

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS  
VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO ENZIMÁTICA E MOLECULAR EM  
PLANTAS SUBMETIDAS AO DÉFCIT HÍDRICO:  
REVISÃO SISTEMÁTICA E ESTUDO DA EXPRESSÃO  
GÊNICA NA BANANEIRA.**

**Manoela Caldas Santos**

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA**

**2021**

**AVALIAÇÃO ENZIMÁTICA E MOLECULAR EM  
PLANTAS SUBMETIDAS AO DÉFCIT HÍDRICO:  
REVISÃO SISTEMÁTICA E ESTUDO DA EXPRESSÃO  
GÊNICA NA BANANEIRA.**

**MANOELA CALDAS SANTOS**

Bióloga

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2019

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

**Orientadora:** Dra. Claudia Fortes Ferreira

**Co-orientadora:** Janay Almeida dos Santos Serejo

**Co-orientadora:** Eva Maria Rodrigues Costa

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**2021**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S237a	<p>Santos, Manoela Caldas. Avaliação enzimática e molecular em plantas submetidas ao déficit hídrico: revisão sistemática e estudo da expressão gênica na bananeira / Manoela Caldas Santos. _ Cruz das Almas, BA, 2021. 147f.; il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais.</p> <p>Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Claudia Fortes Ferreira. Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Janay Almeida dos Santos Serejo.</p> <p>1.Banana – Enzimas – Regulação. 2.Banana – Melhoramento genético. 3.Aspectos genéticos – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p>
	CDD: 634.772

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCO DA BAHIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**  
**EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS**  
**VEGETAIS**  
**CURSO DE MESTRADO**

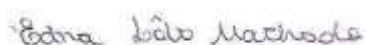
Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de  
Manoela Caldas Santos

Aprovada em: 27 / 09 / 2021



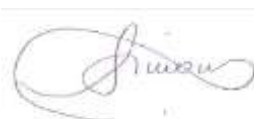
---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Claudia Fortes Ferreira  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
(Orientadora)



---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Edna Lobo Machado  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
(Examinador externo)



---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Simone Alves Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
(Examinador interno)

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Manoel e Jucélia e meu irmão, Matheus por todo respeito, apoio, carinho e paciência. E meus avós Nilo e Benedita (*In memoriam*), que infelizmente perdi ao longo desses dois anos e meio.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo amor, proteção e amparo em todos os momentos da minha vida, mesmo nos momentos mais difíceis, onde não parecia haver saída, sua força sempre me sustentou.

A minha família em especial aos meus pais Manoel Souza e Jucélia Amorim, que são minha base, meus amores, meus exemplos de vida, tudo que sou e serei é graças a eles e por eles. Agradeço também a Matheus Caldas meu irmão, por todos os momentos que fiquei desesperada, achando que não iria conseguir e ele me apoiou, amo vocês.

Aos amigos que fiz ao longo dessa jornada e a aqueles que já me acompanham a muito tempo, e em especial a Taylane Oliveira que acredita mais em mim do que eu mesma e nunca me deixou desistir dos meus sonhos.

A EMBRAPA e a todos os funcionários e em especial ao Laboratório de Biologia Molecular (LBM) e toda equipe maravilhosa que me acolheram com todo carinho do mundo. A Andresa Priscila, Julianna Matos e Anelita Rocha que me deram todo suporte do mundo em laboratório e fora dele também.

Aos professores que participaram da minha formação, em especial a Dr<sup>a</sup> Cláudia Fortes pelos ensinamentos e orientações ao longo do trabalho.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e o Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, por contribuírem com minha formação acadêmica.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo.

Enfim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, me auxiliaram de alguma forma, pois, a ajuda pode ter parecido pequena, mas foi bastante valiosa.

E por fim, mas não menos importante, agradeço a mim mesma por ter conseguido manter o foco e a minha saúde mental, assim conseguindo finalizar este trabalho.

## EPÍGRAFE

“Não sou nada.  
Nunca serei nada.  
Não posso querer ser nada.  
À parte isso, tenho em mim todos os sonhos do mundo.”

Tabacaria- Fernando Pessoa

## **AVALIAÇÃO ENZIMÁTICA E MOLECULAR EM PLANTAS SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO: REVISÃO SISTEMÁTICA E ESTUDO DA EXPRESSÃO GÊNICA NA BANANEIRA .**

**RESUMO:** O déficit hídrico nas plantas facilita o acúmulo de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), que em excesso ativam reações peroxidativas capazes de danificar em células vegetais, pigmentos fotossintéticos, proteínas e lipídios, para proteger contra este ERO, já que as plantas empregam um antioxidantes do sistema de defesa enzimático. Assim, os objetivos deste trabalho foram: desenvolver uma revisão sistemática, sobre a correlação entre a expressão gênica e a atividade de enzimas antioxidantes em plantas tolerantes ao estresse hídrico, com as 15 principais culturas alimentares segundo a FAO; e avaliar a expressão dos genes Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbato peroxidase (APX) e Aquaporina em genótipos de bananeira a fim de validar a tolerância e susceptibilidade ao estresse. A revisão sistemática foi realizada no software gratuito Start, utilizando a estratégia PICOS. Para a análise da expressão gênica em bananeiras, foram utilizados dois diplóides contrastantes 042079-13 (tolerante) e SH3263 (menos tolerante), selecionados in vitro, por meio de avaliação morfológica, utilizando a técnica de RT-qPCR. Com os resultados obtidos na revisão sistemática, foram identificadas várias formas de induzir tolerância ao estresse hídrico, por meio do aumento direto ou indireto na expressão / atividade de enzimas antioxidantes, além da identificação de 40 genes candidatos à tolerância ao déficit hídrico, que podem serem utilizados por programas de melhoramento genético vegetal para o desenvolvimento de transgênicos. Pelos resultados obtidos, pode-se validar por meio da expressão gênica que o genótipo 042079-13, possui maior tolerância ao déficit hídrico, sendo, portanto, o mais recomendado para cruzamentos em programas de melhoramento genético, visando o desenvolvimento de novos cultivares tolerantes.

**PALAVRAS CHAVE:** Musa spp; estresse abiótico; atividade enzimática; expressão gênica.



## **ENZYMATIC AND MOLECULAR EVALUATION IN PLANTS SUBMITTED TO WATER DEFICIT: SYSTEMATIC REVIEW AND STUDY OF GENE EXPRESSION IN BANANA TREES.**

**ABSTRACT:** The water deficit in plants facilitates the accumulation of Reactive Oxygen Species (ROS), which in excess activate peroxidative reactions capable of damaging plant cells, photosynthetic pigments, proteins and lipids, to protect against this ROS, since plants employ an antioxidant of the enzymatic defense system. Thus, the objectives of this work were: to develop a systematic review on the correlation between gene expression and the activity of antioxidant enzymes in plants tolerant to water stress, with the 15 main food crops according to FAO; and evaluate the expression of Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbate peroxidase (APX) and Aquaporin genes in banana genotypes in order to validate stress tolerance and susceptibility. A systematic review was performed on free StArt software, using a PICOS strategy. For the analysis of gene expression in banana plants, two contrasting diploids 042079-13 (tolerant) and SH3263 (less tolerant) were used, selected in vitro, through morphological evaluation, using the RT-qPCR technique. With the results obtained in the systematic review, several ways to induce tolerance to water stress were identified, through the direct or indirect increase in the expression / activity of antioxidant enzymes, in addition to the identification of 40 candidate genes for tolerance to water deficit, which can be selected used by plant breeding programs for the development of transgenics. From the results obtained, it can be validated through gene expression that the 042079-13 genotype has greater tolerance to water deficit, being, therefore, the most recommended for crosses in genetic improvement programs, the development and development of new tolerant cultivars.

**KEY WORDS:** abiotic stress, enzyme activity; gene expression.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>µL</b>	Microlitro
<b>µM</b>	Micromolar
<b>aa</b>	Aminoácido
<b>ABA</b>	Ácido abscísico
<b>APX</b>	Ascorbato peróxidase
<b>AQUA</b>	Aquaporina
<b>CAT</b>	Catalase
<b>Cm</b>	Centímetro
<b>cDNA</b>	DNA complementar
<b>CO<sup>2</sup></b>	Gás carbônico
<b>CRISPR</b>	Conjunto de Repetições Palindrômicas Curtas Regularmente Interespaçadas
<b>Cq</b>	Ciclo ótimo de quantificação
<b>DBD</b>	Descarga por barreira dielétrica
<b>DHAR</b>	Desidroascorbato-redutase
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>dNTP</b>	Desoxirribonucleotídeos trifosfato
<b>EROs</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>FAO</b>	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
<b>FHIA</b>	Fundación Hondureña de Investigación Agrícola
<b>F<sub>i</sub></b>	Frequência absoluta
<b>GPX</b>	Glutathiona peroxidase
<b>GR</b>	Glutathiona redutase
<b>GST</b>	Glutathiona S-transfersases
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrogênio
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Água
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>Km/h</b>	Quilômetro por hora
<b>LOX</b>	Lipoxigenase
<b>MDHAR</b>	Monodesidroascorbato-redutase

<b>mg</b>	Miligrama
<b>mM</b>	Milimolar
<b>Mm</b>	Milímetro
<b>m<sup>2</sup></b>	Metros quadrado
<b>mRNA</b>	RNA mensageiro
<b>ng</b>	Nanograma
<b>NOX</b>	NADPH oxidase
<b>nt</b>	Nucleotídeo
<b>O<sup>2</sup></b>	Oxigênio
<b>OGM</b>	Organismos geneticamente modificados
<b>ONU</b>	Organização das Nações Unidas
<b>PAL</b>	Fenilalanina amônia-liase
<b>pb</b>	Par de base
<b>PCR</b>	Reação em cadeia da polimerase
<b>PEG</b>	Polietilenoglicol
<b>PMGB</b>	Programa de Melhoramento Genético da Banana
<b>POD</b>	Peroxidase
<b>POX</b>	Peroxidase de fenóis
<b>PPO</b>	Polifenoloxidase
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>rRNA</b>	RNA ribossomal
<b>RPM</b>	Rotação por minuto
<b>RT-qPCR/ qPCR</b>	Reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo Real
<b>SOD</b>	Superóxido dismutase
<b>TAE</b>	Tris/Acetato/EDTA
<b>TBE</b>	Tris/Borato/EDTA
<b>UV</b>	Ultra violeta
<b><math>\Delta\Delta Cq</math></b>	Quantificação relativa do ciclo ótimo de quantificação Comparativo

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

- Figura 1.** Pirâmide geral que relata os passos necessários para a confecção de uma revisão sistemática da literatura .....27
- Figura 2.** Diagrama Prisma com o processo de triagem dos artigos selecionados nesta revisão .....31
- Figura 3.** Principais continentes e países produtores de conhecimento sobre a análise enzimática em plantas submetidas a estresse hídrico.....32
- Figura 4.** Culturas que foram trabalhadas em artigos relacionados à análise de enzimas antioxidantes com o tema tolerância à seca nos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática .....35
- Figura 5.** Frequência dos indutores de estresse hídrico trabalhados em artigos dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática .....36
- Figura 6.** Enzimas antioxidantes avaliadas nos trabalhos selecionados em artigos sobre as principais culturas agrícolas e tolerância à seca nos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática .....37
- Figura 7.** Métodos de avaliação enzimática utilizados nos artigos sobre as principais culturas agrícolas e tolerância à seca selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática .....38
- Figura 8.** Técnicas utilizadas na indução de tolerância ao estresse hídrico, nos artigos relacionados à tolerância à seca nas principais culturas agrícolas selecionados dos últimos 5 anos, reconhecidos na revisão sistemática.....41

## Capítulo 2

**Figura 1.** Produtos de PCR convencional para verificação da viabilidade de cDNA visualizados por separação eletroforética em gel de agarose 1%. A seta indica bandas correspondentes ao amplicon gerado pelo primer Tubulina. Poço 1: Marcador 1KB plus (Invitrogen). Poço 2: 042079-13. Poço 3: SH3263. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2020 ..... 76

**Figura 2.** Produtos de PCR convencional para verificação da viabilidade de cDNA visualizados por separação eletroforética em gel de agarose 1%. A seta indica bandas correspondentes ao amplicon gerado pelo primer Tubulina. Poço 1: Marcador 1KB plus (Invitrogen). Poço 2: 042079-13. Poço 3: SH3263. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2020 ..... 82

**Figura 3.** Curvas de dissociação (*melting*) obtidas a partir da amplificação dos genes mostrando um pico bem definido, que confirma amplificação específica da molécula alvo e precisão da pipetagem. (A) gene *SOD*, genótipo 042079-13 (B) gene *SOD*, genótipo SH3263 (C) gene *CAT*, genótipo 042079-13 (D) gene *CAT*, genótipo SH3263 (E) gene *APX*, genótipo 042079-13 (F) gene *APX*, genótipo SH3263 (G) gene *Aquaporina*, genótipo 042079-13 (H) gene *Aquaporina*, genótipo SH3263. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2020 ..... 83

**Figura 4.** Perfil de expressão relativa do gene *SOD*, em amostras de 042079-13 e SH3263, tolerante e menos tolerante ao déficit hídrico, respectivamente, sob diferentes condições de estresse hídrico. As quantificações foram normalizadas utilizando o gene de referência 25S e Tubulina..... 84

**Figura 5.** Perfil de expressão relativa do gene *CAT* em amostras de 042079-13 e SH3263, tolerante e menos tolerante ao déficit hídrico, respectivamente, sob diferentes condições de estresse hídrico. As quantificações foram normalizadas utilizando o gene de referência 25S e Tubulina..... 87

**Figura 6.** Perfil de expressão relativa do gene *APX* em amostras de 042079-13

e SH3263, tolerante e menos tolerante ao déficit hídrico, respectivamente, sob diferentes condições de estresse hídrico. As quantificações foram normalizadas utilizando o gene de referência 25S e Tubulina .....89

**Figura 7.** Perfil de expressão relativa do gene Aquaporina em amostras de 042079-13 e SH3263, tolerante e menos tolerante ao déficit hídrico, respectivamente, sob diferentes condições de estresse hídrico. As quantificações foram normalizadas utilizando o gene de referência 25S e Tubulina.....91

## LISTA DE TABELAS

### Caítulo 1

**Tabela 1.** Genes utilizados em transgenia para induzir a tolerância ao estresse hídrico nas principais culturas agrícolas nos artigos selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática .....42

**Tabela 2.** Reguladores vegetais e enzimas relacionadas relatadas nos artigos selecionados sobre as principais culturas agrícolas e tolerância à seca para revisão sistemática.....45

### Capítulo 2

**Tabela 1.** Descrição dos diploides melhorados de bananeira utilizados no estudo ..... 74

**Tabela 2.** Iniciadores utilizados para avaliação da expressão gênica de bananeira submetida ao estresse hídrico .....79

**Tabela 3.** Leitura das concentrações e relações A260/280 e A260/230 no NanoView, de RNA de bananeiras submetidas ao estresse hídrico .....80

### Tabelas suplementares

**Tabela S1:** Lista dos 148 artigos que foram utilizados para compor a Revisão Sistemática ..... 108

**Tabela S2:** Lista das instituições relatas nos artigos selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática ..... 124

**Tabela S3:** Protocolos que foram utilizados para a avaliação enzimática, trabalhados em artigos dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática ..... 127

**Tabela S4.** Genes e sequência dos primers relacionados a expressão de genes relacionados a enzimas antioxidantes, trabalhadas nos artigos selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática ..... 137



## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	17
<b>CAPÍTULO 1: CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO GÊNICA E A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS TOLERANTES AO ESTRESSE HÍDRICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA</b> .....	21
1 INTRODUÇÃO .....	24
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	27
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
5 REFERÊNCIAS .....	47
<b>CAPÍTULO 2: EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM BANANEIRA</b> .....	60
1 INTRODUÇÃO.....	63
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	74
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	80
4 CONCLUSÃO .....	93
5 REFERÊNCIAS .....	94
<b>ANEXOS</b> .....	108

## INTRODUÇÃO GERAL

Desde que as primeiras plantas apareceram no ambiente terrestre há cerca de 470 milhões de anos, elas desenvolveram estruturas e mecanismos de resistência para suportar a escassez de água. Embora a escassez de água não seja causada apenas pela seca, ela é a principal causa do declínio na produtividade das lavouras, assim, a o déficit hídrico em plantas cultivadas afeta o crescimento e o desenvolvimento das culturas em todo o mundo (LECOEUR; SINCLAIR, 1996; SANTOS; CARLESSO, 1998). De acordo com Vaz et al., (2010), com as mudanças climáticas que vem ocorrendo nos últimos anos, os períodos de seca tendem a aumentar tanto na sua frequência e intensidade, quanto na duração, assim, afetando diretamente a produção mundial de alimentos.

Dentre as culturas que mais são afetadas pelo déficit hídrico, está à bananeira, pois ela possui elevado índice de área foliar, o que resulta em alta transpiração, além do seu sistema radicular ser muito superficial (VAN VOSSELEN et al., 2005). Segundo Lecost (2011), a banana está entre as frutas mais consumidas e comercializadas no mundo, em alguns países é considerada alimento básico, sendo de vital importância para a segurança alimentar, além de ser a segunda fruta mais consumida do planeta (HANDIQUE et al., 2019).

Durante o déficit hídrico ocorre o aumento Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) como os radicais superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radicais hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ) e oxigênio "singlet" ( $O_2$ ), o acúmulo dessas moléculas dentro das células, provocam perdas na eficiência do organismo quanto ao seu desenvolvimento, qualidade de frutos e produção. No entanto, o organismo tenta reagir com produção de enzimas antioxidantes (APX, GPX, CAT, SOD, dentre outras) (YANG et al. 2020, CAVERSAN et al. 2016, CRAMER et al. 2011), essas enzimas possuem a capacidade de desintoxicar essas ERO, assim protegendo o aparato fotossintético do estresse (GRATÃO et al., 2005), equilibrando o ambiente oxidativo (DEUNER, 2007). Segundo Xiong; Zhu (2002) em plantas que são tolerantes ao estresse hídrico, observa-se um aumento acentuado na atividade dessas enzimas antioxidantes.

A análise de enzimas antioxidantes para a seleção de novas variedades tolerantes ao estresse hídrico, é a técnica que mais se destaca, pois conhecer

o sistema antioxidante das plantas é essencial para a seleção de genótipos menos sensíveis ao déficit hídrico. Essas informações básicas sobre a compreensão do mecanismo de resposta ao déficit hídrico podem representar um importante avanço no cultivo de variedades resistentes a esse estresse abiótico, além do estresse hídrico provocar alterações na expressão gênica dos genes que codificam enzimas antioxidantes, alterações estas que podem ser mensuradas em genótipos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico (MORAES et al., 2015), com isso, estudo da expressão gênica devido às mudanças nas atividades das enzimas antioxidantes pode fornecer informações sobre a adaptação molecular das plantas às condições de déficit hídrico (BIAN; JIANG, 2009).

Diante do exposto os objetivos desse estudo foram: 1. Desenvolver uma revisão sistemática com os estudos realizados nos últimos 5 anos com as principais 15 culturas alimentícias mais cultivadas em todo o mundo de acordo com os dados da FAO e *Arabidopsis thaliana*, visando obter dados sobre a correlação entre a expressão gênica e atividade de enzimas antioxidantes em plantas tolerantes ao estresse hídrico; 2. Avaliar o padrão de expressão relativa dos transcritos por RT-qPCR(colocar por extenso) dos genes Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbato peroxidase (APX) e Aquaporina em dois genótipos de bananeira contrastantes submetidos ao déficit hídrico.

## REFERÊNCIAS

BIAN, S; JIANG, Y. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. **Scientia Horticulturae**, v. 120, n. 2, p. 264-270, 2009.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. **SHANKER AK & SHANKER C. Abiotic and biotic stress in plants-Recent advances and future perspectives. Publisher InTech**, p. 463-480, 2016.

CRAMER, G. R. et al. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC plant biology**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2011.

DEUNER, S. Sistema antioxidante em mudas de cafeeiro sob condições de déficit hídrico. 2007.

GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional plant biology**, v. 32, n. 6, p. 481-494, 2005.

HANDIQUE, J.; BORA, S. J.; SIT, N. Optimization of banana juice extraction using combination of enzymes. **Journal of food science and technology**, v. 56, n. 8, p. 3732-3743, 2019.

LECOEUR, JEREMIE; SINCLAIR, T. R. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. **Crop Science**, v. 36, n. 2, p. 331-335, 1996.

LECOST, T. A diversidade genética da banana em figuras. *FruiTrop* 189 , 58-62 (2011).

MORAES, P. F. et al. Genes differentially expressed in castor bean genotypes (*Ricinus communis* L.) under water stress induced by peg. **Bragantia**, v. 74, n. 1, p. 25-32, 2015.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

VAN VOSSELEN, A.; VERPLANCKE, H. ; VAN RANST, E. Assessing water consumption of banana: traditional versus modelling approach. **Agricultural water management**, v. 74, n. 3, p. 201-218, 2005.

VAZ, M. et al. Drought-induced photosynthetic inhibition and autumn recovery in two Mediterranean oak species (*Quercus ilex* and *Quercus suber*). **Tree physiology**, v. 30, n. 8, p. 946-956, 2010.

XIONG, L.; SCHUMAKER, K.n S.; ZHU, J. K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. **The plant cell**, v. 14, n. suppl\_1, p. S165-S183, 2002.

YANG, X. et al. Systems biology and synthetic biology in relation to drought tolerance or avoidance in plants. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 394, 2020.

## **CAPITULO 1**

# **CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO GÊNICA E A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS TOLERANTES AO ESTRESSE HÍDRICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA.**

## **CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO GÊNICA E A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS TOLERANTES AO ESTRESSE HÍDRICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA.**

**RESUMO:** O estresse por déficit hídrico é um dos principais fatores ambientais que limitam o crescimento vegetal, e do ponto de vista agrônomo, diminui a produtividade, como uma forma de tolerar esse estresse que vêm aumentando a cada ano, as plantas desenvolveram diferentes estratégias para suportar as condições de seca, dentre elas empregam um sistema de defesa antioxidante enzimático, que incluem enzimas como : superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR), peroxidase (POX), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione-S-transferase (GST). Diante do exposto, esforços para o desenvolvimento de novas cultivares tolerantes à seca, se tornou fundamental para a manutenção das populações humanas, o que torna a busca por ferramentas e/ou mecanismos que gerem tolerância a seca de interesse para os pesquisadores. Assim, os objetivos deste trabalho foi desenvolver uma revisão sistemática, sobre a correlação entre a expressão gênica e a atividade de enzimas antioxidantes em plantas tolerantes ao estresse hídrico, com as 15 principais culturas alimentares segundo a FAO. A revisão sistemática foi realizada no software gratuito Start, utilizando a estratégia PICOS. Dentre os fatores que geram tolerância à seca está o aumento da atividade/ expressão gênica das enzimas antioxidantes. Dentre os insumos químicos, o uso de reguladores vegetais foi o que mais se destacou, contudo, estes não conferem tolerância a longo prazo, com isso, o uso e o desenvolvimento de organismos geneticamente modificados, seria a técnica mais eficiente para a promoção da tolerância ao déficit hídrico a longo prazo. Nessa revisão sistemática foram coletados dados que identificaram 40 genes candidatos à tolerância ao déficit hídrico, estes que podem ser utilizados por programas de melhoramento genético vegetal, para o desenvolvimento de transgênicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** estresse abiótico, atividade enzimática; expressão genética; tolerância ao estresse

## **CORRELATION BETWEEN GENE EXPRESSION AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN WATER STRESS TOLERANT PLANTS: A SYSTEMATIC REVIEW.**

**ABSTRACT:** Stress due to water deficit is one of the main environmental factors that limit plant growth, and from an agronomic point of view, it decreases productivity. As a way to tolerate this stress that has been increasing every year, plants have developed different strategies to withstand drought conditions, among them employ an enzymatic antioxidant defense system, which include enzymes such as: superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR), peroxidase (POX), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione-S-transferase (GST). Given the above, efforts to develop new drought-tolerant cultivars have become essential for the maintenance of human populations, which makes the search for tools and/or mechanisms that generate drought tolerance of interest to researchers. Thus, the aim of this work was to develop a systematic review of the correlation between gene expression and the activity of antioxidant enzymes in plants tolerant to water stress, with the 15 main food crops according to FAO. The systematic review was carried out using the free Start software, using the PICOS strategy. Among the factors that generate drought tolerance is the increased activity/gene expression of antioxidant enzymes. Among the chemical inputs, the use of plant regulators stood out the most, however, they do not provide long-term tolerance, therefore, the use and development of genetically modified organisms would be the most efficient technique for promoting tolerance to long-term water deficit. In this systematic review, data were collected that identified 40 candidate genes for tolerance to water deficit, which can be used by plant breeding programs for the development of transgenics.

**KEY WORDS:** abiotic stress, enzyme activity; gene expression; stress tolerance



## 1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU) (2019), a população mundial em 2050, será superior a 9,5 bilhões, podendo alcançar o seu pico por volta do final do atual século, chegando a quase 11 bilhões de pessoas em 2100. As projeções populacionais indicam crescimento acelerado e contínuo nas próximas décadas, além do aumento do consumo per capita que geram um aumento na demanda de alimentos em todo o mundo. Além da expansão das cidades, as restrições de uso de terra projetadas para as próximas décadas e o impacto das mudanças climáticas, fazem cada vez mais presente o debate sobre a incapacidade de atender às necessidades humanas por alimentos (SAATH; FACHINELLO, 2018). Dentre os impactos associados às mudanças climáticas, o aumento da temperatura global previsto em um curto prazo, pode estar associado a uma intensificação da seca meteorológica (LOBELL; GOURDJI, 2012).

A seca meteorológica é um evento climático caracterizado por precipitações baixas anormais, muitas vezes acompanhada por temperaturas acima do normal, períodos de condução de solos secos e uma diminuição nos níveis de armazenamento de água (rios, lagos, açudes, reservatórios) (MEHRAN et al., 2017). A seca severa afeta milhões de pessoas todos os anos, impactando o uso da água na agricultura, pois altera diferentes funções das plantas, limitando principalmente o crescimento e a produção das mesmas (ALIZADEH et al., 2014). O estresse por déficit hídrico é um dos principais fatores ambientais que limitam o crescimento vegetal, e do ponto de vista agrônomo, diminui a produtividade (SOUZA; BARBOSA, 2015). Com isso, outras características da planta são afetadas, como a altura, peso seco do caule, peso da folha, área e número de nós, que refletem diretamente na baixa produção e qualidade dos alimentos (LOKA; OOSTERHUIS; RITCHIE, 2011; FAROOQ et al., 2012; SAHITO et al., 2015; CHALLINOR et al., 2016; FAHAD et al., 2017). Como uma forma de tolerar esse estresse que vêm aumentando a cada ano, as plantas desenvolveram diferentes estratégias para suportar as condições de seca, podendo ser elas: morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares. A tolerância à seca direciona a capacidade das plantas crescerem satisfatoriamente, mesmo quando expostas ao

déficit hídrico e, nas lavouras, descreve a capacidade de manter uma perda mínima de produção em períodos de escassez de água (FANG et al., 2014).

Em nível celular, o déficit hídrico pode levar ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO), que em excesso, ativam reações peroxidativas que são capazes de danificar as células das plantas, pigmentos fotossintéticos, DNA, proteínas e lipídios (MITTLER et al., 2011). Dentre algumas formas reativas de oxigênio temos: oxigênio “singlet” ( $O_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $HO\cdot$ ) e ânion superóxido ( $O_2^-$ ) (MITTLER, 2002).

Para se proteger contra essas EROs, as células e suas organelas como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos empregam um sistema de defesa antioxidante que incluem componentes enzimáticos e não enzimáticos. Os componentes antioxidantes enzimáticos incluem: superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR), peroxidase (POX), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione-S-transferase (GST) (HASANUZZAMAN et.al, 2012). O equilíbrio entre a produção de ERO e as atividades das enzimas antioxidantes, determina se ocorrerá ou não, a sinalização oxidativa e/ou danos às plantas (MØLLER et al., 2007).

A tolerância à seca é um processo altamente complexo e está associado com a regulação da expressão de múltiplos genes induzidos durante o estresse hídrico (LANG; BUI, 2008). O estudo da expressão gênica sobre às mudanças nas atividades das enzimas antioxidantes pode fornecer importantes informações sobre a adaptação molecular das plantas às condições de déficit hídrico (BIAN; JIANG, 2009). Segundo Mittler (2003), a tolerância à seca pode ser garantida pelo aumento da expressão dos genes que codificam as enzimas antioxidantes, estas mantem o nível ótimo das ERO em vários compartimentos celulares. Outro fator a ser mencionado que permite a aclimatação ao estresse são os reguladores vegetais, pois, além de regular diversos processos nas plantas, (BHARGAVA; SAWANT, 2013) geram o aumento da atividade das enzimas antioxidantes (FARZANE et al., 2020; LOULFY et al., (2020); BHARDWAJ et al., 2017), o que promove a tolerância ao déficit hídrico.

Nos últimos anos com o avanço da biologia molecular e o advento da transgenia, a produção de Organismos geneticamente modificados (OGM), que apresentem tolerância ao estresse, se tornou cada vez mais promissor. Contudo,

para que esses OGMs sejam desenvolvidos, a identificação de genes que são modulados por estresses é de fundamental importância. Muitos trabalhos mostram que esses genes possuem um grande potencial biotecnológico em plantas modelo ou de interesse agrônomo (CHOUNG et al., 2021; SRIVASTAVA et al., 2019; GA et al., 2011; AGARWAL et al., 2010; AGARWAL et al., 2008). Em geral, as plantas transgênicas que superexpressam genes modulados por estresses abióticos, como o déficit hídrico, apresentam uma maior tolerância ao estresse, o que corrobora a ideia de que a seleção de genes candidatos, possui um alto potencial biotecnológico (ZHANG et al., 2021; SHEKHAR et al., 2019; DUBEY et al., 2019; MAGWANGA et al., 2018; KANTAR et al., 2011).

Ao considerar a importância da temática, sua contextualização, conceituação e dimensões, estudos têm revelado um interesse crescente em torno da tolerância ao déficit hídrico, modulado pelas enzimas antioxidantes, assim, ressalta-se que a relevância da temática, é decorrente de pesquisas, as quais objetivam o desenvolvimento de plantas tolerantes ao déficit, passando a ser um resultado esperado pelos programas de melhoramento. Dessa forma, os pesquisadores têm buscado realizar investigações em torno dos assuntos anteriormente relatados e posteriormente têm se debruçado em analisar os resultados dessas pesquisas, a partir do desenvolvimento de revisões sistemáticas.

