



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO – UFRPE

UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA – UAST

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL – PPGPV

LANA RAISSA BARROS ALVES CORDEIRO

**RESPOSTAS FÍSICO-QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS EM *Opuntia stricta* SOB
ADUBAÇÃO COMBINADA DE NITROGÊNIO E POTÁSSIO COM
CALCÁRIO**

SERRA TALHADA – PE

2024

LANA RAISSA BARROS ALVES CORDEIRO

**RESPOSTAS FÍSICO-QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS EM *Opuntia stricta* SOB
ADUBAÇÃO COMBINADA DE NITROGÊNIO E POTÁSSIO COM
CALCÁRIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos

Coorientadores: Adriano do Nascimento Simões
Ana Dolores Santiago de Freitas

Serra Talhada – PE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C794r

Cordeiro, Lana Raissa Barros Alves

RESPOSTAS FÍSICO-QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS EM *Opuntia stricta* SOB ADUBAÇÃO COMBINADA DE NITROGÊNIO E POTÁSSIO COM CALCÁRIO / Lana Raissa Barros Alves Cordeiro. - 2024.

61 f. : il.

Orientadora: Carolina Etienne de Rosalia e Silva Santos.

Coorientador: Adriano do Nascimento .

Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal , Serra Talhada, 2024.

1. Palma forrageira. . 2. Estresse hídrico. . 3. Proteção oxidativa.. 4. Estresse abiótico.. I. Santos, Carolina Etienne de Rosalia e Silva, orient. II. , Adriano do Nascimento, coorient. III. Título

CDD 581.15

LANA RAISSA BARROS ALVES CORDEIRO

RESPOSTAS FÍSICO-QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS EM *Opuntia stricta* SOB
ADUBAÇÃO COMBINADA DE NITROGÊNIO E POTÁSSIO COM CALCÁRIO

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADO EM 27/02/2024.

Banca examinadora

Prof. Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos – SEDE/UFRPE

Orientadora

Prof. Dr. Sérgio Luiz Ferreira Da Silva – UAST/UFRPE

Examinador Interno

Dra. Jéssica Rafaella de Sousa Oliveira – SEDE/UFRPE

Examinador Externo

DEDICATÓRIA

À Deus em primeiro lugar, pela sua presença em todo o momento, por ser meu socorro presente na hora angustia e ansiedade. À minha amada mãe, que me ensinou a ser forte e valente. E ao meu pai e ao meu irmão, que me deram todo o suporte necessário.

AGRADECIMENTOS

Sou grata à Deus, acima de tudo, por iluminar o meu caminho, por me orientar na direção correta, por me dar coragem para enfrentar os desafios, por me guardar, favorecer e permitir a realização de mais um sonho. Sem Ele, nada disso seria possível.

Agradeço à minha amada mãe, Erlania Barros, por sempre acreditar e confiar em mim, me incentivar a seguir meus sonhos, me mostrando que o conhecimento é a chave para um futuro melhor. A senhora foi uma das peças fundamentais para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Quero agradecer ao meu pai Cláudio Cordeiro e ao meu irmão Levi Cordeiro, que me incentivaram e ajudaram, mesmo que de forma indireta, a realizar este projeto. Eles me apoiaram e incentivaram em cada etapa da minha carreira.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (PPGPV), pela oportunidade de realização do mestrado.

À Universidade Federal Rural De Pernambuco – Programa De Pós-Graduação em Produção Vegetal, CNPQ, Universidade Federal de Pernambuco – Projeto (Onda CBC).

Aos professores e a todos os envolvidos no programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, que me apoiaram durante a minha formação acadêmica, pela dedicação e ensinamentos passados durante todo o curso. Foi uma honra fazer parte dessa instituição de ensino, que valoriza a qualidade e a excelência na área agrônômica.

À Laércio Gomes, secretário do PGPV, que demonstrou ser um funcionário de excelência, com muita dedicação, competência, presteza e exemplaridade. Foi um prazer trabalhar com ele durante esses dois anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa e as demais agências de fomento, pelo apoio financeiro para a execução dos projetos de pesquisa.

À SUDENE pelo financiamento do projeto CGEP2022002, em parceria ao Instituto Nacional do Semiárido (INSA), por acolher a ideia de estudo, pela disponibilidade e assistência para realização deste trabalho de dissertação de mestrado.

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Carolina Etienne, por todo suporte, por todo apoio, dedicação e compreensão que me ofereceu durante esta jornada acadêmica. Sua orientação foi essencial para o desenvolvimento e a conclusão deste trabalho.

Ao meu querido coorientador, Prof. Dr. Adriano Simões, expresse minha gratidão por ter aceito o desafio de me coorientar. Pelo apoio, orientação, através das suas vivências e conhecimentos a mim transmitidos, pois me auxiliaram contribuindo para um maior desenvolvimento.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Ana Dolores, por todo apoio e orientação nesses dois anos de pesquisa.

Aos grupos de pesquisa que fiz parte, Grupo de Fixação Biológica de Nitrogênio (GFBN) e ao Núcleo de Estudos de em Fisiologia e Pós-Colheita de Frutas Hortaliças e Flores (NEFP) pelos momentos de experiências vividas, trabalho e desafios que permitiram o meu desenvolvimento profissional.

Ao Grupo de Agrometeorologia do Semiárido (GAS), especialmente ao professor Thieres, pela colaboração, orientação e apoio no desenvolvimento deste estudo.

Ao professor Adailson da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), por toda disponibilidade e suporte no desenvolvimento desse trabalho.

Às minhas queridas companheiras e amigas de trabalho e estudo, Astrogilda e Débora. Astro, agradeço por toda ajuda e suporte no meu período de análises, por ser essa pessoa honesta, por sempre me ouvir, pela amizade, pelos conselhos, pela companhia e pelos bons momentos. Débora, agradeço por ser essa pessoa gentil, por sempre me escutar nos momentos de angústia, pela companhia no mestrado, pelos bons momentos de aventura que compartilhamos juntas. Às duas, o meu muito obrigada, vocês me ajudaram a chegar onde estou.

Aos meus amigos e colegas do PGPV, que participaram da minha jornada direta ou indiretamente, Luiz Felipe, Ivanice Santos, José Edson, Alexandre Maniçoba, Marcelo Silva, Nathan Lucena, Aline Lima, Fred Lourêdo, Hugo Bentzen.

A todos que de alguma forma contribuíram e ajudaram nesse percurso e jornada, meu muito obrigada!

