzir a heterogeneidade do experimento durante o estabelecimento da cultura, produção e qualidade dos frutos. As águas salinas foram preparadas adicionando cloreto de sódio (NaCl) na água até atingirem as condutividades elétricas estabelecidas, utilizando um condutivímetro portátil modelo microprocessado Instrutherm[®] (modelo CD-860) para a determinação dos valores. A partir dos 15 DAS, a irrigação com águas salinas foi realizada de forma manual conforme a necessidade hídrica das plantas que foi estabelecida pelo método de lisimetria de drenagem (Henschel et al., 2022).

No Laboratório de Solos do Centro de Ciências Agrárias, foram preparadas as soluções de prolina, onde cada concentração foi pesada em balança de precisão, e posteriormente, adicionadas a um Becker de 100 mL para diluição completa dos cristais na solução (água destilada). Em seguida, a solução foi posta dentro de um balão volumétrico com água destilada até chegar a 1000 mL. Nesta solução, foram diluídas 7 gotas de Tween 80 (0,05%) como surfactante para aumentar a absorção pelas plantas.

A prolina foi aplicada via fertirrigação a cada 10 dias após a irrigação com águas salinas (25, 35, 45 e 55 dias), de acordo com as doses estabelecidas. As aplicações foram feitas com o

auxílio de um borrifador manual, onde o produto foi distribuído nas folhas adaxiais e abaxiais (entre a planta e as extremidades do vaso). Na primeira aplicação, todas as plantas foram pulverizadas com 2,5 mL, na segunda aplicação com 4,0 mL, na terceira com 5,5 mL e na quarta aplicação com 7,5 mL de cada solução, (Pro: 0,0; 5,00; 10,0; 15,0 mM), totalizando em 19,5 mL por planta durante o período experimental.

2.3 Variáveis analisadas

2.4 Crescimento de plantas

As variáveis de crescimento e fisiologia, foram determinadas aos 60 dias após o início da irrigação com águas salinas. Para as variáveis de crescimento, foram avaliadas a altura de plantas, medindo da base do solo até a última incisão foliar da planta, a medição foi feita com o auxílio de uma régua graduada e os valores expressos em cm. O diâmetro do caule foi mensurado com o auxílio de um paquímetro digital e os valores expressos em mm e o número de folhas foi determinado com a contagem de todas as folhas de cada planta. O comprimento da raiz foi obtido medindo a distância entre a superfície do caule e a parte mais alta da raiz com uma régua graduada, com valores expressos em cm.

2.5 Trocas gasosas

As trocas gasosas foram determinadas com um analisador de gás infravermelho (IRGA, LCpro-SD Portable Photosynthesis System, ADC BioScientific, Hoddesdon, ENG). As medições foram realizadas das 8 às 10 horas da manhã, utilizando luz artificial fixa em 1000 μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 385 μmol de concentração referência de CO_2 e temperatura ambientes. A condutância estomática ($g_s - \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida ($A - \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração ($E - \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência no uso da água ($\text{EUA} = A/E$), eficiência intrínseca no uso da água ($\text{EiUA} = A/g_s$), concentração de carbono interno ($C_i - \mu\text{mol CO}_2 \text{mol ar}^{-1}$), déficit de pressão de vapor ($\text{DPV} - \text{DPV}_{\text{folha-ar}}$), e eficiência da carboxilação instantânea ($\text{EiC} = A/C_i$) foram avaliados.

A fluorescência inicial (F_0), máxima (F_m) e variável (F_v) e o rendimento quântico do fotossistema II (F_v/F_m) foram medidos entre 8h e 11h, utilizando um fluorômetro modulado (modelo OptiSciences Inc.- modelo OS-30p, Hudson, USA.), em uma folha intermediária por planta, pré-adaptadas ao escuro por 30 minutos. Os índices de clorofila *a*, *b* e total foram medidos na terceira folha a partir do ápice de cada planta com um clorofilômetro digital (ClorofiLOG[®], modelo CFL 1030, Porto Alegre, RS).

A extração e quantificação de clorofilas foi determinado conforme a metodologia proposta por Santos et al. (2008). Foram coletados cinco discos foliares (1 cm de diâmetro cada) e incubadas em 5 mL de solução de DMSO. As amostras ficaram mantidas no escuro por 48h em temperatura ambiente. Após a incubação, foi determinada a absorbância das amostras (480, 649 e 665 nm), utilizando cubeta de vidro de 10 mm de caminho ótico, em espectrofotômetro. Os comprimentos de ondas e as equações para o cálculo das concentrações de clorofilas *a*, *b* e carotenoides são baseados no método descrito por Wellburn (1994).

O extravasamento de eletrólitos (EE) foi determinado conforme a metodologia descrita por Bajji et al. (2002), com adaptações. Foram coletados 10 discos foliares por indivíduo, sendo acondicionados em tubos de ensaio contendo água destilada e levados ao laboratório. Após coletados, os discos foram lavados e mantidos em tubos de ensaio com tampa contendo 40 mL de água destilada. As amostras foram mantidas a 25 °C por 6 horas, sob agitação ocasional. Após esse período, foi determinado a condutividade elétrica inicial (CE_1) do extrato por meio de um condutivímetro portátil (CD-880, Instrutherm). Posteriormente, os tubos foram mantidos em banho maria a 90 °C por 2 horas e, em seguida, determinada a condutividade elétrica final (CE_2) do extrato. O extravasamento de eletrólitos foi expresso em porcentagem e calculado através da fórmula $(EE (\%) = (CE_1/CE_2) \times 100)$.

2.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e, quando significativos, foi realizada a análise de regressão. Os dados foram processados no programa estatístico R (Core Team, 2020). Os gráficos foram confeccionados no Software Sigma Plot® 12.5 (Systat Software, San Jose, CA, EUA).

3 RESULTADOS

A aplicação de prolina proporcionou efeito benéfico com aumento na altura das plantas, no diâmetro do caule e no número de folhas de *T. majus* (Figuras 2a, b e c). Observou-se que o maior valor de altura das plantas (24,0 cm) aos 60 DAS foi alcançado com a dose de Pro 15,0 mM (Figura 2a). Além disso, as plantas que receberam a aplicação de prolina de 15,0 mM apresentaram um aumento de 4,8 mm no diâmetro do caule e um acréscimo de 12,0 folhas no número de folhas em comparação com as plantas isentas da aplicação de prolina (Figura 2b e c).

A presença da salinidade na água de irrigação teve um impacto negativo no crescimento das plântulas de capuchinha. Foi observada uma redução linear no diâmetro do caule, no número de folhas e no comprimento da raiz conforme incremento na quantidade de sais adicionados à água de irrigação, resultando em um decréscimo respectivos de 22,41, 32,57 e 43,65% ao comparar o menor e maior nível salino (Figura 2d, e, f).

As trocas gasosas das plantas de capuchinha foram influenciadas significativamente pela interação entre o uso das águas salinizadas e aplicação de prolina (Figuras 3a, b, c). Plantas irrigadas com as águas salinas de 0,67; 2,46 e 1,34 dS m⁻¹ e concentrações de 15,0, 9,31 e 15 mM apresentaram, respectivamente, máximos valores de fotossíntese líquida (6,35 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), transpiração (2,24 (mmol de H₂O m⁻² s⁻¹) e condutância estomática (0,075 (mol de H₂O m⁻² s⁻¹) (Figuras 3a, b, c). Por outro lado, a combinação entre as maiores concentrações de prolina e maiores condutividades da água, reduziu as trocas gasosas.

Em relação à eficiência de carboxilação instantânea, houve efeito significativo para as doses de prolina (figuras 4a). Plantas irrigadas com a água 0,00 dS m⁻¹ e dose de 15,0 mM apresentaram, maior eficiência da carboxilação instantânea (0,026). Enquanto, que a eficiência no uso da água (EUA) foi maior nas plantas isentas da aplicação de prolina e estresse salino (Figura 4b).

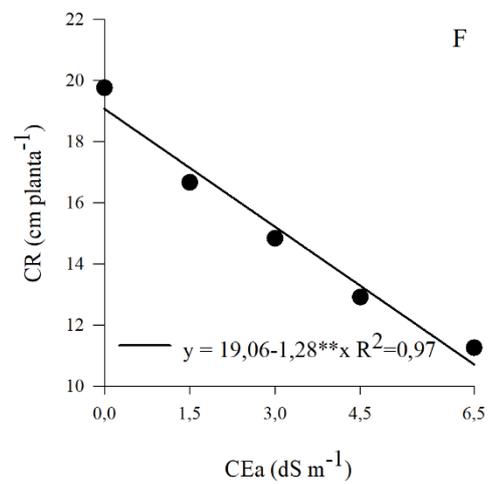
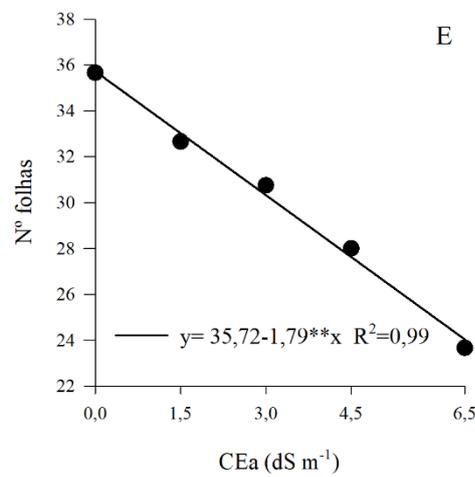
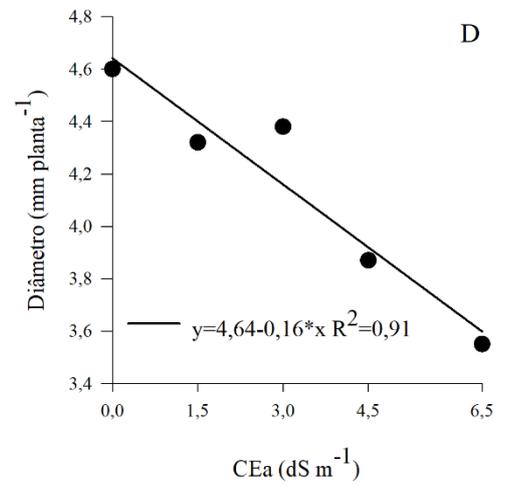
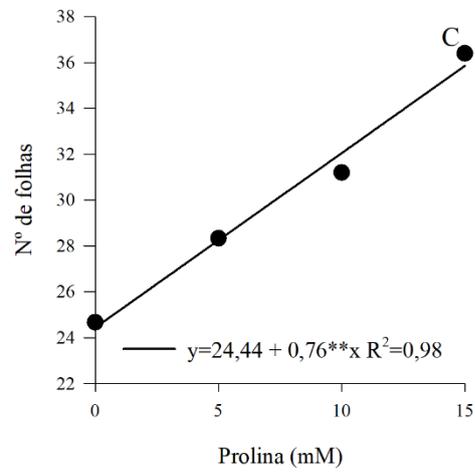
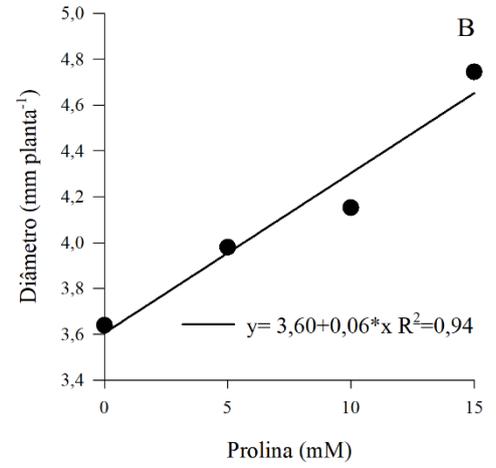
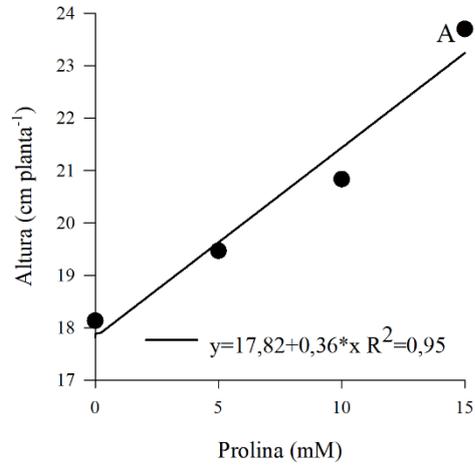
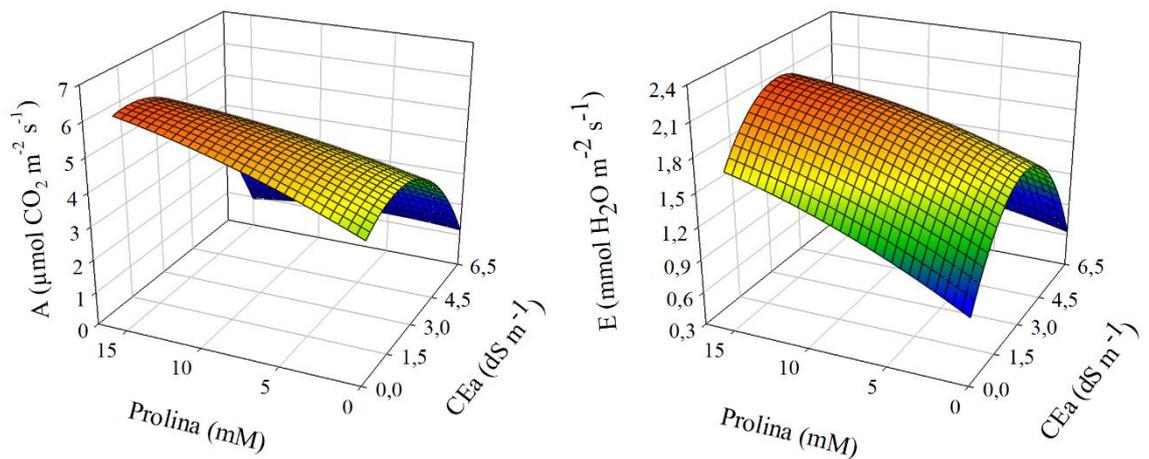