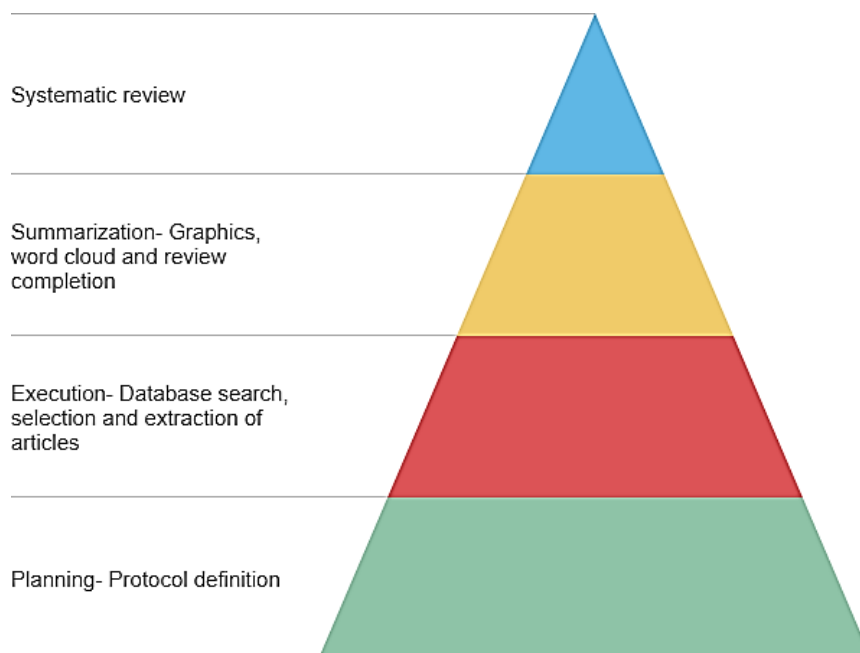
No que se refere a revisão sistemática, ela é o caminho mais coerente para tentar esclarecer resultados contraditórios, ao se estudar um determinado tema, pois, apoia-se apenas nos estudos de melhor qualidade sobre o assunto (GALVÃO; PEREIRA, 2014), além do fato de que os artigos tradicionais de revisão não cobrem todos os artigos publicados, sobre determinado tema, assim, ideias de projetos baseadas nesses artigos de revisão tradicionais podem às vezes não projetar a realidade sobre o estado da arte do tema selecionado (VAN DINTER et al., 2021).

Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma revisão sistemática com os estudos realizados nos últimos 5 anos com as quinze Principais culturas alimentícias cultivadas em todo o mundo de acordo com os dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) e *Arabidopsis thaliana*, visando obter dados sobre a correlação entre a expressão

gênica e a atividade de enzimas antioxidantes em plantas tolerantes ao estresse hídrico. A escolha da inclusão da *Arabidopsis thaliana* foi devido ao fato de que ela é um organismo modelo das plantas, sendo assim é uma das mais utilizadas em trabalhos de botânica.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A realização da revisão sistemática foi conduzida por meio do software livre StArt (State of the Art through Systematic Review) versão Beta. 3.0.3, desenvolvido pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), como uma ferramenta computacional capaz de auxiliar nas três etapas fundamentais da sua construção de uma revisão sistemática, sendo elas: planejamento, execução e sumarização (Figura 1) (SANTOS et al., 2018). O software encontra-se disponível em: [http://lapes.dc.ufscar.br/tools/start\\_tool](http://lapes.dc.ufscar.br/tools/start_tool).



**Figura 1.** Pirâmide geral, que relata os passos necessários para a confecção de uma revisão sistemática da literatura.

## 2.1 Planejamento

Nessa etapa, um protocolo foi preenchido de acordo com as seguintes informações solicitadas: título do artigo, autores, objetivo e ou objetivos, palavras-chave, questões de pesquisa, fontes de pesquisa, critérios de inclusão / exclusão e definição do tipo de estudo. O protocolo foi seguido durante todo o processo de revisão, além da elaboração de questões secundárias, as quais foram respondidas durante a escrita da revisão sistemática, sendo elas: Dentre as 15 culturas mais produzidas no mundo, segundo a ONU, quais culturas são mais trabalhadas em artigos sobre enzimas antioxidantes relacionadas à tolerância ao estresse hídrico?; Quais os locais onde são mais produzidos artigos sobre o tema?; Quais genes e enzimas antioxidantes estão relacionados com a tolerância ao estresse hídrico?; Quais são os métodos utilizados nos experimentos para propiciar um ambiente de estresse hídrico às plantas? (Nível de déficit hídrico); Que métodos são mais relatados para avaliar a atividade enzimática?; Existe relação entre enzimas antioxidantes, expressão de genes e reguladores vegetais (Ácido jasmônico, Ácido abscísico)?; Quais os mecanismos utilizados para aumentar a tolerância ao estresse hídrico?; Quais genes estão sendo utilizados em organismos transgênicos para aumentar a tolerância ao estresse hídrico?

## 2.2 Execução

A estratégia adotada para responder as questões levantadas na etapa do planejamento foi a Population Intervention Comparison Outcome Study design (PICOS). Essa estratégia orienta a construção da pergunta de pesquisa e da busca bibliográfica e permite que o profissional, da área de pesquisa, ao ter uma dúvida ou questionamento, localize, de modo acurado e rápido, a melhor informação científica disponível (SANTOS et.al, 2007). Para a sua elaboração 5 itens devem ser respondidos, sendo eles: P: população/pacientes; I: intervenção; C: comparação/controle; O: desfecho/outcome; S: desenho do estudo.

## 2.3 Pesquisa

As pesquisas eletrônicas foram realizadas nas bases de dados selecionadas: Google Acadêmico (<https://scholar.google.com.br>), Springer (<https://link.springer.com>), Scopus (<http://www.scopus.com/>), Web of Science (<http://apps.isiknowledge.com>), PubMed Central (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc>) e Portal de Periódicos CAPES (<https://www.periodicos.capes.gov.br>), utilizando como critério inicial publicações disponibilizadas entre janeiro de 2017 a 12 de abril de 2021. As buscas automáticas foram realizadas a partir dos temas localizados nos títulos, palavras-chave e resumos, usando a mesma string de pesquisa padronizada com as seguintes palavras-chave: ("antioxidant enzyme activities") AND ("gene expression" OR RT-qPCR) AND ("deficit hydric" OR "water stress" OR "drought stress") AND ("drought tolerance") AND ("reactive oxygen species" OR "hydrogenperoxide").

### 2.3.1 Seleção e extração

Na etapa de seleção todos os artigos importados para o software StArt foram classificados através de três critérios: 1) aceitos, 2) rejeitados e 3) excluídos por duplicação, levando em consideração como aceitos, os artigos que continham os termos adotados na sequência de busca no título, resumo ou palavras-chave.

Na fase de extração uma segunda seleção foi realizada, levando em consideração apenas os artigos aceitos na etapa de seleção inicial. Nessa fase foi adotado um único critério de inclusão de artigos, sendo ele: Artigos que contenham no título, resumo ou palavras-chave, os termos: "antioxidant enzyme activities, gene expression, RT-qPCR, deficit hydric, water stress, drought stress, drought tolerance" e seis critérios de exclusão, sendo eles: Teses, dissertações, manuais; Artigos de revisão; Revistas sem fator de impacto; Trabalhos não escritos em inglês; Trabalhos que não usem como cultura uma das 15 culturas alimentícias mais cultivadas de acordo com a FAO e/ou *Arabidopsis thaliana*; Trabalhos que fujam do tema.

Um critério foi adotado para restringir o número de artigos, pois, realizar uma revisão sistemática com todos os artigos e culturas no tema escolhido para a realização desta, tornaria inviável a sua realização, sendo assim, foram

selecionados apenas artigos em que os trabalhos foram evoluindo as 15 culturas alimentícias mais cultivadas de acordo com a FAO, sendo elas: Cana-de-açúcar, Milho, Trigo, Arroz em casca, Arroz (equivalente ao arroz moído), Fruto do óleo de palma, Batata, Soja, Legumes frescos, Mandioca, Beterraba sacarina, Tomate, Cevada, Banana, Melancia e *Arabidopsis thaliana*, foram selecionados para compor esta revisão sistemática.

## 2.4 Sumarização

Nessa etapa foi realizada a organização dos dados obtidos dos artigos e conseqüentemente a elaboração de gráficos e tabelas a fim de compor a revisão sistemática.

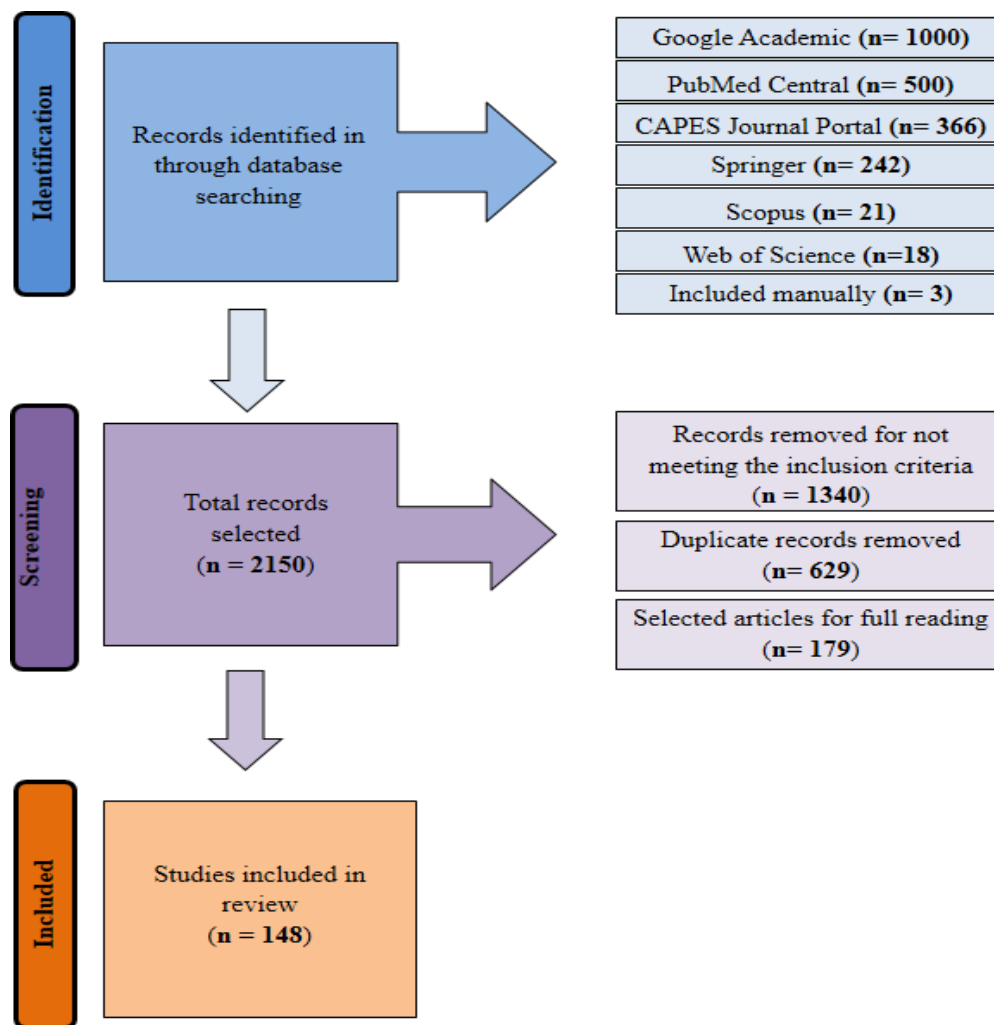
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Buscas e seleção

As buscas nas bases de dados identificaram um total de 2147 e posteriormente 3 foram adicionados manualmente, assim performando um total de 2150 artigos. A base Google Acadêmico contribuiu com 1000, ou seja, 47% dos artigos inicialmente selecionados, sendo assim a base de dados mais expressiva. As demais bases contribuíram com: PubMed Central com 500 artigos referente a 23%; Periódico Capes com 366 (17%); Springer com 242 (11%); Scopus com 21 (1%) e Web of Science 18 (1%) (**Figura 2**)

Durante o processo de seleção, dentre os 2147 artigos selecionados inicialmente, nas bases de dados, 629 foram duplicados entre as bases de dados e 1340 não atenderam aos critérios de inclusão. Na etapa de seleção dos artigos que compreende a leitura por completo, foram analisados 179, destes, 145 foram selecionados e 3 foram adicionados manualmente, assim um total de 148 artigos (**Tabela S1**) foram selecionados para compor esta revisão sistemática (**Figura 2**). A grande quantidade de artigos encontrados pode indicar um interesse crescente nos impactos potenciais das mudanças climáticas na produção de alimentos, interferindo diretamente na segurança alimentar

mundial, pois, devido ao aquecimento global das últimas décadas, os recursos hídricos estão cada vez mais escassos (ZHAO; WANG, 2020). Com isso, os eventos de seca, mostraram uma tendência ascendente óbvia (LIU et al., 2016) e a seca não só causa enormes perdas para a economia social, mas, especialmente à produção agrícola global (HAN et al., 2014).

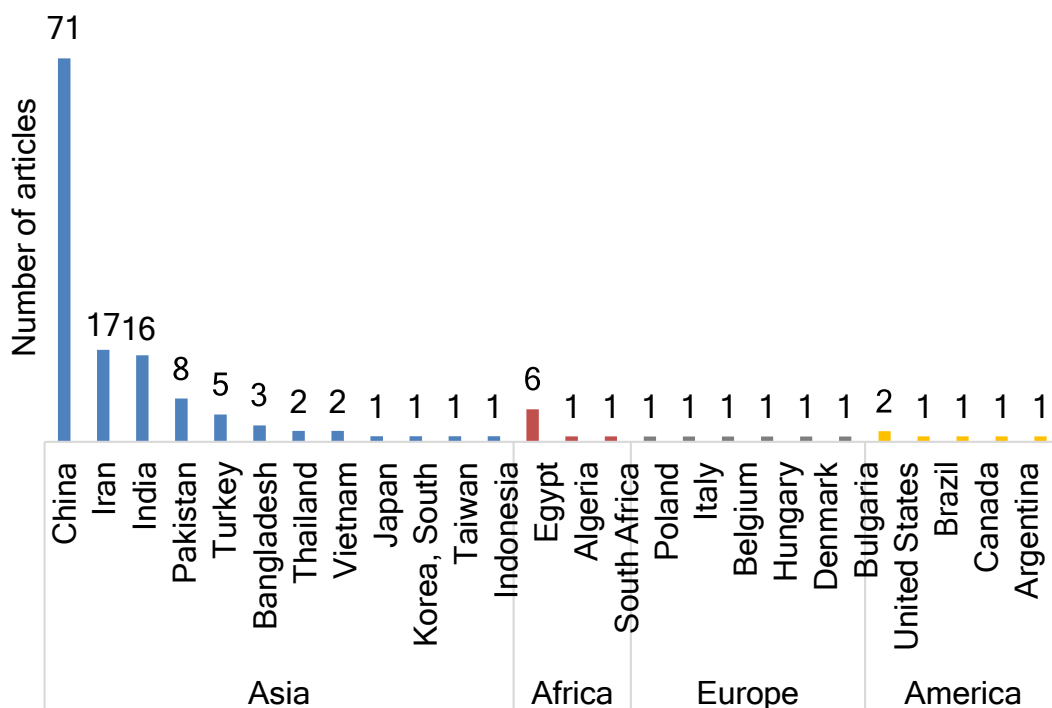


**Figura 2.** Diagrama Prisma com o processo de triagem dos artigos selecionados nesta revisão.



### 3.2 Local de origem e instituições

A maioria dos trabalhos foi desenvolvido no continente Asiático, contando com 128 (86%) dos artigos selecionados. O continente Africano foi responsável por 9 artigos (6%) e os continentes Americano e Europeu com 6 artigos (4%), cada. Dentre os países, a China foi quem mais desenvolveu artigos sobre o tema, com o total 71 artigos (48%), seguido pelo Irã e Índia com 17 e 16 artigos (11%), respectivamente (**Figura 3**). Na Ásia também estão os principais institutos / ou instituições de pesquisa que se dedicam aos estudos de enzimas antioxidantes correlacionadas ao déficit hídrico (**Tabela S**), essa concentração da pesquisa existente principalmente na Ásia, mais especificamente na China, pode ser explicado, com o fato de que a China se destaca no cenário agrícola mundial, não só como uma das maiores produtoras, mas também como uma das grandes consumidoras, além de ser atualmente a maior importadora de alimentos, e também, alimentar um quinto da população mundial (FAO, 2020). Desse modo, o seu interesse em trabalhos envolvendo culturas alimentares é altamente pertinente.



**Figura 3.** Principais continentes e países produtores de conhecimento sobre análise enzimática em plantas submetidas a estresse hídrico.

### 3.3 Culturas

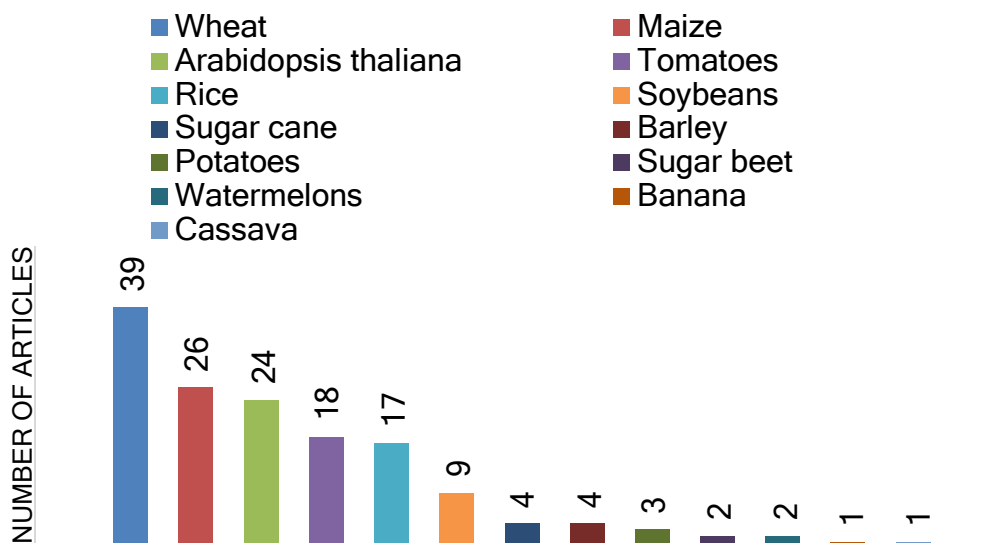
Dentre das 15 culturas relatadas pela FAO, 12 foram relatadas nos artigos, sendo elas: Trigo, Milho, Cana-de-açúcar, Arroz em casca, Batata, Soja, Mandioca, Beterraba sacarina, Tomate, Cevada, Banana, Melancia. Também foram encontrados trabalhos envolvendo a *Arabidopsis thaliana*. Desse modo ao total 13 culturas foram relatadas.

O trigo foi a cultura que se mais se destacou, sendo trabalhada em 39 artigos, seguido pelo milho, *Arabidopsis thaliana*, tomate e arroz que tiveram respectivamente, um total de 26, 24, 18 e 17 artigos trabalhados (**Figura 4**). O trigo, milho, arroz, a soja e a cevada contribuíram com 68% dos artigos, esse número expressivo de estudo sobre estas culturas pode ser explicado, pelo fato de que juntos, elas representam mais 90% da produção global de grãos (FAO, 2019), o que gera um alto interesse do mercado em genótipos tolerantes ao déficit hídrico, além do fato de que a grande maioria dos artigos foi produzido na China, que detém um quarto da produção mundial de grãos (FAO, 2020). Assim como relatado para as culturas supracitadas, o tomate, que foi a quarta cultura relatada nos artigos selecionados, também tem como o seu maior produtor mundial a China, o que pode explicar o porquê de 12% dos trabalhos terem sido com esta cultura. A *Arabidopsis thaliana*, teve 16% dos artigos selecionados, sendo a terceira cultura mais trabalhada, este interesse em trabalhos envolvendo-a a cultura dá, pois, ela é uma das espécies mais utilizadas na pesquisa científica, pois, possui o ciclo de vida curto, sendo assim, utilizada em pesquisas na área da genética, bioquímica e fisiologia, ajudando no desenvolvimento de cultivares cada vez mais resistentes, adaptadas e produtivas, através da transferibilidade do conhecimento gerado com ela para as demais culturas de interesse agrônomo (DELATORRE; SILVA, 2008).

As demais culturas trabalhadas nos artigos que compuseram a revisão sistemática foram: cana de açúcar (4), batatas (3), beterraba sacarina e melancia (2), mandioca e banana (1). A cana de açúcar possui a capacidade de armazenar concentrações significativas de sacarose, a qual está vinculada a três importantes agroindústrias: açúcar, álcool e aguardente (OMETTO, 2000). A batata é considerada a terceira cultura alimentar mais importante do planeta, e a primeira commodity não grão. Estima-se que mais de um bilhão de pessoas consomem

batata diariamente no mundo. Sua produção mundial anual supera 330 milhões de toneladas em uma área de 18 milhões de hectares (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2016). A beterraba sacarina possui grande importância econômica devido ao seu alto valor nutritivo e industrial, tendo também um destaque para a produção de etanol e açúcar na Europa, contribuindo com 30% da produção (EL BASSAM, 2010). A melancia possui grande importância socioeconômica por ser cultivada principalmente por pequenos agricultores. Tem fácil manejo e menor custo de produção quando comparada a outras hortaliças, constituindo-se em uma importante cultura para o Brasil pela demanda intensiva de mão-de-obra rural (ROCHA, 2010). A mandioca é alimento rico em carboidratos, estima-se que ela seja um dos principais alimentos energéticos que abastece cerca de 500 milhões de pessoas no mundo, especialmente nos países em desenvolvimento (SOUZA et al., 2012). A banana contribui diretamente para a segurança alimentar de famílias rurais, além de ser fonte de emprego e renda, proporcionando postos de trabalho (EAKIN et al. 2014).

Como demonstrado no parágrafo anterior a cana de açúcar, batata, beterraba sacarina, melancia, mandioca e a banana, possuem grande importânciasocioeconômica, contudo o número de trabalhos envolvendo estas culturas foi baixo. Portanto, novos trabalhos envolvendo a análise de enzimas antioxidantes relacionados à tolerância à seca, são altamente recomendados devido à importância dessas culturas para a sustentabilidade do agronegócio mundial.

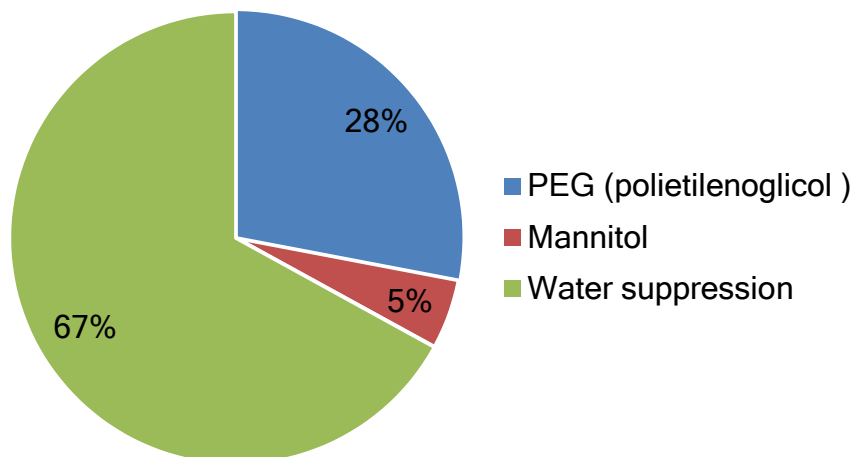


**Figura 4.** Culturas trabalhadas em artigos relacionados à análise de enzimas antioxidantes com o tema tolerância à seca nos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

### 3.4 Métodos de indução ao estresse hídrico

Foram encontrados três meios distintos de indução ao estresse hídrico nos genótipos que foram trabalhados e estes foram agrupados em agentes físicos e químicos. Os agentes químicos indutores de estresse hídrico encontrados nos artigos foram: Polietilenoglicol (PEG) e manitol. Para o agente físico foi utilizada apenas a suspensão da rega. A maioria dos artigos empregou método físico para a indução do estresse hídrico, sendo este utilizado em 67% dos artigos selecionados, seguido pelo agente químico PEG que foi utilizado em 28% e por último o Manitol com 5% (Figura 5).

O Manitol e o PEG são compostos orgânicos com ação osmótica, quando estão em solução líquida, são usados para simular condições de déficit hídrico (HU et al., 2006). Segundo Braccini et al. (1996), a solução de manitol pode ser utilizada como estratégia para elucidar dúvidas vinculadas ao desempenho fisiológico inicial, simulando através da sua adição no solo e condições de baixa umidade. O PEG tem sido utilizado com sucesso em trabalhos de pesquisa para simular os efeitos do déficit hídrico nas plantas, especialmente pelo fato de que o seu alto peso molecular impede a sua penetração nas células, assim, não é degradado e não causar toxidez (HARDEGREE; EMMERICH., 1994; SASEGAWA et al., 1984).



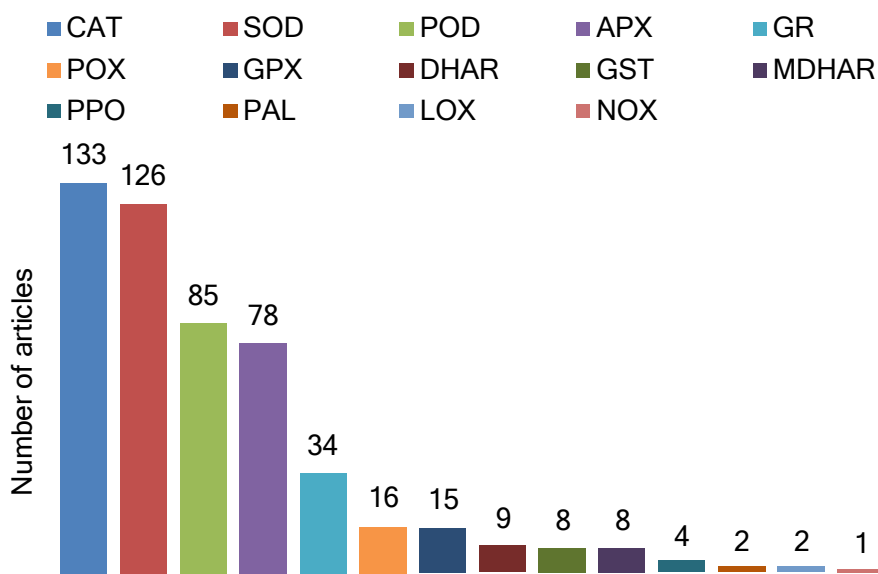
**Figura 5.** Frequência dos indutores de estresse hídrico, trabalhados em artigos dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

### 3.5 Atividade enzimática

Todos os 148 artigos que foram avaliados para compor esta revisão sistemática trabalharam com análise de enzimas antioxidantes, como uma ferramenta para que de forma direta ou indiretamente pudesse avaliar os efeitos do déficit hídrico sobre a maquinaria antioxidante, ou permitir a seleção de cultivares tolerantes ao estresse. As plantas tolerantes ao estresse hídrico ativam mecanismos enzimáticos na proteção contra espécies reativas de oxigênio (EROs), constituindo o sistema de defesa antioxidante (HASANUZZAMAN et al., 2013). Evidências apontam a importância de um sistema antioxidativo na tolerância das plantas ao estresse hídrico (KOFFLER et al., 2014; NAHAR et al., 2015).

Foi identificado um total de 14 enzimas antioxidantes distintas, sendo elas: CAT (Catalase), SOD (Super óxido dismutase), POD (Peróxidase) e APX (Ascorbato peróxidase), GR (Glutationa redutase); POX (Peróxidase de fenóis); GPX (Glutationa peróxidase); DHAR (Desidroascorbato-redutase); MDHAR (Monodesidroascorbato-redutase) e GST (Glutationa S-transfereases); PPO (Polifenoloxidase); PAL (Fenilalanina amoniólise) e LOX (Lipoxigenase); NOX (NADPH oxidase). Entre as enzimas identificadas, a que apresentou uma maior representatividade foi a CAT, sendo avaliada em 134 artigos, seguida pela SOD, POD e APX, que foram avaliadas em 127, 86 e 79 artigos respectivamente. A

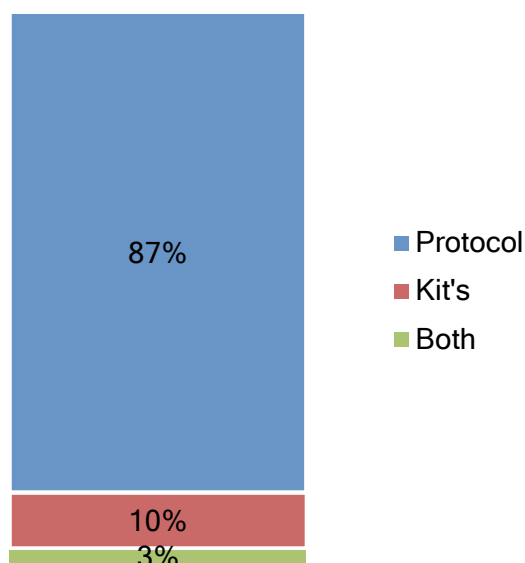
escolha dessas enzimas para avaliação na grande maioria dos trabalhos pode ser explicado pelo fato de que, a SOD, durante um estresse abiótico é conhecida como a primeira linha de defesa, catalisando a dismutação do ânio superóxido em peróxido de hidrogênio (ACHARYA; GHASKADBI, 2010), que posteriormente é transformado em água e oxigênio pela CAT, APX e POX, sendo assim, elas são as principais reguladoras dos níveis intracelulares do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (MITTLER, 2002). Outras enzimas antioxidantes também foram avaliadas em menor número, sendo elas: GR (34); POX (17); GPX (15); DHAR (9); MDHAR e GST (8); PPO (4); PAL e LOX (2); NOX (1) (**Figura 6**).



**Figura 6.** Enzimas antioxidantes avaliadas nos trabalhos selecionados em artigos dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

Para a avaliação da atividade enzimática antioxidante, foram empregados dois tipos de métodos distintos nos trabalhos. O primeiro através de Kit's de detecção específicos para cada enzima, estes que foram utilizados com exclusividade em 11% dos artigos, o segundo método foi através de protocolos de detecção, esses que foram empregados em 85% dos trabalhos e em 4% foram utilizados os dois métodos em conjunto, onde para umas enzimas era empregado o Kit e para outras o protocolo (**Figura 7**). Apesar da facilidade que o emprego de Kit's de detecção pode trazer as análises antioxidantes, eles foram menos empregados nos trabalhos analisados quando comparado aos

protocolos. Essa diferença encontrada entre o uso de Kit's e protocolos pode ser explicado pela baixa disponibilidade e o alto custo que estão associados aos Kit's, assim, quando comparados aos kit's, os protocolos permitem fazer o mesmo número de análises com um custo mais reduzido.



**Figura 7.** Métodos de avaliação enzimática utilizados nos artigos sobre as principais culturas agrícolas e tolerância à seca selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

### 3.6 Protocolos para avaliação da atividade enzimática

Foram observados diversos protocolos distintos para a análise das enzimas antioxidantes (**Tabela S3**). Para a SOD, 58 protocolos distintos foram empregados nos trabalhos, sendo aqueles que foram mais utilizados: Giannopolitis e Ries (1977), foi aplicado em 20 artigos e Beauchamp e Fridovich (1971) em 19 artigos. Para a CAT foram utilizados 68 protocolos distintos, sendo o mais aplicado Aebi (1984), em 31 artigos. Para enzima POD, 54 protocolos diferentes foram relatados, sendo Chance e Maehly (1955) o utilizado, em 7 trabalhos. Para a APX foi relatado 32 protocolos, sendo Nakano e Asada (1981), o mais empregado, em

44 trabalhos. As demais enzimas foram: A DHAR que apresentou cinco protocolos, sendo Nakano e Asada (1981) (4) o mais aplicado. A GR apresentou 26, como destaque a Foyer e Halliwell (1976) (4). A POX apresentou 14

protocolos, sendo Seevers et al., (1971) e Kumar e Khan (1982) os mais empregados, sendo cada um usado em 2 artigos. Para a GPX, 11 protocolos foram utilizados, sendo Chance e Maehly, (1955) (2) o mais aplicado. A MDHAR apresentou 7 protocolos sendo Hossain et al., (2010) (2) o mais utilizado. Para a GST 6 protocolos foram apresentados, a PAL 2, a PPO 3, a LOX 2 e a NOX 1, nesses trabalhos, cada protocolo apresentado foi empregado apenas uma vez.