RESUMO

A palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) é uma espécie da família das cactáceas que se adapta bem em ambientes áridos e semiáridos, pois possui um sistema especial de fotossíntese chamado metabolismo ácido das crassuláceas (CAM). Quando em estresse, a planta pode se beneficiar de nutrientes como nitrogênio, potássio e cálcio, que ajudam a aumentar a sua resistência. No entanto, pouco se sabe sobre os mecanismos de defesa de plantas cultivadas sob diferentes doses combinadas de nitrogênio (N) e potássio (K⁺) com calcário (CaCO₃), associando os parâmetros físico-químicos e bioquímicos, podendo ser uma estratégia eficaz para o cultivo de culturas em condições de sequeiro. Com isso, a hipótese desse trabalho é que a adubação combinada de nitrogênio e potássio com calcário pode melhorar significativamente as características físico-químicas e bioquímicas da Palma forrageira (*Opuntia stricta*) genótipo Orelha de Elefante Mexicana (OEM) em condições de sequeiro. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características físico-químicas, bem como a composição de fitoquímicos orgânicos e inorgânicos, e as propriedades bioquímicas da palma forrageira, avaliando a flexibilidade metabólica, envolvendo danos e proteção oxidativa em OEM, submetidas a adubação combinada de nitrogênio e potássio com calcário. O experimento foi conduzido na unidade experimental do Instituto Nacional do Semiárido (INSA), em Campina Grande – PB. Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados (DBC) em esquema fatorial 13 x 2, com treze doses (kg ha) combinadas de N e K, com e sem adição de CaCO₃, com 4 repetições. Foram realizadas análises físico-químicas de sólidos solúveis (Brix), acidez, pH, proteínas, sódio (Na⁺), potássio (K⁺), teores de pigmentos fotossintéticos, grau de peroxidação lipídica (TBARS), vazamento de eletrólitos (VE), conteúdo de H₂O₂, conteúdo de carboidratos solúveis (TSC), bem como a capacidade antioxidante estimada pela atividade de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) e as atividades não enzimáticas, medida por meio do conteúdo de ácido ascórbico (AA), compostos fenólicos (TPC), captura do radical DPPH e poder redutor do ferro (FRAP). Portanto, foi possível observar que a aplicação de N-K (46,8N:180K e 109N-180K) juntamente com CaCO₃ alterou positivamente as características físico-químicas da palma forrageira – OEM, aumentando o conteúdo de proteínas em 43%, carboidratos em 100%, potássio em 48% , bem como reduziu a peroxidação lipídica em 42% e o conteúdo de H₂O₂ em

70%. Além disso, a aplicação desses nutrientes elevou as defesas antioxidantes da planta, tanto as enzimáticas (SOD 85%) quanto as não enzimáticas (fenóis em 53% e vitamina C em 32%), conferindo maior tolerância a estresses abióticos. Este estudo mostra que a aplicação combinada de N e K com CaCO_3 melhora as características físico-químicas e bioquímicas da planta, aumentando sua produtividade. Os tratamentos mais eficientes foram 46,8N-180K e 109N-180K, que apresentaram os melhores valores nos parâmetros avaliados.

Palavras-chave: Palma forrageira. Estresse hídrico. Proteção oxidativa. Estresse abiótico.

ABSTRACT

The forage palm (*Opuntia* and *Nopalea*) is a species of the cactus family that adapts well in arid and semi-arid environments, as it has a special photosynthesis system called crassulacean acid metabolism (CAM). When under stress, the plant can benefit from nutrients such as nitrogen, potassium and calcium, which help to increase its resistance. However, little is known about the defense mechanisms of plants grown under different combined doses of nitrogen (N) and potassium (K^+) with lime ($CaCO_3$), associating the physicochemical and biochemical parameters, which may be an effective strategy for the cultivation of crops in rainfed conditions. Therefore, the hypothesis of this work is that the combined fertilization of nitrogen and potassium with limestone can significantly improve the physicochemical and biochemical characteristics of the forage palm (*Opuntia stricta*) genotype Orelha de Elefante Mexicana (OEM) in rainfed conditions. The objective of this work was to evaluate the physicochemical characteristics, as well as the composition of organic and inorganic phytochemicals, and the biochemical properties of cactus pear, evaluating the metabolic flexibility, involving damage and oxidative protection in OEM, subjected to combined nitrogen and potassium with limestone. The experiment was conducted at the experimental unit of the National Semi-Arid Institute (INSA), in Campina Grande – PB. A randomized block design (DBC) was used in a 13 x 2 factorial scheme, with thirteen doses (kg ha) combined of N and K, with and without the addition of $CaCO_3$, with 4 replications. Physicochemical analyzes of soluble solids (Brix), acidity, pH, proteins, sodium (Na^+), potassium (K^+), levels of photosynthetic pigments, degree of lipid peroxidation (TBARS), electrolyte leakage (VE), content of H_2O_2 , soluble carbohydrate content (TSC), as well as the antioxidant capacity estimated by the activity of enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) and non-enzymatic activities, measured through the content of ascorbic acid (AA), phenolic compounds (TPC), DPPH radical capture and iron reducing power (FRAP). Therefore, it was possible to observe that the application of N-K (46.8N:180K and 109N-180K) together with $CaCO_3$ positively altered the physicochemical characteristics of cactus – OEM, increasing the protein content by 43%, carbohydrates by 100%, potassium by 48%, as well as reducing lipid peroxidation by 42% and H_2O_2 content by 70%. Furthermore, the application of these nutrients increased the plant's antioxidant

defenses, both enzymatic (SOD 85%) and non-enzymatic (phenols by 53% and vitamin C by 32%), providing greater tolerance to abiotic stresses. This study shows that the combined application of N and K with CaCO₃ improves the physicochemical and biochemical characteristics of the plant, increasing its productivity. The most efficient treatments were 46.8N-180K and 109N-180K, which presented the best values in the evaluated parameters.

Keywords: Forage palm. Hydrical stress. Oxidative protection. Abiotic stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização do INSA em Campina Grande – PB.....	27
Figura 2 – Croqui da área experimental no INSA de Campina Grande – PB.....	28
Figura 3 – Teores de pH, sólidos solúveis (°Brix) e acidez total titulável em <i>Opuntia stricta</i> – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO ₃ em condições de sequeiro. *As letras maiúsculas comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO ₃ . As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05)	40
Figura 4 – Teores de proteínas totais (mg g MF) (A), carboidratos totais (g 100 g ⁻¹ MS) (B) e aminoácidos (µmol mL MF) (C) em <i>Opuntia stricta</i> – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO ₃ em condições de sequeiro. *As letras maiúsculas comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO ₃ . As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05)	41
Figura 5 – Teores de potássio (K ⁺) (A), sódio (Na ⁺) (B) e nitrogênio (N) (C) em <i>Opuntia stricta</i> – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO ₃ em condições de sequeiro. *As letras maiúsculas comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO ₃ . As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05)	42
Figura 6 – TBARS (A) e conteúdo de H ₂ O ₂ (B) em <i>Opuntia stricta</i> – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO ₃ em condições de sequeiro. *As letras maiúsculas comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO ₃ . As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05)	44
Figura 7 – SOD (A), CAT (B) e APX (C) em <i>Opuntia stricta</i> – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO ₃ em condições de sequeiro. *As letras maiúsculas comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO ₃ . As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05)	45

Figura 8 – Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros físico-químicos e bioquímicos em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO_3 em condições de sequeiro. (A) Autovetores e (B) Autovalores dos tratamentos no primeiro PCA.....48

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Produtividade em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO₃ em condições de sequeiro.....38
- Tabela 2 – Teores de clorofilas *a*, *b*, totais (µg de clorofila/g⁻¹ de MF) e carotenoides (µg de carotenoide/g⁻¹ MF) em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO₃ em condições de sequeiro.....43
- Tabela 3 – Ácido ascórbico (AsA), compostos fenólicos (TPC), DPPH e FRAP em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO₃.....46

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

MAC/CAM	Metabolismo Ácido das Crassuláceas
OEM	Orelha de Elefante Mexicana
CaCO ₃	Calcário
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
Car	Carotenoides
Chl	Clorofilas
AH	Acidez
AA	Aminoácidos
(CH ₂ O) _n	Carboidratos
SS	Sólidos solúveis
N	Nitrogênio
Na ⁺	Sódio
K ⁺	Potássio
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
DPPH	Eliminação dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FRAP	Poder de redução do ferro
AsA	Ácido ascórbico
TPC	Compostos fenólicos
TSC	Carboidratos solúveis totais
PB	Proteína bruta
SOD	Superóxido dismutase
CAT	Catalase
APX	Ascorbato peroxidase
MF	Matéria fresca
MS	Matéria seca
PCA	Análise dos Componentes Principais