Figura 2. Parâmetros de crescimento de plantas de capuchinha cv. Anã sortida submetido a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e concentrações de prolina. Altura de planta (a); diâmetro de caule (b); número de folhas (c) sob aplicação de prolina. Diâmetro (d); número de folhas (e) e comprimento da raiz sob estresse salino.

$$z = 4,15 + 0,55 * x - 0,15 ** x^2 + 0,19 * y - 0,003^{ns} y^2 - 0,02 * xy \quad R^2 = 0,68$$

$$z = 0,90 + 0,52 * x - 0,08 * x^2 + 0,07 * y - 0,001^{ns} y^2 - 0,006 * xy \quad R^2 = 0,67$$



$$z = 0,05 + 0,005^{ns} x - 0,002 ** x^2 + 0,003 * y - 0,0001^{ns} y^2 - 0,00008 * xy \quad R^2 = 0,62$$

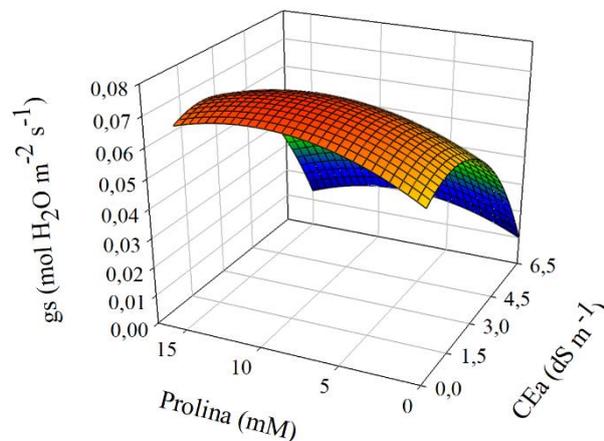


Figura 3. Trocas gasosas de plantas de capuchinha cv. Anã sortida submetido a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e concentrações de prolina. (a) Fotossíntese líquida (A); (b) transpiração (E); e (c) condutância estomática (gs). Os asteriscos indicam

diferenças significativas pelo teste F a 0,05 (*) ou 0,01 (**) de probabilidade. Ns: não significativo

Também pode-se observar que o acréscimo de sais na água de irrigação promoveu comportamento crescente nos valores da EiUA, principalmente nas menores doses da prolina 0,0 mM, com máxima EiUA 89,32 na água de 4,25 dS m⁻¹ (Figura 4c), respectivamente.

O uso de 8,27 mM de prolina resultou no valor máximo estimado de 0,58 de F_M quando irrigado com água de 2,68 dS m⁻¹ (Figura 5d). No entanto, maiores concentrações salinas e doses de prolina reduziram a F_M.

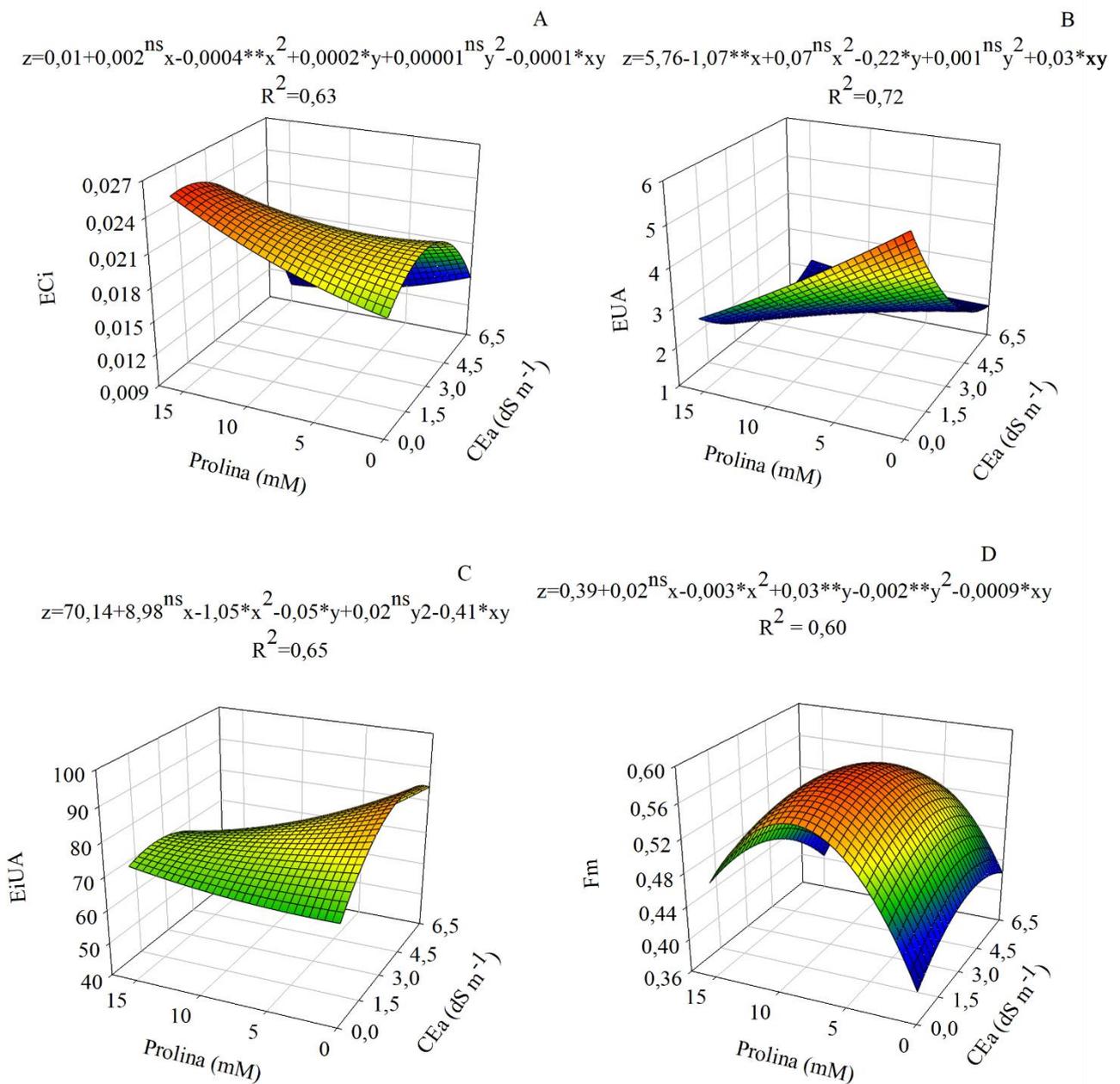


Figura 4. Trocas gasosas de plantas de capuchinha cv. Anã sortida submetido a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e concentrações de prolina. (a) Eficiência da carboxilação instantânea (ECi); (b) eficiência no uso da água (EUA); (c) eficiência intrínseca no uso da água (EiUA) e (d) fluorescência máxima. Os asteriscos indicam diferenças significativas pelo teste F a 0,05 (*) ou 0,01 (**) de probabilidade. Ns: não significativo

4 DISCUSSÃO

Os osmoprotetores podem melhorar a tolerância ao estresse salino em plantas. No entanto, há poucas informações disponíveis sobre o mecanismo de ação da aplicação deste aminoácido em *T. majus* cultivado sob condições de salinidade. Neste trabalho, a aplicação de prolina reduziu os efeitos nocivos do estresse salino na fisiologia da capuchinha. A aplicação de prolina resultou no aumento da altura, diâmetro do caule e comprimento da raiz (Figura 2a, b, c), além de diminuir os efeitos danosos da salinidade na fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática (Figura 3). Isso ocorre porque a prolina atua como antioxidante e reguladora de sinais, desempenhando múltiplas funções vitais para a adaptabilidade das plantas ao estresse (Sharma et al., 2021), como visto na Figura 3.

A resposta das plantas à salinidade está intimamente ligada à fotossíntese, pois é a fonte de acumulação de biomassa em plantas superiores e um dos processos fisiológicos mais sensíveis ao estresse (Mo et al., 2016). A salinidade tem reduzido o crescimento das plantas, e esse comportamento está associado a uma diminuição nas taxas fotossintéticas e no estado hídrico das plantas. É crucial ressaltar que os danos no crescimento e desenvolvimento são os primeiros e mais preocupantes efeitos da salinidade nas plantas, e as alterações na biomassa são indicadores confiáveis do grau de estresse e resistência das plantas à seca (Li et al., 2018).