### 3.7 Genes relacionados às enzimas antioxidantes

Dos 148 artigos analisados, 34 deles trabalham com expressão de genes relacionados a enzimas antioxidantes. Compreender a associação da atividade da enzima antioxidante e da expressão gênica com a variação genética na tolerância à seca é importante para entender melhor os fatores moleculares que controlam a defesa antioxidante para a tolerância à seca (XU; HAN; HUANG, 2011).

A enzima APX foi a mais avaliada, sendo utilizada em 20 artigos, seguida pela CAT (19) e SOD (15). Segundo Shatma et al., (2020) a capacidade em manter a atividade da SOD, CAT e APX em níveis mais elevados sobre condições de estresse hídrico é essencial para manter o equilíbrio entre a formação e remoção das EROs no ambiente intracelular. As enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX são sensíveis o suficiente às condições de estresse abiótico para servir como indicadores de estresse.

Os demais genes relacionados a enzimas antioxidantes encontrados nos trabalhos foram: GR (4), MDHAR (4), GPX (4), DHAR (3), POX (3) e LOX (1) (**Tabela S4**).

### 3.8 Métodos de indução à tolerância

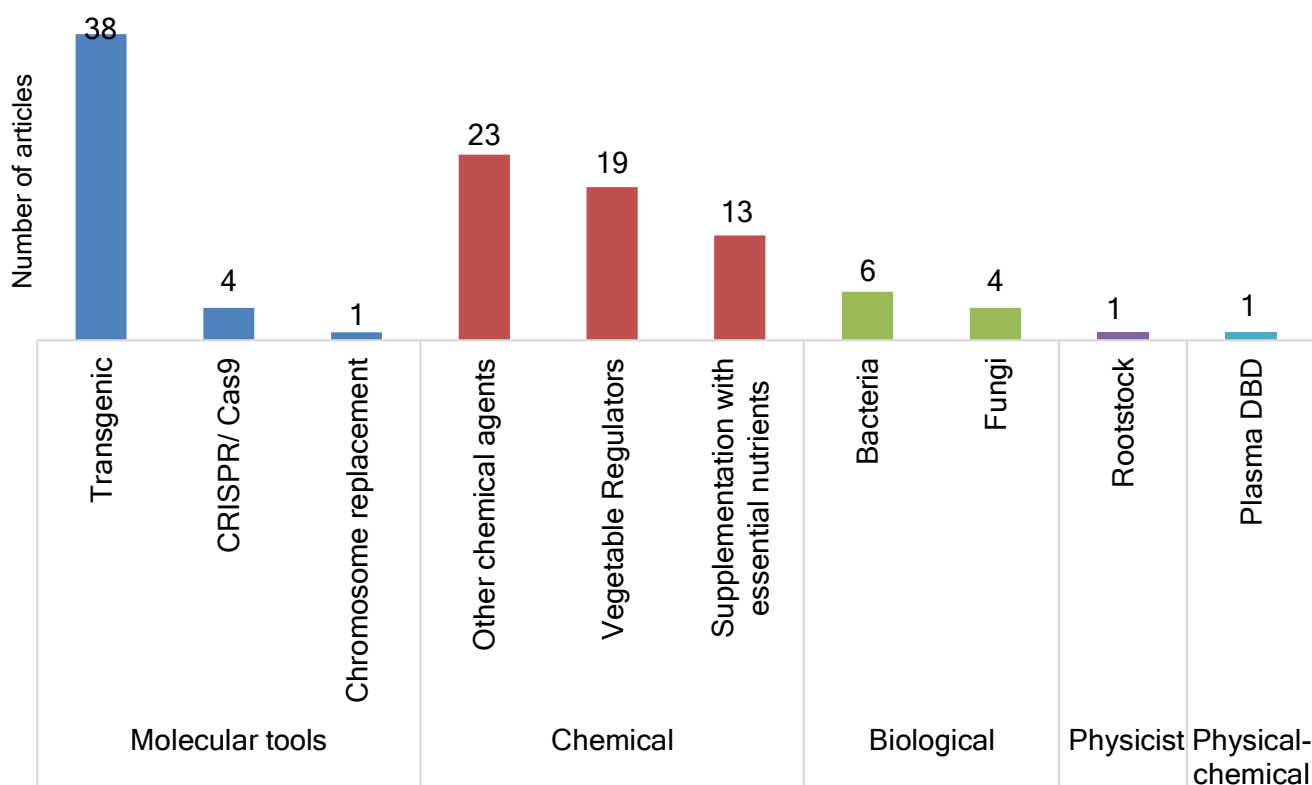
Foram relatados diversos meios de indução a tolerância à seca nas cultivares, sendo eles por meio de indução biológica, química, física, físico-química e a nível molecular (**Figura 8**). Ali et al. (2017) demonstraram que diversas substâncias e técnicas são passíveis de induzir a tolerância a seca em plantas, sendo algumas delas: fitormônios, nanopartículas, rizobactérias, diversos mecanismos moleculares, como exemplo a transgenia.



A indução biológica foi relatada através da inoculação de algumas Bactérias, sendo elas: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Dry-Caribbean Bacillus* spp., *Proteus mirabilis* R2, *Pseudomonas balearica* RF-2, *Cronobacter sakazakii* RF-4, *Pseudomonas putida* GAP-P45, *Mitsuaria* sp. e *Burkholderia* sp. (HUANG et al., 2017; GHOSH et al., 2018; WANG et al., 2019; GALVÃO et al., 2020; ZIA et al., 2021) e fungos, sendo eles: *Piriformospora indica*, *Rhizophagus irregularis*, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis coronatum* e *Glomus versiforme* (XU et al., 2017; HOSSEINI et al., 2018; BEGUM et al., 2019; TSAI et al., 2020; HADDIDI et al., 2020).

A indução química foi observada através de reguladores vegetais (Putrescina, Estrigolacotona, Brassinolide, Poliamine, Ácido Salicílico, Ácidos Fenólicos, Ácido Abscísico, Ácido Giberelérico, Ácido Jasmônico e Ácido Ascórbico), suplementação com nutrientes essenciais, sendo eles: Nitrogênio (AGAMI et al., 2018), Zinco (ZHANG et al., 2021; SHEMI et al., 2021;), Ácido bórico (AYDIN et al., 2019), Cobre (ZHANG et al., 2019), Fosfato inorgânico (JIANG et al., 2021) e Enxofre (MAJEED et al., 2018; SEHAR et al., 2020). Além de outros agentes químicos que promoveram tolerância ao déficit hídrico, a serem citados: Bioestimulante a base de Beterraba sacarina (NOMAN et al., 2018), Silicato de sódio (HAMEED et al., 2021), Silício (MAGHSOUDI et al., 2019 A; MAGHSOUDI et al., 2019 B; GHORBANPOUR et al., 2020), Meltonina (CAO et al., 2019; SU et al., 2019; HUANG et al., 2019; GUO et al., 2020; LI et al., 2021), Peróxido de Hidrogênio (SEHAR et al., 2020; WEERAPHORN et al., 2020; SINGH et al., 2021), Quitosana (BEHBOUDI et al., 2018; MOOLPHUERK et al., 2020), Escândio (ELBASAN et al., 2020), PopW (proteína harpina de *Ralstonia solanacearum*) (ZHOU et al., 2020), Biofertilizante (PGRP) (AZMAT et al., 2020), 2-(3,4-diclorofenoxi) trietilamina (Xie et al., 2018), Beta-sitosterol (ELKEILSH et al., 2019), Nanosilício (GHORBANPOUR et al., 2020), Dióxido de carbono (Ulfat et al., 2021), Betaína (WANG et al., 2019), Sulfeto de hidrogênio (ZHOU et al., 2020), Glutaciona (SOHAG et al., 2020), Dióxido de titânio (FARAJI et al., 2019), Glicina betaína (SHEMI et al., 2021), Óxido nítrico (WU et al., 2017; MAJEED et al., 2018; CAO et al., 2019; FARAJI et al., 2019; HAMURCU et al., 2020),

Nano-ZnO (SUN et al., 2020)). Os fatores moleculares utilizados foram: Transgenia, substituição de cromossomos (DUDZIAK et al.,2019) e CRISPR (Conjunto de Repetições Palindrômicas Curtas) / Cas9 (LOU et al.,2017; LIAO et al.,2019; LI et al.,2019; CHEN et al.,2021). Um fator de indução físico, foi observado através do uso de porta-enxerto (ZHANG et al.,2019) e um agente físico-químico também foi citado o Plasma DBD (Descarga por barreira dielétrica) (GUO et al.,2017).



**Figura 8.** Técnicas utilizadas na indução de tolerância ao estresse hídrico nos artigos selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

### 3.8.1 Genes utilizados na transgênia

Dentre os 148 artigos que foram selecionados para compor esta Revisão Sistemática, 38 destes utilizaram genes associados à resistência a seca para transgenia, e encontram-se listados na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Genes utilizados em transgenia para induzir a tolerância ao estresse hídrico, nos artigos selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

<b>Cultura</b>	<b>Gene</b>	<b>Autor</b>
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>FtbHLH3</i>	Yao et al., (2017)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	OsGSTU30	Srivastava et al., (2019)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	VyPYL9	Liu et al., (2019)A
<i>Arabidopsis thaliana</i>	VvNAC08	Ju et al., (2020)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	GmNAC085	Nguyen et al., (2018)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	CarMT	Dubey et al., (2019)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	VvGSTF13	Xu et al., (2018)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	ZmSCE1d	Wang; Wang and Xia (2020)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	StNAC053	Wang et al., (2021)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	TaCIPK27	Wang et al., (2018) A
<i>Arabidopsis thaliana</i>	PheASR2	Magwanga et al., (2018)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	MINAC12	Yang et al., (2018)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	ZmNAC33	Liu et al., (2019) B
<i>Arabidopsis thaliana</i>	GmHP08	Chuong et al., (2021)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	MpDGK2	Tan and Wang (2020)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	MtPHD6	Quan et al., (2019)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	AgAPX1	Liu et al., (2019) C
<i>Arabidopsis thaliana</i>	MfWRKY70	Xiang et al., (2021)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	MaWRKY80	Guoyin et al., (2020)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	PpDHNA and pDHNC	Li et al., (2017) B

---

<i>Arabidopsis thaliana</i>	ATG8f	Li et al., (2019) B
Arroz	PheASR2	Wu et al., (2020)
Arroz	OsRLCK241	Zhang et al., (2021)
Arroz	Rab7	El-Esawi and Alayafi (2019)
Banana	AhcAPX	Shekhar et al., (2019)
Cana de açúcar	AtBBX29	Mbambalala et al., (2019)
Milho	AtGA2ox1	Chen et al., (2019)
Soja	GmFDL19	Li et al., (2017) A
Soja	GmRACK1	Li et al., (2018)
Soja	GmbZIP15	Zhang et al., (2020) A
Soja	GmMYB84	Wang et al., (2017)
Tomate	WRKY8	Gao et al., (2019)
Tomate	SIBRI1	Nie et al., (2019)
Tomate	AnnSp2	Ijaz et al., (2017)
Tomate	SIMAPR1	Wang et al., (2018) B
Tomate	SISAMS1	Zhang et al., (2020)B
Tomate	SINPR1	Li et al., (2019) A
Trigo	AtWRKY30	El-Esawil et al., (2019)

---

Dentre os 38 trabalhos que realizaram a transgenia, 21 deles trabalharam com a *Arabidopsis thaliana*. O uso dessa espécie em trabalhos envolvendo transgenia é considerada uma prática comum, pois, ela foi a primeira planta a ter o genoma completamente sequenciado, tornando-se planta modelo em diversos estudos genéticos. A fácil manipulação dos seus genes permite a produção de novas linhagens (mutantes), que podem apresentar diferentes sensibilidades quando expostas a fatores de estresse ambiental (BRITO et al., 2009).

A cultura do tomate foi a segunda mais trabalhada sendo utilizada em seis artigos. O interesse em tomates transgênicos é decorrente, pelo motivo de que tomates são altamente suscetíveis ao déficit hídrico, principalmente durante a fase de crescimento, floração e no crescimento dos frutos (MURSHED et al., 2013). Além disso, o tomateiro sob déficit hídrico diminui o tamanho da folha e do fruto, o número e qualidade dos frutos e a taxa de fotossíntese (DODDS et al., 1997). Portanto, a seca causa altos danos econômicos à cultura do tomate, tornando imprescindível o estudo e desenvolvimento de novas variedades transgênicas tolerantes à seca, para tolerância a longo prazo.

As demais culturas trabalhadas foram soja com 4 artigos, arroz com 3 e o milho, trigo, banana e cana de açúcar com 1 artigo, cada. O interesse na soja, arroz, trigo e milho, é explicado pela sua importância econômica, onde juntos eles movimentam bilhões de dólares anualmente, pois, são os 4 cereais mais produzidos no mundo (FAO, 2018). A Banana é a segunda fruta mais consumida e a primeira mais produzida no mundo, representando 16% da produção mundial de frutas, com cerca de 116 milhões de toneladas e área plantada de 5,7 milhões de hectares (FAO, 2018) e a cana de açúcar é a cultura alimentícia mais produzida no mundo (FAO, 2020).

### 3.7.2 Reguladores vegetais

Dentre os reguladores vegetais, foram relatados um total de dez, sendo eles: Putrescina, Estrigolacotona, Brassinolide, Poliamine, Ácido Salicílico, Ácidos Fenólicos, Ácido Abscísico, Ácido Giberelérico, Ácido Jasmônico e Ácido Ascórbico. Nos artigos selecionados eles foram relatados como fonte de indução a tolerância ao estresse hídrico. Esses reguladores geram um incremento na atividade das enzimas antioxidantes. Na **Tabela 2** é possível observar os reguladores que foram observados nos trabalhos e quais as enzimas que foram relacionados com estes.

**Tabela 2.** Reguladores vegetais e enzimas relacionadas relatadas nos artigos selecionados para revisão sistemática.

<b>Regulador vegetal</b>	<b>Enzimas relacionadas</b>
Putrescina	SOD, CAT, APX, POD, GR and GST
Estrigolacotona	SOD, CAT, APX and POD
Brassinolide	SOD, CAT, APX, POD and GR
Poliamine	SOD, CAT, APX, POD, GR, GST, MDHAR, DHAR and GPX
Ácido Salicílico	SOD, CAT, APX, POD, GR and POX
Ácidos Fenólicos	SOD, CAT, APX, GR and POX
Ácido Abscísico	SOD, CAT, APX, POD, PPO and PAL
Ácido Giberelérico	CAT, APX, GR, MDHAR and DHAR
Ácido Jasmônico	SOD, CAT, APX, POD and POX
Ácido Ascórbico	SOD, CAT and POX

A Putrescina foi utilizada em dois artigos, sendo elas: Doneva et al., (2021) trabalhando com variedades de trigo tolerantes e sensíveis à seca, a putrescina apresentou melhores resultados na indução à tolerância quando aplicado na cultivar suscetível. Farzane et al., (2020), demonstraram que doses apropriadas de Putrescina pode reduzir os efeitos negativos do estresse hídrico sobre o tomate. A Estrigolactona foi utilizada apenas em um artigo, no qual Sedaghat et al., (2019) demonstraram que a tolerância à seca das plantas de trigo foi intensificada quando utilizado a estrigolactona. A é considerada importante regulador do crescimento e desenvolvimento das plantas. O Brassinolide foi testado em 3 artigos: Desoky et al., (2021); Khan et.al, (2020) e Gill et al., (2017) trabalhando com milho, trigo e cevada, respectivamente, apresentaram melhoria no sistema de defesa antioxidante, ocorrendo uma redução dos danos da seca. A Poliamina foi utilizada em dois artigos, sendo eles Naz et al., (2021) Akter et al., (2018), e em ambos o seu uso apresentou respostas positivas na mitigação da seca.

O Ácido Salicílico foi testado em 8 artigos como fonte de tolerância a seca. Em todos os artigos, o ácido salicílico se apresentou promissor na mitigação ao estresse, sendo que em 7 deles o seu uso foi em conjunto com outra substância para promover a tolerância ao estresse hídrico, sendo estes artigos: Singh et al., (2021) utilizou concomitantemente o Peróxido de hidrogênio; Shemi et al., (2021) o Zínco e Glicina betaína; Naz et al., (2021), a Espermidina; Tayyab et al., (2020) o Metil Jasmonato; Azmat et al., (2020) um Biofertilizante; Maghsoudi et al., (2019) o Silício; Sedaghat et al., (2017) a Estrigolactona e apenas em 1 artigo foi testado o uso isolado do ácido salicílico (Loulfy et al., 2020).

Os ácidos fenólicos testados por Bhardwaj et al., (2017), trabalhando com trigo, apresentaram melhoria em condições de déficit hídrico. O ácido abiscísico foi utilizado em dois artigos, um envolvendo trigo onde a administração do ABA foi através da hidropônia e outro com batata, onde o ABA aplicado de forma exógena através da pulverização foliar, desenvolvidos por Yao et al., (2019) e Zhang et al., (2020) e em ambos estudos, o ABA mitigou os efeitos do déficit hídrico. O ácido giberelérico foi utilizado em apenas um artigo, o estudo foi desenvolvido por Moumita et al., (2019), utilizando o trigo e o ácido giberelérico foi capaz de atenuar os danos induzidos pela seca. O ácido jasmônico foi utilizado em dois trabalhos, o primeiro desenvolvido por Ghaffari et al., (2019) em beterraba e o segundo desenvolvido por Tayyab et al., (2020), contudo a ação nesse segundo foi em conjunto com o ácido salicílico, em ambos estudos houve a diminuição dos efeitos da seca. O ácido ascórbico foi utilizado em um artigo, este desenvolvido por Loulfy et al., (2020), trabalhando com milho e ele também foi capaz de mitigar os efeitos do estresse hídrico.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A mudança climática global e o crescimento contínuo da população no mundo resultam em uma disponibilidade cada vez mais limitada e onerosa de água e com isso, a produção global de alimentos encontra-se ameaçada. Um dos principais fatores ambientais que podem afetar essa produção, são os períodos recorrentes de seca, pois, estes podem levar à perda parcial ou total da safra. Diante do exposto, esforços para o desenvolvimento de novas cultivares

tolerantes à seca, se tornou fundamental para a manutenção das populações humanas, o que torna a busca por ferramentas e/ou mecanismos que gerem tolerância a seca de interesse para os pesquisadores. Dentre os fatores que geram tolerância à seca está o aumento da atividade/ expressão gênica das enzimas antioxidantes. Entre os dados que foram coletados nessa revisão, diversas formas de indução à essa tolerância, desde a aplicação externa de insumos químicos, o uso de porta enxerto e plasma, ao desenvolvimento de organismos geneticamente modificados, foram destacadas, qual julga melhor técnica para ser aplicada. Dentre os insumos químicos, o uso de reguladores vegetais foi o que mais se destacou, contudo, estes não conferem tolerância a longo prazo, com isso, o uso e o desenvolvimento de organismos geneticamente modificados, seria a técnica mais eficiente para a promoção da tolerância ao déficit hídrico a longo prazo. Nessa revisão sistemática foram coletados dados que identificaram 40 genes candidatos à tolerância ao déficit hídrico, estes que podem ser utilizados por programas de melhoramento genético vegetal, para o desenvolvimento de transgênicos.

## 5. REFERÊNCIAS

ACHARYA, J. D.; GHASKADBI, S. S. Islets and their antioxidant defense. **Islets**, v. 2, n. 4, p. 225-235, 2010.

AEBI, H. [13] Catalase in vitro. **Methods in enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.

AKTER, S. et al. Effect of polyamine on pigmentation, reactive oxidative species and antioxidant under drought in maize (*Zea mays* L.). **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 6, n. 7, p. 799-811, 2018.

AKTER, S. et al. Effect of polyamine on pigmentation, reactive oxidative species and antioxidant under drought in maize (*Zea mays* L.). **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 6, n. 7, p. 799-811, 2018.



AL MAHMUD, J. et al. Exogenous application of gibberellic acid mitigates drought-induced damage in spring wheat. *Acta Agrobotanica*, v. 72, n. 2, 2019.

AZMAT, A. et al. Co-application of bio-fertilizer and salicylic acid improves growth, photosynthetic pigments and stress tolerance in wheat under drought stress. *PeerJ*, v. 8, p. e9960, 2020.

BASU, A.; SARKAR-ROY, N.; MAJUMDER, P. P. Genomic reconstruction of the history of extant populations of India reveals five distinct ancestral components and a complex structure. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 6, p. 1594-1599, 2016.

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

BHARDWAJ, Rachana D.; KAUR, Lovlace; SRIVASTAVA, Puja. Comparative evaluation of different phenolic acids as priming agents for mitigating drought stress in wheat seedlings. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 87, n. 4, p. 1133-1142, 2017.

BRACCINI, M. C. et al. Manitol sobre a germinação de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 18, n. 2, p. 200-207, 1996.

BRITO, D. Q. et al. *Arabidopsis thaliana*: planta teste em estudos multidisciplinares. *Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos*, v. 1, n. 2, p. 205-2016, 2009.

CHANCE, B.; MAEHLI, A. C. [136] Assay of catalases and peroxidases. 1955.

CHEN, Z. et al. Expression of AtGA2ox1 enhances drought tolerance in maize. **Plant Growth Regulation**, v. 89, n. 2, p. 203-215, 2019.

CHUONG, N. N. et al. Ectopic expression of GmHP08 enhances resistance of transgenic Arabidopsis toward drought stress. **Plant Cell Reports**, v. 40, n. 5, p. 819-834, 2021.

DELATORRE, C. A.; SILVA, A. A. Arabidopsis thaliana: uma pequena planta um grande papel. Revista de Ciências Agrárias. Lisboa, Portugal. Vol. 31, n. 2 (dez. 2008), p. 58-67, 2008.

DESOKY, E. M. et al. Exogenously used 24-epibrassinolide promotes drought tolerance in maize hybrids by improving plant and water productivity in an arid environment. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 354, 2021.

DESOKY, E. M. et al. Exogenously used 24-epibrassinolide promotes drought tolerance in maize hybrids by improving plant and water productivity in an arid environment. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 354, 2021.

DONEVA, D. et al. The effects of putrescine pre-treatment on osmotic stress responses in drought-tolerant and drought-sensitive wheat seedlings. **PhysiologiaPlantarum**, v. 171, n. 2, p. 200-216, 2021.

DONEVA, D. et al. The effects of putrescine pre-treatment on osmotic stress responses in drought-tolerant and drought-sensitive wheat seedlings. **PhysiologiaPlantarum**, v. 171, n. 2, p. 200-216, 2021.

DUBEY, A. K. et al. Over-expression of CarMT gene modulates the physiological performance and antioxidant defense system to provide tolerance against drought stress in Arabidopsis thaliana L. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 171, p. 54-65, 2019.

EAKIN, H. C.; LEMOS, M. C.; NELSON, D. R. Differentiating capacities as a means to sustainable climate change adaptation. **Global Environmental Change**, v. 27, p. 1-8, 2014.

EL BASSAM, N. **Handbook of bioenergy crops: a complete reference to species, development and applications**. Routledge, 2010.

EL-ESAWI, M. A. et al. Overexpression of AtWRKY30 transcription factor enhances heat and drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Genes**, v. 10, n. 2, p. 163, 2019.

EL-ESAWI, M. A.; ALAYAFI, Aisha A. Overexpression of rice Rab7 gene improves drought and heat tolerance and increases grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). **Genes**, v. 10, n. 1, p. 56, 2019.

FAHAD, S. et al. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1147, 2017.

FARZANE, A. et al. Antioxidant enzyme and plant productivity changes in field-grown tomato under drought stress conditions using exogenous putrescine. **Journal of Plant Physiology and Breeding**, v. 10, n. 1, p. 29-40, 2020.

GAO, Y. F. et al. The WRKY transcription factor WRKY8 promotes resistance to pathogen infection and mediates drought and salt stress tolerance in *Solanum lycopersicum*. **Physiologia plantarum**, v. 168, n. 1, p. 98-117, 2020.

GHAFFARI, H. et al. Foliage applications of jasmonic acid modulate the antioxidant defense under water deficit growth in sugar beet. *Span J. Agric. Res.*, v. 17, p. e0805, 2019.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: II.

Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 315-318, 1977.

GILL, M. B. et al. Brassinolide alleviates the drought-induced adverse effects in barley by modulation of enzymatic antioxidants and ultrastructure. **Plant Growth Regulation**, v. 82, n. 3, p. 447-455, 2017.

HARDEGREE, S. P.; EMMERICH, W. E. Seed germination response to polyethylene glycol solution depth. 1994.

HASANUZZAMAN, M. et al. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: **Crop stress and its management: perspectives and strategies**. Springer, Dordrecht, 2012. p. 261-315.

HASEGAWA, A. Generation of a train of soliton pulses by induced modulational instability in optical fibers. **Optics letters**, v. 9, n. 7, p. 288-290, 1984.

HU, W. et al. Genome-wide analyses of the bZIP family reveal their involvement in the development, ripening and abiotic stress response in banana. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-15, 2016.

IJAZ, R. et al. Overexpression of annexin gene AnnSp2, enhances drought and salt tolerance through modulation of ABA synthesis and scavenging ROS in tomato. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2017.

JEANDROZ, S.; LAMOTTE, O. Plant responses to biotic and abiotic stresses: lessons from cell signaling. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1772, 2017.

JU, Y. I. et al. Overexpression of grapevine VvNAC08 enhances drought tolerance in transgenic Arabidopsis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 151, p. 214- 222, 2020.

KHAN, I. et al. Effects of 24-epibrassinolide on plant growth, antioxidants defense system, and endogenous hormones in two wheat varieties under drought stress. *Physiologia Plantarum*, v. 172, n. 2, p. 696-706, 2021.

KHAN, I. et al. Effects of 24-epibrassinolide on plant growth, antioxidants defense system, and endogenous hormones in two wheat varieties under drought stress. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 696-706, 2021.

KOFFLER, B. E. et al. Compartment specific response of antioxidants to drought stress in Arabidopsis. **Plant Science**, v. 227, p. 133-144, 2014.

LI, B. et al. Overexpression of banana ATG8f modulates drought stress resistance in Arabidopsis. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, p. 814, 2019.B

LI, D.-H. et al. The soybean GmRACK1 gene plays a role in drought tolerance at vegetative stages. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 65, n. 4, p. 541-552, 2018.

LI, Q. et al. Physcomitrella patens dehydrins (PpDHNA and PpDHNC) confer salinity and drought tolerance to transgenic Arabidopsis plants. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1316, 2017. B

LI, R, et al. CRISPR/Cas9-Mediated SINPR1 mutagenesis reduces tomato plant drought tolerance. **BMC plant biology**, v. 19, n. 1, p. 1-13, 2019. A

LI, Y. et al. Overexpression of GmFDL19 enhances tolerance to drought and salt stresses in soybean. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0179554, 2017.

LIU, G. et al. MaWRKY80 positively regulates plant drought stress

resistance through modulation of abscisic acid and redox metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 156, p. 155-166, 2020.

LIU, J. et al. The ABA receptor-like gene VyPYL9 from drought-resistance wild grapevine confers drought tolerance and ABA hypersensitivity in Arabidopsis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 138, n. 3, p. 543-558, 2019. A

LIU, J. X. et al. Isolation, purification and characterization of an ascorbate peroxidase from celery and overexpression of the AgAPX1 gene enhanced ascorbate content and drought tolerance in Arabidopsis. **BMC plant biology**, v. 19, n. 1, p. 1-13, 2019. C

LIU, J. et al. High temperature and drought stress cause abscisic acid and reactive oxygen species accumulation and suppress seed germination growth in rice. **Protoplasma**, v. 256, n. 5, p. 1217-1227, 2019. B

LOUTFY, N.; AZOOZ, M.; ABOU ALHAMD, M. F. Exogenously-applied salicylic acid and ascorbic acid modulate some physiological traits and antioxidative defense system in Zea mays L. seedlings under drought stress. *Egyptian Journal of Botany*, v. 60, n. 1, p. 313-324, 2020.

MAGHSOUDI, K. et al. Alleviation of field water stress in wheat cultivars by using silicon and salicylic acid applied separately or in combination. **Crop and Pasture Science**, v. 70, n. 1, p. 36-43, 2019.

MAGWANGA, R. O. et al. Cotton late embryogenesis abundant (LEA2) genes promote root growth and confer drought stress tolerance in transgenic Arabidopsis thaliana. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 8, n. 8, p. 2781-2803, 2018.

MANN, M. E.; GLEICK, P. H. Climate change and California drought in the 21st century. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 112, n. 13, p.

3858-3859, 2015.

MBAMBALALA, N.; PANDA, S. K.; VAN DER VYVER, C.. Overexpression of AtBBX29 improves drought tolerance by maintaining photosynthesis and enhancing the antioxidant and osmolyte capacity of sugarcane plants. **PlantMolecular Biology Reporter**, v. 39, n. 2, p. 419-433, 2021.

MITTLER, R. et al. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in plant science**, v. 9, n. 10, p. 490-498, 2004.

MITTLER, R. et al. ROS signaling: the new wave?. **Trends in plant science**, v. 16, n. 6, p. 300-309, 2011.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plantscience**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellularcomponents in plants. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 58, p. 459-481, 2007.

NAHAR, K. et al. Glutathione-induced drought stress tolerance in mung bean: coordinated roles of the antioxidant defence and methylglyoxal detoxificationsystems. **AoB Plants**, v. 7, 2015.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NAM, W. et al. Drought hazard assessment in the context of climate change for South Korea. **Agricultural Water Management**, v. 160, p. 106-117, 2015.

NAZ, R. et al. Combined ability of salicylic acid and spermidine to mitigate the individual and interactive effects of drought and chromium stress in maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 159, p. 285-300, 2021.

NEZHADAHMADI, A.; PRODHAN, Z. H.; FARUQ, G. Drought tolerance in wheat. *The Scientific World Journal*, v. 2013, 2013.

NGUYEN, K. H. et al. The soybean transcription factor GmNAC085 enhances drought tolerance in *Arabidopsis*. ***Environmental and Experimental Botany***, v. 151, p. 12-20, 2018.

NIE, S.; YANG, Z.; WANG, D. Physiological and transcriptomic analyses of the effects of SIBRI1 expression levels on drought tolerance in tomato seedlings. 2021.

OMETTO, A. R. **Discussão sobre os fatores ambientais impactados pelo setor sucroalcooleiro ea certificação socioambiental**. 2000. Tese de Doutorado.

PEREIRA, M. G.; GALVÃO, T. F. Etapas de busca e seleção de artigos em revisões sistemáticas da literatura. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 23, p. 369-371, 2014.

QUAN, W. et al. Ectopic expression of *Medicago truncatula* homeodomain finger protein, MtPHD6, enhances drought tolerance in *Arabidopsis*. ***BMC genomics***, v.20, n. 1, p. 1-16, 2019.

ROCHA, M. R. Sistemas de cultivo para a cultura da melancia. 2010. 76f. Dissertação (mestrado em ciência do solo) Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria - RS, 2010.