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. HIPÓTESE.....	21
3. OBJETIVOS.....	21
3.1. Objetivo geral.....	21
3.2. Objetivos específicos.....	21
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1. A Palma forrageira.....	22
2.2. Fisiologia da Palma forrageira.....	22
2.3. Estresse oxidativo em plantas.....	24
2.4. Sistema de defesa antioxidante (enzimático e não-enzimático)	25
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
5.1. Área de estudo.....	27
5.2. Delineamento experimental.....	28
5.3. Procedimentos de condução experimental.....	28
5.4. Material coletados e produtividade.....	29
5.5. Análises físico-químicas.....	29
5.6. Medidas do estresse oxidativo.....	33
5.7. Medição do sistema antioxidante enzimático.....	33
5.8. Medidas do sistema antioxidante não-enzimático.....	35
5.9. Delineamento estatístico e análise dos dados.....	36
6. RESULTADOS.....	38
6.1. Produtividade.....	38
6.2. Análises físico-químicas.....	38
6.2. Medição do estresse oxidativo.....	44
6.3. Medição do sistema antioxidante enzimático.....	45
6.4. Medição do sistema antioxidantes não-enzimático.....	46
6.5. Associação das variáveis com a análise de componentes principais (PCA).....	47
7. DISCUSSÃO.....	49
8. CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

1. INTRODUÇÃO

A palma forrageira (*Opuntia* spp. e *Nopalea* spp.) é uma planta da família das cactáceas, originária do México, com grande importância socioeconômica, pois se adapta bem às condições áridas e semiáridas, por possuir mecanismos que diminuem a perda de água e otimizam a assimilação de carbono. A palma forrageira possui cladódios, que são folhas e caules modificados, sendo estruturas clorofiladas em forma de disco, dotadas de espinhos e estômatos. Os cladódios realizam a fotossíntese e armazenam água, sendo essenciais para a sobrevivência da planta e para o seu uso como forragem para animais e humanos no Nordeste do Brasil (Silva et al., 2015). A adaptação dessa cactácea às condições adversas é proporcionada pelo metabolismo ácido das crassuláceas (MAC), apresentando características que minimizam a perda de água, como cutículas grossas, grandes vacúolos e estômatos com pequenas aberturas, os quais têm a capacidade de abrirem à noite, quando a temperatura é mais amena (Alves et al., 2016).

O nitrogênio (N) é um macronutriente essencial para as plantas, pois está presente na composição das biomoléculas como ATP, NADH, NADPH, clorofilas, proteínas e enzimas, sendo considerado como um fator limitante nos sistemas de produção (Restelatto, 2016). O potássio (K), também é macronutriente essencial possui uma alta mobilidade, sendo absorvido por meio do íon K^+ , e contribui para a ativação de sistemas enzimáticos, síntese e translocação de carboidratos, proteínas e adenosina trifosfato (ATP), na regulação osmótica e estomática. O cálcio (Ca) sendo um macronutriente importante para o crescimento e desenvolvimento das plantas, e exerce funções bioquímicas na planta, como formação da parede celular, divisão celular, translocação de açúcares e ativação de enzimas, bem como favorece a absorção de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio. Segundo Borges et al. (2018), o K é o macronutriente mais absorvido pela palma forrageira, sendo extremamente importante no desenvolvimento da mesma. Em estudo realizado afim de avaliar a combinação de N e K, observou-se que houve um incremento nos parâmetros bioquímicos de plantas forrageiras, melhorando de forma positiva (Viana; Kiehl, 2010). Dessa forma, os efeitos combinados de N e K em conjunto na ausência e na presença do calcário, podem alterar as propriedades morfofisiológicas da palma forrageira afetando os processos

bioquímicos, que determinam a eficiência da cultura nas condições de cultivo em sequeiro.

O estresse oxidativo é um fenômeno que ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade de defesa antioxidante das células (Spormann et al., 2019). As EROs podem causar danos às moléculas e às estruturas celulares, afetando o metabolismo e a função das plantas (Zhang et al., 2019). Para se adaptar às situações de estresse, as plantas possuem mecanismos enzimáticos que neutralizam as EROs, como a dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), redutase da glutatona (GR), ascorbato peroxidase (APX), entre outras (Rio et al., 2019). Esses mecanismos são importantes para manter a homeostase celular e a tolerância das plantas a estresses abióticos. Nesse sentido, Cruz (2015) & Morais et al. (2015) constataram que a aplicação de N e K aumentou o conteúdo de carboidratos, clorofilas e do sistema antioxidante, mantendo baixa a concentração das EROs, mesmo que sob estresse abiótico. No entanto, não existem estudos que avaliem o efeito da adubação combinada de N e K com calcário nas respostas bioquímicas no clone de palma forrageira, Orelha de Elefante Mexicana (*Opuntia stricta*). É de fundamental importância compreender como esses nutrientes podem influenciar os mecanismos e as características que conferem maior tolerância das plantas aos estresses abióticos, visando o aprimoramento dos programas agronômicos como melhoramento genético para o desenvolvimento de cultivares mais resistentes.

Contudo, não existem informações sobre os efeitos combinados desses nutrientes na cultura da palma forrageira, o que representa uma limitação para o manejo adequado e a otimização dos recursos hídricos. Portanto, é necessário realizar mais pesquisas que avaliem as respostas da palma forrageira à aplicação combinada de nitrogênio e potássio com calcário em condições de estresse hídrico, bem como avaliar o impacto dessas práticas na sustentabilidade ambiental e econômica da atividade.

O presente estudo possui importância econômica, uma vez que a palma forrageira, possui resistência à seca, sendo a principal opção de alimento para os animais no período seco. Por outro lado, a aplicação de adubos nitrogenados e potássicos podem melhorar o desenvolvimento, a produtividade e os processos bioquímicos e fisiológicos, aumentando a sua resistência aos estresses abióticos. Portanto, é indispensável a execução de novos estudos para que se possa avaliar os

efeitos desses nutrientes em diferentes condições edafoclimáticas, bem como as suas interações com outros fatores ambientais e genéticos.

2. HÍPOTESE

A hipótese deste estudo é que a adubação combinada de nitrogênio (N) e potássio (K) com calcário (CaCO_3) pode melhorar significativamente as características físico-químicas, bem como atenuar os danos e aumentar a defesa antioxidante da palma forrageira em condições de sequeiro.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar as respostas induzidas por diferentes doses de adubação combinada de Nitrogênio (N) e Potássio (K) com calcário (CaCO_3) nas características físico-químicas, danos e proteção oxidativa em palma forrageira, genótipo Orelha de Elefante mexicana (OEM), submetidos à seca.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar os parâmetros físico-químicos como proteínas totais, pH, acidez (AH), aminoácidos (AA), carboidratos ($(\text{CH}_2\text{O})_n$) e sólidos solúveis (SS);
- Relacionar as concentrações de sódio (Na), potássio (K^+) e nitrogênio (N);
- Estimar os conteúdos de pigmentos fotossintéticos através da determinação de clorofilas *a*, *b* e totais, relação *a/b* e carotenoides);
- Avaliar a ocorrência de danos oxidativos com base nos conteúdos de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxidação lipídica (TBARS);
- Mensurar os conteúdos de antioxidantes não enzimáticos por meio da quantificação do ácido ascórbico (AsA), compostos fenólicos totais (TPC), poder redutor do ferro (FRAP) e sequestro do radical livre (DPPH);
- Verificar as mudanças na capacidade de proteção oxidativa enzimáticas por meio da determinação das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) em Orelha de Elefante Mexicana (OEM) submetida a doses de adubação combinada de N e K com e sem CaCO_3 em condições de sequeiro.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. A palma forrageira