Diversos estudos demonstraram reduções na absorção de CO₂, na condutância estomática, na transpiração e na concentração interna de CO₂ em hortaliças como tomate (Batista et al., 2021), manjerição (Silva et al., 2019; Nóbrega et al., 2021) e melão (Sousa et al., 2018; Sousa et al., 2019) em resposta a estresses abióticos. Neste contexto, os efeitos da salinidade nas trocas gasosas variaram conforme a condutividade elétrica da água de irrigação, resultando em aumento da fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática sob condutividade de até 3,00 dS⁻¹, mas reduzindo-se em maiores condutividades (6,5 dS m⁻¹). Além disso, as trocas gasosas também foram ampliadas pela prolina até 15,0 mM.

A maior condutância estomática (gs) observada em plantas de *T. majus* quando expostas ao estresse salino e à aplicação de prolina pode ser atribuída a esse osmoprotetor, que penetra rapidamente nos cloroplastos e contribui para a manutenção da turgidez celular, preservando assim a estrutura e a função do sistema fotossintético diante do estresse (Ilyas et al., 2020; Khalid et al., 2022). Adicionalmente, essa resposta pode estar associada ao aumento do teor relativo de água nas folhas induzido pela aplicação de prolina.

A fotossíntese líquida (A) foi maior em plantas que cresceram sob aplicação de prolina e diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (Figura 3b). Isso pode ter ocorrido

devido à maior gs neste tratamento, além do fato de que a salinidade não afetou a taxa de transpiração. Por outro lado, a combinação entre as maiores doses de prolina e maiores condutividades da água reduziu as trocas gasosas. Isso também pode estar relacionado à manutenção do teor relativo de água devido ao aumento das atividades de POD e APX (Silva et al., 2022), bem como à diminuição da peroxidação lipídica neste tratamento (Figura b). O fato de que a maior A foi observada em plantas sob salinidade está relacionado ao controle estomático, considerado o principal fator fisiológico para otimizar o uso da água durante o déficit hídrico, evitando perdas excessivas de água em condições de estiagem prolongada (Nadeem et al., 2019) e consequente diminuição no transporte de assimilados (Dąbrowski et al., 2019).

Observamos um aumento na F_M em plantas submetidas a salinidade moderada ($2,68 \text{ dS m}^{-1}$). Isso sugere que o aparelho fotossintético não sofreu danos nem houve subutilização da energia disponível para as reações fotoquímicas. Além disso, o aumento da F_M influencia diretamente a F_V , que representa a energia potencialmente ativa no fotossistema II, resultando no aumento da capacidade de transferência da energia de excitação (Kalaji et al., 2018; Sá et al., 2018).

No entanto, à medida que a salinidade aumentou para $6,5 \text{ dS m}^{-1}$, houve uma redução nos valores de fluorescência inicial F_M indicando danos ao aparato fotossintético das plantas expostas a níveis mais elevados de salinidade. Além disso, o uso de prolina em concentrações de até $10,86 \text{ mM}$ resultou em aumento de F_M em condições de salinidade moderada, indicando uma melhora na eficiência fotossintética das plantas.

5 CONCLUSÕES

1. A aplicação de prolina foi benéfica em plantas de capuchinha, aumentando o número de folhas, diâmetro do caule e o comprimento da raiz.

2. A concentração de 15,0 mM associada à salinidade moderada da água de irrigação 3,0 dS m⁻¹ estimula as trocas gasosas, resultando em maior fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática de *T. majus*.

6 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Solos do Centro de Ciências Agrárias e ao Setor de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal da Universidade Federal da Paraíba, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e a Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal da Paraíba pela infraestrutura para desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALAVI, S. A.; GHEHSAREH, A. M.; SOLEYMANI, A.; PANAHPOUR, E.; MOZAFARI, M. Peppermint (*Mentha piperita* L.) growth and biochemical properties affected by magnetized saline water. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.201, p. 775, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110775>.
- ALVAREZ, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVEZ, J. L.; DE, M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, p.711-728, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.
- BAJJI, M.; KINET, J. M.; LUTTS, S. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. **Plant Growth Regulation**, v.36, p.61–70, 2002. Doi: <https://doi.org/10.1023/A%3A1014732714549>.
- BATISTA, M. C.; NASCIMENTO, R.; MAIA JÚNIOR, S. O.; NASCIMENTO, E. C. S.; BEZERRA, C. V. C.; LIMA, R. F. Physiology and production of cherry tomato cultivars in a hydroponic system using brackish water. **Rev Bras de Eng Agrícola e Ambient**, v. 25, p. 219-227, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n4p219-227>.
- BAZYLKO, A.; GRANICA, S.; FILIPE K. A.; PIWOWARSKI, J.; STEFÁNSKA, J.; OSINSKA, E.; KISS, A. K. Comparison of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of *Tropaeolum majus* L. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 88–94, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.003>.
- DABROWSKI, P.; BACZEWSKA-DABROWSKA, A. H.; KALAJI, H. M.; GOLTSEV, V.; PAUNOV, M.; RAPACZ, M.; WÓJCIK-JAGLA, M.; PAWLUSKIEWICZ, B.; BABA, W.; BRESTIC, M. Chlorophyll *a* fluorescence and plant gas exchange parameters as indicators of drought tolerance in perennial ryegrass. **Sensors**, v.19, p. 27-36, 2019. Doi: <https://doi.org/10.3390/s19122736>.
- FAGERIA, N. K.; SOARES FILHO, W. D. S.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético vegetal e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. Fortaleza, **INCT Sal**, p.206-218, 2010.
- FAGHIH, S.; ZAREI, A.; GHOBADI, C. Positive effects of plant growth regulators on physiology responses of *Fragaria × ananassa* cv. 'Camarosa' under salt stress. **International Journal of Fruit Science**, v.19, p.104-114, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1462291>.
- GHASSEMI-GOLEZANI, K.; HOSSEINZADEH-MAHOOTCHI, A.; FARHANGI-ABRIZ, S. Chlorophyll *a* fluorescence of safflower affected by salt stress and hormonal treatments. **SN Applied Sciences**, v.2, p.1306, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1007/s42452-020-3133-1>.
- GODOY, F.; OLIVOS-HERNÁNDEZ, K.; STANGE, C.; HANDFORD, M. Abiotic stress in crop species: Improving tolerance by applying plant metabolites. **Plants**, v. 10, p. 186, 2021. Doi : <https://doi.org/10.3390/plants10020186>.

HENSCHER, J. M.; DANTAS, E. F. O.; SOARES, V. A.; SANTOS, S. K. D; SANTOS, L. W. O.; DIAS, T. J.; BATISTA, D. S. Salicylic acid mitigates the effects of mild drought stress on radish (*Raphanus sativus*) growth. **Funct Plant Biol**, v. 49, p. 822-831, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1071/FP22040>. PMID: 35697057.

ILAS, N.; AMJID, W.; SALEEM, M. A.; KHAN, W.; WATTOO, F. M.; RANA, R. M. Quantitative trait loci (QTL) mapping for physiological and biochemical attributes in a Pasban90/Frontana recombinant inbred lines (RILs) population of wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress condition. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, p. 341–351, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.10.003>.

JURCA, T.; BALDEA, I.; FILIP, G. A.; OLTEANU, D.; CLICHICI, S.; PALLAG, A.; PALLAG, A.; VICAS, L.; MARIAN, E.; MICLE, O.; MURESAN, M. The effect of *Tropaeolum majus* L. on bacterial infections and in vitro efficacy on apoptosis and DNA lesions in hyperosmotic stress. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, p. 391–401, 2018. <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.3.06>.

KALAJI, H. M.; RACKOVÁČ, L.; PAGANOVÁČ, V.; SWOCZYNA, T.; RUSINOWSKI, S.; SITKOF, K. Can chlorophyll-*a* fluorescence parameters be used as bio-indicators to distinguish between drought and salinity stress in *Tilia cordata* Mill? **Environmental and Experimental Botany**, v.152, p.149-157, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.11.001>.

KHALID, M.; REHMAN, H. M.; AHMED, N.; NAWAZ, S.; SALEEM, F.; AHMAD, S.; UZAIR, M.; RANA, I. A.; ATIF, R. M.; Zaman, Q. U. Using Exogenous Melatonin, Glutathione, Proline, and Glycine Betaine Treatments to Combat Abiotic Stresses in Crops. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 129, 2022. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms232112913>.

KOIKE, A.; BARREIRA, J. C.; BARROS, L.; SANTOS-BUELGA, C.; VILLAVICENCIO, A. L.; FERREIRA, I. C. Irradiation as a novel approach to improve quality of *Tropaeolum majus* L. flowers: Benefits in phenolic profiles and antioxidant activity. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 30, p. 138–144, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.009>.

LI, L.; GU, W.; LI, C.; LI, W.; LI, C.; LI, J.; WEI, S. Exogenous spermidine improves drought tolerance in maize by enhancing the antioxidant defence system and regulating endogenous polyamine metabolism. **Crop and Pasture Science**, v. 69, p. 1076–1091, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1071/CP18271>.

LIMA, G. S.; DIAS, A. S.; SOARES, L. A.; GHEYI, H. R.; NOBRE, R. G.; SILVA, A. A. R. Eficiência fotoquímica, partição de fotoassimilados e produção do algodoeiro sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista de Ciências Agrárias**, v.42, p.214-225, 2019. Doi: <https://doi.org/10.19084/RCA18123>.

MEDEIROS, W. J. F.; DE OLIVEIRA, F. Í. F.; DE LACERDA, C. F.; DE SOUSA, C. H. C.; CAVALCANTI, L. F.; DA SILVA, A. R. A.; FERREIRA, J. F. Isolated and combined effects of soil salinity and waterlogging in seedlings of 'Green Dwarf' coconut. **Semina: Ciências Agrárias**, v.39, p.1459-1468, 2018. Doi: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1459>.