SANTOS, C. M. C.; PIMENTA, C. A. M.; NOBRE, M. R. C. A estratégia PICO para



a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 15, p. 508-511, 2007.

SEDAGHAT, M. et al. Physiological and antioxidant responses of winter wheat cultivars to strigolactone and salicylic acid in drought. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 119, p. 59-69, 2017.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidant defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, 2012.

SHEKHAR, S. et al. Groundnut AhcAPX conferred abiotic stress tolerance in transgenic banana through modulation of the ascorbate-glutathione pathway. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, n. 6, p. 1349-1366, 2019.

SHEMI, R. et al. Effects of salicylic acid, zinc and glycine betaine on morpho-physiological growth and yield of maize under drought stress. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2021.

SHRIVASTAVA, P.; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi journal of biological sciences*, v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015.

SINGH, S.; PRAKASH, P.; SINGH, A. K. Salicylic acid and hydrogen peroxide improve antioxidant response and compatible osmolytes in wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficit. *Agricultural Research*, v. 10, n. 2, p. 175-186, 2021.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; DRUZIAN, J. I. Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. **Química Nova**, v. 35, p. 262-267, 2012.

SOUZA, G. M.; BARBOSA, A. M. Fatores de estresse no milho são diversos e exigem monitoramento constante. *Visão agrícola*, v. 13, n. 1, p. 30- 34, 2015.

SRIVASTAVA, D. et al. Rice (*Oryza sativa* L.) tau class glutathione S-transferase (OsGSTU30) overexpression in *Arabidopsis thaliana* modulates a regulatory network leading to heavy metal and drought stress tolerance. ***Metallomics***, v. 11,n. 2, p. 375-389, 2019.

TAIZ, L. et al. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Artmed Editora, 2017.

TAN, Y.; WANG, L. MpDGK2, a novel diacylglycerol kinase from *Malus prunifolia*, confers drought stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. ***Plant Molecular Biology Reporter***, p. 1-9, 2020.

TAYYAB, N. et al. Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought-induced stress in maize. ***Plosone***, v. 15, n. 5, p. e0232269, 2020.

VAN DINTER, R.; TEKINERDOGAN, B.; CATAL, C. Automation of systematic literature reviews: A systematic literature review. *Information and Software Technology*, p. 106589, 2021.

WANG, H.; WANG, M.; XIA, Z. The Maize Class-I SUMO Conjugating Enzyme ZmSCE1d Is Involved in Drought Stress Response. ***International journal of molecular sciences***, v. 21, n. 1, p. 29, 2020.

WANG, L. et al. Enhanced drought tolerance in tomato plants by overexpression of SIMAPK1. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)***, v. 133, n. 1, p. 27-38, 2018. B

WANG, N. et al. Drought tolerance conferred in soybean (*Glycine max.* L)

by GmMYB84, a novel R2R3-MYB transcription factor. **Plant and Cell Physiology**, v. 58, n. 10, p. 1764-1776, 2017.

WANG, Q. et al. Potato NAC Transcription Factor StNAC053 Enhances Salt and Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 5, p. 2568, 2021.

WANG, Y. et al. A CBL-interacting protein kinase TaCIPK27 confers drought tolerance and exogenous ABA sensitivity in transgenic Arabidopsis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 123, p. 103-113, 2018.

WU, M. et al. PheASR2, a novel stress-responsive transcription factor from moso bamboo (*Phyllostachys edulis*), enhances drought tolerance in transgenic rice via increased sensitivity to abscisic acid. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 154, p. 184-194, 2020.

XIANG, X. Y. et al. Dehydration-Induced WRKY Transcriptional Factor MfWRKY70 of *Myrothamnus flabellifolia* Enhanced Drought and Salinity Tolerance in Arabidopsis. **Biomolecules**, v. 11, n. 2, p. 327, 2021.

XU, J. et al. Transgenic Arabidopsis plants expressing grape glutathione S-Transferase gene (VvGSTF13) show enhanced tolerance to abiotic stress. **Biochemistry (Moscow)**, v. 83, n. 6, p. 755-765, 2018.

XU, L.; HAN, L.; HUANG, B. Antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves of Kentucky bluegrass in response to drought and post-drought recovery. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 136, n.4, p. 247-255, 2011.

YANG, X. et al. Miscanthus NAC transcription factor MINAC12 positively mediates abiotic stress tolerance in transgenic Arabidopsis. **Plant Science**, v. 277, p. 229- 241, 2018.

YAO, C. et al. Effects of S-abscisic acid (S-ABA) on seed germination,

seedling growth, and Asr1 gene expression under drought stress in maize. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 38, n. 4, p. 1300-1313, 2019.

YAO, P. F. et al. Overexpression of a tartary buckwheat gene, FtbHLH3, enhances drought/oxidative stress tolerance in transgenic Arabidopsis. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 625, 2017.

ZHANG, H et al. Root yield, antioxidant capacities, and hormone contents in different drought-tolerant sweet potato cultivars treated with ABA under early drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, n. 8, p. 1-15, 2020.

ZHANG, H. et al. Overexpression of OsRLCK241 confers enhanced salt and drought tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa* L.). **Gene**, v. 768, p. 145278, 2021.

ZHANG, M. et al. The bZIP transcription factor GmbZIP15 negatively regulates salt-and drought-stress responses in soybean. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 20, p. 7778, 2020. A

ZHANG, Xu et al. S-adenosylmethionine synthetase 1 confers drought and salt tolerance in transgenic tomato. **Environmental and Experimental Botany**, v. 179, p. 104226, 2020. B

## **CAPÍTULO 2**

### **EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM BANANEIRA**

## **EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM BANANEIRA.**

**RESUMO:** O Brasil é o quarto maior produtor mundial de banana com uma produção de aproximadamente 7 milhões de toneladas. O nordeste é o maior produtor da fruta no País, suportando 34% da produção nacional. Contudo as precipitações no semi-árido nordestino são insuficientes para atender às suas necessidades hídricas, pois, bananeira é uma planta muito sensível ao estresse hídrico, apresentando uma considerável resposta fisiológica à escassez de água, durante o processo do déficit hídrico, ocorre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) estas que, podem levar em último caso à apoptose da célula, contudo como forma de se proteger dessas ERO, elas ativam um processo de proteção do aparato fotossintético, com aumento da expressão de enzimas antioxidantes dentre essas enzimas estão: ascorbato peroxidase (APX), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT). Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o padrão de expressão relativa por RT-qPCR dos transcritos dos genes SOD, CAT, APX e Aquaporina em dois genótipos de bananeira contrastantes submetidos ao déficit hídrico. Os resultados gerados, validam os resultados de análises morfológicas *in vitro*, demonstrando assim que o genótipo 042079-13, apresenta uma maior tolerância ao déficit hídrico, em relação ao genótipo SH3263, sendo assim, o mais recomendado para cruzamentos em programas de melhoramento vegetal, visando o desenvolvimento de novas cultivares tolerantes ao estresse. Contudo novos trabalhos na área são recomendados, devido à falta de trabalhos envolvendo a expressão gênica (SOD, CAT, APX e Aquaporina) em bananeira sob condições de déficit hídrico, além da crescente demanda por novas cultivares que sejam tolerantes ao déficit hídrico, diante do cenário atual de redução de chuvas e aumento da temperatura global.

**PAVAVRAS-CHAVE:** estresse por seca; *Musa* spp.; estresse abiótico, atividade enzimática; expressão gênica

## **EXPRESSION OF GENES RELATED TO WATER DEFICIT TOLERANCE IN BANANA TREES.**

**ABSTRACT:** Brazil is the fourth largest banana producer in the world with a production of approximately 7 million tons. The northeast is the largest producer of the fruit in the country, supporting 34% of the national production. However, rainfall in the northeastern semi-arid region is insufficient to meet its water needs, as banana is a very sensitive plant to water stress, presenting a considerable physiological response to water scarcity, during the water deficit process, the production of reactive oxygen species (ROS) which can ultimately lead to cell apoptosis, however, as a way to protect against this ROS, they activate a process of protection of the photosynthetic apparatus, with increased expression of antioxidant enzymes among these enzymes they are: ascorbate peroxidase (APX), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT). Given the above, this study aimed to evaluate the relative expression pattern by RT-qPCR of transcripts of the SOD, CAT, APX and Aquaporin genes in two contrasting banana genotypes subjected to water deficit. The results generated validate the results of invitro morphological analysis, thus demonstrating that the 042079-13 genotype has a greater tolerance to water deficit, compared to the SH3263 genotype, thus being the most recommended for crosses in plant breeding programs, aiming the development of new stress-tolerant cultivars. However, further work in the area is recommended, due to the lack of work involving gene expression (SOD, CAT, APX and Aquaporin) in banana under water deficit conditions, in addition to the growing demand for new cultivars that are tolerant to water deficit, in view of the current scenario of reduced rainfall and increased global temperature.

**KEY WORDS:** drought stress; *Musa* spp; abiotic stress, enzyme activity; gene expression

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 A cultura da banana**

### **1.2 Origem e importância econômica**

As bananeiras são espécies tropicais, cujo centro de origem primário está situado no Sul e Sudeste Asiático, com centros secundários na África Oriental e ilhas do Pacífico, além de um importante centro de diversidade na África Ocidental, em regiões com clima tropical quente e úmido. Em ambiente natural, ocorrem nas áreas mais baixas das florestas tropicais, embora também sejam encontradas em altitudes mais elevadas. Possivelmente, as bananeiras introduzidas nas Américas saíram da Guiné, na África (DANTAS et al., 2015). Por sua vez, o material do continente africano pode ter chegado por uma ou duas vias: Índia — Golfo Pérsico — Arábia — África Ocidental ou Indonésia — Madagascar — África Oriental. A entrada da bananeira na América se deu no período colonial, em 1916, por meio de Tomás de Berlanga. A cultura foi bem aceita pelos indígenas, levando à sua rápida dispersão (SHEPHERD, 1984; Dantas et.al 2015).

A cultura da banana é considerada o quarto alimento mais importante do mundo, ficando atrás apenas do arroz, trigo e milho (PERRIER et al., 2011). Os maiores produtores de banana são a Índia, China, Filipinas e o Brasil, respectivamente (FAO, 2020). O Brasil atualmente é o quarto produtor mundial da fruta, tendo produzido aproximadamente 7 milhões de toneladas em 2018, em uma área aproximada de 550 mil hectares (IBGE, 2019). Nesse mesmo ano, a banana foi o quinto mais importante cultivo agrícola brasileiro com base no valor bruto de produção, que alcançou R\$ 15 bilhões anuais, correspondendo a 4,3% da riqueza gerada pela produção agrícola. Esses números salientam a importância da fruta para o agronegócio nacional. Dentre as regiões do país onde há produção de banana, o Nordeste se destaca como o maior produtor, contribuindo com 35% da produção nacional, e dentre os estados, a Bahia detém a maior produção (IBGE, 2019).

Dados da FAOSTAT (2018) apontam que a banana é uma das frutas mais consumidas pelos brasileiros perdendo apenas para laranja, consumida não apenas como sobremesa, mas também como alimento natural, com um consumo



de 28 kg/ano por pessoa. Segundo Frison et al. (2004), cerca de 87% de todas as bananas produzidas no mundo, são cultivadas por pequenos agricultores para consumo doméstico e/ou para venda nos mercados locais e regionais. Esses produtores fornecem um alimento básico de subsistência para milhões de pessoas, principalmente nos países africanos. Além de fornecer uma fonte de energia barata e facilmente produzida, as bananas também são ricas em minerais e em vitaminas A, C e B6. Assim, a banana contribui diretamente para a segurança alimentar mundial (LESCOT, 2011), além de ser uma das atividades de grande importância econômica e social do agronegócio mundial e brasileiro, não só pela sua geração de renda, mas também pela contribuição em manter a fixação do homem no campo (FERREIRA et.al., 2016).

A banana contribui diretamente para a segurança alimentar de famílias rurais, além de ser fonte de emprego e renda, proporcionando postos de trabalho, sendo eles, desde o cultivo até o processamento industrial. Contudo, a sua produção se encontra ameaçada por fatores climáticos, que ocasionam grandes desvios negativos de chuvas, trazendo consigo a seca (EAKIN et al., 2014)

### 1.1.2 Classificação, evolução e morfologia

A bananeira (*Musa* spp.) foi uma das primeiras plantas cultivadas a serem domesticadas (RAVI et al., 2013). É uma planta pertencente à classe das monocotiledôneas e à família Musaceae. A maioria dos genótipos que são cultivados para alimentação pertence à seção Eumusa do gênero *Musa* (SIMMONDS; SHEPHERD, 1955), o qual é classificado conforme o número de cromossomos: com 10 cromossomos, seções Australimusa e Callimusa e 11 cromossomos, seções Eumusa e Rhodachlamys (SIMMONDS; SHEPHERD, 1955; SING, 2016).

Em grande parte os frutos utilizados na alimentação humana, são frutos decruzamentos intra e interespecíficos envolvendo *M. acuminata* Colla (genoma A,  $2n=2x=22$ ) e *M. balbisiana* Colla (genoma B,  $2n=2x=22$ ). Esses híbridos apresentam-se em casos com 20; 22; 33; 44; 55; 77 e 88 pares de cromossomos, podendo-se encontrar, inclusive, vários tipos de aneuploidias e apresentam características das duas espécies (SIMMONDS, 1973). Essas distintas ploidias conferem a organização das bananeiras em: diploides (AA, AB e BB); triploides

(AAA, AAB e ABB) e tetraploides (AAAA, AAAB, AABB e ABBB) (SIMMONDS e SHEPHERD, 1955).

A planta da bananeira possui raízes, caule, folhas, flores, frutos e sementes e caule subterrâneo (rizoma), de onde ocorre a formação das raízes, folhas, inflorescências e rebentos ou filhotes. O sistema radicular é do tipo fasciculado, podendo atingir horizontalmente até 5m; entretanto, é mais comum de 1 a 2m, dependendo da variedade e das condições do solo. Contudo, aproximadamente 30% das raízes estão localizadas na profundidade de 0-10cm e 82% concentram-se na camada de 0 - 50cm (BORGES, 2004; SIMMONDS, 1973; SIMMONDS; SHEPHERD, 1955;).

A bananeira apresenta folhas grandes, completas, espiraladas, simples, constituídas de bainha, pecíolo, limbo e nervura central. As suas bainhas são bem desenvolvidas e suas bases são enroladas, as quais formam o pseudocaulo. A posição da folha pode variar entre grupos genômicos, podendo ser eretas (diploides), pendentes (triploides) e arqueadas (tetraploides) (SHEPHERD, 1984).

### **1.1.3 Exigências climáticas da bananeira**

A cultura da bananeira é afetada por inúmeros fatores bióticos e abióticos. Dentre os fatores abióticos, o déficit hídrico, é um dos mais restritivos. A seca gera impactos no crescimento, na fisiologia e na reprodução das plantas, desse modo, ameaça a produção agrícola mundial, pois devido a essas alterações, pode levar à redução drástica da produção (LENG; HALL 2019; VARMA; BEBBER, 2019; CALBERTO et al. 2015; TRENBERTH et al. 2014). O Brasil apresenta condições favoráveis para o cultivo da bananeira, sendo plantada de norte a sul do País. A bananeira é exigente em calor constante, precipitações bem distribuídas e elevada umidade no solo (ALVES et al., 1999; DE MEDEIROS et al., 2013). Os principais fatores climáticos que influenciam seu desenvolvimento são: temperatura, precipitação, umidade relativa, vento e luminosidade (MANICA, 1997).

As temperaturas que favorecem o bom desenvolvimento da bananeira ficam entre 15°C e 35°C, sendo 25°C a temperatura ótima. Abaixo de 15°C ocorre à diminuição considerável do metabolismo da planta e temperaturas acima de

35°C prejudica o seu desenvolvimento por causar desidratação, principalmente das folhas (SCARPARE FILHO et al., 2016).

O cultivo da bananeira exige elevado e contínuo consumo de água devido à morfologia e hidratação de seus tecidos, sendo uma consequência direta da absorção de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese e formação de suas estruturas. As maiores produções de banana estão associadas a uma precipitação anual total de 1.900 mm, bem distribuída durante o ano, equivalendo a cerca de 160 mm por mês e 5 mm/dia. É fundamental que o fornecimento de água assegure uma disponibilidade de 75% da capacidade de retenção de água do solo sem que ocorra o risco de saturação do mesmo, o que prejudicaria a sua aeração (BORGES; SOUSA, 2004), e embora a bananeira seja plantada nas regiões tropical e subtropical do mundo, a maior parte dessas não possui precipitação suficiente ou não é beneficiada por uma distribuição uniforme de água durante todo o ano.

Umidades relativas do ar acima de 80% proporcionam o melhor desenvolvimento à cultura, favorecendo a emissão de folhas e inflorescência, além de ajudar a uniformizar a coloração dos frutos e prolongar a longevidade das folhas. Por sua vez, a baixa umidade implica em folhas mais coriáceas e de menor longevidade (BORGES; SOUSA, 2004). Um outro fator ambiental que afeta os bananais são os ventos, cujos danos variam conforme a duração, velocidade e temperatura, além do cultivar e fase fenológica. Estima-se que as perdas causadas pelo vento girem em torno de 20% e 30% e a maioria das variedades de bananeira suportam ventos de até 40 km/h (DONATO et al., 2015)

A bananeira é uma planta muito sensível ao estresse hídrico, pois possui elevado índice de área foliar, o que resulta em alta transpiração. O sistema radicular é muito superficial, razão pela qual a bananeira é uma espécie que apresenta considerável resposta fisiológica à escassez de água (VAN VOSSELEN et al., 2005). Desse modo, a taxa de evapotranspiração da bananeira é bastante influenciada pela percentagem de água disponível na zona radicular (BASSOI et al., 2001) pois, quando a bananeira é submetida à alta demanda evapotranspirométrica, típica dos meses mais quentes no semiárido, a sua transpiração excede à capacidade de absorção de água pelas raízes e a planta murcha temporariamente mesmo com o solo úmido (DONATO et al., 2015).

## 1.2 Seca e déficit hídrico

No sentido mais geral, a seca tem sua origem a partir de um déficit de precipitação durante um período prolongado de tempo - geralmente uma estação do ano ou mais - resultando em uma carência de água para alguma atividade, grupo ou setor ambiental. Seus impactos se devem da interação entre o evento natural (menos precipitação do que o esperado) e a demanda de pessoas para uso de água, no abastecimento de água para a população, agricultura e pecuária. Assim, as atividades humanas podem acentuar os impactos da seca (MARENGO et.al, 2016).

A seca ocorre quando pouca água está disponível em um estado termodinâmico apropriado (COELHO et.al., 2003). É um fenômeno natural onde ocorre grandes desvios negativos das chuvas do clima de longo prazo, e no nordeste brasileiro afetam principalmente os moradores vulneráveis da região semiárida, criando situações de déficit hídrico com impactos na água, energia e segurança alimentar (EAKIN et al., 2014).

A região semiárida do Nordeste do Brasil (NEB), situa-se entre 2,5 ° S e 16,1 ° S e 34,8 ° W e 46 ° W, e possui uma área de cerca de 1.542.000 km<sup>2</sup>, ou cerca de 18,26% da área do território Brasil (MAGALHÃES et al., 1987). A precipitação média anual é de até 800 mm e índice de aridez entre 0,2 e 0,5 calculados pelo balanço hídrico, condição em que se enquadram os principais polos produtores de banana do Nordeste brasileiro e do Norte de Minas Gerais (DONATO et.al., 2015). Os períodos de seca fazem parte da variação natural do clima na região e de acordo com as projeções de mudanças climáticas, a projeção é que continuem e intensifiquem no futuro (MARENGO et al., 2016).

As precipitações no semiárido são insuficientes para atenderem às necessidades hídricas, tornando-se assim necessário o uso de irrigação suplementar (DE MEDEIROS et.al., 2013) que aumenta o custo de produção e é dependente da disponibilidade de infraestrutura, recursos e habilidade no manejo da cultura e do solo (PAZ et al., 2000), além dos impactos ambientais.

### 1.3 Resposta da planta ao déficit hídrico

As principais causas do déficit hídrico nas plantas estão relacionadas com limitações no processo de transpiração, absorção e disponibilidade de água no solo, que provocam diminuição da produtividade, justamente por inviabilizar o processo fotossintético. A planta necessita equilibrar dois fatores que ocorrem simultaneamente: conservar água e assimilar o CO<sub>2</sub> atmosférico (FRANÇOIS et al., 2012). Genótipos mais eficientes no uso da água apresentam melhoria das funções fisiológicas, como: ajuste osmótico, regulação estomática, relação fotossíntese/transpiração, manutenção da estabilidade da membrana plasmática e das enzimas antioxidantes ativas (ZHENGBIN et al., 2011).

Sob condições fisiológicas normais, ocorre a produção de ERO, que são geradas pelo metabolismo dos organismos aeróbicos, principalmente através da fotossíntese e respiração, porém mantidos em níveis basais através de sistemas antioxidantes de defesa (GRATÃO et al., 2005; SCANDALIOS, 1993) toda via, sua produção é aumentada em decorrência de vários tipos de estres. A produção contínua de radicais livres culmina no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante. Esses mecanismos possuem o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas de oxigênio (ERO) e controlar a ocorrência de danos decorrentes do processo (SHAMI; MOREIRA, 2004; BIANCHI; ANTUNES, 1999). ses bióticos ou abióticos (FOYER et al., 1994).

Em plantas, a produção das ERO é estimulada por vários fatores ambientais de estresse, como exposição a níveis elevados de luminosidade, déficit hídrico, presença de metais pesados, elevada concentração de sais, radiação UV, extremos de temperatura, herbicidas, poluição do ar, estresse físico e mecânico e também como resposta aos estresses bióticos tais como o ataque de patógenos (MALLICK; MOHN, 2000).

A terminologia Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), inclui as espécies de radicais livres de oxigênio e não radicais derivados do oxigênio que, apesar de não possuírem elétrons desemparelhados, são muito reativas em decorrência de sua instabilidade (RIBEIRO et al., 2005). Esses radicais quando são formados e ultrapassam as defesas antioxidantes das células, ocorrem danos oxidativos das macromoléculas celulares (lipídios, proteínas, ácidos nucleicos), que acarreta, finalmente, para várias condições patológicas. A peroxidação lipídica

mediada por ERO, a oxidação de proteínas e danos no DNA, são resultados bem conhecidos dos radicais livres derivados do oxigênio, levando a patologia celular e em último caso à apoptose da célula (BANDYOPADHYAY et al., 1999).

As principais ERO distribuem-se em dois grupos, os radicalares: hidroxila ( $\text{HO}\cdot$ ), superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), peroxila ( $\text{ROO}\cdot$ ) e alcoxila ( $\text{RO}\cdot$ ); e os não-radicalares: oxigênio "singlet" ( $\text{O}_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ) (BARREIROS et al., 2006). O estresse oxidativo ocorre em casos onde há um desequilíbrio na quantidade de ERO e as enzimas antioxidantes. Esse desequilíbrio pode ser causado por diversos fatores relacionados com o aumento da produção de ERO e/ou a redução da disponibilidade de enzimas antioxidantes (ANDRADE et al., 2010).

#### **1.4 Sistema antioxidante enzimático**

Quando a planta encontra-se sob estresse hídrico, sinais percebidos pela raiz ativam a rota do ácido abscísico (ABA), que ao ser translocado para as folhas ocasiona a produção de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) nas células-guarda levando ao fechamento dos estômatos. Com isso, ativam-se também as enzimas reativas de oxigênio e a planta entra em um processo de proteção do aparato fotossintético, com aumento da expressão de enzimas antioxidantes (DEUNER, 2007), dentre essas enzimas estão: ascorbato peroxidase (APX), superóxido dismutase (SOD), glutathione reductase (GR), catalase (CAT), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR), peroxidase (POX), glutathione peroxidase (GPX), guaiacol peroxidase (GOPX), and glutathione-S-transferase (GST) (HASANUZZAMAN et al., 2012). O peróxido de hidrogênio formado pela dismutação espontânea do radical superóxido ou pela reação catalisada pelas SODs é eliminado do metabolismo celular por ação de enzimas CATs e APXs (ARORA et al., 2002). Dessa forma, a atividade balanceada das referidas enzimas torna-se crucial na manutenção dos níveis de  $\text{O}_2^-$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  (MITLER, 2002) dentro das células, pois, o sistema de defesa antioxidante exerce papel fundamental na aquisição de tolerância pelas plantas (DEUNER, 2007).

### 1.4.1 Superóxido dismutase

A Superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1) foi isolada pela primeira vez em 1983 a partir de células vermelhas do sangue (MANN; KEILIN, 1938), ela é a primeira linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênio (APEL; HIRT, 2004), sendo uma enzima que sincronicamente oxida e reduz o ânion superóxido produzindo peróxido de hidrogênio e oxigênio, de acordo com a reação:  $O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$ . Variantes da superóxido-dismutase são encontradas em cloroplastos, peroxissomos, mitocôndrias, citosol e apoplasto (TAIZ et al., 2017).

As SOD constituem uma família de metaloenzimas que são classificadas de acordo com seu sítio ativo para metais (SCANDALIOS, 1993). As múltiplas isoformas de SOD são classificadas em três tipos principais: Fe-SOD (cofator de ferro), MnSOD (cofator de manganês) e Cu/ZnSOD (cobre e zinco como cofatores; cobre é o redox metal catalítico ativo) (BERWAL; RAM, 2018; SCANDALIOS, 2005). Em bactérias, uma isoforma distinta é encontrada, sendo chamada de Ni-SODs (cofator de níquel). A quantidade e os tipos de isoformas de SOD é variável entre as espécies vegetais, bem como a abundância relativa de cada isoforma (ASADA, 1999).

### 1.4.2 Catalase

Catalase ou hidropoxidase (CAT- EC 1.11.1.6) foi descrita pela primeira vez em 1900, durante um estudo envolvendo folhas de tabaco, quando a capacidade de metabolizar  $H_2O_2$  foi associada a uma enzima específica (LOEW, 1900). A CAT é prioritariamente encontrada em peroxissomos, porém pode ser encontrada no citosol e mitocôndrias (OLIVEIRA, et.al, 2010; MHAMDI et al., 2010). Esta enzima catalisa a detoxificação de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio nos peroxissomos, de acordo com a reação:  $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$  (TAIZ et.al, 2017).

A CAT é classificada como da classe das oxidoredutases (SOBER, 1968) e é dividida em três tipos. A classe I se refere à catalase que exerce um papel primordial na metabolização do  $H_2O_2$  durante a fotorrespiração em folhas. Na classe II, a sua função parece estar associada ao sistema vascular. Também relata-se ter função para a proteção contra estresses ambientais. A classe III está

relacionada a flores e sementes. Esta classe também assume papel na degradação de ácidos graxos em glioxissomos (JOO et.al, 2014).

### 1.4.3 Ascorbato peroxidase

Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) foi descrita pela primeira vez em 1979 em um trabalho utilizando lamelas isoladas e lavadas de cloroplastos de espinafre (GRODEN; BECK, 1979). A APX é uma heme-proteína, da Classe I da superfamília das peroxidases, que possui uma alta afinidade com o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> necessitando do ácido ascórbico como redutor. Além disso, apresentam formas isoenzimáticas distintas encontradas no citosol, mitocôndrias, peroxissomos, cloroplastos e parede celular (DABROWSKA et al., 2007).

A ascorbato-peroxidase catalisa a destruição de peróxido de hidrogênio usando ácido ascórbico como um agente redutor na seguinte reação:  $2 \text{ L-ascorbato} + \text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{ H}^+ \rightarrow 2 \text{ monodesidroascorbato} + 2 \text{ H}_2\text{O}$  (TAIZ et al., 2017).

## 1.5 Aquaporina

O transporte de água através de membranas biológicas por poros especializados, em vez de por difusão simples, foi proposto pela primeira vez em 1953, envolvendo anuros (KOEFOED- JOHNSEN; USSING, 1953). A aquaporina (AQPS) é uma proteína pequena com menos de 300 aminoácidos, integral de membrana e que facilita o transporte de pequenas moléculas (UEHLEIN et al., 2003; BIELA et al. 1999; PRESTON et al., 1994), além de água e glicerol. É também responsável pelo transporte de várias moléculas, como dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), óxido nítrico (NO), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), amônia (NH<sub>3</sub>), arsenito (As(OH)<sub>3</sub>), ácido bórico (B(OH)<sub>3</sub>) e uréia.

A resposta à ativação de fatores de transcrição pela falta de água leva à ativação do mecanismo de resposta ao estresse responsável por conferir tolerância às plantas. O mecanismo de regulação constante inclui a passagem de água para dentro e para fora das células através das aquaporinas (MAUREL et al., 2008). Em vegetais, a atividade das aquaporinas (canais de água) pode aumentar a permeabilidade à água na membrana (OHSHIMA et al., 2001), o que



é uma etapa importante em vários processos fisiológicos, como alongamento celular, germinação de sementes e regulação osmótica (MAUREL et al., 2007). Em condições de estresse hídrico a aquaporina pode estar envolvida na regulação da fotossíntese afetando o transporte de CO<sub>2</sub> da atmosfera para os cloroplastos; tanto indiretamente pela regulação do balanço hídrico e controle dos estômatos quanto diretamente pela regulação da condutância do mesófilo ao CO<sub>2</sub>, além de ser responsáveis por minimizar a perda de água dos tecidos vegetais e facilitar o transporte da água entre os diferentes órgãos preservando a homeostase (AFZAL et al., 2016; GALMES et al., 2007; TYERMAN et al., 2002; KJELLBOM et al., 1999).

## **1.6 Deficit hídrico e regulação da expressão gênica**

A análise de perfis de expressão gênica se tornou uma ferramenta útil para a investigação de respostas a estresses ambientais (RODRIGUEZ; CANALES; BORRÁS-HIDALGO, 2005), podendo ser utilizada na identificação de genótipos tolerantes e susceptíveis a um dado estresse. Genótipos que diferem em tolerância ao déficit hídrico devem apresentar diferenças qualitativas e quantitativas na expressão (PIMENTEL et al., 1990), induzindo, aumentando ou reprimindo a expressão de genes em resposta ao estresse.

O estresse hídrico provoca alterações na expressão gênica de diferentes categorias funcionais que podem ser mensuradas em genótipos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico por meio das técnicas supracitadas (MORAES et al., 2015). O estudo da expressão gênica devido às mudanças nas atividades das enzimas antioxidantes pode fornecer informações sobre a adaptação molecular das plantas às condições de déficit hídrico (BIAN; JIANG, 2009).

Diferentes técnicas permitem estudar as enzimas antioxidantes envolvidas na remoção das espécies reativas de O<sub>2</sub> em várias culturas, assim como os genes que codificam estas enzimas. A análise da expressão gênica é essencial para o estudo do metabolismo e das vias de sinalização que suportam as células e os processos de desenvolvimento. Embora vários métodos tenham sido utilizados para quantificar a expressão gênica, a PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR) é considerada a técnica padrão devido a sua sensibilidade e

especificidade (BUSTIN et al., 2005).

A RT- qPCR é o método mais utilizado para a avaliação da expressão gênica devido à rapidez, especificidade e sensibilidade em detectar e quantificar ácidos nucleicos (GACHON et al., 2004). Em geral, duas estratégias de quantificação podem ser executadas nessa metodologia: *i*) quantificação absoluta e *ii*) relativa. Na primeira, determina-se com precisão o número de cópias do RNA alvo pela comparação com uma curva padrão apropriada, enquanto que, na última, expressa-se em termos de quantidade relativa de transcritos em relação a um outro gene adotado como referência (PFAFFL, 2004). Este último método é na maioria das vezes adequado para a investigação das mudanças fisiológicas da planta baseadas nos padrões de expressão gênica (GACHON et al., 2004).