A palma forrageira (*Opuntia e Nopalea.*) é uma cultura originária da América do Norte e América do Sul e tem grande potencial para as regiões áridas e semiáridas. No Brasil, vem sendo cultivada especialmente na região Nordeste, devido ser uma cultura tolerante em longos períodos de estiagem (R. R. Da Silva & Sampaio, 2015). Em grande parte do Semiárido brasileiro, a pecuária é uma das atividades de fundamental importância, uma vez que os ruminantes, como caprinos, ovinos e bovinos, se alimentam da vegetação nativa, de pastagens plantadas com gramíneas africanas introduzidas e da palma forrageira, cultivada especificamente como forragem, fazendo parte da base alimentar dos rebanhos de zonas áridas e semiáridas (Wick & Tiessen, 2008).

Características como alta palatabilidade, produção de biomassa e resistência à seca fazem dessa planta um alimento valioso para os animais. No semiárido brasileiro, é cultivada em larga escala e usada ao longo do ano, constituindo-se num componente fundamental para a sustentabilidade de importantes bacias leiteiras do Semiárido. Além disso, atualmente, a produção de biocombustíveis a partir da biomassa de espécies vegetais adaptadas ao ambiente semiárido, como a palma forrageira é uma estratégia para aumentar a segurança energética no bioma Caatinga, já havendo projetos de desenvolvimento de uma planta piloto de aproveitamento químico e energético de biomassa de palma forrageira (Frota et al., 2015).

4.2. Fisiologia da Palma forrageira

Como outras cactáceas, a palma é uma planta que apresenta sistema fotossintético CAM ou MAC (metabolismo ácido da crassulaceae), que confere uma eficiência maior que o das gramíneas C4 em converter energia solar, CO₂ e água em matéria seca. Este mecanismo permite a aquisição noturna de água do fluxo de transpiração e do orvalho, além do armazenamento temporário de água nos vacúolos. Este traço fisiológico das plantas MAC, confere a capacidade de lidar com o estresse do

suprimento limitado de água, permitindo uma melhor eficiência no uso da mesma em comparação com as plantas de fotossíntese C3 e C4 (Cordier, 2019).

O sistema fotossintético CAM significa uma adaptação das plantas ao ambiente árido, no qual os vegetais ficam expostos a estresses abióticos como alta luminosidade e estresse hídrico. Essas plantas possuem a capacidade de abrirem seus estômatos durante a noite e fechá-los durante o dia, reduzindo de forma significativa a perda excessiva de água e CO₂. Em épocas de estiagem, algumas dessas plantas são capazes de manter seus estômatos fechados durante todos os períodos do dia (Vieira de Carvalho Filho, 2018).

De acordo com (Monteiro et al., 2014), os fatores abióticos provocam grandes danos às plantas, consistindo na redução das suas atividades agrícolas. Por esse motivo, a exploração pecuária fica impossibilitada devido a forma inadequada de suprimento de forragem, uma vez que esta depende de condições adequadas para obter uma boa produtividade (Araújo Júnior et al., 2019). Portanto, plantas que crescem em condições de estresses abióticos estão sujeitas a um aumento na produção de EROS que se adequam ao estresse oxidativo, e os mecanismos que diminuem esse estresse desempenham papel fundamental na tolerância aos estresses abióticos (E. Silva, 2018).

Quando a palma é cultivada com grande disponibilidade de água, pode apresentar comportamento fisiológico idêntico às plantas C3, no qual a enzima PEP-carboxilase vai torná-la inativa durante o dia, e também durante a noite (Sampaio, 2011). De acordo com Pereira et al. (2017), em um cultivo irrigado com clones de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, observaram que, mesmo que a palma apresente o sistema fotossintético CAM, quando submetidos a déficit hídrico, os cladódios apresentam uma diminuição da espessura, relacionado com o baixo teor de água, acúmulo de ácido málico, condutância estomática, tamanho e taxa de desenvolvimento do cladódio. Apesar que, essa cultura mantém o crescimento e a condutância estomática com teor relativo de água de 45% nos cladódios, sendo bem baixo, ao comparar com outras espécies não cactáceas. Além do mais, a palma possui alta capacidade de reidratação do cladódio após muitos dias de estiagem, não afetando de forma significativa na biomassa da planta.

Inglesse et al. (2017), afirmaram que a eficiência da fotossíntese CAM mantém a palma num equilíbrio de energia positiva, o que permite persistência por longos períodos de estiagem e desfavoráveis, em razão da sua eficiência no uso da água, fazendo-a adaptada a regiões com déficits hídricos ou com chuvas irregulares. Quanto a

eficiência entre os gêneros da palma, Primo et al. (2015), observaram que em comparação com o gênero *Nopalea*, as plantas do gênero *Opuntia* são menos eficientes na extração de água do meio em que está. E, Silva et al. (2014), viram que o clone Orelha de elefante mexicana e o IPA Sertânia obtiveram maior eficiência no uso da água, e a Miúda foi a menos eficiente.

4.3. Estresse oxidativo em plantas

O estresse oxidativo em condições ambientais adequadas, pode favorecer o metabolismo da planta, mas em condições desfavoráveis ao desenvolvimento da planta, pode causar dano e até leva-la a morte. Esse estresse ocasionado em grandes quantidades e por longo período, pode se tornar tóxico, culminando em efeitos deletérios, por meio da oxidação de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (Fiori, 2011; Shinozaki et al., 2015). As condições ambientais que causam as EROS estão relacionadas com fatores abióticos, como a seca, temperatura (estresse ao frio e ao calor), a poluição do ar, aplicação de herbicidas, infecção por patógenos e senescência da planta. (Shinozaki et al., 2015).

O estresse oxidativo está ligado a redução parcial do oxigênio em metabolismo aeróbico e fotossintético (Maia et al., 2012; Shinozaki et al., 2015; Oliveira, 2016). O aumento do estresse oxidativo causado pelo estresse ambiental ou atividades metabólicas pode tornar o oxigênio muito danoso (Polidoeros et al., 2005; Phaniendra et al., 2015), o resultado desse aumento de energia extra ocasiona o oxigênio singlete. A redução de O_2 ocorre na mitocôndria, e com o recebimento de quatro elétrons o estresse oxidativo é neutralizado, durante todo esse procedimento são gerados os compostos reativos, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido (O_2^-), hidroxila (HO^\cdot) e hidroperoxila (HO_2^-) (Mittler, 2002; Azevedo Neto et al., 2008; Demidchik, 2015). A planta através do sistema antioxidante de defesa (enzimático e não-enzimático) limpa e elimina o excesso de EROS presente nas unidades subcelulares (Shinozaki et al., 2015; Oliveira, 2016).

Ao se adaptarem aos fatores de estresse, as plantas desenvolvem mecanismos enzimáticos de defesa antioxidante, que são muito conservados e ajustados para a restauração da homeostase celular, constituído de enzimas importantes na rota de

detoxificação de EROS como a dismutase do superóxido (SOD), a catalase (CAT), a peroxidase do ascorbato (APX), peroxidases (POX) a peroxidase da glutaciona (GPX) e a redutase da glutaciona (GR) (Rio et al., 2019).