- MELO, A. C.; COSTA, S. C.; CASTRO, A. F.; SOUZA, A. N.; SATO, S. W.; LIVERO, F. A.; LOVATO, E. C. Hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* promotes anxiolytic effects on rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.28, p.589-593, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.006>.
- MO, Y. L.; WANG, Y. Q.; YANG, R. P.; ZHENG, J. X.; LIU, C. M.; LI, H.; MA, J. X.; ZHANG, Y.; WEI, C. H.; ZHANG, X. Regulation of plant growth, photosynthesis, antioxidation and osmosis by an arbuscular mycorrhizal fungus in watermelon seedlings under wellwatered and drought conditions. **Frontiers in Plant Science**, v.7, p. 454, 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00644>.
- NOBREGA, J. S.; BEZERRA, A. C.; RIBEIRO, J. E. S.; SILVA, E. C.; SILVA, T. Y.; COSTA, R. N. M.; SILVA, A. V.; LOPES, A. S.; DIAS, T. J. Growth and gas exchange of purple basil submitted to salinity and foliar nitrogen fertilization. **J Plant Nutr**, v. 44, p. 2729-2738. Doi: <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1927080>.
- NOREEN, S.; FAIZ, S.; AKHTER, S.; SHAH, H. Influence of foliar application of osmoprotectants to ameliorate salt stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Sarhad J. Agric**, v.35, p.1316–1325, 2019. Doi: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2019/35.4.1316.1325>.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. 2020. <http://www.R-project.org/>.
- SÁ, F. V. S.; GHEYI, H. R.; LIMA, G. S.; PAIVA, E. P.; MOREIRA, R. C. L.; SILVA, L. A. Water salinity, nitrogen and phosphorus on photochemical efficiency and growth of west indian cherry. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, v.22, n.3, p.158-163, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n3p158-163>.
- SANTOS, R. P.; CRUZ, A. C. F.; IAREMA, L.; KUKI, K. N.; OTONI, W. C. Protocolo para extração de pigmentos foliares em porta-enxertos de videira micropropagados. **Revista Ceres**, v.55, p.356-364, 2008.
- SHARMA, A.; THAKUR, S.; KUMAR, V.; KESAVAN, A. K.; THUKRAL, A. K.; BHARDWAJ, R. 24-epibrassinolide stimulates imidacloprid detoxification by modulating the gene expression of *Brassica juncea* L. **BMC Plant Biology**, v.17, p.1–10, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1003-9>.
- SILVA, T. I.; DIAS, M. G.; ARAUJO, N. O.; SANTOS, M. N. S.; CRUZ, R. R. P.; DIAS, T. J., RIBEIRO, W. S.; GROSSI, J. A. S.; BARBOSA, J. G. Spermine reduces the harmful effects of salt stress in *Tropaeolum majus*. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 28, p. 687–696, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01165-9>.
- SILVA, T. I.; GONÇALVES, A. C. M.; MELO FILHO, J. S.; ALVES, W. S.; BASILIO, A. G. S.; FIGUEIREDO, F. R. A.; DIAS, T. J.; BLANCK, A. F. Echophysiological aspects of *Ocimum basilicum* under saline stress and salicylic acid. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.14, p.5633, 2019. Doi: <https://doi.org/10.5039/agraria.v14i2a5633>.

SOUSA, V. F. O.; COSTA, C. C.; DINIZ, G.L.; SANTOS, J. B.; BONFIM, M. P. Physiological behavior of melon cultivars submitted to soil salinity. **Pesq Agropec Trop**, v. 48, p. 271-279, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1590/1983-40632018v4852495>.

SOUSA, V. F. O.; COSTA, C. C.; DINIZ, G.L.; SANTOS, J. B.; BONFIM, M. P.; LOPES, K. P. Growth and gas changes of melon seedlings submitted to water salinity. **Agriambi**, v. 23, p. 90-96, 2019. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v23n2p90-96>.

VALSALAM, S.; AGASTIAN, P.; ARASU, M. V.; AL-DHABI, N. A.; GHILAN, A. K. M.; KAVIYARASU, K.; RAVIDRAN, B.; CHANG, S. W.; AROKIYARAJ, S. Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced in-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 191, p. 65–74, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.010>.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v.144, p.307-313, 1994. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2).

YANG, X.; HAN, Y.; HAO, J.; QIN, X.; LIU, C.; FAN, S. Exogenous spermidine enhances the photosynthesis and ultrastructure of lettuce seedlings under high-temperature stress. **Scientia Horticulturae**, v. 291, p.110-570, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110570>.

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. *The Biochemical Journal*, v. 57, p. 508-514, 1954. Doi: <https://doi.org/10.1042/bj0570508>.

ZOUARI, M.; HASSENA, A. B.; TRABELSI, L.; ROUINA, B. B.; DECOU, R.; LABROUSSE, P. Exogenous proline-mediated abiotic stress tolerance in plants: Possible mechanisms. In: *Osmoprotectant-mediated abiotic stress tolerance in plants*. **Springer**, p. 99-121, 2019. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-27423-8>.

ARTIGO II

**PROLINA MODULA OS SOLUTOS ORGÂNICOS SOB ESTRESSE SALINO EM
PLANTAS DE *Tropaeolum majus***

RESUMO

A capuchinha (*Tropaeolum majus*) tem funções importantes em ornamentação, medicina e culinária, mas enfrenta restrições no crescimento e fisiologia devido a distúrbios bioquímicos, fisiológicos e anatômicos causados pelo estresse salino. A utilização de prolina surge como uma alternativa para reduzir os efeitos prejudiciais do estresse salino. Portanto, o objetivo foi avaliar os efeitos da aplicação de prolina nos componentes de produção e biomassa da *T. majus* cultivadas sob estresse salino. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 (condutividades elétricas – CEa: 0,0; 1,50; 3,00; 4,5; 6,5 dS m⁻¹) x 4 (concentrações de prolina – Pro: 0,0; 5,00; 10,0; 15,00 mM), com seis repetições. O acúmulo de massa fresca e seca das folhas, caule e raiz, número e peso de flores, compostos fenólicos, vitamina C, açúcares redutores e solúveis foram avaliados. Sob a influência da aplicação de prolina, os efeitos negativos do estresse salino na massa fresca das folhas, caule e raízes de *T. majus* foram reduzidos. Houve um aumento no peso e número de flores (10,60) alcançados com a concentração de prolina 15,0 mM. A prolina aumentou os níveis de compostos fenólicos totais, teores de açúcares redutores e solúveis. Também promoveu um aumento na atividade de vitamina C em plantas submetidas a estresse salino severo 4,75 dS m⁻¹. A aplicação de 15,0 mM de prolina apresenta potencial benéfico para o acúmulo de biomassa, peso e número de flores em *T. majus*.

Palavras-chave: Capuchinha; fitormônios; salinidade; prolina.

ABSTRACT

The garden nasturtium (*Tropaeolum majus*) plays important roles in ornamentation, medicine, and cuisine, but faces growth and physiological restrictions due to biochemical, physiological, and anatomical disturbances caused by salt stress. The use of proline emerges as an alternative to reduce the detrimental effects of salt stress. Therefore, the objective was to evaluate the effects of proline application on the production components and biomass of *T. majus* cultivated under saline stress. The experimental design used was completely randomized in a 5 (electrical conductivities – ECe: 0.0; 1.50; 3.00; 4.5; 6.5 dS m⁻¹) x 4 (proline concentrations – Pro: 0.0; 5.00; 10.0; 15.00 mL L⁻¹) factorial scheme, with six replications. The accumulation of fresh and dry mass of leaves, stem, and root, number and weight of flowers, phenolic compounds, vitamin C, reducing and soluble sugars were evaluated. Under the influence of proline application, the negative effects of salt stress on the fresh mass of *T. majus* leaves, stem, and roots were reduced. There was an increase in flower weight and number (10.60) achieved with a proline concentration of 15.0 mmol⁻¹. Proline increased the levels of total phenolic compounds, reducing and soluble sugar contents. It also promoted an increase in vitamin C activity in plants subjected to moderate salt stress at 4.75 dS m⁻¹. The application of 15.0 mmol⁻¹ proline presents beneficial potential for biomass accumulation, flower weight, and number in *T. majus*.

Keywords: Nasturtium; phytohormone; salinity; proline.

1 INTRODUÇÃO

A *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae), conhecida como capuchinha, é uma planta cultivada extensivamente na América do Sul e em várias regiões globais devido às suas propriedades comestíveis, ornamentais e medicinais (Melo et al., 2018). Esta espécie vegetal é naturalmente enriquecida com uma diversidade de compostos bioativos, como flavonoides (quercetina e isoquercetina), ácidos graxos (oleico e linoleico), vitamina C e tiocianatos (Valsalam et al., 2019). Suas folhas e flores frescas são frequentemente integradas em preparações culinárias, como saladas e sanduíches (Xu et al., 2021).

A capuchinha é suscetível a distúrbios no crescimento devido ao estresse salino, o que pode afetar negativamente a produção de flores e o metabolismo da planta (Silva et al., 2023). Uma resposta inicial das plantas à salinidade é o fechamento estomático, que reduz a perda de água por transpiração e a absorção de CO₂. Essa resposta pode sobrecarregar os fotossistemas e induzir a fotorespiração, levando à superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Silva et al., 2022). Além disso, a salinidade perturba o equilíbrio nutricional das plantas devido à competição entre a absorção de Na⁺ e íons como K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ (Zörb et al., 2019).

A aplicação externa de compostos de baixo peso molecular, como a prolina, pode reduzir os efeitos negativos do estresse salino nas plantas, permitindo que elas tolerem melhor esse tipo de estresse. Isso ocorre porque as moléculas ajudam a resgatar as plantas, promovendo uma regulação osmótica para aumentar sua tolerância (Noreen et al., 2019). Este aminoácido atua como um osmólito, quelante de metais e ligante, mantendo a estrutura das membranas, prevenindo a perda de eletrólitos e reduzindo o nível de espécies reativas de oxigênio, auxiliando as plantas a lidarem com o estresse salino (Shahid et al., 2022).

Os pesquisadores têm demonstrado grande interesse na investigação da prolina, especialmente em sua aplicação exógena sob estresses abióticos, revelando potencial para aprimorar os efeitos do estresse salino em várias culturas agrícolas (Ojewumi et al., 2022). Além disso, a prolina apresenta efeito protetor em relação a fosfolipídios, plasmalema, mitocôndrias e membranas plastídicas (Khalid et al., 2022). Com base nas pesquisas realizadas com o uso de prolina nas plantas, percebe-se que sua aplicação pode ajudar a enfrentar o estresse salino (Khalid et al., 2022).

Considerando o atual cenário de mudanças climáticas e a redução da disponibilidade hídrica para a agricultura, torna-se crescente a necessidade do uso de águas salinas na irrigação. Assim, levantou-se a hipótese de que a aplicação de prolina possa amenizar os efeitos do estresse salino

na capuchinha. Diante desse contexto, o trabalho teve como abjetivo avaliar o efeito da aplicação de prolina nos componentes de produção e biomassa da capuchinha.

2 METODOLOGIA

2.1 Local e delineamento experimental

O experimento foi conduzido na área experimental do Setor de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal do Departamento de Biociências do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, Brasil, cujas coordenadas geográficas são 6°57',48" S e 35°41',30" O, com altitude de 618 m. De acordo com a classificação de Köppen, o clima local é do tipo 'As' com período de estiagem seco e quente e chuvas no inverno. Durante o experimento (agosto a outubro de 2023), foram registradas as temperaturas mínimas e máximas diárias e a umidade relativa do ar utilizando um termo-higrômetro digital (AKSO® AK28new) instalado dentro da estufa, com valores médios de 28,2°C; 45,8°C; 20,4°C e 65,6% (temperatura média, máxima, temperatura mínima e umidade, respectivamente).