A quantificação dos níveis de expressão gênica pode render valiosas pistas sobre a função gênica. Por meio desse método podem ser detectadas alterações em nível de expressão gênica em resposta a estímulos biológicos específicos, como estresses abióticos em plantas, pois, a RT-qPCR é um método que possui detecção precisa e sensível dos produtos de amplificação (FRAGA et al., 2008).

Ravi et al. (2013) inferem que, devido ao cenário atual com as projeções de aumento global da seca e calor, o aumento da produção de banana se tornará viável com o desenvolvimento de variedades condicionadas para ambientes limitados em água, ou seja, que usam a água eficientemente.

Entender o sistema antioxidativo das plantas é de fundamental importância para a seleção de genótipos que apresentam uma menor sensibilidade ao déficit hídrico e maior tolerância à seca. Informações dessa natureza pode representar um importante avanço no desenvolvimento de cultivares de bananeiras tolerantes ao déficit hídrico (MORAES, et al 2015).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o padrão de expressão relativa por RT-qPCR dos transcritos dos genes Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbato peroxidase (APX) e Aquaporina em dois genótipos de bananeira contrastantes submetidos ao déficit hídrico.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no laboratório de Biologia Molecular localizado nas instalações da Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF), situada no Município de Cruz das Almas, BA (Latitude: 12°40'39"S, Longitude; 39°06' 23"W, Altitude; 225m) onde foi avaliada a expressão gênica dos genes relacionados à tolerância ao estresse hídrico, sendo eles: Catalase (CAT), Superperóxido desmutase (SOD), Ascorbato peroxidase (APX), Aquaporina (MITTLER et al., 2004; HUSSAIN et.al., 2011).

### 2.1 Material vegetal

No experimento foram utilizados dois genótipos contrastantes para tolerância ao déficit hídrico provenientes do Banco de Germoplasma de Bananeira (BAG). Os mesmos foram levados para casa de vegetação e submetidos a um regime de sequeiro, sendo eles um diploide melhorado (AA-042079-13) gerado pelo programa de melhoramento da bananeira da Embrapa e um híbrido diploide (AA) SH3263 desenvolvido pelo programa de melhoramento genético de banana da Fundação Hondurenha de Investigação Agrícola (FHIA), previamente selecionados *in vitro*, através de análises morfológicas como mais e menos tolerantes ao déficit hídrico, respectivamente (**Tabela 1**) (MASSARO, 2016).

**Tabela 1.** Descrição dos diploides melhorados de bananeira utilizados no estudo.

<b>Código biofábrica</b>	<b>Diploide melhorado</b>	<b>Genealogia (parental feminino x parental masculino)</b>
PMGB060	042079-13*	M53 x 028003-01 (Tuugia x Calcutta 4)
PMGB073	SH3263**	Híbrido selecionado pela Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA)

\*Tolerante ao déficit hídrico; \*\*Menos tolerante ao déficit hídrico.

No experimento foram utilizadas plantas micropropagadas das respectivas plantas supracitadas. As mudas micropropagadas foram transferidas dos tubos de ensaio para recipientes plásticos, onde permaneceram por 60 dias, sendo irrigadas diariamente para aclimação. Finalizado o período de aclimação, as mudas foram transplantadas para vasos de 16 dm<sup>3</sup> de volume, contendo solo em densidade de 1,6 g.dm<sup>-1</sup>. Vinte dias antes do transplante, o solo foi adubado com torta de mamona, superfosfato simples, calcário e gesso, nas concentrações de 0,4375 g.dm<sup>-3</sup>; 8,8 g.dm<sup>-3</sup>; 1,26 g.dm<sup>-3</sup>; 0,19 g.dm<sup>-3</sup>, respectivamente. Dez dias após o transplante, o solo foi adubado com ureia e cloreto de potássio, nas concentrações de 0,33 g.dm<sup>-3</sup> e 0,083 g.dm<sup>-3</sup>, respectivamente. Após 30 dias do transplante das mudas para os vasos, deu-se início ao experimento. O mesmo foi composto por três tratamentos: irrigado (controle), déficit hídrico moderado, déficit hídrico severo e reidratação.

O regime de secamento e umedecimento do solo foram monitorados por meio da técnica de reflectometria de domínio no tempo (TDR), tendo como base os valores de constante dielétrica do solo. As sondas de TDR foram construídas no Laboratório de Irrigação e Drenagem da Embrapa Mandioca e Fruticultura com as seguintes características: três hastes de aço inoxidável com comprimento efetivo de 0,1 m, espaçadas entre si por 0,017m, fixas a um bloco de resina de poliéster com dimensões de 0,05 m x 0,045 m x 0,015 m e conectadas a um cabo coaxial de 50 ohms de 1,5 m de comprimento (**Figura 1**).



**Figura 1.** A) Instalação das sondas de TDR; B) Vedação dos vasos com plástico transparente; C) Vedação dos vasos com plástico transparente e papel alumínio. Fonte: Alice Lichs Marssaro.

As sondas foram calibradas para o solo conforme metodologia de Coelho et al. (2006), localizadas a 30 cm de profundidade e posicionadas próximas do caule. Os vasos foram vedados com plástico transparente e papel alumínio a fim de evitar a perda de água do solo por evaporação (**Figura 1**). Os dados de umidade foram obtidos a cada três dias para auxiliar no manejo de irrigação e caracterização do secamento do solo. Os dois genótipos, sendo 5 plantas para cada tratamento, foram submetidas a manejos de irrigação, sendo considerado tratamento controle, aquele relativo às plantas irrigadas para manutenção da umidade do substrato aproximadamente à capacidade de máxima retenção de água ( $\Theta = 0,22 \pm 2 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ ). O tratamento de déficit hídrico foi aquele em que

as plantas foram submetidas ao déficit moderado onde a retenção do solo foi de ( $\Theta = 0,17 \pm 2 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ ) e o déficit hídrico severo contínuo do solo até a murcha completa de todas as folhas ( $\Theta = 0,12 \pm 2 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ ), quando a duração do estresse foi concluída. A reidratação foi realizada no mesmo dia para o nível de controle. O experimento foi realizado em um período de 120 dias. Amostras de folhas dos 2 genótipos foram coletadas em cada uma das condições acima mencionadas (Controle, déficit hídrico severo, déficit hídrico moderado e reidratação) e para cada tratamento 3 amostras de folhas foram. As amostras foram congeladas rapidamente em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a  $-80^\circ \text{C}$  para posterior realização da análise da expressão gênica.

## **2.2 Análise da expressão gênica diferencial para estresse hídrico**

### **2.2.1 Extração de RNA**

Para a extração de RNA dos híbridos 042079-13 e SH3263 de bananeira, foram coletadas amostras de folhas em três condições de sequeiro, sendo elas: severo, moderado e reidratado, organizados em um esquema de 3 replicatas biológicas com intuito de redução do erro experimental. Para o processo de extração foi utilizado o protocolo proposto por Zhao et al. (2012). Para conferir a integridade e a concentração do RNA após extração, uma alíquota de 5  $\mu\text{l}$  das amostras foi avaliada via eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TAE 1x (Tris; ácido acético glacial; água Milli-Q®). O RNA foi quantificado em NanoView (GE Healthcare) e armazenado em ultrafreezer  $-80^\circ \text{C}$  para utilização posterior.

### **2.2.2 Tratamento com DNase**

O RNA total foi tratado com o kit DNase TURBOFREE (Ambion®) de acordo com o protocolo recomendado pelo fabricante: em 15  $\mu\text{l}$  de RNA total de cada amostra foi adicionado 1  $\mu\text{l}$  de água DNase free, 1  $\mu\text{l}$  do Inibidor (RNase out - Invitrogen®), 2  $\mu\text{l}$  de Tampão (10x turbo DNase buffer) e 1  $\mu\text{l}$  DNase (turbo DNase). A reação foi incubada em termociclador Veriti (Applied Biosystems®) a  $37^\circ \text{C}$  por 25 min. Em seguida, acrescentou-se 2  $\mu\text{l}$  de DNase Inactivation, as amostras incubadas por 2 min em temperatura ambiente, centrifugadas por 1,5

minutos a 10000 rpm, e o sobrenadante armazenado em ultrafreezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . A qualidade do RNA tratado foi conferida em gel de agarose 1% com TAE 1 x (Tris; ácido acético glacial; água MQ) e utilizou-se 3  $\mu\text{l}$  de cada amostra.

### **2.2.3 Síntese de cDNA**

O cDNA foi sintetizado utilizando o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems<sup>©</sup>), seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante: em 5  $\mu\text{l}$  do RNA tratado anteriormente, foi acrescentado 1  $\mu\text{l}$  de 20x enzyme mix, 10  $\mu\text{l}$  de 2x RT Buffer e 4  $\mu\text{l}$  de água nuclease free, com um volume final de 20  $\mu\text{L}$ . Em seguida, a reação foi incubada em termociclador Veriti (Applied Biosystems<sup>©</sup>) por 60 min a  $37^{\circ}\text{C}$  +  $95^{\circ}\text{C}$  por 5 min + hold  $4^{\circ}\text{C}$ . As amostras de cDNA foram quantificadas em NanoView e diluídas em água livre de nucleases e padronizadas na concentração de trabalho de 100ng/ $\mu\text{l}$ . Os cDNAs foram armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **2.2.4 Teste de viabilidade do cDNA via PCR convencional**

Para verificar a viabilidade do cDNA, foi conduzida uma reação de amplificação, utilizando o primer endógeno de Tubulina. A reação foi composta por: 5  $\mu\text{l}$  do cDNA na diluição de 100ng/  $\mu\text{l}$ ; 1,2  $\mu\text{l}$  na concentração inicial de 2,5 mM de dNTP; 3  $\mu\text{l}$  na concentração inicial de 10 pmol. $\mu\text{L}^{-1}$  de cada iniciador; 1,6  $\mu\text{l}$  na concentração inicial de 2 mM de  $\text{MgCl}_2$  e 0,2  $\mu\text{l}$  da concentração inicial de 5 U/ $\mu\text{l}$  da enzima Taq DNA polimerase; 3  $\mu\text{l}$  de tampão HCL10x e 3  $\mu\text{l}$  de Água Nuclease Free em um volume final de 20  $\mu\text{l}$ . As amostras foram levadas ao termociclador Veriti (Applied Biosystems<sup>©</sup>) a  $94^{\circ}\text{C}$  por 5 min; 35 ciclos de  $94^{\circ}\text{C}$  por 30 s,  $60^{\circ}\text{C}$  por 30 s e  $72^{\circ}\text{C}$  por 45 s e extensão final a  $72^{\circ}\text{C}$  por 5 min. O produto da amplificação foi visualizado em gel de agarose 1% com tampão 0,5X TBE (Tris; ácido bórico; água destilada).

### **2.2.5 Amplificação quantitativa de transcritos reversos (RT-qPCR)**

A análise da expressão dos genes envolvidos na resposta ao estresse hídrico em bananeira (**Tabela 2**) foi realizada por meio da técnica de PCR

quantitativa em tempo real no equipamento ABI 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Para tanto, a reação foi constituída de cDNA, juntamente com o Sybr Green PCR mix (Applied), nas seguintes proporções: 3,5 µL de Sybr Green mix, 1 µL de cDNA e 2,5 µL iniciadores. Foram utilizadas triplicatas técnicas de cada amostra foliar para cada um dos genes analisados e triplicatas biológicas para cada cultivar de bananeira. A reação ocorreu de acordo com as seguintes condições: 50 °C (20 s), 95 °C (10 min), seguidos de 40 ciclos de: desnaturação a 95 °C (15 s), anelamento e extensão a 57 °C (60 s).

Como normalizadores, utilizou-se os genes 25S e tubulina; os mesmos relatados em Podevin et al. (2012) como referência para os estudos de expressão gênica relativa em bananeira.

**Tabela 2:** Iniciadores utilizados para avaliação da expressão gênica de 2 genótipos de bananeiras submetidos ao estresse hídrico.

ID	Descrição	Sequência (5'-3')
SOD	Superóxido dismutase	F: TGTTGTTGTTCTTGGTGGC AGTGA R: AGCATGGCGATTGTCATCTTCAGG
CAT1	Catalase	F: TCCTCATCGCTGCTCTAATGAC R: CCGTCGCGAATGAAGAAGAC
APX1	Ascorbato peroxidase	F: CCTTCGCTGACTTCTACCAGGTT R: TGAAAGCGCCGTATCCTCTT
AQUA	Aquaporina	F: CTTCGTCCTCGTCTACACCG R: TCGCCAAGTGGACCATGAAA
Tubulina	Tubulina	F: TGTTGCATCCTGGTACTGCT R: GGCTTTCTTGCACTGGTACAC
25S	25s Rrna	F: ACATTGTCAGGTGGGGAGTT R: CCTTTTGTTCACACGAGATT

### 2.5.6 Análise estatística

Para a análise da quantificação relativa de expressão gênica foi utilizado o Microsoft Excel empregando-se o método  $2^{-\Delta\Delta CT}$  proposto por Livak e Schmittgen (2001).



### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o uso do protocolo proposto por Zhao et al. (2012) foi possível extrair o RNA total dos genótipos 042079-13 e SH3263 de bananeira com boas concentrações para seguir com os testes moleculares e boas razões 260/280 e 260/230 (**Tabela 3**).

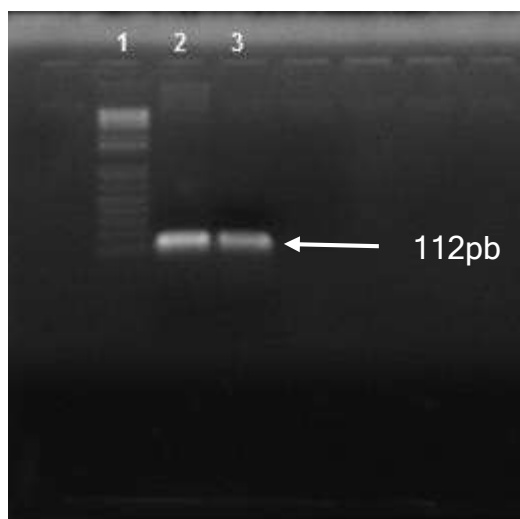
As proteínas possuem absorvância a 280 nm, os carboidratos, EDTA e fenóis, 230 nm. Portanto, a proporção de A260 / 280 nm (RNA / proteína) e A260 / 230 nm (RNA / metabólitos secundários e componentes do tampão de extração) pode ser usada para determinar a pureza do RNA. A relação entre as medidas de 260 nm e 280 nm indica a pureza do RNA, e um valor próximo a 2,0 é considerado ideal (BARBAS et al., 2007). Um valor de medição baixo da razão 260/280 pode indicar contaminação por proteínas e fenóis. A razão entre as leituras de 260 nm e 230 nm é usada de maneira complementar para avaliar a pureza do RNA. Para uma amostra de boa qualidade, o valor esperado está entre 2,0 e 2,2, sendo superior ao valor obtido com a relação 260/280. Valores abaixo dessa faixa podem indicar a presença de poluentes que absorvem luz a 230 nm, como EDTA, fenol, carboidratos, glicogênio ou guanidina (NANODROP, 2007) ou outros compostos que absorvem luz próximos de 280 nm (SAMBROOK; RUSSEL, 2001).

**Tabela 3:** Leitura das concentrações e relações A260/280 e A260/230 no NanoView, de RNA de bananeiras submetidas ao estresse hídrico.

Condição	Genótipos	Concentração (ng)	A260/280	A260/230	
Severo	Controle	042079-13/1	214,9	1,729	2,270
		042079-13/2	177,6	1,947	2,480
	Estressada	042079-13/3	90,0	1,991	2,083
		042079-13/4	219,1	1,721	2,263
		042079-13/5	102,8	1,962	1,992
		042079-13/6	139,6	1,928	3,878
		042079-13/7	2.682	1,725	2,242
Moderado	Controle	042079-13/8	2.404	1,710	2,253
		042079-13/9	2.458	1,715	2,230
	Estressada	042079-13/10	2.387	1,703	2,249
		042079-13/11	2.517	1,729	2,223

		042079-13/12	2.460	1,723	2,222
		042079-13/13	2.627	1,733	2,257
	Controle	042079-13/14	2.484	1,719	2,254
		042079-13/15	2.386	1,725	2,268
Reidratado		042079-13/16	2.513	1,715	2,272
	Estressada	042079-13/17	2.462	1,713	2,253
		042079-13/18	2.248	1,723	2,273
		SH3263/1	546,8	2,001	2,149
	Controle	SH3263/2	142,8	1,983	2,429
		SH3263/3	146,8	1,932	2,368
Severo		SH3263/4	208,7	1,718	2,256
	Estressada	SH3263/5	69,2	1,880	2,471
		SH3263/6	334,0	1,969	2,393
		SH3263/7	2.471	1,717	2,216
	Controle	SH3263/8	2.510	1,723	2,243
		SH3263/9	2.379	1,720	2,232
Moderado		SH3263/10	2.493	1,722	2,218
	Estressada	SH3263/11	2.537	1,705	2,251
		SH3263/12	2.397	1,699	2,269
		SH3263/13	2.635	1,728	2,272
	Controle	SH3263/14	2.316	1,699	2,223
		SH3263/15	2.576	1,728	2,278
Reidratado		SH3263/16	2.404	1,728	2,270
	Estressada	SH3263/17	2.533	1,727	2,270
		SH3263/18	2.474	1,725	2,274

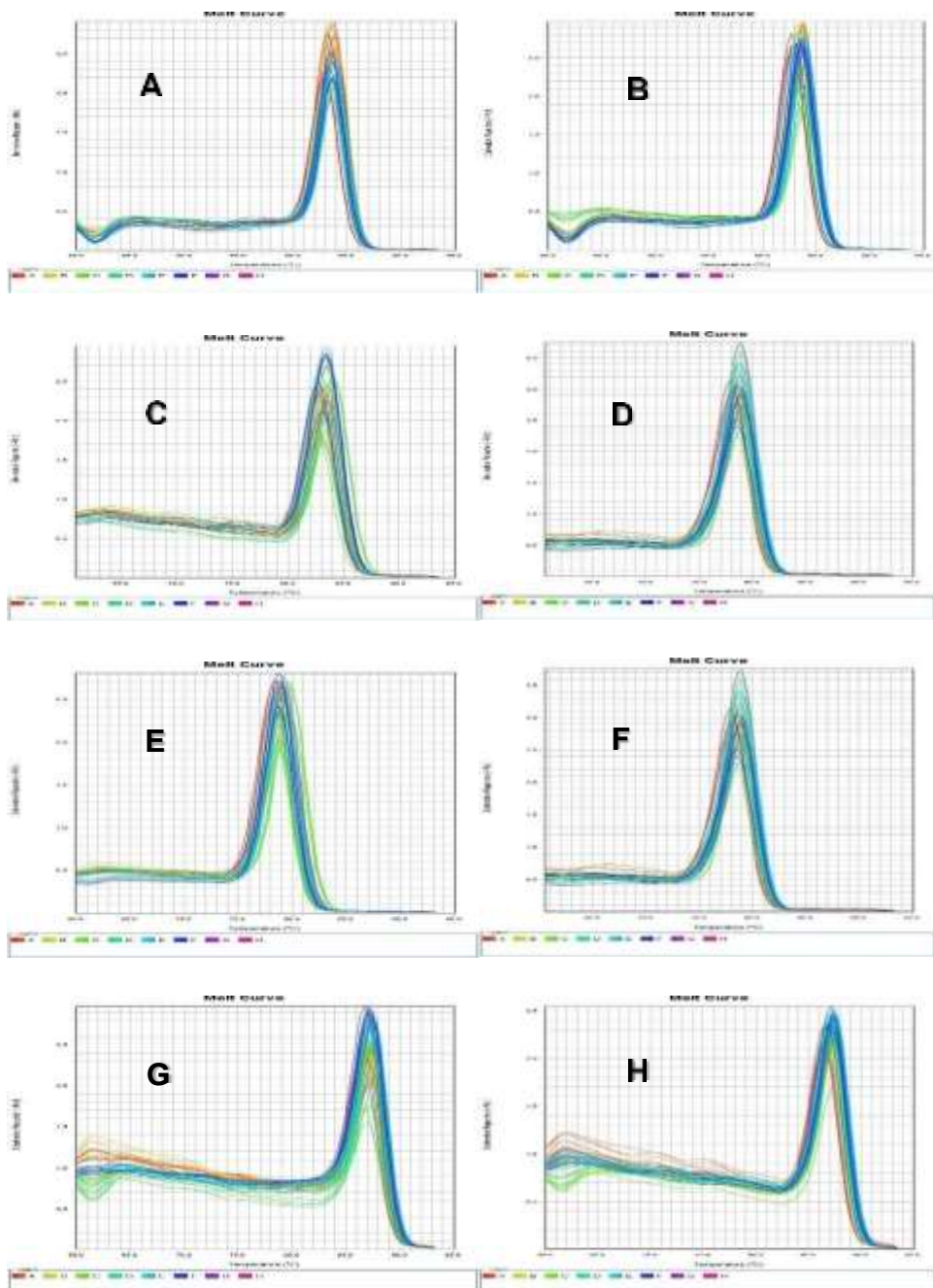
A **Figura 2** mostra a verificação da viabilidade do cDNA como molde via PCR convencional. Segundo Morgante e Blawid (2016), uma boa viabilidade e qualidade da molécula alvo são essenciais para que a qPCR seja bem-sucedida. O iniciador utilizado na reação foi a tubulina.



**Figura 2.** Produtos amplificados por PCR convencional para verificação da viabilidade de cDNA visualizados por separação eletroforética em gel de agarose 1%. A seta indica bandas correspondentes ao amplicon gerado pelo primer Tubulina. Poço 1: Marcador 1KB plus (Invitrogen). Poço 2: 042079-13. Poço 3: SH3263. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2020.

Pós PCR ao utilizar o SYBR Green, é importante realizar a curva de dissociação, devido à falta de especificidade de sequência deste reagente por ser um intercalante inespecífico de DNA dupla fita, podendo se intercalar tanto em dímeros de primers como em produto amplificado, desse modo através da curva de dissociação são obtidos os valores da temperatura de melting ( $T_m$ ) que refletem a temperatura onde 50% dos fragmentos amplificados estão dissociados, assim, geram uma queda na fluorescência detectada. Com isso, é possível detectar amplificações inespecíficas e formações de dímeros de primers. (WITTER et al., 1997; HEID et al., 1996)

As curvas de dissociação (melting) obtidas a partir da amplificação dos genes mostraram um pico definido que confirma amplificação específica da molécula alvo pelos primers responsivos: SOD, CAT, APX e Aquaporina (**Figura 3**)



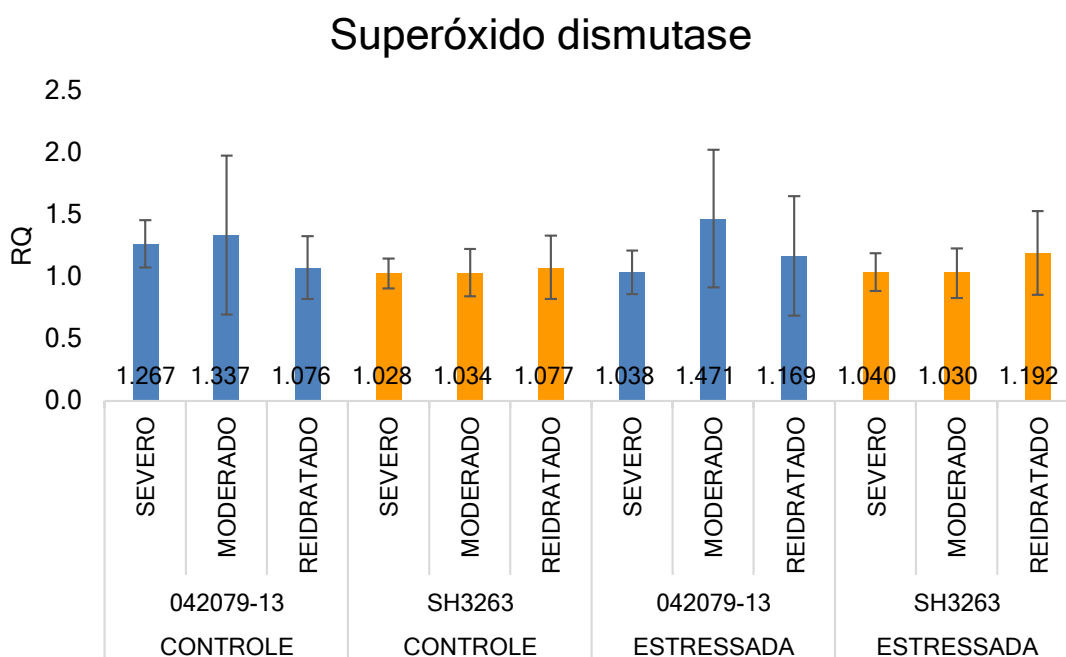
**Figura 3.** Curvas de dissociação (*melting*) obtidas a partir da amplificação dos genes mostrando um pico bem definido, que confirma amplificação específica da molécula alvo e precisão da pipetagem. (A) gene *SOD*, genótipo 042079-13 (B) gene *SOD*, genótipo SH3263 (C) gene *CAT*, genótipo 042079-13 (D) gene *CAT*, genótipo SH3263 (E) gene *APX*, genótipo 042079-13 (F) gene *APX*, genótipo SH3263 (G) gene *Aquaporina*, genótipo 042079-13 (H) gene *Aquaporina*, genótipo SH3263. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2020.

### 3.1 Expressão gênica

Foi realizada a quantificação da expressão de 4 genes responsivos em bananeira ao estresse hídrico, a citar: SOD, CAT, APX e Aquaporina.

#### 3.1.1 Expressão gênica da SOD

Considerando os dois genótipos (042079-13 e SH3263) submetidos aos diferentes regimes hídricos, os níveis de transcritos da SOD foram diferenciados (Figura 4).



**Figura 4.** Perfil de expressão relativa do gene SOD, em amostras de 042079-13 e SH3263, tolerante e menos tolerante ao déficit hídrico, respectivamente, sob diferentes condições de estresse hídrico. As quantificações foram normalizadas utilizando o gene de referência 25S e Tubulina.

A enzima superóxido dismutase atua na primeira linha de defesa contra os radicais livres. O radical superóxido produzido sob condições de estresse é geralmente tóxico, sendo dismutado de forma rápida pela SOD à H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; um

produto relativamente estável que pode ser detoxificado por catalases e peroxidases (MORAIS, 2015).

Entre regimes hídricos a expressão da SOD foi relativamente aumentada no genótipo 042079-13, quando comparado ao genótipo SH3263, submetidas ao tratamento de déficit hídrico moderado. Este resultado pode ser indicativo de que o genótipo mais tolerante (042079-13) foi efetivo na metabolização do radical superóxido no período de déficit moderado, podendo este fato estar ligado à sua maior tolerância ao estresse hídrico. De acordo com Basu et al. (2010), o aumento ou mesmo a manutenção da atividade da SOD está associado à tolerância da planta, enquanto a sensibilidade ao déficit hídrico está associada à redução da atividade desta enzima.

Segundo Feng et al. (2015) a superexpressão da SOD desempenha um papel fundamental na eliminação de espécies reativas de oxigênio causadas por estresses abióticos em banana, bem como, uma maior atividade da SOD está associada a melhor proteção contra o dano oxidativo induzido por estresse hídrico em cultivares de banana (SURENDAR et al., 2013; CHAI et al., 2005).

Para o genótipo 042079-13, aumentos significativos de expressão foram observados para os tratamentos de déficit moderado e reidratação., enquanto para o tratamento de déficit hídrico severo observou-se uma redução da expressão gênica na presença do estresse hídrico. Comparável ao este resultado, Chai et al, 2005, trabalhando com bananeira e Chowdhury e Choudhuri, 1985, trabalhando com Juta, demonstraram uma associação de menor atividade SOD com maior grau de dano oxidativo. Resultados semelhantes também foram observado por Nasirzadeh et al. (2020), em trabalho envolvendo linhagens de trigo tolerante, intermediário e susceptível ao estresse hídrico. Observou-se resultados semelhantes no padrão da expressão da SOD com menores atividades da SOD sob condições de déficit hídrico severo em comparação com a déficit hídricomoderado. Esse resultado pode implicar que o déficit hídrico severo afetou negativamente a capacidade dos genótipos de eliminarem o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o que pode ser resultado da inibição da síntese e/ou degradação da enzima SOD.

O genótipo menos tolerante (SH3263) apresentou aumento da expressão relativa apenas na condição de reidratação, enquanto nas condições de déficit hídrico severo e moderado, houve uma redução na expressão. Para a condição

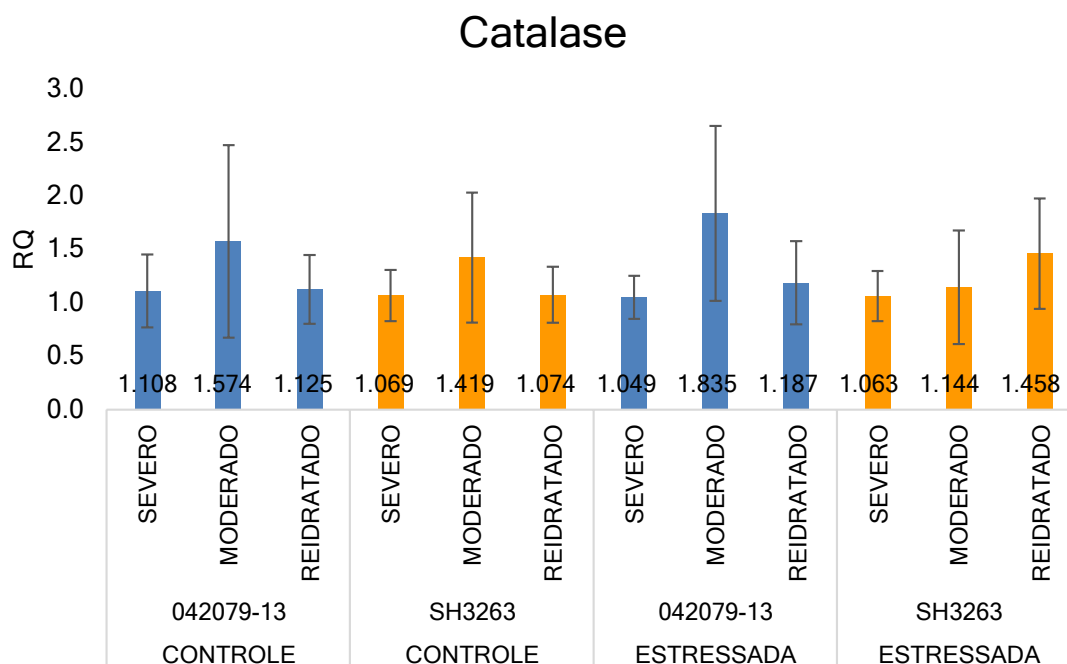
de déficit hídrico severo, ambos os genótipos sob estresse apresentaram níveis similares de expressão. Contudo, o genótipo SH3263 manteve o seu nível de expressão, onde a mesma foi semelhante ao das plantas controle, enquanto o 042079-13 apresentou uma redução da expressão relativa quando comparado ao controle, com uma tendência de redução da atividade no período analisado. Estefato, pode validar a informação obtida *in vitro* por Massaro (2016), que a SH3263 é um genótipo realmente mais susceptível ao estresse, enquanto o genótipo 042079-13 possui uma tolerância mais acentuada a níveis moderados de estresse. El-Esawi e Alayafi (2019) trabalhando com linhagens transgênicas (tolerantes) e selvagens (suscetíveis ao déficit hídrico) de arroz, chegou a resultados semelhantes. Em seu trabalho os autores relatam que o nível de expressão dos genes antioxidantes foi significativamente induzido em linhagens de arroz transgênico sob condições de estresse quando comparado as linhagens selvagens, demonstrando assim, que o aumento da expressão de genes relacionados a enzimas antioxidantes, responde como tolerância ao estresse hídrico.