4.4. Sistema de defesa antioxidante (enzimático e não-enzimático)

As plantas sofrem estresse biótico e abiótico, formando as EROS que ficam acumuladas nas células, podendo ocasionar a morte da planta (Taiz et al., 2017). O sistema de defesa reage para equilibrar a produção e eliminar o excesso de EROS (Oliveira, 2016). O sistema antioxidante é composto pelos sistemas enzimático e não-enzimático (Vasconcelos et al., 2007, Oliveira, 2016). O sistema enzimático é formado pelas enzimas superóxido dismutase, catalase, glutaciona peroxidase, peroxidase e glutaciona redutase (Asada, 1999; Mittler, 2002; Mittler et al., 2004; Oliveira, 2016).

Enzimas são macromoléculas encontradas em seres vivos que apresentam a capacidade de acelerar as reações químicas em condições moderadas evitando a desnaturação proteica, tal como temperaturas baixas e pH neutro, são biocatalisadores seletivos de natureza não tóxica e renovável o que as tornam catalisadores verdes (SHODA et al., 2016). São descritas como agentes catalisadores das reações que acontecem nos sistemas biológicos. Possuem eficiência catalítica extraordinária, na maioria das vezes muito maior que a dos catalisadores sintéticos; têm um alto grau de especificidade por seus substratos, aceleram reações químicas específicas e ainda, funcionam em soluções aquosas e em condições muito suaves de temperatura e pH (Nelson; Cox, 2014; Brandão, 2020).

A enzima superóxido dismutase (SOD), na reação redox de superóxido (O_2^-), reduz para peróxido de hidrogênio (H_2O_2), posteriormente o peróxido de hidrogênio é desintoxicado a água (H_2O) pelas enzimas de ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) e glutaciona peroxidase (GPX) (Gratão et al., 2005; Monteiro, 2010). O sistema antioxidante não enzimático é composto por vitaminas, minerais e compostos fenólicos. O sistema não-enzimático é formado por compostos fenólicos, ácido ascórbico, clorofilas, carotenoides, proteínas e aminoácidos (Langaro et al., 2016; Menegazzo, 2021).

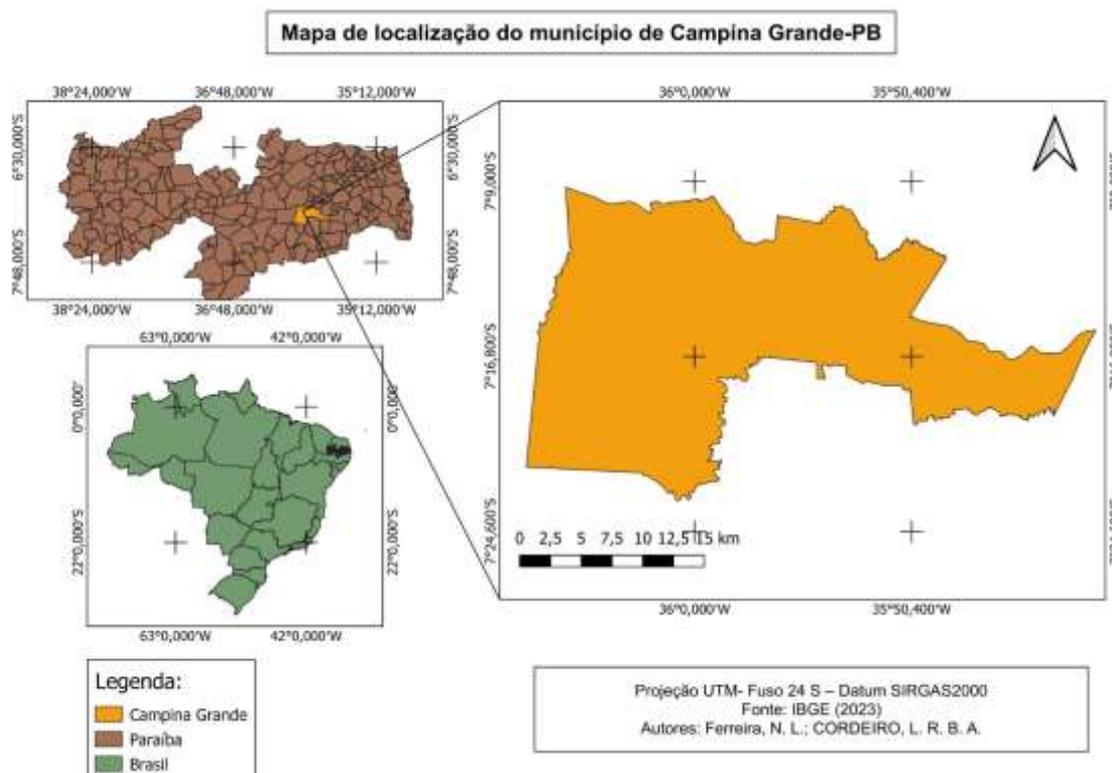
Os carotenoides atuam como pigmentos auxiliares, que são responsáveis pela fotoproteção das membranas fotossintéticas (Langaro et al., 2016), dissipam o estado excitado da clorofila e neutraliza as EROS, visto que são antioxidantes com baixo peso molecular (Kreslavski et al., 2013; Menegazzo, 2021). O ácido ascórbico (vitamina C) e a vitamina E interagem para inibir a peroxidação lipídica e para proteger a planta contra os estresses oxidativos ao DNA (Bianchi, 1999).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Área de estudo

A coleta dos cladódios foi realizada na Unidade Experimental do Instituto Nacional do Semiárido (INSA) no município de Campina Grande – PB (Figura 1), o qual está inserido na região semiárida brasileira fazendo parte do Bioma Caatinga, sob condições edafoclimáticas da mesorregião do Agreste Paraibano, transição entre a Zona da Mata e o Sertão. O município de Campina Grande – PB, tem as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 7° 16' 47.76" Sul, e Longitude: 35° 58' 29.21" Oeste e altitude de 490 m. A região tem clima do tipo Aw'i, segundo a classificação climática de Köppen, e é considerado como seco sub-úmido. O período chuvoso está situado entre os meses de março a julho e a normal climatológica é cerca de 800 mm. A temperatura máxima média anual é de 28,7 °C e a mínima de 19,8 °C variando pouco ao longo do ano (SOUSA JÚNIOR, 2006; DO NASCIMENTO et al., 2019).

Figura 1 – Localização do INSA em Campina Grande – PB.