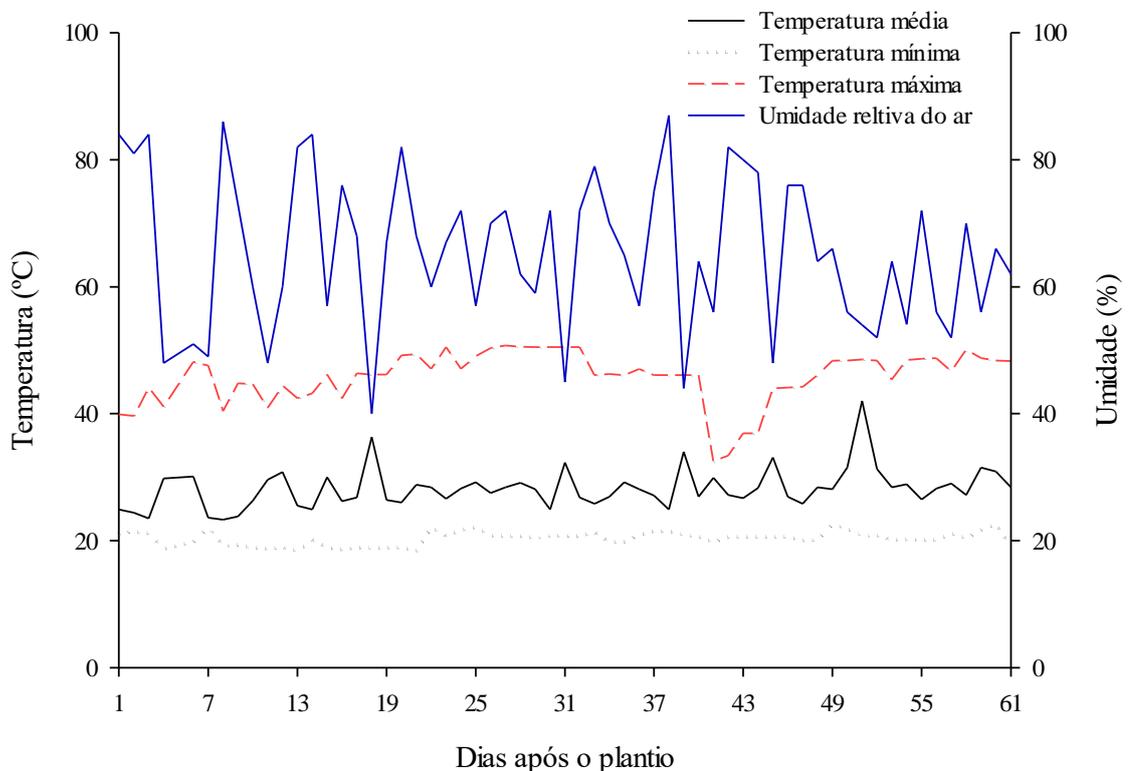


Figura 1. Temperaturas máximas e mínimas e umidade relativa do ar na estufa durante o período experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 (condutividades elétricas – CEa: 0,0; 1,50; 3,00; 4,5; 6,5 dS m⁻¹) x 4 (concentrações de prolina – Pro: 0,0; 5,00; 10,0; 15,00 mM), com seis repetições.

2.2 Material vegetal

As mudas foram produzidas em vasos de polietileno com capacidade de 5,0 dm³. As sementes de capuchinha (*Tropaeolum majus*, cv. Anã sortida – Isla[®]) foram semeadas duas sementes por vaso, a uma profundidade de aproximadamente 2 cm. O desbaste foi realizado aos 10 dias após a semeadura (DAS), mantendo-se uma planta mais vigorosa por vaso. O substrato utilizado foi o oficial Mecplant[®] (Telêmaco Borba, Paraná, Brasil), que é composto por 60% de casca de pinus, 15% de vermiculita de grau fino, 15% de vermiculita superfina e 10% de húmus. A caracterização química do substrato utilizado está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização química do substrato:

pH _(H₂O, 1:2,5)	P	Na	H+Al	Al	Ca	Mg	K	C
	mg kg ⁻¹	cmol _c kg ⁻¹						g kg ⁻¹
5.00	233.27	14.69	20.62	0	8.9	8.9	97.59	35.25

P and K- Extração Mehlich; C- Carbono; Al, Ca e Mg- KCL; H⁺Al- Acetato de cálcio.

Antes da aplicação com as águas salinas, realizou-se uma padronização para altura, diâmetro na altura do colo e dois pares de folhas, para reduzir a heterogeneidade do experimento durante o estabelecimento da cultura, produção e qualidade dos frutos (Dias et al., 2012). As águas salinas foram preparadas adicionando cloreto de sódio (NaCl) na água até atingirem as condutividades elétricas estabelecidas, utilizando um condutivímetro portátil modelo microprocessado Instrutherm[®] (modelo CD-860) para a determinação dos valores. A partir dos 15 DAS, a irrigação com águas salinas foi realizada de forma manual conforme a necessidade hídrica das plantas que foi estabelecida pelo método de lisimetria de drenagem (Henschel et al., 2022).

No Laboratório de Solos - CCA, foram preparadas as soluções de prolina (Pro), onde foram pesados em balança de precisão cada concentração, e posteriormente, adicionados a um Becker de 100 mL para diluição completa dos cristais na solução (água destilada). Em seguida, a solução foi posta dentro de um balão volumétrico com água destilada até chegar a 1000 mL. Nessa solução, foram diluídas 7 gotas de Tween 80 (0,05%) como surfactante para aumentar a absorção pelas plantas.

A prolina foi aplicada via fertirrigação a cada 10 dias após a irrigação com águas salinas (25, 35, 45 e 55 dias), de acordo com as doses estabelecidas. As aplicações foram feitas com o

auxílio de um borrifador manual, onde o produto era distribuído nas folhas axiais e abaxiais (entre a planta e as extremidades do vaso). Na primeira aplicação, todas as plantas foram pulverizadas com 2,5 mL, na segunda aplicação com 4,0 mL, na terceira com 5,5 mL e na quarta aplicação com 7,5 mL de cada solução, totalizando em 19,5 mL por planta durante o período experimental. As aplicações eram realizadas ao final da tarde para evitar altas temperaturas.

2.3 Variáveis analisadas

No final do experimento, aos 60 DAS, as plantas foram colhidas e particionadas em raiz, folhas e caule. A massa fresca das plantas foi determinada com o auxílio de uma balança analítica de precisão 0,001 g, em seguida as partes das plantas foram acondicionada em sacos de papel tipo Kraft e submetidas à estufa com circulação forçada de ar a uma temperatura de 65 °C até atingir peso constante. A massa seca da planta foi mensurada com uma balança analítica de precisão (0,001 g).

O teor relativo de água (TRA) foi calculado de acordo com a metodologia descrita por Irigoyen et al., (1992). Determinado a partir de 10 discos foliares com 0,5 cm de diâmetro cada, coletados de folhas completamente expandidas. Os discos foram pesados em balança de precisão imediatamente após a coleta para obter a massa fresca (MF). Em seguida, os discos foram transferidos para placas de Petri, onde permaneciam submersos em água por seis horas. Após esse período, os discos foram pesados novamente para determinação da massa túrgida (MT) e, posteriormente, foram secos a 70 °C por 72 horas para obtenção da massa seca (MS). O TRA foi calculado usando a fórmula:

$$\text{TRA (\%)} = (M_F - M_S) / (M_T - M_S) \times 100$$

Sendo: TRA= Teor relativo de água;

M_F = massa fresca dos discos;

M_T = massa túrgida dos discos;

M_S = massa seca dos discos.

No Laboratório de Fisiologia Pós-Colheita – CCHSA/UFPB, foram realizadas as análises físico-químicas das flores, tais como: pH, acidez, sólidos solúveis (expressos em °Brix), vitamina C, compostos fenólicos totais, açúcares redutores e não redutores (Henrique, et al., 2018). A acidez titulável (% de ácido cítrico) foi determinada pela diluição de 10 g de polpa

das flores em 50 mL de água destilada. A solução foi então titulada com solução de NaOH 0,1 N até a coloração róseo claro. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido cítrico, de acordo com o método do Instituto Adolfo Lutz (IAL 2008).

A determinação de pH foi realizada pesando 10 g de amostra da flor macerada e adicionado 50 mL de água destilada. A solução foi então medida com um potenciômetro digital (HANNA, Singapura), de acordo com o método da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2005). O teor de sólidos solúveis (%) foi avaliado após a maceração da amostra em um multiprocessador. Uma gota da polpa triturada foi colocada em um refratômetro e os resultados foram expressos em °Brix, conforme o Instituto Adolfo Lutz - IAL (2008). A quantidade de vitamina C total (mg/10g de flores) foi determinada por espectrofotometria, com leitura a 520 nm, de acordo com o método de Person et al., (1976).

A quantidade de açúcares redutores foi determinada pelo método de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller et al., (1959). O extrato foi preparado diluindo 1 g de polpa em 50 mL de água destilada. Uma alíquota de 0,8 mL do extrato foi misturada a 0,7 mL de água e a 1,0 mL da solução de ácido dinitrosalicílico para obtenção das amostras. As amostras foram agitadas e mantidas em banho-maria a 100 °C por 5 minutos.

A curva padrão foi preparada com glicose e as leituras das amostras foram feitas em espectrofotômetro a 450 nm. A quantidade de açúcares não-redutores foi calculada pela diferença entre a quantidade de açúcares totais e a quantidade de açúcares redutores. Para determinar a quantidade de açúcares totais ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de flores), foi utilizado o método de antrona, conforme metodologia descrita por Yemn e Willis (1954). O extrato foi obtido diluindo 0,5 g de flores em 100 mL de água destilada. As amostras foram preparadas em banho de gelo, adicionando-se 200 μL do extrato, 800 μL de água destilada e 2,0 mL da solução de antrona 0,2%. Em seguida, as amostras foram agitadas e mantidas em banho-maria a 100 °C por 8 minutos. A vitamina C total (mg /100g de flores de capuchinha) foi determinada segundo Person (1976).

A leitura das amostras de flores foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm, utilizando-se a glicose como referência para a obtenção da curva padrão. Os fenólicos totais foram determinados pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau et al., (1927). As leituras de absorbância foram realizadas em comprimento de onda de 760 nm e os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de amostra.

2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e, quando significativos, foi realizada a análise de regressão. Os dados foram processados no programa estatístico R (Core Team, 2020). Os gráficos foram confeccionados no Software Sigma Plot[®] 12.5 (Systat Software, San Jose, CA, EUA).

3 RESULTADOS

A aplicação de prolina reduziu os efeitos prejudiciais do estresse salino e promoveu um aumento na massa fresca da folha, do caule e da raiz em plantas de *T. majus* (Figuras 2a, b e c).

Observou-se que os maiores valores de massa fresca da folha (8,97 g), caule (23,06 g) e raiz (0,925g) foram alcançados com a dose de Pro 15,0 mM com irrigação de águas de 0,44; 1,12; 2,68 dS m⁻¹, respectivamente (Figura 2a, b e c).