Sob a condição de estresse hídrico, outros autores também relataram o aumento da expressão da SOD, em genótipos tolerantes, em diversas culturas: arroz (TANAKA et al., 1999), tabaco (VAN BREUSEGEM et al., 1999), mamona (MORAES et al., 2005), cana de açúcar (CAMARGO, 2013), melão (ANSARI et al., 2017), trevo branco (WANG; LI, 2008), repolho (SINGH et al., 2010), batata doce (LU et al., 2010).

Como a tolerância ao estresse abiótico é um processo mutagênico, além da mudança na expressão de SOD pode haver também mudança na cascata de expressão de outras enzimas associadas com a tolerância ao estresse (MCKERSIE et al., 1999), como exemplo a CAT e a APX.

### **3.2.1 Expressão gênica da CAT**

Considerando os dois genótipos (042079-13 e SH3263) submetidos aos diferentes regimes hídricos, os níveis de transcritos da CAT foram diferenciados (**Figura 5**).



**Figura 5.** Perfil de expressão relativa do gene CAT, em amostras de 042079-13 e SH3263, tolerante e menos tolerante ao déficit hídrico, respectivamente, sob diferentes condições de estresse hídrico. As quantificações foram normalizadas utilizando o gene de referência 25S e Tubulina.

ERO nos tecidos vegetais podem ser eliminadas pela enzima CAT que atua suprimindo os efeitos nocivos do excesso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sobre os tecidos vegetais (LAMB; DIXON, 1997). Esta enzima catalisa a conversão de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O. A expressão da CAT sob o regime de estresse hídrico foi significativamente aumentada na condição de déficit hídrico moderado no genótipo mais tolerante (042079-13), quando comparada ao genótipo menos tolerante (SH3263). Já para o déficit hídrico severo esta menor atividade da CAT sob condições de déficit hídrico severo em comparação com ao déficit hídrico moderado implica que a condição de déficit hídrico severo não foi suficiente para que os genótipos conseguissem eliminar o excesso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o que pode ser resultado da degradação e/ou inibição da síntese da enzima (NASIRZADEH et al., 2020)

Na condição de reidratação o genótipo SH3263 apresentou uma expressão relativa mais acentuada em relação ao 042079-13, demonstrando assim, que aumento da expressão desta enzima sob condições de estresse pode



indicar tolerância (VEIGA, 2014). O genótipo 042079-13 apresentou aumento significativona expressão gênica quando exposta à condição de déficit moderado e um leve aumento quando exposto à condição de reidratação, enquanto para o tratamento de déficit hídrico severo observou-se uma redução da expressão gênica.. Segundo Surendar et al., (2013), a atividade da CAT é maior em genótipos tolerantes de bananeira, quando comparadas aos suscetíveis ao estresse hídrico, com isso ele relata que a atividade da CAT, podeseer usada como índice de tolerância à seca para a seleção de genótipos tolerantesà seleção em condições de déficit hídrico em híbridos.

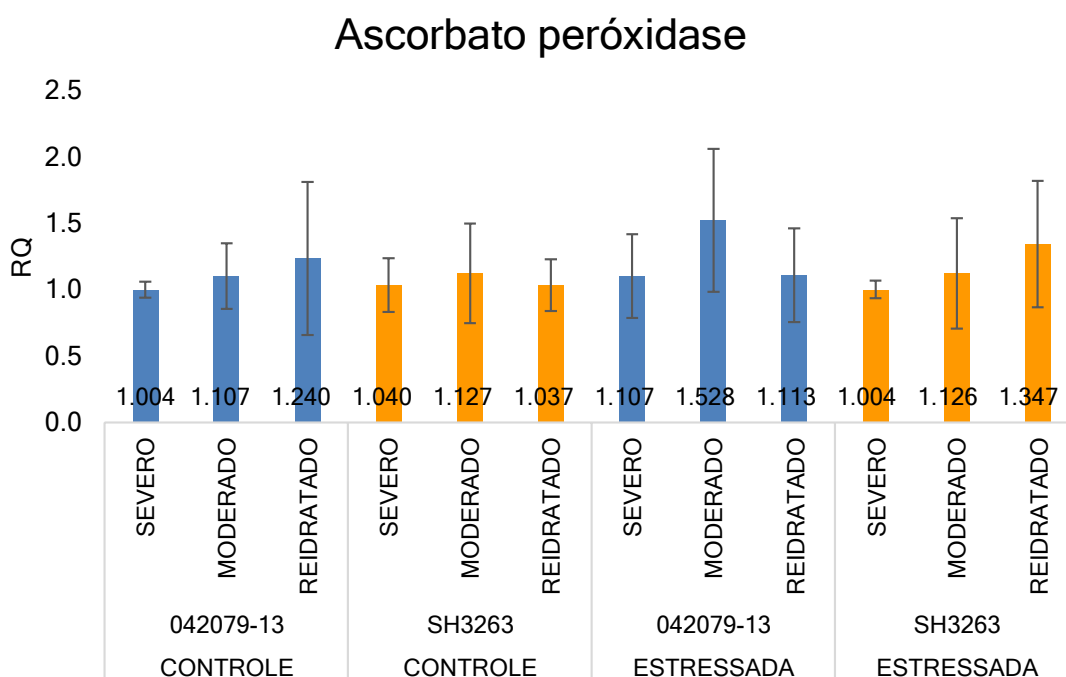
Padrões semelhantes de expressão foram encontrados por Nasirzadeh et.al., 2020, trabalhando com genótipos de arroz, onde foram apresentados menores atividades da CAT sob condições de déficit hídrico severoem comparação com a déficit moderado. Sofo et al. (2015), observaram que a atividade da CAT está associada ao grau de déficit. Desse modo, quanto maior aseveridade do déficit hídrico, menor será o padrão de expressão da CAT.

O genótipo SH3263 na condição de reidratação, apresentou um aumento da expressão de CAT, enquanto na condição de déficit hídrico moderado houve uma redução na expressão e na condição de déficit hídrico severo a expressão se manteve constante. A variação da expressão gênica que foi encontrada entre os tratamentos pode estar relacionada com o fato de que o nível da catalase não pode se manter elevado nas células durante a resposta de defesa, pois, níveis mínimos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> são essenciais para permitir a ativação de outros genes de defesa (GUIDETTI-GONZALES, 2009). A diminuição na expressão desse gene éessencial na manutenção do nível de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, assim controlando as flutuações nos níveis de ERO sobre condições de estresse (VANDENABEELE et al., 2004).

Para a condição de déficit hídrico severo, ambos os genótipos sob estresseapresentaram níveis similares de expressão relativa, contudo, quando comparados entre os tratamentos, o 042079-13 apresentou uma maior expressão gênica da CAT na condição de déficit hídrico moderado quando comparado a déficit hídrico severo, enquanto o genótipo SH3263 apresentou uma menor da expressão relativa da condição de déficit hídrico moderado, quando comparada ao controle e à déficit hídrico severo. Segundo Dutra (2014), essa redução da expressão gênica da CAT pode estar associada com a diminuição dos mecanismos de prevenção de danos oxidativos na planta.

### 3.2.1 Expressão gênica da APX

Considerando os dois genótipos (042079-13 e SH3263) submetidos aos diferentes regimes hídricos, os níveis de transcritos da APX foram diferenciados (Figura 6).



**Figura 6.** Perfil de expressão relativa do gene APX, em amostras de 042079-13 e SH3263, tolerante e menos tolerante ao déficit hídrico, respectivamente, sob diferentes condições de estresse hídrico. As quantificações foram normalizadas utilizando o gene de referência 25S e Tubulina.

A APX é a primeira enzima do ciclo ascorbato-glutationa, desempenhando papel vital na eliminação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Esta enzima possui alta afinidade ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, eliminando-o mesmo em baixas concentrações (GILL; TUTEJA, 2010). A expressão da APX sob o regime de estresse hídrico foi significativamente aumentada na condição de déficit hídrico moderado no genótipo mais tolerante (042079-13), quando comparado ao genótipo menos tolerante (SH3263). No entanto, na condição de reidratação, o genótipo SH3263 apresentou uma

expressão mais acentuada em relação ao 042079-13. As respostas da ascorbato peroxidase (APX) estão diretamente envolvidas na proteção das células das plantas em resposta a condições ambientais adversas (SANTOS, 2016). Portanto, maiores níveis de expressão podem estar relacionados à tolerância da planta ao déficit hídrico. Shekhar et al., (2019), trabalhando com bananeira transgênica, demonstraram que a superexpressão de um gene APX, conferiu ao genótipo tolerância ao estresse hídrico. Surendar et al., (2013) demonstraram que a atividade da APX é maior em genótipos tolerantes de bananeira, quando comparadas aos suscetíveis ao estresse hídrico.

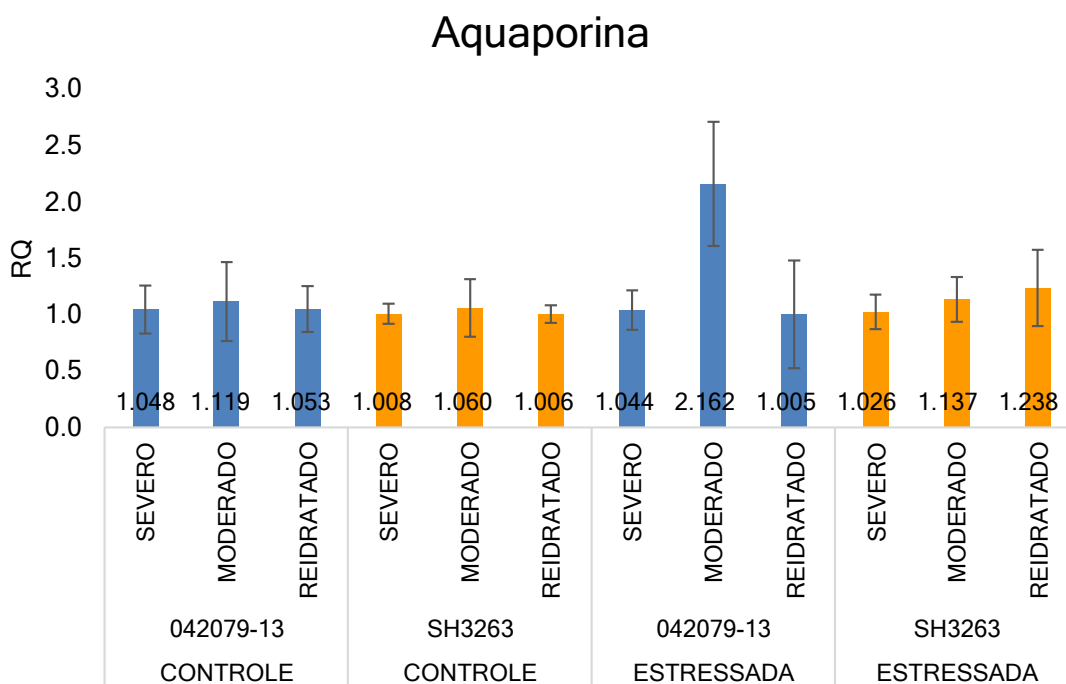
O genótipo 042079-13 apresentou aumento significativo na expressão quando exposta à condição de déficit hídrico moderado e um leve aumento quando exposto a condição déficit severo. No entanto, para o tratamento de reidratação, observou-se uma redução da expressão gênica na presença do estresse hídrico. Em trabalho envolvendo linhagens de trigo Nasirzadeh et.al., (2020), resultados semelhantes foram observados, onde houve uma maior expressão na condição de déficit hídrico moderado quando comparada com déficit hídrico severo. Estes resultados demonstram que sob o déficit hídrico severo, os genótipos não conseguiram eliminar o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o que pode ser resultado da inibição da síntese e/ou degradação da enzima. Este resultado demonstra também que a atividade da APX está associada ao grau de déficit hídrico a que a planta está sendo submetida (SOFO et al., 2015).

O genótipo SH3263 na condição de reidratação apresentou um aumento da expressão, enquanto na condição de déficit hídrico severo houve uma redução na expressão e na condição de reidratação a expressão se manteve constante. Condição semelhante foi observada por Koobaz et.al (2017), trabalhando com genótipos de trigo sensíveis ao déficit hídrico, que também apresentaram aumento expressão da APX após a reidratação.

Estudos relatam que a atividade da APX geralmente aumenta simultaneamente com a atividade de outras enzimas antioxidantes como CAT e a SOD em resposta a vários fatores de estresse ambiental, sugerindo uma co-regulação ou equilíbrio entre os componentes do sistema antioxidante (SHIGEOKA et al., 2002; MITTLER et al., 2004).

### 3.2.1 Expressão gênica da Aquaporina

Considerando os dois genótipos (042079-13 e SH3263) submetidos aos diferentes regimes hídricos, os níveis de transcritos da Aquaporina foram diferenciados (**Figura 7**).



**Figura 7.** Perfil de expressão relativa do gene Aquaporina, em amostras de 042079-13 e SH3263, tolerante e menos tolerante ao déficit hídrico, respectivamente, sob diferentes condições de estresse hídrico. As quantificações foram normalizadas utilizando o gene de referência 25S e Tubulina.

As aquaporinas ou MIPs (Major Intrinsic Protein / principais proteínas intrínsecas) são canais de água das membranas celulares que desempenham papel crucial no controle do conteúdo hídrico celular e histológico (FOUQUET et al., 2008). Estas proteínas apresentam funções essenciais na permeabilidade à água através das membranas em uma variedade de processos fisiológicos, como a captação de água do solo, transporte raiz-caule e célula-célula, homeostase celular e controle do gradiente osmótico (HEINEN et al., 2009). Segundo Hussain

et al., (2011), as aquaporinas possuem a capacidade de regular o transporte de água transmembrana quando o fluxo de água é crítico, como em situação de déficit hídrico, além de desempenhar um papel importante no processo de reidratação (MARTRE et al., 2002), pois a passagem da água é necessária entre membranas celulares para que o processo de recuperação da planta aconteça (HACHEZ et al., 2006). Desse modo, o padrão encontrado nas respostas da aquaporina pode influenciar diferentemente nas respostas fisiológicas ocorridas durante a recuperação após diferentes intensidades de deficiência hídrica, principalmente nos ajustes relacionados à manutenção do estado hídrico vegetal (SCHLEY, 2016)

A expressão da aquaporina sob o regime de estresse hídrico foi expressivamente aumentada na condição de déficit moderado no genótipo 042079-13, quando comparado ao genótipo SH3263. No entanto, na condição de reidratação, o genótipo SH3263 apresentou uma expressão mais acentuada em relação ao 042079-13. Diversos autores demonstraram que a superexpressão da aquaporina está relacionada ao aumento da tolerância à seca em bananeira (SREEDHARAN; SHEKHAWAT; GANAPATHI, (2013); XU et al., 2014; HU et al., (2015); SONG et al., (2018))

O genótipo mais tolerante (042079-13) apresentou aumento significativo na expressão quando exposto à condição de déficit moderado. Já nas condições de déficit severo e reidratação, a expressão se manteve constante. Esse resultado pode ser explicado porque em plantas sob déficit hídrico moderado, ocorre o crescimento das raízes e melhoria da condutividade hidráulica, resultando em aumento da capacidade do sistema radicular em prover água para a parte aérea (KUDOTAROVA et al., 2013).

O genótipo menos tolerante ao déficit (SH3263) na condição de reidratação, apresentou um aumento da expressão e nas condições de seca severa e moderada a expressão se manteve inalterada. Esse resultado pode estar relacionado com o fato de que as aquaporinas são importantes no processo de reidratação (MARTRE et al., 2002), pois para que a recuperação da planta aconteça, a passagem da água é necessária entre membranas celulares (HACHEZ et al., 2006).

Para a condição de déficit hídrico severo, ambos os genótipos sob estresse apresentaram níveis similares de expressão, demonstrando uma menor expressão quando comparados ao déficit moderado. De acordo com Hachez et al. (2008), esta menor atividade da expressão da aquaporina durante a o déficit severo, pode ocorrer para evitar a perda excessiva de água durante a desidratação. Bray (2007), em seu trabalho disse que a diminuição na abundância da transcrição pode limitar a perda de água das células, desse modo, plantas projetadas para reduzir o expressão de aquaporinas, implicou na resistência ao estresse por déficit hídrico e na capacidade das plantas de se recuperarem do estresse hídrico.

O estresse hídrico provoca uma série de alterações bioquímicas, especialmente no sistema de defesa antioxidante (GRATÃO et al., 2005). Sendo assim, é importante destacar que as alterações observadas no presente trabalho sobre os padrões de expressão gênica, são respostas que fazem parte de estratégias da planta que visam reduzir os efeitos deletérios da baixa disponibilidade hídrica, constituindo, portanto, mecanismos de tolerância à seca.

#### **4. CONCLUSÃO**

Ao avaliar o padrão de expressão relativa dos transcritos dos genes, Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbato peroxidase (APX) e Aquaporina em bananeiras submetidas à imposição de déficit hídrico, observou-se que o genótipo 042079-13 apresentou uma expressão mais acentuada para a condição de déficit moderado quando comparado ao seu controle e ao genótipo SH3263, resultado esse que corrobora com o que foi observado in vitro, assim, o genótipo 042079-13 demonstra ser mais tolerante ao estresse hídrico, em relação ao genótipo SH3263.

Os resultados gerados, corroboraram com os resultados de análises morfológicas invitro obtidos por Massaro (2016), demonstrando assim que o genótipo 042079-13, apresenta uma maior tolerância ao déficit hídrico, sendo assim, o mais recomendado para cruzamentos em programas de melhoramento vegetal, visando o desenvolvimento de novas cultivares tolerantes ao estresse. Contudo novos trabalhos na área são recomendados, devido à falta de

trabalhos envolvendo a expressão gênica (SOD, CAT, APX e Aquaporina) em bananeira sob condições de déficit hídrico, além da crescente demanda por novas cultivares que sejam tolerantes ao déficit hídrico, diante do cenário atual de redução de chuvas e aumento da temperatura global.

## 5. REFERÊNCIAS

AFZAL, Z. et al. The roles of aquaporins in plant stress responses. **Journal of developmental biology**, v. 4, n. 1, p. 9, 2016.

ALVES, E. J. A cultura da bananeira: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. **2º edição. Embrapa**, 1999.

ANDRADE, E. R. et al. Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 2, p. 79-85, 2010.

ANSARI, W. A. et al. Changes in antioxidant enzyme activities and gene expression in two muskmelon genotypes under progressive water stress. **Biologia Plantarum**, v. 61, n. 2, p. 333-341, 2017.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 55, p. 373-399, 2004.

ARORA, A.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current science**, p. 1227-1238, 2002.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual review of plant biology**, v. 50, n. 1, p.601-639, 1999.

BANDYOPADHYAY, U.; DAS, D.; BANERJEE, R. K. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. **Current science**, p. 658-666,

1999.

BARBAS, C. F. et al. Quantitation of DNA and RNA. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2007, n. 11, p. pdb. ip47, 2007.

BASSOI, L. H. et al. Consumo de água e coeficiente de cultura dagoiabeira irrigada por microaspersão. **Embrapa Semiárido-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2002.

BASU, S. et al. Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. **Plant Growth Regulation**, v. 60, n. 1, p. 51-59, 2010.

BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453-460, 2014.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Oxidative stress: relations between the formation of reactive species and the organism's defense. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BERWAL, M.; RAM, C. Superoxide dismutase: A stable biochemical marker for abiotic stress tolerance in higher plants. **Abiotic and Biotic Stress in Plants**, p. 1-10, 2018.

BORGES, A. L. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004..

BUSTIN, S. A. et al. Quantitative real-time RT-PCR-a perspective. **Journal of molecular endocrinology**, v. 34, n. 3, p. 597-601, 2005.

BIAN, S; JIANG, Y. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. **Scientia Horticulturae**, v. 120, n. 2, p. 264-270, 2009.



BIELA, A et al. The *Nicotiana tabacum* plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol. **The Plant Journal**, v. 18, n. 5, p.565-570, 1999.

CALBERTO, G; STAVER, C.; SILES, P. An assessment of global banana production and suitability under climate change scenarios. **Climate change and food systems: global assessments and implications for food security and trade**. Rome: Food Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2015.

CAMARGO, I. A. **Sistema antioxidante de cana-de-açúcar em resposta à seca**.2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

CHAI, T.-T. et al. Water stress-induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. **Biologia plantarum**, v. 49, n. 1,p. 153-156, 2005.

COELHO, E. F; OLIVEIRA, S. L. ; COSTA, E. L. . **Irrigação da bananeira**.Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2003.

DAŹBROWSKA, G. et al. Characteristics of the plant ascorbate peroxidasefamily. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 49, n. 1, p. 7-17, 2007.

DANTAS, J. L. L.; SILVA, S. O.; SOARES FILHO, W. S.; CARVALHO, P. C. L. Filogenia, história, evolução, distribuição geográfica e habitat. In: FERREIRA, C.F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (ed.). O agronegócio da banana. Brasília: Embrapa, 2015a. p. 17-28.

DE SOUSA, P. H. M. et al. Influence of concentration and proportion fruit: syrup inthe osmotic dehydration of processed bananas. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos (Brazil)**, 2003.

DE MEDEIROS, R. M. et al. Balanço hídrico climatológico e classificação

climática para a área produtora da banana do município de Barbalha, CE. **REVISTABRASILEIRA DE AGRICULTURA IRRIGADA-RBAI**, v. 7, n. 4, p. 258-268, 2013.

DEUNER, S. Sistema antioxidante em mudas de cafeeiro sob condições de déficit hídrico. 2007.

DONATO, S. L. R. et al. Considerações ecofisiológicas e estratégias de manejo da bananeira. In: **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 8., 2015, Montes Claros. Palestras e resumos... Belo Horizonte: Epamig, 2015. 1 CD-ROM., 2015.

DUTRA, S. M. F. Expressão de genes relacionados à tolerância à altas temperaturas durante a germinação em sementes de milho. 2014. 67 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014

EAKIN, H. C.; LEMOS, M. C.; NELSON, D. R. Differentiating capacities as a means to sustainable climate change adaptation. **Global Environmental Change**, v. 27, p. 1-8, 2014.

EL-ESAWI, M. A.; ALAYAFI, A. A. Overexpression of rice Rab7 gene improves drought and heat tolerance and increases grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). **Genes**, v. 10, n. 1, p. 56, 2019.

FAOSTAT. Faostat: Dados sobre Alimentos e Agricultura . Roma: FAOSTAT, 2017.

FOUQUET, R. et al. Identification of grapevine aquaporins and expression analysis in developing berries. **Plant cell reports**, v. 27, n. 9, p. 1541-1550, 2008.

FOYER, C. H.; DESCOURVIERES, P.; KUNERT, K. J. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants.

**Plant, Cell & Environment**, v. 17, n. 5, p. 507-523, 1994.

FRANÇOIS, T. Relações hídricas e trocas gasosas em plantas de feijão submetidas à irrigação deficitária. 2012.

FRAGA, D.; MEULIA, T.; FENSTER, S. Real-time PCR. **Current protocols essential laboratory techniques**, n. 1, p. 10.3. 1-10.3. 34, 2008.

FRISON, E. A. et al. The global Musa genomic consortium: a boost for banana improvement. In: **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations. Proceedings of a meeting held in Leuven, Belgium, 24- 28 September 2001**. Science Publishers, Inc., 2004. p. 341-349.

GACHON, C.; MINGAM, A.; CHARRIER, B. Real-time PCR: what relevance to plant studies?. **Journal of experimental botany**, v. 55, n. 402, p. 1445-1454, 2004.

GALMÉS, J. et al. Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status. **Planta**, v. 226, n. 3, p. 671-681, 2007.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOODSELL, D. S. Catalase. **Molecule of the Month. RCSB Protein Data Bank**, 2004.

GROß, F.; DURNER, J.; GAUPELS, F. Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence responses. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 419, 2013.

GRODEN, D.; BECK, E. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> destruction by ascorbate-dependent systems from chloroplasts. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-**

**Bioenergetics**, v. 546, n. 3, p. 426-435, 1979.

GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional plant biology**, v. 32, n. 6, p. 481-494, 2005.

GUIDETTI-GONZALEZ, S. **Identificação de genes envolvidos na defesa contra patógenos no banco de dados do CitEST e em macroarranjos da interação Citrus sinensis-Guignardia citricarpa**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

HACHEZ, C.; ZELAZNY, E.; CHAUMONT, F. Modulating the expression of aquaporin genes in planta: a key to understand their physiological functions?. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1758, n.8, p. 1142-1156, 2006.

HACHEZ, C. et al. The expression pattern of plasma membrane aquaporins in maize leaf highlights their role in hydraulic regulation. **Plant molecular biology**, v.68, n. 4-5, p. 337, 2008.

HEID, C. A. et al. Real time quantitative PCR. **Genome research**, v. 6, n. 10, p. 986-994, 1996.

HEINEN, R. B.; YE, Q.; CHAUMONT, F. Role of aquaporins in leaf physiology. **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 11, p. 2971-2985, 2009.

HU, W. et al. Genome-wide identification and expression analyses of aquaporin gene family during development and abiotic stress in banana. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 8, p. 19728-19751, 2015.

HUSSAIN, S. S. et al. Beyond osmolytes and transcription factors: drought tolerance in plants via protective proteins and aquaporins. **Biologia Plantarum**, v.55, n. 3, p. 401-413, 2011.

ESTATÍSTICA. Levantamento sistemático da produção agrícola. 2017.

JOO, J.; LEE, Y. H.; SONG, S. I. Rice CatA, CatB, and CatC are involved in environmental stress response, root growth, and photorespiration, respectively. **Journal of Plant Biology**, v. 57, n. 6, p. 375-382, 2014.

KJELLBOM, P. et al. Aquaporins and water homeostasis in plants. **Trends in plant science**, v. 4, n. 8, p. 308-314, 1999.

KOEFOED-JOHNSEN, V. and USSING., H.H., The Contributions of Diffusion and Flow to the Passage of D<sub>2</sub>O through Living Membranes.: Effect of Neurohypophysenl Hormone 011 Isolated Anuran Skin.. *Acta Physiologica Scandinavica*, 28: 60-76, 1953.

KOOBAZ, P. et al. Drought tolerance in four-day-old seedlings of a drought- sensitive cultivar of wheat. **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, n. 4, p. 574-583, 2017.

KUDOYAROVA, G. R.; KHOLODOVA, V. P.; VESELOV, D. S. Current state of the problem of water relations in plants under water deficit. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 60, n. 2, p. 165-175, 2013.

LAMB, C.; DIXON, R. A. The oxidative burst in plant disease resistance. **Annual review of plant biology**, v. 48, n. 1, p. 251-275, 1997.

LENG, G.; HALL, J. Crop yield sensitivity of global major agricultural countries to droughts and the projected changes in the future. **Science of the Total Environment**, v. 654, p. 811-821, 2019.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. **methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LOEW, O. A new enzyme of general occurrence in organisms. **Science**, 11(279),701-702, 1900.

LU, Y. Y; DENG, X. P; KWAK, S. S. Over expression of CuZn superoxide dismutase (CuZn SOD) and ascorbate peroxidase (APX) in transgenic sweet potato enhances tolerance and recovery from drought stress. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 49, p. 8378-8391, 2010.

MAGALHÃES, A. R. et al. **The effects of climatic variations on agriculture in northeast Brazil**. Kluwer Academic Publishers, 1988.

MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 2, p. 183-193, 2000.

MANN, T.; KEILIN, D. Haemocuprein and hepatocuprein, copper-protein compounds of blood and liver in mammals. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences**, v. 126, n. 844, p. 303-315, 1938.

MANICA, I. Fruticultura tropical: 4. banana. **Cinco Continentes Editora Ltda**, 1997.

MARENGO, J. A.; CUNHA, A. P.; ALVES, L. M. A seca de 2012-15 no semiárido do Nordeste do Brasil no contexto histórico. **Climanálise**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2016.

MARTRE, P. et al. Plasma membrane aquaporins play a significant role during recovery from water deficit. **Plant physiology**, v. 130, n. 4, p. 2101-2110, 2002.

MARSSARO, A. L. Seleção in vitro de genótipos de bananeira para tolerância ao déficit hídrico, 2016.

MAUREL, C. Plant aquaporins: novel functions and regulation properties. **FEBS letters**, v. 581, n. 12, p. 2227-2236, 2007.

MAUREL, C. et al. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 59, p. 595-624, 2008.

MHAMDI, A. et al. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. **Journal of experimental botany**, v. 61, n. 15, p. 4197-4220, 2010.

MORAIS, T. C. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de girassol submetidas ao estresse hídrico e à deterioração. 2015.

MITTLER, R. et al. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in plant science**, v. 9, n. 10, p. 490-498, 2004.

MORAES, P. F. et al. Genes differentially expressed in castor bean genotypes (*Ricinus communis* L.) under water stress induced by peg. **Bragantia**, v. 74, n. 1, p. 25-32, 2015.

NANODROP. ND-1000 Spectrophotometer: V3. 5 **User's Manual**, 2007.

NASIRZADEH, L. et al. Changes in antioxidant enzyme activities and gene expression profiles under drought stress in tolerant, intermediate, and susceptible wheat genotypes. **Cereal Research Communications**, v. 49, n. 1, p. 83-89, 2021.

OHSHIMA, Y. et al. Low aquaporin content and low osmotic water permeability of the plasma and vacuolar membranes of a CAM plant *Graptopetalum paraguayense*: comparison with radish. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, n. 10, p. 1119-1129, 2001.

OLIVEIRA, A.; GOMES-FILHO, E.; ENÉAS-FILHO, J. O problema da salinidade na agricultura e as adaptações das plantas ao estresse salino. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n. 11, 2010.

PAZ, V. P. S. et al. Water resources, irrigated agriculture and the environment. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n.

3, p. 465-473, 2000.

PERRIER, X. et al. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 28, p. 11311-11318, 2011.

PFAFFL, M. W. et al. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper-Excel-based tool using pair-wise correlations. **Biotechnology letters**, v. 26, n. 6, p. 509-515, 2004.

PIMENTEL, C. et al. Estresse hídrico em cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. em simbiose com o *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. **Turrialba**, 1990.

PINCELLI, R. P. et al. Leaf morphological changes in sugarcane cultivars in response to water deficit. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 4, p. 546-556, 2012.

PODEVIN, N. et al. Selection and validation of reference genes for quantitative RT-PCR expression studies of the non-model crop *Musa*. **Molecular Breeding**, v.30, n. 3, p. 1237-1252, 2012.

PRESTON, G. M.; AGRE, Peter. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 88, n. 24, p. 11110-11114, 1991.

RAVI, I. et al. Phenotyping bananas for drought resistance. **Frontiers in physiology**, v. 4, p. 9, 2013.

RIBEIRO, S. M. R. et al. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience journal**, v. 21, n. 3, 2005.