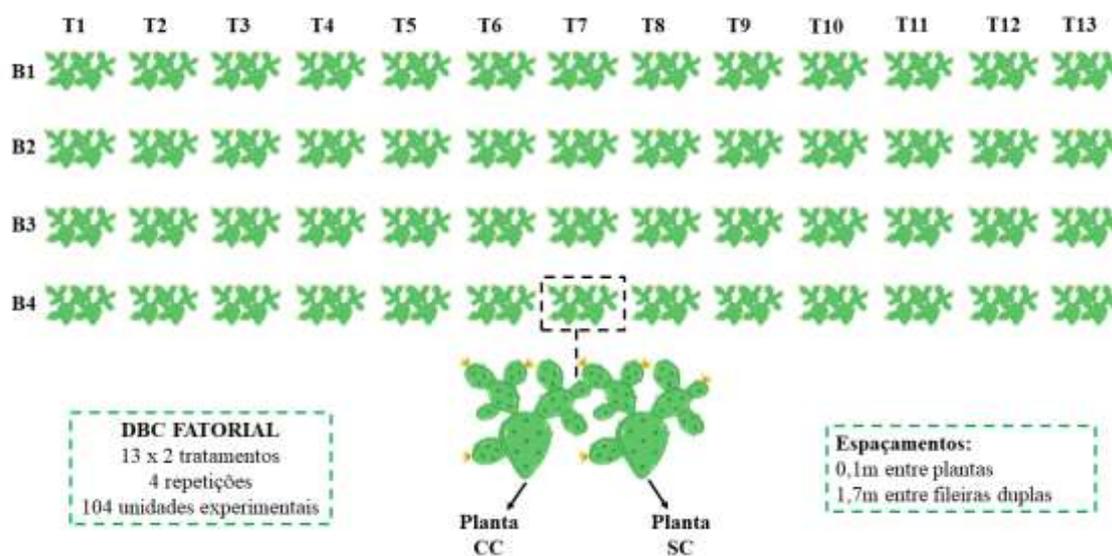


Fonte: Ferreira; Cordeiro (2023).

5.2. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em um delineamento em blocos casualizados (DBC) num esquema fatorial 13 x 2, com 13 doses combinadas de N-K (46,8-180; 46,8-420; 109-180; 109-420; 78-300; 7,8-180; 148-420; 46,8-30; 109-570; 7,8-30; 148-30; 7,8-570; 0-0), 2 aplicações de calcário (0; 8,2) (com calcário – CC e sem calcário – SC), com 4 repetições por tratamento, totalizando 104 unidades experimentais. A Figura 2 mostra o croqui do experimento. Em cada unidade experimental, coletou-se um cladódio para as análises físico-químicas, oxidativas e antioxidantes.

Figura 2 - Croqui da área experimental no INSA de Campina Grande – PB.



Fonte: Cordeiro (2023).

5.3. Procedimentos de condução experimental

A instalação do experimento aconteceu em dezembro de 2021 na área experimental do INSA de Campina Grande – PB. Os tratamentos foram impostos por meio de aplicação combinada de N e K, com e sem calcário (CaCO_3), com 4 repetições. As doses foram estimadas de acordo com a matriz de Plan Puebla III, com modificações (Figueredo, 2020). A aplicação de N foi realizada na forma de ureia e a aplicação de K^+

foi feita através do uso do cloreto de potássio, com um controle sem a aplicação combinada e todas as parcelas com e sem uso do CaCO_3 . Em dezembro de 2022, foi realizada a coleta dos cladódios do genótipo Orelha de Elefante Mexicana (OEM), com o auxílio de uma faca e uso de luvas, coletando o cladódio terciário.

5.4. Material coletados e produtividade

Cladódios do genótipo Orelha de Elefante Mexicana (OEM), foram coletados através da área experimental do INSA de Campina Grande – PB, que está em condições de sequeiro. Após a coleta, o material foi colocado à sombra para em seguida serem transportados para a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), e direcionado ao Laboratório do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, onde foram extraídas amostras dos cladódios coletados. E, em seguida, foi adicionado Nitrogênio líquido e armazenados no ultrafreezer a -80°C , no qual esse processo é muito importante para que não ocorra degradação do material vegetal ou alteração da atividade enzimática da cultura. Após realizados esses procedimentos, as amostras estavam prontas para a realização das análises.

5.5. Análises físico-químicas

pH, sólidos solúveis e acidez total titulável

Para a determinação de acidez titulável foi realizada por titulometria com solução de NaOH 0,1 M padronizada e indicador de fenolftaleína, conforme metodologia de IAL (2008). Para a quantificação de sólidos solúveis foi realizada por refratômetro digital (Pocket) PAL-1, da marca ATAGO, através de leitura direta, conforme A.O.A.C. (2016). Os resultados para as análises de acidez titulável e sólidos solúveis foram expressos em porcentagem (%) de ácido cítrico e °Brix, respectivamente. A determinação de pH foi realizada por leitura direta da polpa macerada, pelo processo potenciométrico em pHmetro Hanna Instruments – Modelo HI 221, conforme A.O.A.C. (2016).

Carboidratos totais

Para a quantificação de carboidratos solúveis foi utilizada a metodologia de Dubois et al. (1956), com adaptações. Essa análise se baseia na ação hidrolítica e desidratante do ácido sulfúrico concentrado sobre o carboidrato, com um pico de 490nm de absorvância. Foi utilizado solução fenol (5%) dissolvido 2,5g em 50mL de água Milli-Q e armazenado em frasco escuro, hermeticamente fechado. A solução anidra de glicose ($180 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi utilizada 0,018g de glicose em 70mL de água Milli-Q. Em tubos de ensaio de 13cm de altura, foi adicionado 500 μL do extrato bruto, 500 μL de fenol 5% e 2,5mL de ácido sulfúrico concentrado, adicionado rapidamente direcionado à solução e não à parede do tubo, para que seja obtida uma boa mistura. Em seguida, os tubos foram agitados em vórtex e após deixados em repouso numa bandeja com água por 10 minutos. Posteriormente, foi realizada a leitura no espectrofotômetro à 490nm. O branco foi obtido com 500 μL de água Milli-Q, 500 μL de fenol 5% e 2,5mL de ácido sulfúrico concentrado. Os cálculos foram realizados a partir da concentração de carboidratos obtidos na curva padrão. Os dados foram expressos em μmol carboidratos g^{-1} de MS.

Aminoácidos

Para quantificar o conteúdo de aminoácidos, foi utilizada a metodologia de Yemm (1955). Para a extração utilizou-se 0,2 g de matéria fresca com tampão fosfato de potássio (pH 7,0; 50 mM). Para a reação, utilizou-se 500 μL do extrato bruto, 250 μL do tampão citrato e 600 μL do reagente revelador (ninhidrina 5% + KCN 0,2 mM) em tubos rosqueados, os quais foram agitados em vórtex e submetidos à banho-maria por 15 minutos a 100°C. Após 15 minutos, a reação foi interrompida resfriando os tubos com banho de gelo, e logo foi adicionado 650 μL de etanol 60%, para desenvolver a cor violeta. Após, os tubos foram agitados novamente e em seguida foram realizadas as leituras em espectrofotômetro à 570 nm de absorvância, tendo como “branco” um tubo de ensaio contendo 250 μL do tampão citrato, 600 μL do revelador e 650 μL do etanol. Os cálculos foram realizados através da curva padrão de glicina e expressas em μmol aminoácidos g^{-1} MF.

Proteínas totais

A determinação do conteúdo de proteínas totais foi determinada conforme o método descrito por Bradford (1976). A extração será iniciada pesando-se 0,3 g de MF, e adicionado tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,0 (1 mL). O extrato foi transferido para o eppendorf, identificados e centrifugados a 10.000 x g por 20 minutos. Logo, foram coletados os sobrenadantes e armazenados em ultrafreezer. O ensaio de proteína aconteceu adicionando 50 µL do extrato, 50 de H₂O Milli-Q e 1 mL de solução de Bradford, sendo homogeneizados. Após 5 minutos, as leituras foram feitas no espectrofotômetro (Biochrom, Libra S8, Cambridge, Inglaterra) com absorvância 595 nm, e o conteúdo de proteína foi estimada de acordo com curva padrão elaborada com albumina do soro bovino (BSA), sendo determinada em g kg de proteína de MS.