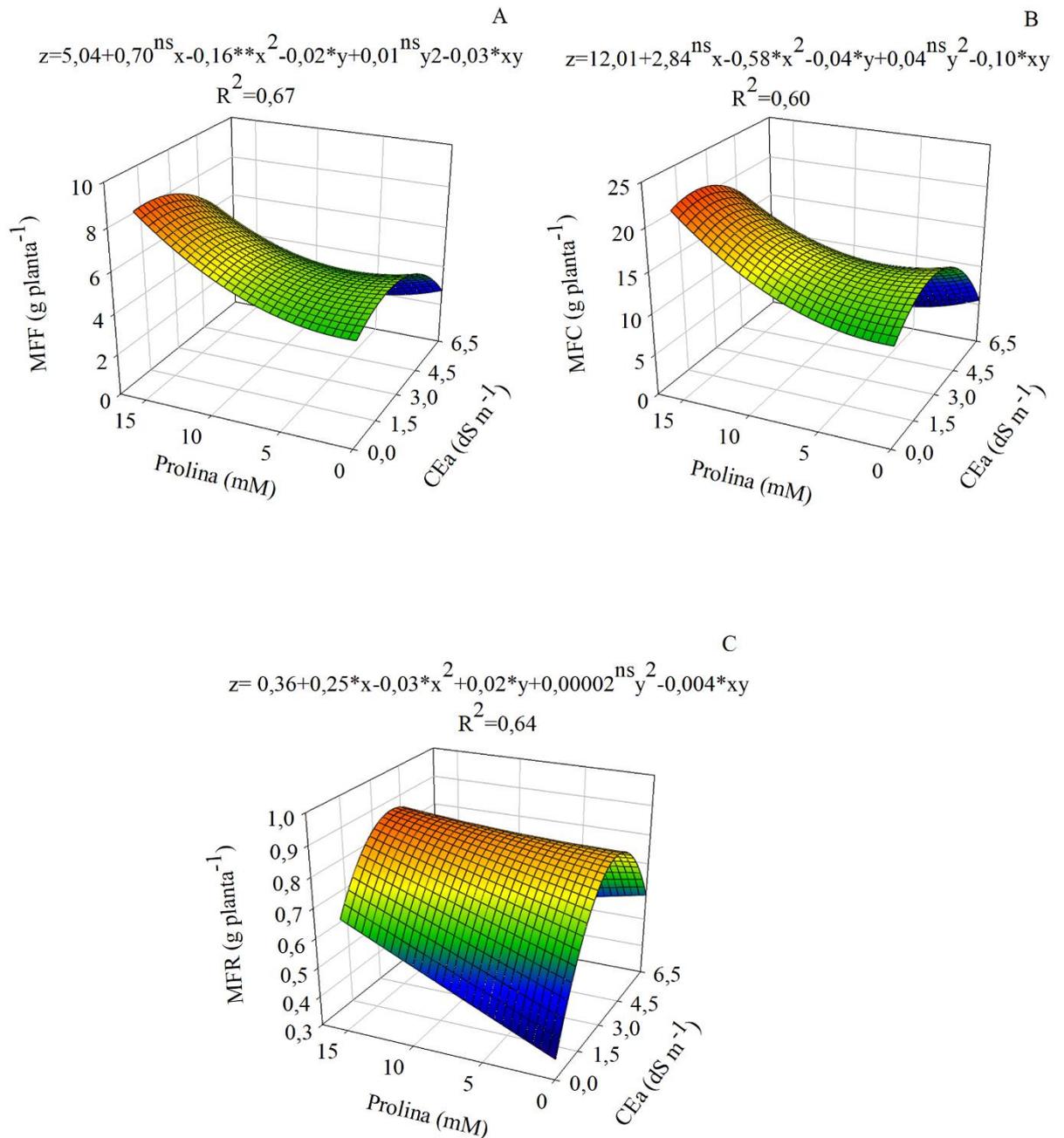


Figura 2. Produção de biomassa em plantas de capuchinha cv. Anã sortida em resposta a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e doses de prolina. Massa fresca

da folha (a); massa fresca do caule (b) e massa fresca da raiz (c). ^{ns}, *, ** não significativo, significativo a $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente.

O maior acúmulo de massa seca da folha foi nas plantas isentas da aplicação de Pro com irrigação de água de $6,5 \text{ dS m}^{-1}$ (Figura 3a). Já a massa seca do caule foi superior nas plantas isentas da aplicação de águas salinas com concentração de Pro $15,0 \text{ mM}$ (Figura 3b). Enquanto, o acúmulo de massa seca da raiz foi maior com uso de água de $2,68 \text{ dS m}^{-1}$ e aplicação de Pro $15,0 \text{ mM}$ (Figura 3c).

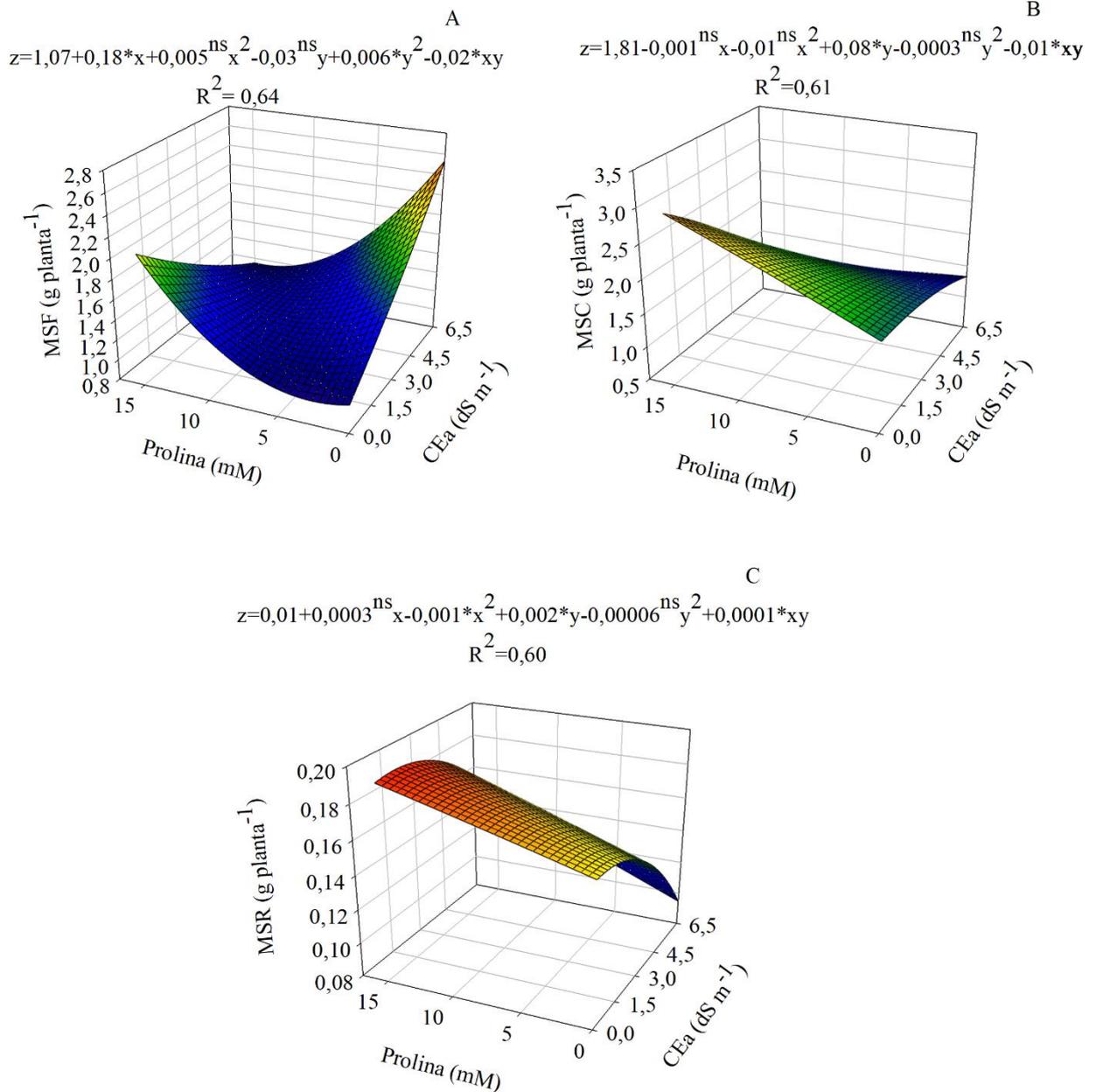


Figura 3. Produção de biomassa em plantas de capuchinha cv. Anã sortida em resposta a diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (CEa) e doses de prolina. Massa seca da folha (a); massa seca do caule (b) e massa seca da raiz (c). ^{ns}, *, ** não significativo, significativo a $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente.

A aplicação de prolina resultou em um aumento significativo no número e peso de flores de *T. majus*. Foi observado que o maior valor do número de flores (10,60) e peso das flores (0,72 g) foram alcançados com a dose de Pro 15,0 mM (Figura 4a e b).

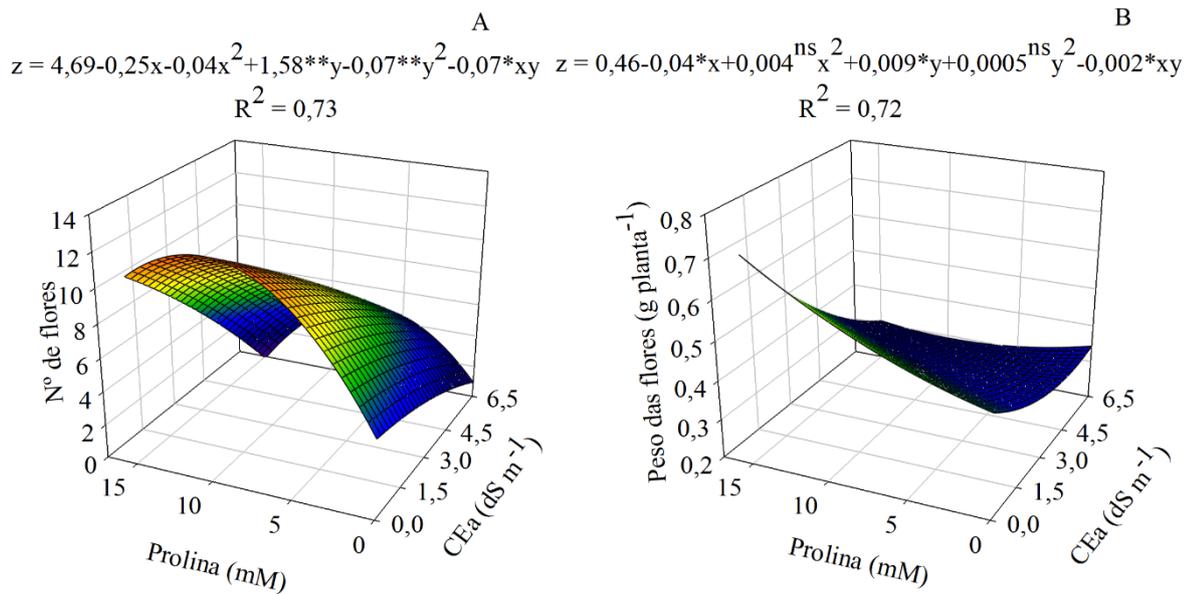


Figura 4. Número de flores (a) e peso das flores (b) em plantas de capuchinha submetido a irrigação com águas salinizadas e doses de prolina. ^{ns}, *, ** não significativo, significativo a $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente.

Os teores desses componentes aumentaram com a adição de sais na água de irrigação e o incremento nas doses de prolina. Por exemplo, a quantidade máxima de açúcares redutores foi de $3,07 \text{ mg}^{-1}$ quando 15,0 mM de prolina foram utilizados em conjunto com uma condutividade de $6,27 \text{ dS m}^{-1}$ (Figura 5a). Da mesma forma, o maior conteúdo de açúcares solúveis ($9,76 \text{ mg}^{-1}$) foi em plantas tratadas com água de $0,5 \text{ dS m}^{-1}$ e 7,75 mM de prolina, respectivamente (Figura 5b).