RODRÍGUEZ, M.; CANALES, E.; BORRÁS-HIDALGO, O. Molecular aspects of abiotic stress in plants. **Biotecnología Aplicada**, v. 22, n. 1, p. 1-10,



2005.

SANTOS, M. C. Expressão de genes relacionados à tolerância ao estresse hídrico em sementes e em tecidos de plântulas de milho. 2016. 79 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

SAMBROOK, J; RUSSELL. David. W. Molecular cloning: a laboratory manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. N.Y, 2001.

SCARPARE FILHO, J. A. et al. Cultivo e produção de banana. Piracicaba: Esalq, 2016.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant physiology**, v. 101, n. 1, p. 7, 1993.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCHLEY, T. R. Intensidade do estresse hídrico modula a expressão de aquaporinas durante a reidratação em *Sorghum bicolor*. 2016.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**, v. 13, p. 275-293, 2011.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Lycopene as an antioxidant agent. **Revista de nutrição**, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SHEPHERD, K. Banana: taxonomia e morfologia. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 1., 1984, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: FCAVJ/UNESP. p. 50-74, 1984.

SHIGEOKA, S. et al. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 372, p. 1305-1319, 2002.

SILVA, S. O. et al. Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 919-931, 2013.

SIMMONDS, N. W. Los plátanos. Barcelona: Blume, 1973. 539p

SIMMONDS, N. W; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 55, n. 359, p. 302-312, 1955.

SINGH, B. K.; SHARMA, S. R.; SINGH, B. Antioxidant enzymes in cabbage: variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase. **Scientia Horticulturae**, v. 124, n. 1, p. 9-13, 2010.

SOBER, H. A. (Ed.). Handbook of biochemistry: Selected data for molecular biology. Ohio: The Chemical Rubber, 1968.

SOFO, A. et al. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 6, p. 13561-13578, 2015.

SONG, S. et al. Identification of a novel promoter from banana aquaporin family gene (MaTIP1; 2) which responses to drought and salt-stress in transgenic *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 128, p. 163-169, 2018.

SREEDHARAN, S.; SHEKHAWAT, U. K. S; GANAPATHI, T. R. Transgenic banana plants overexpressing a native plasma membrane aquaporin M usa PIP 1;2 display high tolerance levels to different abiotic stresses. **Plant**

**Biotechnology Journal**, v. 11, n. 8, p. 942-952, 2013.

SURENDAR, K. K. et al. Influence of water stress on antioxidative enzymes and yield of banana cultivars and hybrids. **Pakistan journal of biological sciences: PJBS**, v. 16, n. 24, p. 1997-2002, 2013.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017. TANAKA, Y. et al. Salt tolerance of transgenic rice overexpressing yeast mitochondrial Mn-SOD in chloroplasts. **Plant Science**, v. 148, n. 2, p. 131-138, 1999.

TRENBERTH, K. E. et al. Global warming and changes in drought. **Nature ClimateChange**, v. 4, n. 1, p. 17-22, 2014.

TYERMAN, S. D.; NIEMIETZ, C. M.; BRAMLEY, H. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. **Plant, cell & environment**, v. 25, n. 2, p. 173-194, 2002.

UEHLEIN, N. et al. The tobacco aquaporin NtAQP1 is a membrane CO<sub>2</sub> pore with physiological functions. **Nature**, v. 425, n. 6959, p. 734-737, 2003.

VAN BREUSEGEM, F. et al. Effects of overproduction of tobacco MnSOD in maize chloroplasts on foliar tolerance to cold and oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 50, n. 330, p. 71-78, 1999.

VANDENABEELE, S. et al. Catalase deficiency drastically affects gene expression induced by high light in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 39, n. 1, p. 45-58, 2004.

VAN VOSSELEN, A.; VERPLANCKE, H. ; VAN RANST, E. Assessing water consumption of banana: traditional versus modelling approach. **Agricultural watermanagement**, v. 74, n. 3, p. 201-218, 2005.

VARMA, V.; BEBBER, D. P. Climate change impacts on banana yields

around the world. **Nature climate change**, v. 9, n. 10, p. 752-757, 2019.

VEIGA, P. O. A. Qualidade de mudas e aspectos fisiológicos, bioquímicos e biofísicos de sementes de café armazenadas. 2010.

VU, H. T.; SCARLETT, C. J.; VUONG, Q. V. Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 40, p. 238-248, 2018.

WANG, C. Q.; ZHANG, Y. F.; ZHANG, Yong-Bao. Scavenger enzyme activities in subcellular fractions of white clover (*Trifolium repens* L.) under PEG-induced water stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 27, n. 4, p. 387-393, 2008.

WITTER, R. L. Increased virulence of Marek's disease virus field isolates. **Avian diseases**, p. 149-163, 1997.

XU, Y. et al. A banana aquaporin gene, MaPIP1; 1, is involved in tolerance to drought and salt stresses. **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 1-14, 2014.

ZHAO, L. et al. An improved CTAB-ammonium acetate method for total RNA isolation from cotton. **Phytochemical Analysis**, v. 23, n. 6, p. 647-650, 2012.

ZHENG BIN, Z. et al. Advances and prospects: biotechnologically improving crop water use efficiency. **Critical reviews in biotechnology**, v. 31, n. 3, p. 281-293, 2011.

## ANEXOS

### Anexo A

**Tabela S1:** Lista dos 148 artigos que foram utilizados para compor a Revisão Sistemática.

Artigo	Autor
A CBL-interacting protein kinase TaCIPK27 confers drought tolerance and exogenous ABA sensitivity in transgenic Arabidopsis	Wang et al., 2018
A key response of grain yield and superoxide dismutase in maize ( <i>Zea mays</i> L.) to water deficit stress	Moharramnejad et al., 2019
Abscisic acid and jasmonic acid are involved in drought priming-induced tolerance to drought in wheat	Wang et al., 2021
Alleviation of adverse effects of drought stress on wheat seed germination using atmospheric dielectric barrier discharge plasma treatment.	Guo et al., 2017
Alleviation of field water stress in wheat cultivars by using silicon and salicylic acid applied separately or in combination	Maghsoudi et al., 2019
An Inositol 1,3,4,5,6-Pentakisphosphate 2-Kinase 1 Mutant with a 33-nt Deletion Showed Enhanced Tolerance to Salt and Drought Stress in Rice.	Jiang et al., 2021

- 
- Antioxidant {Enzymatic} {Activity} and {Its} {Related} {Genes} {Expression} in {Cassava} {Leaves} at {Different} {Growth} {Stages} {Play} {Key} {Roles} in {Sustaining} {Yield} and {Drought} {Tolerance} {Under} {Moisture} {Stress} Zhu et al., 2019
- Antioxidant enzyme and plant productivity changes in field-grown tomato under drought stress conditions using exogenous putrescine Farzane et al., 2020
- Antioxidant Metabolism of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Seedlings under Polyethylene Glycol (PEG) Induced Drought Stress Condition Verma et al., 2020
- Antioxidative response of *Glycine max* (L.) Merr. cv. Namdan to drought stress Mai et al., 2020
- Assessment of biochemical and physiological parameters of durum wheat genotypes at the seedling stage during polyethylene glycol-induced water stress Pour-Aboughadareh et al., 2020
- Banding Patterns Activity of Antioxidant Enzymes and Physiological Attributes in Maize (*Zea mays* L.) Families under Water Deficit Stress Mafakheri et al., 2019
- Biofilms Positively Contribute to *Bacillus amyloliquefaciens* 54-induced Drought Tolerance in Tomato Plants. Wang et al., 2019
- Boron Alleviates Drought Stress by Enhancing Gene Expression and Antioxidant Enzyme Activity Aydin et al., 2019
- Brassinolide alleviates the drought-induced adverse effects in barley by modulation of enzymatic antioxidants and ultrastructure Gill et al., 2017
-

---

Changes in antioxidant enzyme activities and gene expression profiles under drought stress in tolerant, intermediate, and susceptible wheat genotypes	Nasirzadeh et al., 2021
Characterization on the physiological traits of plants and yield formation capacity upon water- and N-saving conditions in wheat ( <i>T. aestivum</i> L.)	Du et al., 2021
Co-application of bio-fertilizer and salicylic acid improves growth, photosynthetic pigments and stress tolerance in wheat under drought stress.	Azmat et al., 2020
Combined ability of salicylic acid and spermidine to mitigate the individual and interactive effects of drought and chromium stress in maize ( <i>Zea mays</i> L.)	Naz et al., 2021
Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought-induced stress in maize.	Tayyab et al., 2020
Comparative {Evaluation} of {Different} {Phenolic} {Acids} as {Priming} {Agents} for {Mitigating} {Drought} {Stress} in {Wheat} {Seedlings}	Bhardwaj et al., 2017
Comparison of root tolerance to drought and aphid ( <i>Myzus persicae</i> Sulzer) resistance among different potato ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) cultivars.	Quandahor et al., 2021
Copper Chlorophyllin Impacts on Growth and Drought Stress Tolerance of Tomato Plants	Zhang et al., 2019
Cotton Late Embryogenesis Abundant (LEA2) Genes Promote Root Growth and Confer Drought Stress Tolerance in Transgenic <i>Arabidopsis thaliana</i> . PG - 2781-803	Magwanga et al., 2018

---

---

CRISPR/Cas9-Induced Mutagenesis of Semi-Rolled Leaf1, 2 Confers Curled Leaf Phenotype and Drought Tolerance by Influencing Protein Expression Patterns and ROS Scavenging in Rice ( <i>Oryza sativa</i> L.)	Liao et al., 2019
CRISPR/Cas9-Mediated SINPR1 mutagenesis reduces tomato plant drought tolerance.	Li et al., 2019
Defense Enzymes in Mycorrhizal Tomato Plants Exposed to Combined Drought and Heat Stresses	Haddidi et al., 2020
Dehydration-Induced WRKY Transcriptional Factor MfWRKY70 of <i>Myrothamnus flabellifolia</i> Enhanced Drought and Salinity Tolerance in <i>Arabidopsis</i> .	Xiang et al., 2021
Detection of biochemical and molecular changes in <i>Oryza sativa</i> L during drought stress	Khan et al., 2019
Differential activity of the antioxidant defence system and alterations in the accumulation of osmolyte and reactive oxygen species under drought stress and recovery in rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) tillering.	Wang et al., 2019
Differential response of anti oxidant system during grain development in drought tolerant and drought sensitive varieties of wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	Rao et al., 2020
Drought Tolerance Conferred in Soybean ( <i>Glycine max.</i> L) by GmMYB84, a Novel R2R3-MYB Transcription Factor	Wang et al., 2017
Drought tolerance in four-day-old seedlings of a drought-sensitive cultivar of wheat	Koobaz et al., 2017
Drought tolerance in <i>Triticum aestivum</i> L. genotypes associated with enhanced antioxidative protection and declined lipid peroxidation	Upadhyay et al., 2020

---



---

Drought-mitigating <i>Pseudomonas putida</i> {GAP}-{P45} modulates proline turnover and oxidative status in <i>Arabidopsis thaliana</i> under water stress	Ghosh et al., 2018
Dry-Caribbean <i>Bacillus</i> spp. Strains Ameliorate Drought Stress in Maize by a Strain-Specific Antioxidant Response Modulation.	Moreno-Galvn et al., 2020
Ectopic expression of GmHP08 enhances resistance of transgenic <i>Arabidopsis</i> toward drought stress	Chuong et al., 2021
Ectopic expression of <i>Medicago truncatula</i> homeodomain finger protein, MtPHD6, enhances drought tolerance in <i>Arabidopsis</i> .	Quan et al., 2019
Effect of drought Stress on some Morphological and Physiological Characteristics of tow resistance and sensitive wheat cultivars	Adl et al., 2020
Effect of drought stress on the expression of genes linked to antioxidant enzymatic activity in landraces of <i>Zea mays</i> {L}. and <i>Pennisetum glaucum</i> ({L}.) {R}. {Br}.	Iwuala et al., 2019
Effect of exogenous nitric oxide on sulfur and nitrate assimilation pathway enzymes in maize ( <i>Zea mays</i> L.) under drought stress	Majeed et al., 2018
Effect of polyamine on pigmentation, reactive oxidative species and antioxidant under drought in maize ( <i>Zea mays</i> L.)	Akter et al., 2018
Effects of 24-epibrassinolide on plant growth, antioxidants defense system, and endogenous hormones in two wheat varieties under drought stress	Khan et al., 2020
Effects of drought on expression patterns of genes encoding the antioxidant enzymes associated with chloroplasts in wheat	Danyali et al., 2019

---

---

Effects of S-Abscisic Acid (S-ABA) on Seed Germination, Seedling Growth, and Asr1 Gene Expression Under Drought Stress in Maize	Yao et al., 2019
Effects of salicylic acid, zinc and glycine betaine on morpho-physiological growth and yield of maize under drought stress.	Shemi et al., 2021
Elevated carbon dioxide alleviates the negative impact of drought on wheat by modulating plant metabolism and physiology	Ulfat et al., 2021
Enhanced drought tolerance in tomato plants by overexpression of SIMAPK1	Wang et al., 2018
Enzymatic and non-enzymatic comparison of two different industrial tomato ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) varieties against drought stress.	Äzelik et al., 2017
Evaluation of chitosan nanoparticles effects on yield and yield components of barley ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) under late season drought stress	Behboudi et al., 2018
Exogenous {Glutathione}-{Mediated} {Drought} {Stress} {Tolerance} in {Rice} ( <i>Oryza sativa</i> {L}.) is {Associated} with {Lower} {Oxidative} {Damage} and {Favorable} {Ionic} {Homeostasis}	Sohag et al., 2020
Exogenous {Melatonin} {Improves} {Drought} {Tolerance} in {Maize} {Seedlings} by {Regulating} {Photosynthesis} and the {Ascorbate}â€“{Glutathione} {Cycle}	Guo et al., 2020
Exogenous {Nitric} {Oxide} {Improves} the {Protective} {Effects} of {TiO2} {Nanoparticles} on {Growth}, {Antioxidant} {System}, and {Photosynthetic} {Performance} of {Wheat} {Seedlings} {Under} {Drought} {Stress}	Faraji et al., 2019

---

---

Exogenous application of $\beta$ -sitosterol mediated growth and yield improvement in water-stressed wheat ( <i>Triticum aestivum</i> ) involves up-regulated antioxidant system	Elkeilsh et al., 2019
Exogenous application of gibberellic acid mitigates drought-induced damage in spring wheat	Al et al., 2019
Exogenous Melatonin Alleviates Oxidative Damages and Protects Photosystem II in Maize Seedlings Under Drought Stress.	Huang et al., 2019
Exogenously Used 24-Epibrassinolide Promotes Drought Tolerance in Maize Hybrids by Improving Plant and Water Productivity in an Arid Environment.	Desoky et al., 2021
Exogenously-applied salicylic acid and ascorbic acid modulate some physiological traits and antioxidative defense system in <i>Zea mays</i> L. seedlings under drought stress	Loutfy et al., 2020
Expression of <i>AtGA2ox1</i> enhances drought tolerance in maize	Chen et al., 2019
Field tolerance and recovery potential of sugarcane varieties subjected to drought	Devi et al., 2018
Foliage applications of jasmonic acid modulate the antioxidant defense under water deficit growth in sugar beet	Ghaffari et al., 2019
Foliar application of betaine improves water-deficit stress tolerance in barley ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	Wang et al., 2019
Function analysis of ZmNAC33, a positive regulator in drought stress response in Arabidopsis	Liu et al., 2019
Grafting improves tomato drought tolerance through enhancing photosynthetic capacity and reducing ROS accumulation	Zhang et al., 2019

---

- 
- Groundnut AhcAPX conferred abiotic stress tolerance in transgenic banana through modulation of the ascorbate-glutathione pathway Shekhar et al., 2019
- High Antioxidant Activity Facilitates Maintenance of Cell Division in Leaves of Drought Tolerant Maize Hybrids Avramova et al., 2017
- High temperature and drought stress cause abscisic acid and reactive oxygen species accumulation and suppress seed germination growth in rice Liu et al., 2019
- Hydrogen peroxide potentiates defense system in presence of sulfur to protect chloroplast damage and photosynthesis of wheat under drought stress Sehar et al., 2020
- Hydrogen sulfide promotes rice drought tolerance via reestablishing redox homeostasis and activation of ABA biosynthesis and signaling Zhou et al., 2020
- Impact of Drought Stress during Germination on Antioxidant Capacities and Antioxidant Enzymes Activities of Madura Local Maize (*Zea mays*) Seeds Dani et al., 2019
- Improved Drought Tolerance by AMF Inoculation in Maize (*Zea mays*) Involves Physiological and Biochemical Implications. Begum et al., 2019
- In-field study on traditional Italian tomato landraces: The constitutive activation of the ROS scavenging machinery reduces effects of drought stress Landi et al., 2017
- Isolation, purification and characterization of an ascorbate peroxidase from celery and overexpression of the AgAPX1 gene enhanced ascorbate content and drought tolerance in *Arabidopsis*. Liu et al., 2019
-

---

Knockout of Auxin Response Factor SIARF4 Improves Tomato Resistance to Water Deficit.	Chen et al., 2021
Leaf Morphological and Biochemical Responses of Three Potato ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) Cultivars to Drought Stress and Aphid ( <i>Myzus persicae</i> Sulzer) Infestation	Quandahor et al., 2019
Maize water status and physiological traits as affected by root endophytic fungus <i>Piriformospora indica</i> under combined drought and mechanical stresses	Hosseini et al., 2018
MaWRKY80 positively regulates plant drought stress resistance through modulation of abscisic acid and redox metabolism	Liu et al., 2020
Melatonin confers drought stress tolerance in soybean ( <i>Glycine max</i> L.) by modulating photosynthesis, osmolytes, and reactive oxygen metabolism	Cao et al., 2019
Melatonin Improves Drought Resistance in Maize Seedlings by Enhancing the Antioxidant System and Regulating Abscisic Acid Metabolism to Maintain Stomatal Opening Under PEG-Induced Drought	Li et al., 2021
Miscanthus NAC transcription factor MINAC12 positively mediates abiotic stress tolerance in transgenic <i>Arabidopsis</i>	Yang et al., 2018
<i>Mitsuaria</i> sp. and <i>Burkholderia</i> sp. from <i>Arabidopsis</i> rhizosphere enhance drought tolerance in <i>Arabidopsis thaliana</i> and maize ( <i>Zea mays</i> L.).(Regular Article)(Report)	Huang et al., 2017

---

---

Modulating the antioxidant system by exogenous 2-(3,4-dichlorophenoxy) triethylamine in maize seedlings exposed to polyethylene glycol-simulated drought stress.(Research Article)(Report)	Xie et al., 2018
Morpho-physiological traits associated with drought responses in soybean	Guzzo et al., 2021
MpDGK2, a novel diacylglycerol kinase from <i>Malus prunifolia</i> , confers drought stress tolerance in transgenic <i>Arabidopsis</i>	Tan et al., 2020
Nanosilicon-based recovery of barley ( <i>Hordeum vulgare</i> ) plants subjected to drought stress	Ghorbanpour et al., 2020
Nano-ZnO-Induced Drought Tolerance Is Associated with Melatonin Synthesis and Metabolism in Maize.	Sun et al., 2020
Nitric oxide mediates molybdenum-induced antioxidant defense in wheat under drought stress	Wu et al., 2017
Nitric oxide regulates watermelon ( <i>Citrullus lanatus</i> ) responses to drought stress	Hamurcu et al., 2020
Nitric oxide synthase-mediated early nitric oxide burst alleviates water stress-induced oxidative damage in ammonium-supplied rice roots.(Report)	Cao et al., 2019
OsSAPK2 Confers Abscisic Acid Sensitivity and Tolerance to Drought Stress in Rice	Lou et al., 2017
Overexpression of {AtBBX29} {Improves} {Drought} {Tolerance} by {Maintaining} {Photosynthesis} and {Enhancing} the {Antioxidant} and {Osmolyte} {Capacity} of {Sugarcane} {Plants}	Mbambalala et al., 2021
Overexpression of a Tartary Buckwheat Gene, FtbHLH3 , Enhances Drought/Oxidative Stress Tolerance in Transgenic <i>Arabidopsis</i>	Yao et al., 2017

---

---

Overexpression of annexin gene AnnSp2, enhances drought and salt tolerance through modulation of ABA synthesis and scavenging ROS in tomato.	Ijaz et al., 2017
Overexpression of AtWRKY30 Transcription Factor Enhances Heat and Drought Stress Tolerance in Wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.).	El-Esawi et al., 2019
Over-expression of CarMT gene modulates the physiological performance and antioxidant defense system to provide tolerance against drought stress in <i>Arabidopsis thaliana</i> L	Dubey et al., 2019
Overexpression of GmFDL19 enhances tolerance to drought and salt stresses in soybean.	Li et al., 2017a
Overexpression of grapevine VvNAC08 enhances drought tolerance in transgenic <i>Arabidopsis</i>	Ju et al., 2020
Overexpression of OsRLCK241 confers enhanced salt and drought tolerance in transgenic rice ( <i>Oryza sativa</i> L.)	Zhang et al., 2021
Overexpression of Rice Rab7 Gene Improves Drought and Heat Tolerance and Increases Grain Yield in Rice ( <i>Oryza sativa</i> L.).	El-Esawi et al., 2019
Overexpression of banana ATG8f modulates drought stress resistance in <i>Arabidopsis</i>	Bing et al., 2019
Partial and full root-zone drought stresses account for differentiate root-sourced signal and yield formation in primitive wheat.	Batool et al., 2019
PheASR2, a novel stress-responsive transcription factor from moso bamboo ( <i>Phyllostachys edulis</i> ), enhances drought tolerance in transgenic rice via increased sensitivity to abscisic acid	Wu et al., 2020

---

---

Photosynthetic and ascorbate-glutathione metabolism in the flag leaves as compared to spikes under drought stress of winter wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.).(Research Article)	Lou et al., 2018
<i>Physcomitrella patens</i> dehydrins (PpDHNA and PpDHNC) confer salinity and drought tolerance to transgenic <i>Arabidopsis</i> plants	Li et al., 2017b
Physiological and antioxidant responses of winter wheat cultivars to strigolactone and salicylic acid in drought	Sedaghat et al., 2017
Physiological and Biochemical Changes in Sugar Beet Seedlings to Confer Stress Adaptability under Drought Condition.	Islam et al., 2020
Physiological and gene-expression variation in watermelon ( <i>Citrullus lanatus</i> L.) cultivars exposed to drought stress	Erez et al., 2020
Physiological and iTRAQ-based proteomic analyses reveal that melatonin alleviates oxidative damage in maize leaves exposed to drought stress	Su et al., 2019
Physiological and proteomic analysis of rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) in flag leaf during flowering stage and milk stage under drought stress	Wang et al., 2017
Physiological and transcriptomic analyses of the effects of SIBRI1 expression levels on drought tolerance in tomato seedlings	Nie et al., 2021
Physiological changes and transcriptome profiling in <i>Saccharum spontaneum</i> L. leaf under water stress and re-watering conditions.	Li et al., 2021

---



---

Piriformospora indica confers drought tolerance on Zea mays L. through enhancement of antioxidant activity and expression of drought-related genes	Xu et al., 2017
Piriformospora indica symbiosis improves water stress tolerance of rice through regulating stomata behavior and ROS scavenging systems.	Tsai et al., 2020
Potassium up-regulates antioxidant metabolism and alleviates growth inhibition under water and osmotic stress in wheat (Triticum aestivum L)	Ahanger et al., 2017
Potato NAC Transcription Factor StNAC053 Enhances Salt and Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis.	Wang et al., 2021
Pretreatment with different molecular weight chitosans encourages drought tolerance in rice (Oryza sativa L.) seedling	Moolphuerk et al., 2020
Proteomics, physiological, and biochemical analysis of cross tolerance mechanisms in response to heat and water stresses in soybean.	Katam et al., 2020
Rare-earth element scandium improves stomatal regulation and enhances salt and drought stress tolerance by up-regulating antioxidant responses of Oryza sativa	Elbasan et al., 2020
Regulation of Antioxidant Enzymes and Invertases by Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide Under ABA and Water-Deficit Stress in Wheat	Tanotra et al., 2019
Rice ( Oryza sativa L.) tau class glutathione S -transferase ( OsGSTU30 ) overexpression in Arabidopsis thaliana modulates a regulatory network leading to heavy metal and drought stress tolerance	Srivastava et al., 2019

---

---

Role of exogenous nitrogen supply in alleviating the deficit irrigation stress in wheat plants	Agami et al., 2018
Root yield, antioxidant capacities, and hormone contents in different drought-tolerant sweet potato cultivars treated with ABA under early drought stress	Zhang et al., 2020
S-adenosylmethionine synthetase 1 confers drought and salt tolerance in transgenic tomato	Zhang et al., 2020
Salicylic {Acid} and {Hydrogen} {Peroxide} {Improve} {Antioxidant} {Response} and {Compatible} {Osmolytes} in {Wheat} ({Triticum} aestivum {L.}) {Under} {Water} {Deficit}	Singh et al., 2021
Seed inoculation of desert-plant growth-promoting rhizobacteria induce biochemical alterations and develop resistance against water stress in wheat	Zia et al., 2021
Seed priming with hydrogen peroxide alleviates the effects of drought stress in rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) seedlings	Weeraphorn et al., 2020
Silicon application positively alters pollen grain area, osmoregulation and antioxidant enzyme activities in wheat plants under water deficit conditions	Maghsoudi et al., 2019
Silicon-Mediated Priming Induces Acclimation to Mild Water-Deficit Stress by Altering Physio-Biochemical Attributes in Wheat Plants	Hameed et al., 2021
Soybean Plant Metabolism under Water Deficit and Xenobiotic and Antioxidant Agent Application.	Schneider et al., 2020
Sugar beet extract acts as a natural bio-stimulant for physio-biochemical attributes in water stressed wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	Noman et al., 2018

---

---

The ABA receptor-like gene VyPYL9 from drought-resistance wild grapevine confers drought tolerance and ABA hypersensitivity in Arabidopsis	Liu et al., 2019
The application of exogenous PopW increases the tolerance of Solanum lycopersicum L. to drought stress through multiple mechanisms	Zhou et al., 2020
The bZIP Transcription Factor GmbZIP15 Negatively Regulates Salt Drought-Stress Responses in Soybean.	Zhang et al., 2020
THE EFFECT OF DROUGHT, HEAT AND COMBINED STRESS ON ANTIOXIDANT ENZYMES IN BREAD WHEAT GENOTYPES (Triticum aestivum L.)	BACHIRI et al., 2020
The effects of putrescine pre-treatment on osmotic stress responses in drought-tolerant and drought-sensitive wheat seedlings	Doneva et al., 2021
The Maize Class-I SUMO Conjugating Enzyme ZmSCE1d Is Involved in Drought Stress Response.	Wang et al., 2020
The physiological responses of tomato to water stress and re-water in different growth periods	Hao et al., 2019
The protective role of silicon in sugarcane under water stress: photosynthesis and antioxidant enzymes	Verma et al., 2019
The Soybean GmRACK1 Gene Plays a Role in Drought Tolerance at Vegetative Stages	Li et al., 2018
The soybean transcription factor GmNAC085 enhances drought tolerance in Arabidopsis	Nguyen et al., 2018
The spike plays important roles in the drought tolerance as compared to the flag leaf through the phenylpropanoid pathway in wheat	Li et al., 2020

---

---

The WRKY transcription factor WRKY8 promotes resistance to pathogen infection and mediates drought and salt stress tolerance in <i>Solanum lycopersicum</i>	Gao et al., 2020
Transcriptional variation analysis of <i>Arabidopsis</i> ecotypes in response to drought and salt stresses dissects commonly regulated networks	Wang et al., 2020
Transgenic <i>Arabidopsis</i> Plants Expressing Grape Glutathione S-Transferase Gene (VvGSTF13) Show Enhanced Tolerance to Abiotic Stress	Xu et al., 2018
Using intervarietal substitution lines for the identification of wheat chromosomes involved in early responses to water-deficit stress	Dudziak et al., 2019
Wild Relatives of Wheat Respond Well to Water Deficit Stress: A Comparative Study of Antioxidant Enzyme Activities and Their Encoding Gene Expression	Pour-Aboughadareh et al., 2020
Wild relatives of wheat: <i>Aegilops</i> and <i>Triticum</i> accessions disclose differential antioxidative and physiological responses to water stress	Ahmadi et al., 2018
Zinc regulates the hydraulic response of maize root under water stress conditions	Zhang et al., 2021

---

## Anexo B

**Tabela S2:** Lista das instituições relatadas nos artigos selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

---

### Lista de instituições

---

Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII)  
 Aligarh Muslim University  
 Anhui Agricultural University  
 Bangabandhu Sheikh Mujibur Rahman Agricultural University  
 Bangladesh Agricultural University  
 Birla Institute of Technology and Science  
 BS Abdur Rahman Crescent Institute of Science and Technology  
 Bu-Ali Sina University  
 Bulgarian Academy of Sciences  
 Capital Normal University  
 Centro de Pesquisa Nacional, região de Nubaria  
 Chaudhary Charan Singh Haryana Agricultural Universidade  
 China Agricultural University  
 China Ministry of Science and Technology  
 China National Rice Research Institute  
 China West Normal University  
 Chinese Academy of Agricultural Sciences  
 Chinese Academy of Sciences  
 Colorado State University  
 COMSATS University Islamabad (CUI)  
 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA  
 CSIR-National Botanical Research Institute  
 Dezhou Academy of Agricultural Sciences  
 Fayoum University  
 Ferdowsi Universidade de Mashhad  
 Fujian Agriculture and Forestry University  
 Gansu Agricultural University

---

---

Government College University  
Guangxi University  
Hainan University  
Harbin Normal University  
Hebei Agricultural University  
Heilongjiang Bayi Agricultural University  
Henan Agricultural University  
Huanghuai University  
Huazhong Agricultural University  
Hubei University of Engineering  
ICAR - Indian Agricultural Research Institute  
Institute for Plant Biotechnology  
Institute of Agricultural Sciences  
Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and  
Ministry of water Resources  
Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (IFRGV)  
Isfahan University of Technology  
Islamic Azad University  
Istanbul Kultur Univesity  
Jiangsu Academy of Agricultural Sciences (JAAS)  
Jiwaji University  
Kangwon National University  
Khon Kaen University  
Lanzhou University  
Mississippi Agricultural and Forestry Experimental Station  
National Institute for Biotechnology and Genetic Engineering (NIBGE)  
National Institute of Agronomic Research of Algeria (INRAA)  
National Research Council of Italy (IBBR-CNR)  
National Taiwan University  
Northeast Agricultural University  
Northwest A&F University  
Pasteur Institute of Iran  
Pir Mehr Ali Shah(PMAS) Arid Agriculture University

---

---

Punjab Agricultural University  
Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology  
RIKEN Center for Sustainable Resource Science  
Sam Higginbottom University of Agriculture Technology and Sciences  
Sardarkrushinagar Dantiwada Agricultural University.  
School of Biotechnology, International University  
Selcuk University  
Shahrekord University  
Shandong Academy of Agricultural Sciences  
Shandong Agricultural University  
Shandong University  
Shanghai Academy of Agricultural Sciences  
Sher-e-Bangla Agricultural University  
Shiraz University  
Sichuan Agricultural University  
South China Agricultural University  
South Valley University  
Southwest University (SWU)  
Southwest University of Science and Technology  
Tanta University  
Tarbiat Modares University  
The Islamia University of Bahawalpur  
Trakya Agricultural Research Institute  
Universidade Szent István  
University of Antwerp  
University of Arak  
University of Copenhagen  
University of Helsinki  
University of Jember  
University of Life Sciences in Lublin  
University of North Bengal  
University of Passo Fundo  
University of Tabriz