Sódio (Na⁺) e Potássio (K⁺)

Para determinação dos teores de Na⁺ e K⁺ foram realizados de acordo com a metodologia de Rodrigues et al. (2013), medidos por fotometria de chama. O material vegetal fresco foi submetido à secagem em estufa para determinação do peso seco (MS), após o tecido do cladódio foi moído em moinho de facas Wiley para obtenção da farinha, cujas amostras (50mg) foram submetidos à extração por incubação em tubos de ensaio com tampa rosqueada contendo 10mL de água Milli-Q, e fervendo em banho-maria a 100°C por 1 hora. Os extratos foram filtrados e utilizados para leitura de Na⁺ e K⁺ em fotômetro de chamas (Micronal, B462, São Paulo, Brasil). Os teores de foram estimados com base na curva padrão de NaCl e KCl, respectivamente (0-1000 µM), com os resultados expresso em µmol g⁻¹ MS.

Nitrogênio total

O método de arraste de vapor (Kjeldahl) foi empregado para medir o nitrogênio total na amostra vegetal seca. Esse método consiste em três etapas: digestão, destilação e titulação. (Bezerra Neto e Barreto, 2011). Na etapa de digestão, 100mg da amostra foram colocados em um tubo digestor com 7mL de uma mistura digestora. O tubo foi aquecido em um bloco digestor dentro de uma capela, seguindo o seguinte protocolo: 1

hora a 100°C, 1 hora a 200°C e 1 hora a 300°C. Depois de resfriado, o material digerido foi solubilizado em 10mL de água destilada e acoplado ao destilador de Kjeldahl. Na etapa de destilação, 25mL de NaOH (50%) foram usados para liberar a amônia do material digerido, que foi coletada em um Erlenmeyer com 10mL de ácido bórico com indicador misto. Na etapa de titulação, a amônia destilada foi neutralizada com uma solução padrão de H₂SO₄ 0,05 N. O ponto final da titulação foi indicado pela mudança de cor do indicador: de verde para vermelho claro. A quantidade de nitrogênio total foi calculada pela relação entre o volume do H₂SO₄ consumido e o fator de conversão de 0,7 mg de nitrogênio por mL de ácido. O teor de N foi determinado em g/kg de MS.

Clorofilas e Carotenoides

Para a determinação dos teores de clorofilas a, b e totais e carotenoides foi utilizada a metodologia de Arnon (1949), com modificações. Para o ensaio foi coletado 0,3g de matéria fresca de palma e os pimentos foram extraídos e solubilizados com acetona 80%. Após, foram centrifugados a 3000 rpm a 4°C por 15 minutos, o sobrenadante foi coletado e as leituras foram realizadas. As leituras foram obtidas através de cada comprimento de onda que foram empregadas para estimar os conteúdos das clorofilas a, b e totais e carotenoides. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Modelo libra S8, Biochrom, Cambridge, Inglaterra) com absorvâncias de 470, 645, 652 e 663 nm, sendo determinada em µg/g⁻¹ de MF. O cálculo foi realizado através da seguinte fórmula:

$$\text{Clorofila a (Ca)} = [(12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) / (1000 \times W)] \times V$$

$$\text{Clorofila b (Cb)} = [(22,9 \times A_{645} - 4,86 \times A_{663}) / (1000 \times W)] \times V$$

$$\text{Clorofilas totais} = [(A_{652} \times 1000) / (34,5)] \times (V/1000 \times W)$$

$$\text{Carotenoides} = [(1000 \times A_{470} - 1,82 \times Ca - 85,02 \times Cb) / 198]$$

Onde:

A = absorvância

V = volume final do extrato (2 mL)

W = peso em gramas da matéria fresca (0,3 g)

5.6. Medição do estresse oxidativo

Peroxidação lipídica (TBARS)

A determinação da peroxidação lipídica foi estimada pelo conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme Heath e Packer (1968). A extração foi realizada com a maceração de 0,1 g de tecido foliar em um almofariz com 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) (60 g L^{-1}). posteriormente foi centrifugado a $7960 \times g$ por 15 min a 4°C . O ensaio foi realizado com a mistura 0,5 mL do sobrenadante que foi adicionado a 2 mL de meio reacional contendo 200 g L^{-1} de TCA e 5 g L^{-1} de TBA. O tubo foi mantido a 95°C por 1 hora e incubado a 25°C por 30 min, posteriormente será centrifugado a $5000 \times g$ por 10 min a 4°C . As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Modelo libra S8, Biochrom, Cambridge, Inglaterra) com absorvâncias de 532 e 660 nm. O cálculo será com base no coeficiente de extinção molar de 155 mM cm^{-1} e expressa em $\text{nmol g}^{-1}\text{ MF}$.

Conteúdo de H_2O_2

A determinação do conteúdo de H_2O_2 foi estimada conforme metodologia de Zheng et al. (2019). Para obtenção do extrato, amostras de 0,1 g de tecido foliar foram homogeneizadas com 1 mL de ácido tricloroacético (TCA), 0,1%. Posteriormente foi centrifugado a $12.000 \times g$ por 15 min a 4°C . O ensaio foi realizado com a mistura 0,5 mL do sobrenadante que foi adicionado a 2 mL de meio reacional contendo 1 mL de iodeto de potássio e 1 mL de tampão fosfato de potássio. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Modelo libra S8, Biochrom, Cambridge, Inglaterra) com absorvância de 390 nm. O cálculo foi feito com base na curva padrão de H_2O_2 e expressa em $\mu\text{mol g}^{-1}\text{ MF}$.

5.7. Medição do sistema antioxidante enzimático

Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato Peroxidase (APX)

O extrato foi obtido a partir da maceração de 0,30 g do tecido foliar em 2 mL de tampão fosfato de potássio (0,1M) (pH 7,0). Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 12.000 g por 20 minutos, a 4° C. Após, foi coletado o sobrenadante e armazenado no ultra freezer (-80°C) ou no gelo até o momento das leituras.

A atividade da SOD foi realizada conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977) com adaptações. Alíquotas de 50 µL de sobrenadante do extrato foram transferidas para tubos de ensaio contendo 830 µL de tampão fosfato de potássio (50 mM) (pH 7,8), contendo (1 µM de EDTA e 13 mM de metionina), 100 µL de cloreto de tetrazólio azul nitro (NBT) (750 µM) e 20 µL de riboflavina (1mM). Todo o processo da reação ocorreu no escuro. Após, os tubos foram agitados através do vórtex e em seguida foram submetidos à uma câmara de luz intensa, formada por lâmpadas fluorescentes de 18 W durante 15 minutos, juntos com os dois tubos do Branco para a luz. Após 15 minutos, a solução foi transferida para as cubetas uma a uma e realizar a leitura em espectrofotômetro a 560 nm. A determinação da atividade foi feita com base na inibição da redução de NBT, com uma unidade de atividade definida como a quantidade de enzima necessária que inibirá 50% da fotorredução (Beauchamp e Fridovitch, 1971). Os resultados foram expressos em U g⁻¹ MF.

A atividade da CAT, foi determinado de acordo com a metodologia de Havir e Mchale (1987), com adaptações. Num eppendorf será colocado 25 µL da amostra, 375 µL de H₂O Milli-Q, 500 µL do Tampão Fosfato de Potássio e 35 µL de H₂O₂. A reação foi realizada a 30 ° C e foi acompanhado por um declínio na absorbância a 240 nm por 1,5 min, com leituras sucessivas realizadas a cada 30 segundos. A atividade da catalase foi calculada com base no coeficiente de extinção molar de 36 M⁻¹cm⁻¹ para H₂O₂, e foi expresso em µmol H₂O₂ min⁻¹g⁻¹ FW.