A aplicação de prolina na dose de 8,79 mM resultou em um aumento significativo no teor de compostos fenólicos totais, atingindo $891,06 \text{ mg}^{-1}$ em flores de capuchinha sem irrigação com água salina (Figura 5c). Por outro lado, o aumento das condutividades da água de irrigação

resultou na redução dos valores de açúcares redutores, solúveis e dos valores de compostos fenólicos.

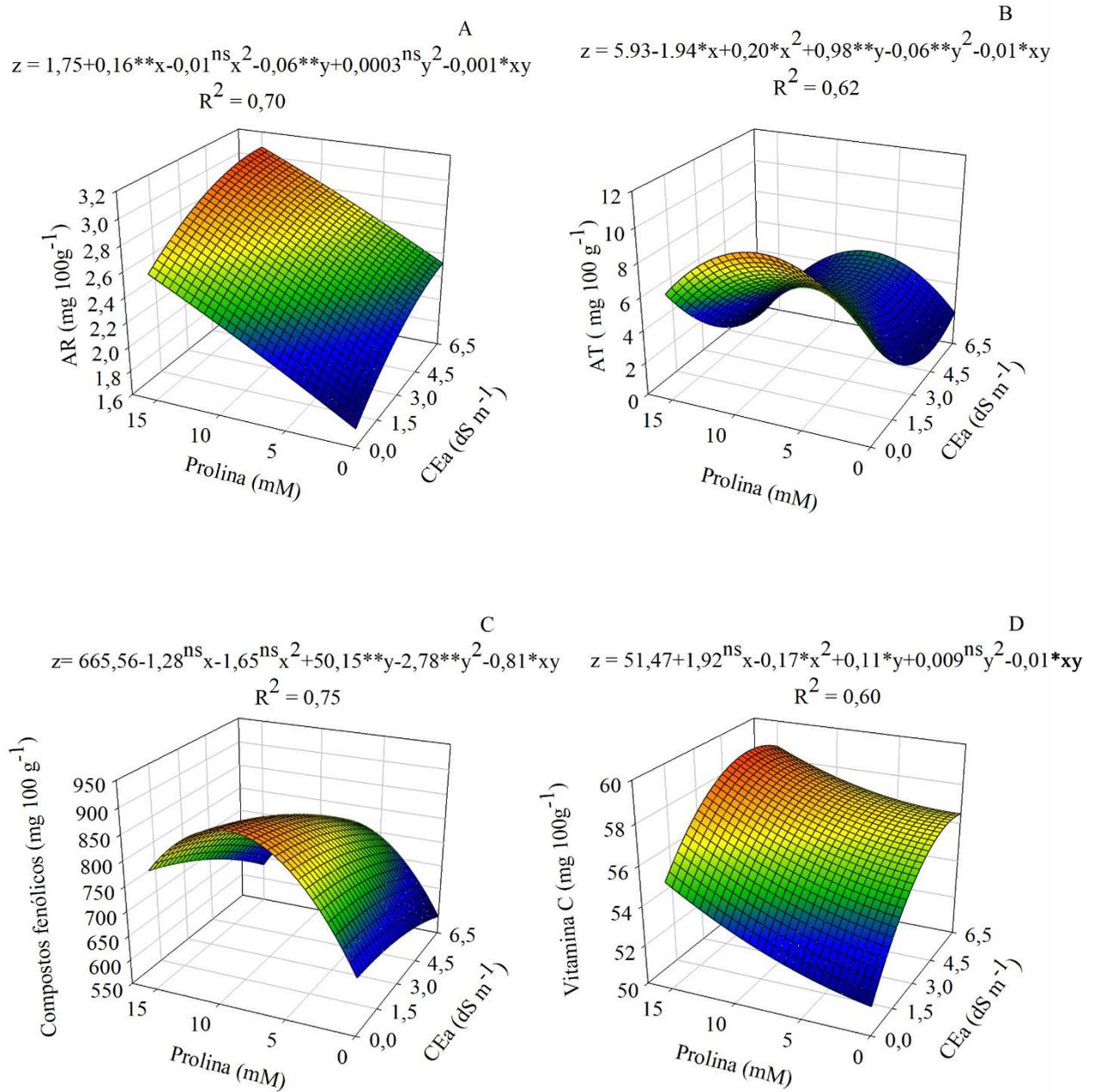


Figura 5. Açúcares redutores (a), açúcares solúveis totais (b), compostos fenólicos (c) e vitamina c (d) em plantas de capuchinha submetido a irrigação com águas salinizadas e doses de prolina. ^{ns}, *, ** não significativo, significativo a $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$ pelo teste F, respectivamente.

Foi observado um conteúdo médio de vitamina C de 59,27 mg 100 g⁻¹ de MF na dose de 15,0 mM de prolina, em conjunto com uma condutividade de 4,75 dS m⁻¹. Esses resultados mostram a influência positiva da prolina e da condutividade na síntese e no acúmulo de vitamina C nas plantas.

4 DISCUSSÃO

Neste estudo, a utilização de prolina demonstrou não atenuar os efeitos adversos do estresse salino moderado na produção de biomassa em *T. majus*, apenas promoveu efeito benéfico no acúmulo de biomassa das plantas. Este efeito pode ser atribuído ao papel dos aminoácidos na promoção da divisão celular, na melhoria da eficiência fotossintética e no acúmulo de fotoassimilados (Baniyadi et al., 2018). Além disso, os resultados evidenciaram que a prolina promoveu o aumento da massa fresca das folhas, do caule e das raízes (Figura 2), tanto em plantas de capuchinha submetidas a estresse salino moderado quanto em plantas não submetidas a tal condição. Observou-se que o maior valor de massa fresca 8,97 g foi alcançado com a concentração de Pro 15,0 mM (Figura 2a).

A irrigação de plantas com água salina geralmente resulta na redução do crescimento e no acúmulo de massa seca (Pan et al. 2021; Fernandes et al. 2022). No entanto, a aplicação de prolina na concentração de 15,0 mM promoveu o aumento da massa seca das raízes até 2,68 dS m⁻¹ (Figura 3 c). Este efeito pode estar associado à elevada concentração de nitrogênio presente na prolina (Severino et al. 2021), que, como componente de diversos compostos, provavelmente contribuiu para o crescimento e metabolismo das plantas de capuchinha, aumentando também sua tolerância ao estresse salino (Ashraf et al. 2018; Ahanger et al. 2019). Resultados semelhantes foram observados em plantas de capuchinha submetidas a déficit hídrico, onde o nitrogênio de baixo peso molecular, suplementado com espermina, atenuou os efeitos adversos da salinidade no crescimento das plantas, na taxa fotossintética e na absorção de nutrientes (Silva et al. 2022; Silva et al. 2023).

Os resultados do estudo revelaram que a aplicação de prolina resultou em um aumento significativo no peso e no número de flores da espécie *T. majus*. Verificou-se que a maior quantidade de flores (10,60) foi observada quando a dose de prolina utilizada foi de 15,0 mM (Figura 4a). Adicionalmente, as plantas que receberam a aplicação de prolina na dose de 15,0 mM e não foram submetidas ao estresse salino apresentaram maior peso das flores em comparação com aquelas irrigadas com água salina (Figura 4b). Este fenômeno pode estar relacionado à influência das poliaminas na diferenciação das gemas (Chen et al., 2019), o que consequentemente afeta o número de flores produzidas.

A influência da prolina na atenuação dos efeitos prejudiciais da salinidade sobre os açúcares redutores e solúveis em *T. majus* (Figura 5a e b) está associada à capacidade deste aminoácido de desempenhar um papel crucial no mecanismo de osmorregulação. Esse mecanismo envolve a estreita interação de elementos não tóxicos com diversos componentes celulares, contribuindo

para a regulação osmótica e a manutenção do turgor, garantindo assim o teor de água das células (Slama et al., 2015). Nosso estudo mostrou que a quantidade máxima de açúcares redutores foi de $3,07 \text{ mg}^{-1}$ quando $15,0 \text{ mM}$ de prolina foram utilizados em conjunto com uma condutividade de $6,27 \text{ dS m}^{-1}$ (Figura 5a). Da mesma forma, houve incremento no conteúdo de açúcares solúveis até $0,5 \text{ dSm}^{-1}$ e $7,75 \text{ mM}$ de prolina (Figura 5b). O acúmulo de solutos compatíveis representa uma estratégia essencial para a osmorregulação e o ajuste osmótico diante do estresse salino (Majumdar et al., 2016). Além disso, o impacto da prolina sobre os níveis de açúcar pode estar relacionado à preservação da fotossíntese líquida em plantas sujeitas ao estresse salino (Figura 5b), uma etapa primordial para o acúmulo de açúcares nas plantas.

A adição de prolina resultou em um aumento no teor total de compostos fenólicos, provavelmente devido à capacidade deste aminoácido de melhorar a tolerância da planta ao estresse. Na dose de $8,79 \text{ mM}$, foi observado um aumento significativo, alcançando $891,06 \text{ mg}^{-1}$ em flores de capuchinha cultivadas (Figura 5c). A regulação destes osmólitos pode representar um mecanismo eficaz para aumentar a tolerância das plantas ao estresse salino causado pelo acúmulo de sais na zona radicular, mantendo assim a homeostase hídrica celular adequada para um metabolismo saudável (Alharby et al., 2021). O aumento do estresse salino resultou em uma diminuição no conteúdo de compostos fenólicos, uma vez que esses compostos são uma via não enzimática para a eliminação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e para a regulação do potencial osmótico (Abdallah et al., 2016).

Ao avaliar o conteúdo de vitamina C nas flores colhidas (Figura 5d), verificou-se que a dose de $15,0 \text{ mM}$ de prolina, juntamente com uma condutividade de $4,75 \text{ dS m}^{-1}$, resultou em um conteúdo médio de vitamina C de $59,27 \text{ mg}$ para cada 100 g^{-1} de matéria fresca (MF). Esses resultados indicam a influência positiva da prolina e da condutividade na síntese e acumulação de vitamina C nas plantas. Esses valores se aproximam dos encontrados em frutas consideradas fontes importantes dessa vitamina, como laranja (*Citrus cinensis*) ($62,5 \text{ mg}$ para cada 100 g^{-1} de MF) e goiaba (*Psidium guajava*) ($85,9 \text{ mg}$ para cada 100 g^{-1} de MF) (Oliveira et al., 2011). Para algumas flores específicas também são relatados níveis elevados de vitamina C, como amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*) (256 mg para cada 100 g^{-1} de MF), cebolinha-verde (*Allium schoenoprasum*) (108 mg para cada 100 g^{-1} de MF) e cravina ($89,78 \text{ mg}$ para cada 100 g^{-1} de MF) (Amarante et al., 2019; Fernandes et al., 2016; Stefaniak et al., 2019).

5 CONCLUSÕES

1. A prolina aumentou os níveis de compostos fenólicos totais, teores de açúcares redutores e solúveis. Também promoveu um aumento na atividade de vitamina C em plantas submetidas a estresse salino severo $4,75 \text{ dS m}^{-1}$.