---

---

University of Vinh  
 Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
 Virginia Polytechnic Institute and State University  
 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden  
 Yangtze University  
 Yeditepe University  
 Zagazig University  
 Zhejiang University  
 Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC

---

### Anexo C

**Tabela S3:** Protocolos que foram utilizados para a avaliação enzimática, trabalhados em artigos dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

<b>Enzima</b>	<b>Protocolo</b>	<b>Frequência</b>
SOD	Giannopolitis and Ries (1977)	20
SOD	Beauchamp and Fridovich (1971)	19
SOD	Dhindsa et al., (1981)	9
SOD	Beyer and Fridovich (1987)	5
SOD	Zhang (1992)	3
SOD	Dhindsa e Matowe (1981)	3
SOD	Gao (2006)	2
SOD	Gong et al., (2015)	1
SOD	Rai et.al (2011)	1
SOD	Jiang et al., (2016)	1
SOD	Minami and Yoshikawa (1979)	1
SOD	Zhang et al., (2019)	1
SOD	Kumar Tewari et al., (2006)	1
SOD	Gong et al., (2014)	1
SOD	Fridovic (1975)	1

---



---

SOD	Stewart and Bewley (1980)	1
SOD	Li et al., (2011)	1
SOD	Fridovic (1975)	1
SOD	El-Shabrawi et al., (2010)	1
SOD	Nie et al., (2019)	1
SOD	Yang et al., (2017)	1
SOD	Agarwal et al., (2005)	1
SOD	Sunohara and Matsumoto (2004)	1
SOD	Yildiztugay et al., (2019)	1
SOD	Qian et al., (2013)	1
SOD	Wang et al., (2015)	1
SOD	Del Longo et al., (1993)	1
SOD	He et al., (2019)	1
SOD	Soltis and Soltis (1990)	1
SOD	Huang et al., (2010)	1
SOD	Wendel and Weeden (2012)	1
SOD	Heath and Packer (1968)	1
SOD	Zhang et al., (2008)	1
SOD	Azimi et al., (2016)	1
SOD	Tan et al., (2008)	1
SOD	Chu et al., (2016)	1
SOD	Devi, Kaur and Gupta (2012)	1
SOD	Liu et al., (2012)	1
SOD	Bartosz (2005)	1
SOD	Mittova et al., (2004)	1
SOD	Xu et al., (2012)	1
SOD	Ekler et al., (1993)	1
SOD	Qiu et al., (2008)	1
SOD	Spitz e Oberley (1989)	1
SOD	Van Rossum, Alberda and van der Plas (1997)	1
SOD	Ali et al., (2014)	1
SOD	McCord and Fridovich (1969)	1

---

---

SOD	Chen et al., (2010b)	1
SOD	Singh and Laxmi (2015)	1
SOD	Kakkar et al., (1984)	1
SOD	Alonso et al., (2001)	1
SOD	Wu et al., (2014)	1
SOD	Sehar et al., (2019)	1
SOD	Hodges et al. (1999)	1
SOD	Abedi and Pakniyat (2010)	1
SOD	Wang (2010)	1
SOD	Loukehaich et al., (2019)	1
CAT	Aebi (1984)	31
CAT	Chance and Maehly (1955)	7
CAT	Dhindsa et al., (1981)	4
CAT	Kumar et al., (2010)	3
CAT	Chandlee and Scandalios (1984)	3
CAT	Hadwan (2018)	2
CAT	Cakmak and Marschner (1992)	2
CAT	Havir and Mchale (1987)	2
CAT	Cakmak and Horst (1991)	2
CAT	Larrigaudière et al., (2004)	2
CAT	Nakano and Asada (1981)	2
CAT	Gong et al., (2015)	1
CAT	Gao (2006)	1
CAT	Benabdellah et al., (2009)	1
CAT	Maehly and Chance (1954)	1
CAT	Rai et al., (2011)	1
CAT	Jiang et al., (2016)	1
CAT	Yang et al., (2008)	1
CAT	Ádám et al., (1995)	1
CAT	Yang et al., (2011)	1
CAT	Yang et al., (2017)	1
CAT	Yang et al., (2009)	1
CAT	Gong et al., (2014)	1

---

---

CAT	Anderson et al., (1995)	1
CAT	Luck (1975)	1
CAT	Patra et al., (1978)	1
CAT	Li et al., (2011)	1
CAT	Cai et al., (2015)	1
CAT	Mostofa et al., (2015)	1
CAT	Nie et al., (2019)	1
CAT	Li et al., (2014)	1
CAT	Agarwal et al., (2005)	1
CAT	Sunohara and Matsumoto (2004)	1
CAT	Kraus and Fletcher (1994)	1
CAT	Yildiztugay et al., (2019)	1
CAT	Wang et al., (2015)	1
CAT	Wang et al., (2012)	1
CAT	Wang (1995)	1
CAT	Zhang (1992)	1
CAT	Zhang et al., (2014)	1
CAT	Kato and Shimizu (1987)	1
CAT	Kar and Mishra (1976)	1
CAT	He et al., (2019)	1
CAT	Soltis and Soltis (1990)	1
CAT	Huang et al., (2010)	1
CAT	Fu and Huang (2001)	1
CAT	Giannopolitis and Ries (1977)	1
CAT	Azimi et al., (2016)	1
CAT	Tan et al., (2008)	1
CAT	Tan et al., (2017)	1
CAT	Bartosz (2005)	1
CAT	Mittova et al., (2004)	1
CAT	Xu et al., (2012)	1
CAT	Csiszar et al., (2007)	1
CAT	Hasa-nuzzaman et al., (2012)	1
CAT	Esposito et al., (2003)	1

---

---

CAT	Sinha (1972)	1
CAT	Chen et al., (2010)	1
CAT	Hamurcu et al., (2013)	1
CAT	Fu and Huang (2001)	1
CAT	Wu et al., (2014)	1
CAT	Hodges et al., (1999)	1
CAT	Rao et al., (1997)	1
CAT	Sahu et al., (2011)	1
CAT	Loukehaich et al., (2019)	1
APX	Nakano and Asada (1981)	44
APX	Nakano and Asada (1982)	2
APX	Yoshimura et al., (2000)	2
APX	Nakano and Asada (1980)	1
APX	Nakano and Asada (1987)	1
APX	Yang et al., (2008)	1
APX	Janda et al., (1999)	1
APX	Gong et al., (2014)	1
APX	Sunohara and Matsumoto (2004)	1
APX	Yildiztugay et al., (2019)	1
APX	Zhang et al., (2014)	1
APX	Zhang et al., (2015)	1
APX	Chen and Asada (1989)	1
APX	Chen et al., (2010)	1
APX	Tan et al., (2008)	1
APX	Tan et al., (2017)	1
APX	Silva et al., (2018)	1
APX	Liu et al., (2014)	1
APX	Mittova et al., (2004)	1
APX	Asada and Takahashi (1987)	1
APX	Asada (1992)	1
APX	Elia et al., (2003)	1
APX	Murshed et al., (2008)	1
APX	Jimenez et al., (1997)	1

---

---

APX	Amako, Chen and Asada (1994)	1
APX	Wu et al., (2014)	1
APX	Arum et al., (2018)	1
APX	Sehar et al., (2019)	1
APX	Hossain and Asada (1976)	1
APX	Mittler and Zilinskas (1993)	1
APX	Zheng et al., (2009)	1
APX	Hiner et al., (2000)	1
GPX	Chance and Maehly (1955)	2
GPX	Balakhnina et al., (2015)	1
GPX	Roxas et al., (1997)	1
GPX	Nakano and Asada (1981)	1
GPX	Uarrota et al., (2016)	1
GPX	Takeda et al., (1993)	1
GPX	Murshed et al., (2008)	1
GPX	Elia et al., (2003)	1
GPX	Quessada and Macheix (1984)	1
GPX	Sayfzadeh and Rashidi (2010)	1
GPX	Ádám et al., (1995)	1
MDHAR	Hossain et al., (2010)	2
MDHAR	Pinto et al., (2000)	1
MDHAR	Vanacker et al., (1998)	1
MDHAR	Pyingrope et al., (2013)	1
MDHAR	Murshed et al. (2008)	1
MDHAR	Miyake and Asada (1992)	1
MDHAR	Hossain et al., (1984)	1
DHAR	Nakano and Asada (1981)	4
DHAR	Pinto et.al., (2000)	2
DHAR	Doulis et al., (1997)	1
DHAR	Nakano and Asada (1980)	1
DHAR	Murshed et al., (2008)	1
GST	Mannervik and Guthenberg (1981)	1
GST	Habig et al., (1974)	1

---

---

GST	Hossain et al., (2006)	1
GST	Ji et al. (2010)	1
GST	Foyer and Halliwell (1976)	1
GST	Rohmanet et al., (2010)	1
POD	Chance and Maehly (1955)	7
POD	Cakmak et al., (1993)	3
POD	Zhang (1992)	3
POD	Maehly and Chance (1954)	2
POD	Manoranjan and Dinabandhu (1976)	2
POD	Cakmak and Marschner (1992)	2
POD	Li et al., (2000)	2
POD	Vetter et al., (1958)	2
POD	Doerge et al., (1997)	2
POD	Ghanati et al., (2002)	2
POD	Upadhyaya et al., (1985)	2
POD	Gong et al., (2015)	1
POD	Gao (2006)	1
POD	Maehly and Chance (1959)	1
POD	Dixit (2001)	1
POD	Jiang et al., (2016)	1
POD	Ghobadi et al., (2013)	1
POD	Morohashi (2002)	1
POD	Egley et al., (1983)	1
POD	Nie et al., (2019)	1
POD	Kochba et al., (1977)	1
POD	Yang et al., (2017)	1
POD	Lin and Wang (2002)	1
POD	Kato and Shimizu (1987)	1
POD	Phimchan et al., (2014)	1
POD	MacAdam (1992)	1
POD	Wang et al., 2015	1
POD	Wang (2010)	1
POD	He et al., (2019)	1

---

---

POD	Olson and Varner (1993)	1
POD	Huang et al., (2010)	1
POD	Aebi (1984)	1
POD	Bartosz (2005)	1
POD	Gorin and Heidema (1976)	1
POD	Xu et al., (2012)	1
POD	Zheng and Huystee (1992)	1
POD	Zheng et al., (2006)	1
POD	Qiu et al., (2008)	1
POD	Zong et al., 2009	1
POD	Lin and Wang (2002)	1
POD	Hemeda and Klein (1990)	1
POD	Polle et al., (1994)	1
POD	Rathmell and Sequeira (1974)	1
POD	Chen et al., (2010)	1
POD	Maehly (1954)	1
POD	Maehly et al., (1954)	1
POD	Rodríguez et al., (2001)	1
POD	Tan et al., (2017)	1
POD	Hodges et al., (1999)	1
POD	Hamilton et al., (1999)	1
POD	Abedi and Pakniyat (2010)	1
POD	Wang (2010)	1
POD	Hori et al., (1997)	1
POD	Loukehaich et al., (2019)	1
GR	Foyer and Halliwell (1976)	4
GR	Grace and Logan (1996)	2
GR	Smith et al., (1988)	2
GR	Keles and Oncel (2002)	1
GR	Smith and Johnson (1988)	1
GR	Yildiztugay et al., (2019)	1
GR	Foster and Hess (1980)	1
GR	Sgherri and Navari-Izzo (1995)	1

---

---

GR	Rao (1992)	1
GR	Jiang and Zhang (2002)	1
GR	Tan et al., (2008)	1
GR	Hasanuzzaman and Fujita (2011)	1
GR	Habig et al., (1974)	1
GR	Murshed et al., (2008)	1
GR	Hossain et al., (2010)	1
GR	Hasanuzzaman et al., (2011)	1
GR	Edwards et al., (1990)	1
GR	Halliwell and Foyer (1978)	1
GR	Singh and Laxmi (2015)	1
GR	Pastori et al., (2000)	1
GR	Sehar et al., (2019)	1
GR	Barata et al., (2000)	1
GR	Mohapatra et al., (2009)	1
GR	Balabusta et al., (2016)	1
GR	Smith (1988)	1
GR	Smith et al., (1989)	1
POX	Seevers et al., (1971)	2
POX	Kumar and Khan 1982)	2
POX	Yildiztugay et al., (2019)	1
POX	Zhang (1992)	1
POX	Devi, Kaur and Gupta (2012)	1
POX	Herzog and Fahimi (1973)	1
POX	MacAdam et al., (1992)	1
POX	Polle et al., (1994)	1
POX	Chance and Maehly (1955)	1
POX	Shannonet et al., (1966)	1
POX	Singh and Laxmi (2015)	1
POX	Nakano and Asada (1981)	1
POX	Herzog and Fahimi (1973)	1
POX	Malik and Singh (1980)	1
PAL	Ochoa and Salgado (1992)	1

---



---

PAL	Cahill and McComb (1992)	1
PPO	Tagele et al., (2019)	1
PPO	Mohammadi and Kazemi (2002)	1
PPO	Fehrmann and Dimond (1967)	1
LOX	Anthon and Barrett (2001)	1
LOX	Fornaroli et al., (1999)	1
NOX	Yildiztugay et al. (2019)	1

---

## Anexo D

**Tabela S4.** Genes e sequência dos primers relacionados a expressão de genes relacionados a enzimas antioxidantes, trabalhadas nos artigos selecionados dos últimos 5 anos reconhecidos na revisão sistemática.

Enzima	Gene	Sequencia	Autor
SOD	<i>SOD-F</i>	ACCAGGTGGAGGTGGAAAG	Li et al ., (2017)
	<i>SOD-R</i>	TCATCGGGTGAAGGAGGAT	
	<i>AtSOD-F</i>	ATGAGAAGTTCTATGAAGAG	Ya et al., (2017)
	<i>AtSOD-R</i>	GTCTTTATGTAATCTGGT	
	<i>MnSOD-F</i>	CAGAGGGTGCTGCTTTACAA	Pour-Aboughadareh et al., (2020)
	<i>MnSOD-R</i>	GGTCACAAGAGGGTCCTGAT	
	<i>OsSOD-Cu/Zn -R</i>	GCTCTATTGCGTTGTATGCCA	El-Esawi and Alayafi (2020)
	<i>OsSOD-Cu/Zn -F</i>	GCTTGACTCCCAAATGGTGAC	
	<i>Cu/Zn SOD F</i>	GGGCACCTGAAGATGAAATC	Nasirzadeh et al., (2020)
	<i>Cu/Zn SOD R</i>	TTGAATTTGGTCCAGTAAGGG	
	<i>Cu/ZnSOD-F</i>	TGTTGCAAATGCTGAGGGCATAGC	Moharramnejad et al., (2019)
	<i>Cu/ZnSOD-R</i>	CCAACAACACCACATGCCAGTCTT	
	<i>Cu/Zn SOD-F</i>	GTGCATATCGACAGGACCAC	Sun et al., (2020)
	<i>Cu/Zn SOD-R</i>	CAATGGTTGCCTCGGCTATG	
<i>Fe/Mn SOD-F</i>	GGCGGTCATGTGAACCATTCAATC		

---

<i>Fe/Mn SOD-R</i>	CGCCTTCTGCATTCATCCTC	
<i>OsCu / ZnSOD-F</i>	TGTCCAAGAGGGAGATGGTC	
<i>OsCu / ZnSOD-R</i>	CTTCTCCAGCGGTGACATTT	
<i>OsFeSOD-F</i>	GAACAAAGGCAGGGCTGTAG	Liu et al., (2019)
<i>OsFeSOD-R</i>	ATGGGTTGCCGTTGTTGTAT	
<i>OsMnSOD-F</i>	GCCATTGATGAGGATTTTGG	
<i>OsMnSOD-R</i>	TGCAGGTAGTACGCATGCTC	
<i>TaSOD-F</i>	TTGTAGGTCGCTGGTTTC	
<i>TaSOD-R</i>	CCAAGTTCACGGTTCATAG	Wu et al., (2017)
<i>ChlCu/ZnSOD-F</i>	AAATGCTGGTGGAAGACT	
<i>ChlCu/ZnSOD-R</i>	ACACTGATACAAACGATCAAC	Danyali et al., (2019)
<i>Mn-SOD-F</i>	TGGCGCTCCGCACGCTG	
<i>Mn-SOD-R</i>	TGGCGACGTAGGTGGCGTGG	Khan et al., (2019)
<i>SOD-F</i>	TCCTTTGACTGGCCCTAATG	
<i>SOD-R</i>	CTTCCACCAGCATTTCAGT	Elkeilsh et al., (2019)
<i>Cu/ZnSOD1-F</i>	AACGGTTGCATGTCTACTGGTC	
<i>Cu/ZnSOD1-R</i>	GTGATTGTGAAGGTGGCAGTTCC	
<i>Cu/ZnSOD2-F</i>	CAGGGCCTCATGGATTTTCATCTCC	
<i>Cu/ZnSOD2-R</i>	TGGAGCTCCGTGTGTCATGTTG	Wang et al., (2017)
<i>Cu/ZnSOD3-F</i>	AACAACGTCCGAGGCTGTCTTC	
<i>Cu/ZnSOD3-R</i>	TTCCCGGTGACATGAGTAGTTCCG	

---

---

	FeSOD1-F	AGTGCTGTCACCGCAAACACTACG	
	FeSOD1-R	TATGCGGCTCCAAAGCATCCAG	
	FeSOD2-F	GGTGGCTGTTTCCGGTGTTATC	
	FeSOD2-R	TATGCGGTTCCAGAGCATCAAG	
	FeSOD3-F	CCACTCGTGTGGGACGATATTC	
	FeSOD3-R	ACGACACCAAGTGGTTCAGAAATG	
	<i>CAT-F</i>	GCCCATCACAACAATCACC	
	<i>CAT-R</i>	TTTCACGCTTCCCACCTAG	Li et al ., (2017)
	<i>AtCAT-F</i>	GCAACTACCCCGAGTGAAAA	
	<i>AtCAT-R</i>	TGTTCAGAACCAAGCGACCA	Ya et al., (2017)
	<i>CAT-F</i>	CCATGAGATCAAGGCCATCT	
	<i>CAT-R</i>	ATCTTACATGCTCGGCTTGG	Pour-Aboughadareh et al., (2020)
	<i>OsCATA -F</i>	GTGAAGATTGCGAATAGGCTC	
CAT	<i>OsCATA -R</i>	TCTGGCCTTATTTGGTTGGT	El-Esawi and Alayafi (2020)
	<i>OsCATB-F</i>	GACAAGGAGAACAATTTCCAACAG	
	<i>OsCATB-R</i>	AGTAGGAGATCCAGATGCCAC	
	<i>CAT-F</i>	GCGAGAAGATGGTGATCG	
	<i>CAT-R</i>	CTTGATCTCATGGGTGAGG	Nasirzadeh et al., (2020)
	<i>CAT1-RealT-F</i>	CGCCATGCCGAAAAATACCC	
	<i>CAT1-RealT-R</i>	CTTGCCCTGTCTGAATCCCAGGAC	Li et al., (2017)
	<i>CAT2-RealT-F</i>	TCCGCCTGCTGTCTGTTCTG	

---

---

<i>CAT2-RealT-R</i>	TGGGTCGGATAGGGCATCAA	
<i>CAT-F</i>	CAGATTGCTTTCTGCCAGC	
<i>CAT-R</i>	GCATCAGATAGTTTGGACCAAGGC	Sun et al., (2020)
<i>CAT1-F</i>	CACCGAAGCTCAATGTTTCA	
<i>CAT1-R</i>	GGGCACAGAGCTTGCATTTA	Iwuala et al., (2019)
<i>OsCATa-F</i>	GGCGTCAACACCTACACCTT	
<i>OsCATa-R</i>	GTCGAACCTCTCCTCCTCCT	
<i>OsCATb-F</i>	TTCCCTTCAAGGTTTGATGC	
<i>OsCATb-R</i>	GCTGGAGAAAACGATCTTGC	Liu et al., (2019)
<i>OsCATc-F</i>	CCACCACAACAACCACTACG	
<i>OsCATc-R</i>	CTTGGCAATCACCACTTCT	
<i>AtCAT1-F</i>	TGGGATTCAGACAGGCAAGAACG	
<i>AtCAT1-R</i>	GTTTGGCCTCACGTTAAGACGAGT	
<i>AtCAT2-F</i>	AACTCCGCCTGCTGTCTG	
<i>AtCAT2-R</i>	ATAGGGCATCAATCCATC	Chuong et al., (2021)
<i>CAT-F</i>	CCCATTCTACACCACAAA	
<i>CAT-R</i>	ACCCTTAGCACTGATTCC	Dani et al., (2019)
<i>TaCAT-F</i>	ACTACGACGGGCTCATG	
<i>TaCAT-R</i>	GGAGCTGAGACGGCTTC	Wu et al., (2017)
<i>SICAT-F</i>	GGTGGATTATTTGCCCTCG	
<i>SICAT-R</i>	ACCTCTCCCCTGCCTGTTT	Wang et al., (2018)

---

---

	CAT-F	TTACAGCCAGTTGGTCGCTT	
	CAT-R	GGACAATAATGGCAGGGCAA	Landi et al., (2017)
	CAT1-F	ACTTCGACAGGGAGCGTAT	
	CAT1-R	AGGTGAGG GGGTGATGT	Khan et al., (2019)
	CAT1-F	TCGGGAAGGAGAACAACCTTCAAGC	
	CAT1-R	TCACGAATCGTTCTTGCCTGTC	
	CAT2-F	AAGTATCCAACCTCCGCCTGCTG	
	CAT2-R	TGGATGAATCGTTCTTGCCTCTC	Wang et al., (2017)
	CAT3-F	AGGTACAGATCATGGGCACCAG	
	CAT3-R	AAGGATCGATCAGCCTGAGACC	
	CAT-F	GATTCCTGGGATTGCCGAT	
	CAT-R	TGTCAGTGCGTCAACCCATC	Huang et al., (2017)
	APX-F	GCACTCTGCTGGAACCT	
	APX-R	CAACAACGCCAGCCAAC	Li et al ., (2017)
	APX-F	GCAGCTGCTGAAGGAGAAGT	
	APX-R	CACTGGGGCCACTCACTAAT	Pour-Aboughadareh et al., (2020)
APX	<i>OsAPX2 -F</i>	CTCTCCTACGCCGACTTCTAC	El-Esawi and Alayafi (2020)
	<i>OsAPX2 -R</i>	AGGTGGTCAGAACCTTGTGT	
	APX-F	CCAGCACCAACAAGTGATAC	
	APX-R	CCAGCACCAACAAGTGATAC	Nasirzadeh et al., (2020)
	<i>cAPX-F</i>	TGGTGGACGCCGAGTACCTGCGCCAG	Zia et al., (2021)

---

---

<i>cAPX-R</i>	GGGTGTA CTCTTCCTCGTATCTAATTG	
APX1-F	AAAGCGAAGCATCCAAAG	
APX1-R	CAGAGGGTCACGAGTCCA	Lou et al., (2018)
<i>APX-F</i>	GAGCGATCAGGACATTGTTG	
<i>APX-R</i>	CTTTGTCACTTGGGAGCTGAAG	Sun et al., (2020)
AgAPX1-F	TTTACAATTACCATGGGATCCATGGGAAAGTGCTATCCAATTGT	
AgAPX1-R	ACCGATGATACGAACGAGCTCTTAGGCCTCAGCAAACCCAAGT	Liu et al., (2019)
<i>APX2-F</i>	CAACGCCGGACTGGAAATTG	
<i>APX2-R</i>	TCAGAACCTTGGGTGGCATC	Guo et al., (2020)
APX1-F	TGAGCTCGCCCATGGCGCCAA	
APX1-R	ATCTCAACAGCAACAACACCAG	Iwuala et al., (2019)
<i>OsAPX2-F</i>	AAGGACCAACTTCCCATCCT	
<i>OsAPX2-R</i>	AGGGTGTGACCACCAGAAAG	Liu et al., (2019)
AtsAPX-F	TGCTAATGCTGGTCTTGTGAATGCTT	
AtsAPX-R	CCACTACGTTCTGGCCTAGATCTTCC	Chuong et al., (2021)
APX2-F	CCATGGTGA-AGAAGAGTTACCCGGAAGT	
APX2-R	TCTGAGATTACTCCTTGTCAGCAAACCCGA	Dani et al., (2019)
TaAPX-F	GACGGCTGAATGGTTGAA	
TaAPX-R	AATGCCTCCTGGTCCTCT	Wu et al., (2017)
Tapx-F	CACAGCCAGAGCCCTTCGT	
Tapx-R	CAAGAATGCCAACCCCTGCGAT	Danyali et al., (2019)

---

---

<i>SIAPX-F</i>	GATGTTCCCTTTCCACCCTG	Wang et al., (2018)
<i>SIAPX-R</i>	CCCCTCTTTTTCCCCACT	
<i>APX-F</i>	TTGAGGGAGCATGGACCAAC	Landi et al., (2017)
<i>APX-R</i>	ATGGTAGCTGGAGGAGACCT	
<i>APX-F</i>	TTTGACGGTGCATGGACTCG	Koobaz et al., (2016)
<i>APX-R</i>	GCGTCGAAATTCAGGATCAT	
<i>APX1-F</i>	TGATGCCACTAAGGGTTCT	
<i>APX1-R</i>	ATCACTCCAGGATAGGGTCT	
<i>APX1.1-F</i>	TTCAGCTCCCAAGTCAAA	
<i>APX1.1-R</i>	TCTAGGCAAACGGAAAATGG	
<i>APX2-F</i>	CTCAGGCAGGTTTTCTCCAC	
<i>APX2-R</i>	GGATCAGAGAGGAGGGCTTT	
<i>APX3-F</i>	CCAGATCTGCGAATAAACACAA	
<i>APX3-R</i>	AAATACATGTGCACAGAACTGAAA	
<i>APX4-F</i>	GAGGTCTGGATTCGATGGTG	
<i>APX4-R</i>	CTGATTTGGATGGTGCTGTG	
<i>APX5-F</i>	GATGCTGTGCTGTTTGAGGA	
<i>APX5-R</i>	ACAGGGCACGCTAAGAAAAA	
<i>APX6-F</i>	GCAGGGATTCTCTTTGGATG	
<i>APX6-R</i>	GCCACTGGTGTTCGGTTCTTTT	
<i>APX7-F</i>	TGCTAAGCTGAGCGATCTTG	Xie et al., (2018)

---



---

	APX7-R	TACTCCGCCCTGATCTTTTG	
	<i>GPX-F</i>	CCCCCTGTACAAGTTCCTGA	Pour-Aboughadareh et al., (2020)
	<i>GPX-R</i>	GTCAACAACGTGACCCTCCT	
	<i>GPX7-F</i>	GACCAAGCACAGCTCCAATC	Srivastava et al., (2019)
GPX	<i>GPX7-R</i>	GCAACTTCTGGATGTCCTTC	
	<i>GPX1-F</i>	GGAAAGTCCTGCTTATTGT	Lou et al., (2018)
	<i>GPX1-R</i>	CTTCTCCTCGCTATCTGGT	
	<i>GPX-F</i>	GCATCCCAATGTGGCTTAAC	Khan et al., (2019)
	<i>GPX-R</i>	GCCTTGGACCTTGTACTTCT	
	<i>GST-F</i>	TCCGAATCCCTCATTGCTGT	Li et al., (2017)
	<i>GST-R</i>	TCTTCTCCCTTTGATGTCCA	
	<i>VvGSTF13-F</i>	AAGGATCCATGGCGCTCAAGCTCCATG	Xu et al., (2018)
GST	<i>VvGSTZ13-R</i>	AAGAGCTCTCACTTCTCACCAAAG	
	<i>SIGST-F</i>	TTCCATTTTGCCTAAAGACC	Wang et al., (2018)
	<i>SIGST-R</i>	TTCCACACTGCTGACCCCT	
	<i>MeGST-F</i>	GGGTTGTAGAGGAAGTAGTGG	Zhu et al., (2019)
	<i>MeGST-R</i>	CAAGTCTAATCCGTTCCAAAG	
	<i>GRC1-F</i>	ATGAATACTCCCGTACATCAGT	Lou et al., (2018)
GR	<i>GRC1-R</i>	TTTGTTACATCACCCACAGC	
	<i>GR1-F</i>	TTGGCATTACCCACATCC	Guo et al., (2020)
	<i>GR1-R</i>	ATACTCCCTCCCCGAGAAC	

---

---

	GR1-F	CGGTGCAATAGTGGTTGATG	
	GR1-R	CCTATTGGTGGTTGGGAGAA	
	GR2-F	CGATATTGCGGTTAAATGTG	Xie et al., (2018)
	GR2-R	AAGTTCGTCTTTGGCTTGA	
	DHAR-F	GTGCCTGTGTATAACGGTG	
	DHAR-R	ACAAGTGATGGAGTTGGGT	Lou et al ., (2018)
	<i>DHAR1-F</i>	CAAAGCTCATGGCCCCTACA	
	<i>DHAR1-R</i>	GCTCCTCGGATGGCTTAGTC	Guo et al., (2020)
	DHAR-F	AAGTGAACCCGTAAGCCCTC	
	DHAR-R	ACACACATATCACCCACACCC	Danyali et al., (2019)
DHAR	DHAR1-F	CATCAAGACTAAGCCCACCAA	
	DHAR1-R	TAGAAACATGGCCACCACAA	
	DHAR2-F	CAATGTCCATGCCTACACCA	
	DHAR2-R	CAGGTAGCACCAAAGCACAA	Xie et al., (2018)
	DHAR3-F	CGAGGAAAAATGGATTGGTG	
	DHAR3-R	TGTTCCATCGCTTGGATCTT	
	MDHAR-F	AGAAGTTTACGCCCTTCGGC	
	MDHAR-R	TTGGAATGTCATCGCCATC	Lou et al ., (2018)
MDHAR	<i>MDHAR1-F</i>	GAGTTAAGCCTGGGGAGCTT	
	<i>MDHAR1-R</i>	AGGCAATAGCTTCTCTCCACC	Guo et al., (2020)
	MDAR-F	AGACCTTGCTCATCGCCACTG	Danyali et al., (2019)

---

---

	MDAR-R	ATGTAGCCACCTCCAACAACG	
	MDHAR1-F	TACTCCCGATCATTGACCT	
	MDHAR1-R	GGCAATGACCTTGTTCCTCGT	
	MDHAR2-F	TCAAGGAGCAGAATCCAACA	
	MDHAR2-R	GCCCTATGTAACCACCTCCA	
	MDHAR3-F	CAGCTCTGTGTATGCCGTTG	Xie et al., (2018)
	MDHAR3-R	ATCGATGTCCCTCGTCTTTG	
	MDHAR4-F	GTGCAAAGAAGGTGGTGGTT	
	MDHAR4-R	TTCTTAGCAAGCGAGGGTGT	
POD	<i>SIPOD-F</i>	CACATACATTTGGAAGGGC	
	<i>SIPOD-R</i>	TTTATTGTTGGATCAGGGC	Wang et al., (2018)
	OsPOX8.1-F	CTGCTCCAAAGTGAAC TAATAATTAAGTAAAG	
POX	OsPOX8.1-R	CCCAGCCTTATTCCCAAATTT	
	OsPOX22.3-F	CAGCTGCTCCAAGGTGAACTC	Jiang et al., (2020)
	OsPOX22.3-R	AGATTTGCTTCCAGCAACGAA	

---