2. A aplicação de $15,0 \text{ mM}$ de prolina apresenta potencial benéfico para o acúmulo de biomassa, peso e número de flores em *T. majus*.

6 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Solos e ao Setor de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal do Departamento de Biociências do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e a Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal da Paraíba pela infraestrutura para desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, S.B.; AUNG, B.; AMYOT, L.; LALIN, I.; LACHAL, M.; KARRAY-BOURANI, N.; HANNOUFAM, A. Salt stress (NaCl) affects plant growth and branch pathways of carotenoid and flavonoid biosyntheses in *Solanum nigrum*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.38, p. 1–13, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2096-8>.
- AHANGER, M. A.; QIN, C.; BEGUM, N.; MAODONG, Q.; DONG, X.; EL-ESAWI, M.; EL-SHEICK, M. A.; ALATAR, A.; ZHANG, L. Nitrogen availability prevents oxidative effects of salinity on wheat growth and photosynthesis by up-regulating the antioxidants and osmolytes metabolism, and secondary metabolite accumulation. **BMC Plant Biol**, v. 19, p. 479, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2085-3>.
- ALHARBY, H. F.; AL-ZAHRANI, H. S.; ALZARANI, Y. M.; ALSAMADANY, H.; HAKEEM, K. R.; RADY, M. M. Maize grain extract enriched with polyamines alleviates drought stress in *Triticum aestivum* through up-regulation of the ascorbate-glutathione cycle, glyoxalase system, and polyamine gene expression. **Agronomy**, v.11, p.949, 2021. Doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050949>.
- AMARANTE, C. V. T.; SOUZA, A. G.; BENINCÁ, T. D. T.; STEFFENS, C. A.; CIOTTA, M. N. Physicochemical attributes and functional properties of flowers of Brazilian *feijoa* genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.54, p. 445, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00445>.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 17th ed.: **AOAC**, p. 1115, 2005.
- ASHRAF, M.; SHAHZAD, S. M.; IMTIAZ, M.; RIZWAN, M. S. Salinity effects on nitrogen metabolism in plants – focusing on the activities of nitrogen metabolizing enzymes: A review. **J Plant Nutr**, v. 41, p. 1065-1081, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1431670>.
- BANIASADI, F.; SAFFARI, V. R.; MOUAD, A. A. M. Physiological and growth responses of *Calendula officinalis* L. plants to the interaction effects of polyamines and salt stress. **Scientia Horticulturae**, v. 234, p. 312–317, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.069>.
- CHEN, D.; SHAO, Q.; YIN, L.; YOUNIS, A.; ZHENG, B. Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1945, 2019. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01945>.
- DIAS, T. J.; SÁ, J. R.; SILVA, B. N. B.; DANTAS, S. A. G.; CAVALCANTE, L. F.; CAMPOS, V. B.; MIGUEL, A. B. Crescimento das plantas de maracujazeiro amarelo após o transplântio. In: Cavalcante, L.F (Ed). O maracujazeiro amarelo e a salinidade da água. João Pessoa: **Sal da Terra**, v.3, p.97- 152, 2012. Doi: <https://doi.org/10.25066/agrotec.v38i4.34434>.
- FAGERIA, N. K.; SOARES FILHO, W. D. S.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético vegetal e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. Fortaleza, **INCT Sal**, p.206-218, 2010.

FERNANDES, L.; CASAL, S.; PEREIRA, J. A.; SARAIVA, J. A.; RAMALHOSA, E. Uma perspectiva nutricional sobre flores comestíveis, **Acta Portuguesa de Nutrição**, v.6, p. 32-37, 2016. Doi: <https://dx.doi.org/10.21011/apn.2016.0606>.

FERNANDES, C. S.; SÁ, F. V. S.; FERREIRA NETO, M.; DIAS, N. S.; REGES, L. B. L.; GHEYI, H. R.; PAIVA, E. P.; SILVA, A. A.; MELO, A. S. Ionic homeostasis, biochemical components and yield of *Italian zucchini* under nitrogen forms and salt stress. **Braz J Biol**, v. 82, p. 567, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.233567>.

FOLIN, O.; CIOCATEAL, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 73, n. 2, p. 627-650, 1957.

HENRIQUE, V. A.; FERREIRA, L. P.; NUNES, C. R. Análise físico-químicas e antioxidante de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) orgânico. **Revista Interdisciplinar Pensamento Científico**, v.3, n.2, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.20951/2446-6778/v3n2a6>.

HENSCHER, J. M.; DANTAS, E. F. O.; SOARES, V. A.; SANTOS, S. K. D; SANTOS, L. W. O.; DIAS, T. J.; BATISTA, D. S. Salicylic acid mitigates the effects of mild drought stress on radish (*Raphanus sativus*) growth. **Funct Plant Biol**, v. 49, p. 822-831, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1071/FP22040>. PMID: 35697057.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, v.1, p. 1020, 2008.

IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W.; SANCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in *nodulated alfalfa* (*Medicago 45 sativa*) plants. **Physiol Plant**, v. 84, p. 67-72, 1992. Doi : <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x>.

KHALID, M.; REHMAN, H. M.; AHMED, N.; NAWAZ, S.; SALEEM, F.; AHMAD, S.; UZAIR, M.; RANA, I. A.; ATIF, R. M.; Zaman, Q. U. Using Exogenous Melatonin, Glutathione, Proline, and Glycine Betaine Treatments to Combat Abiotic Stresses in Crops. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 129, 2022. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms232112913>.

MAJUMDAR, R.; BARCHI, B.; TURLAPATI, S. A.; GAGNE, M.; MINOCHA, R.; LONG, S.; MINOCHA, S. C. Glutamate, ornithine, arginine, proline, and polyamine metabolic interactions: the pathway is regulated at the post-transcriptional level. **Frontiers in Plant Science**, v.7, p. 78, 2016. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00078>.

MEDEIROS, W. J. F.; DE OLIVEIRA, F. Í. F.; DE LACERDA, C. F.; DE SOUSA, C. H. C.; CAVALCANTI, L. F.; DA SILVA, A. R. A.; FERREIRA, J. F. Isolated and combined effects of soil salinity and waterlogging in seedlings of *Green Dwarf* coconut. **Semina: Ciências Agrárias**, v.39, p.1459-1468, 2018. Doi: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1459>.

MELO, A. C.; COSTA, S. C. A.; CASTRO, A. F.; SOUZA, A. N. V.; SATO, S. W.; LÍVERO, F. A. R.; LOURENÇO, E. L. B.; BARETTA, I. P.; LOVATO, E. C. W. Hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* promotes anxiolytic effects on rats. **Revista**

Brasileira de Farmacognosia, v. 28, p. 589–593, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.006>.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 228-426, 1959. Doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030>.

NOREEN, S.; FAIZ, S.; AKHTER, S.; SHAH, H. Influence of foliar application of osmoprotectants to ameliorate salt stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Sarhad J. Agric**, v.35, p.1316–1325, 2019. Doi: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2019/35.4.1316.1325>.

OJEWUMI, A. W.; JUNAID, O. E.; FEYIBUNMI, G. O. Morpho-Physiological Assessment of Water Stress Ameliorative Potential of Some Osmoprotectants on Growth Performance and Chlorophyll Contents of Cayenne Pepper (*Capsicum annum*). **Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 7, p. 13–20, 2022. Doi: <https://doi.10.55518/fjpas.uord3136>.

OLIVEIRA, D. S. AQUINO, P. P.; RIBEIRO, S. M. R.; PROENÇA, R. P. C.; SANTANA, H. M. P. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum-Health Science**, v. 33, p. 89-98, 2011. Doi: <https://doi.org/10.4025/actacihealthsci.v33il.8052>.

PAN, T.; LIU, M.; KRESLASKI, V. D.; ZHARMUKHAMEDOV, S. K.; NIE, C.; YU, M.; KUZNETSOV, V. V.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; SHABALA, S. Non-stomatal limitation of photosynthesis by soil salinity. **Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 5, p. 791–825, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1735231>.

PEARSON, D.; COX, H. E. The chemical analysis of foods. New York: **Chemical Publication**, 1976.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, **Vienna, Austria**. 2022. <http://www.R-project.org/>.

SANTOS, R. P.; CRUZ, A. C. F.; IAREMA, L.; KUKI, K. N.; OTONI, W. C. Protocolo para extração de pigmentos foliares em porta-enxertos de videira micropropagados. **Revista Ceres**, v.55, p.356-364, 2008.

SEVERINO, L. S.; MENDES, B. S. S.; SABOYA, R. C. C.; BARROS, L. A.; MARINHO, D. R. F. Nutrient content of solvent-extracted castor meal separated in granulometric fractions by dry sieving and applied as organic fertilizer. **Ind Crops Prod**, v. 161, p. 113-178, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113178>.

SHAHID, S.; SHAHBAZ, M.; MAQSOOD, M.F.; FARHAT, F.; ZULFIQAR, U.; JAVED, T.; FRAZ Ali, M.; ALHOMRANI, M.; ALAMRI, A. S. Proline-Induced Modifications in Morpho-Physiological, Biochemical and Yield Attributes of Pea (*Pisum sativum* L.) Cultivars under Salt Stress, **Sustainability**, v. 14, p. 35-79, 2022. Doi: <https://doi.org/10.3390/su142013579>.

SILVA, T. I.; DIAS, M. G.; ARAUJO, N. O.; SANTOS, M. N. S.; CRUZ, R. R. P.; DIAS, T. J., RIBEIRO, W. S.; GROSSI, J. A. S.; BARBOSA, J. G. Spermine reduces the harmful

effects of salt stress in *Tropaeolum majus*. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 28, p. 687–696, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01165-9>.

SILVA, T. I.; LOPES, A. S.; SILVA RIBEIRO, J. E.; NOBREGA, J. S.; MELO GONÇALVES, A. C.; MELO FILHO, J. S.; DIAS, T. J. Salicylic acid decreases salt stress damage on photosynthetic processes and increases essential oil content in basil ‘Cinnamon’. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v.23, p.4318-4327, 2023. Doi: <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01351-y>.

SLAMA, I.; ADBELLY, C.; BOUCHEREAU, A.; FLOWERS, T.; SAVOUARE, A. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. **Annals of Botany**, v.115, p. 433–447, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mcu239>.

STEFANIAK, A.; GRZESZCZUK, M. Nutritional and biological value of five edible flower species. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, v. 47, p. 128-134, 2019. Doi: <https://doi.org/10.15835/nbha47111136>.

VALSALAM, S.; AGASTIAN, P.; ARASU, M. V.; AL-DHABI, N. A.; GHILAN, A. K. M.; KAVIYARASU, K.; RAVIDRAN, B.; CHANG, S. W.; AROKIYARAJ, S. Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced in-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 191, p. 65–74, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.010>.

XU, W.; LU, N.; KIKUCHINI, M.; TAKAGAKI, M. Continuous lighting and high daily light integral enhance yield and quality of mass-produced nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) in plant factories. **Plants**, v.10, p. 1203, 2021. Doi: <https://doi.org/10.3390/plants10061203>.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v.144, p.307-313, 1994. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2).

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, v. 57, p. 508-514, 1954. Doi: <https://doi.org/10.1042/bj0570508>.