O ensaio do APX foi realizado conforme descrito por Nakano e Asada (1981), com modificações. Foi utilizado alíquotas de 25 µL do sobrenadante, 900 µL de tampão de fosfato de potássio (50 mM, pH 6,0), 50 µL ácido ascórbico (ASA; 0,5 mM) e 375 µL de H₂O Milli-Q. A reação foi iniciada pela adição de 50 µL H₂O₂(30 mM) para o meio de reação e monitorado com base no declínio na absorbância com espectrofotômetro a 290 nm, por 3 min, com leituras sucessivas realizada em intervalos

de 30 segundos. A atividade foi calculada com base na extinção molar coeficiente de 2,8 mM-1cm-1 e expresso em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}\text{FW}$.

5.8. Medição do sistema antioxidante não enzimático

Conteúdo do ácido ascórbico (ASA)

A medição do conteúdo de ASA foi realizada através do ensaio de Folin-Ciocalteu (1912). A extração foi feita com 0,3 g de MF de cada amostra foliar, adicionando 1,5 mL da solução de metanol. O extrato foi transferido para eppendorf, identificado e centrifugado a 10.000 g por 25 minutos. Após isso foi coletado o sobrenadante e armazenado em ultrafreezer. Para o ensaio da ASA, foram utilizadas alíquotas de 150 μL do extrato, 600 μL de H₂O Milli-Q e 250 μL do Folin-Ciocalteu. A reação aconteceu no escuro, e após, permaneceu por 5 minutos. Após 5 minutos, foram realizadas as leituras no espectrofotômetro (Biochrom, Libra S8, Cambridge, Inglaterra) com absorvância de 765 nm, o cálculo foi realizado com base no conteúdo expresso em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, estimado pela curva padrão.

Compostos fenólicos totais

A determinação para quantificação de compostos fenólicos totais será utilizada a metodologia de Reyes et al. (2007), com adaptações. A extração foi realizada com a maceração de 0,3 g da palma, contendo 1,5 mL de metanol, logo após será centrifugada a 10.000 rpm a 4 °C por 25 minutos. Para o ensaio de compostos fenólicos totais foram utilizados 150 μL da alíquota, 600 μL de H₂O Milli-Q, adicionado meio de reação contendo 250 μL do reagente Folin-Ciocalteu (1 N), onde essa mistura permanecerá em repouso por 2 min. Em seguida será acrescentada 500 μL de uma solução de carbonato de sódio a 20% (p/v), e a mistura permaneceu em repouso por mais 10 min. As leituras foram feitas no espectrofotômetro (Biochrom, Libra S8, Cambridge, Inglaterra) com absorvância de 765 nm. O cálculo foi feito com base na curva padrão de ácido gálico, expressa em mg de ácido gálico por mg de MF.

DPPH e FRAP

Para a obtenção dos extratos metanólicos para realização das análises de DPPH e FRAP foram utilizadas 0,3g de amostras frescas maceradas em 1,5 mL de metanol e deixado em repouso por 24h. Após esse período os extratos foram centrifugados a 10.000 rpm a 4° por 21 minutos. Para a quantificação da capacidade antioxidantes de DPPH (ensaio de eliminação do radical DPPH), foi determinada de acordo com Brand-Williamn et al. (1995), com adaptações. Para o ensaio foi utilizado 840 µL da solução de DPPH (0,1 mM) e 60 µL do extrato da amostra. Após 30 minutos de reação, as leituras foram realizadas no espectrofotômetro (Biochrom, Libra S8, Cambridge, Inglaterra) com absorvância a 517 nm, a 25°C. Foi observado o declínio na absorvância das amostras, que resultam na porcentagem de eliminação dos radicais livres (% FRS), e foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\% \text{AAO} = \frac{(\text{Abs Controle DPPH} - \text{Abs Amostra}) \times 100}{\text{Abs Controle DPPH}}$$

Para a quantificação da capacidade antioxidante FRAP (ensaio de poder antioxidante redutor férrico), foi realizada conforme descrito por Benzie & Strain (1996), com modificações. Para o ensaio utilizou-se 900 µL do reagente FRAP contendo: 25 mL de tampão acetato (0,3 M; pH 3.6), 2,5 mL de solução de TPTZ (10mM) e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM), e depois foi adicionado 90 µL de H₂O Milli-Q e 30 µL da amostra do extrato. O potencial antioxidante foi determinado de acordo com a calibração de uma curva padrão, que foi desenhada através da utilização do sulfato ferroso (Fe²⁺kg⁻¹). Os resultados foram expressos em mM Fe²⁺ kg⁻¹.

5.9. Delineamento estatístico e análise dos dados

O experimento foi realizado em um delineamento em blocos casualizados (DBC) em esquema fatorial 13 x 2 de tratamentos combinados com 13 doses de N e K e 2 doses de Calcário (CaCO₃). Os valores médios e desvio padrão dos tratamentos foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro Wilk) e homoscedasticidade (Levene), para verificar se os dados possuem diferença estatística. A partir disso, as médias foram

submetidas à análise de variância (ANOVA) e, em seguida, foram submetidas ao teste de Tukey ($p < 0,05$). A Análise dos Componentes Principais (PCA) foi realizada através da integração dos valores médios de todos os parâmetros, os quais foram decompostos em vetores. Os resultados da matriz de correlação foram demonstrados em biplots com sua distribuição no espaço de ordem, variâncias e correlação de Pearson. A análise estatística foi realizada utilizando o software Excel XLSTAT v2018 (Addinsoft, Paris, França, www.xlstat.com). Os gráficos foram realizados utilizando o programa SigmaPlot 14.0.

6. RESULTADOS

6.1. Produtividade

A produtividade da *Opuntia stricta* – OEM foi influenciada pela interação N:K com CaCO₃ ($p > 0,05$) (Tabela 1). A maior produtividade foi obtida com a aplicação de 46,8N:180K com CaCO₃, alcançando 127,3 t/ha⁻¹. Essa foi a melhor opção de adubação N:K com CaCO₃ para essa cultura. A aplicação de 109N:570K sem CaCO₃ também resultou em alta produtividade, com 125,9 t/ha⁻¹. Isso indica que o calcário não teve efeito significativo na produtividade, pois a mesma dose com CaCO₃ produziu 118,2 t/ha⁻¹, ou seja, uma diminuição com o uso da calagem.

Tabela 1 – Produtividade em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO₃ em condições de sequeiro. Fonte: Cordeiro (2023).

N:K (kg ha ⁻¹)	Produtividade (t/ha ⁻¹)	
	CC	SC
46,8:180	127,3 Aa	93,4 Bb
46,8:420	113,1 Aa	106,9 Bb
109:180	123,8 Aa	102,5 Bb
109:420	123,6 Aa	108,3 Bb
78:300	121,0 Aa	106,9 Bb
7,8:180	123,4 Aa	100,3Bb
148:420	107,4 Aa	91,98 Bb
46,8:30	119,2 Aa	108,4 Bb
109:570	118,2 Ab	125,9 Ba
7,8:30	107,3 Aa	79,8 Bb
148:30	103,5 Aa	99,9 Bb
7,8:57	112,9 Aa	97,3 Bb
0:0	111,8 Aa	101,2 Bb

CC: com calcário; SC: sem calcário. *Valores com letras diferentes comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO₃. As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Fonte: Autora (2023).

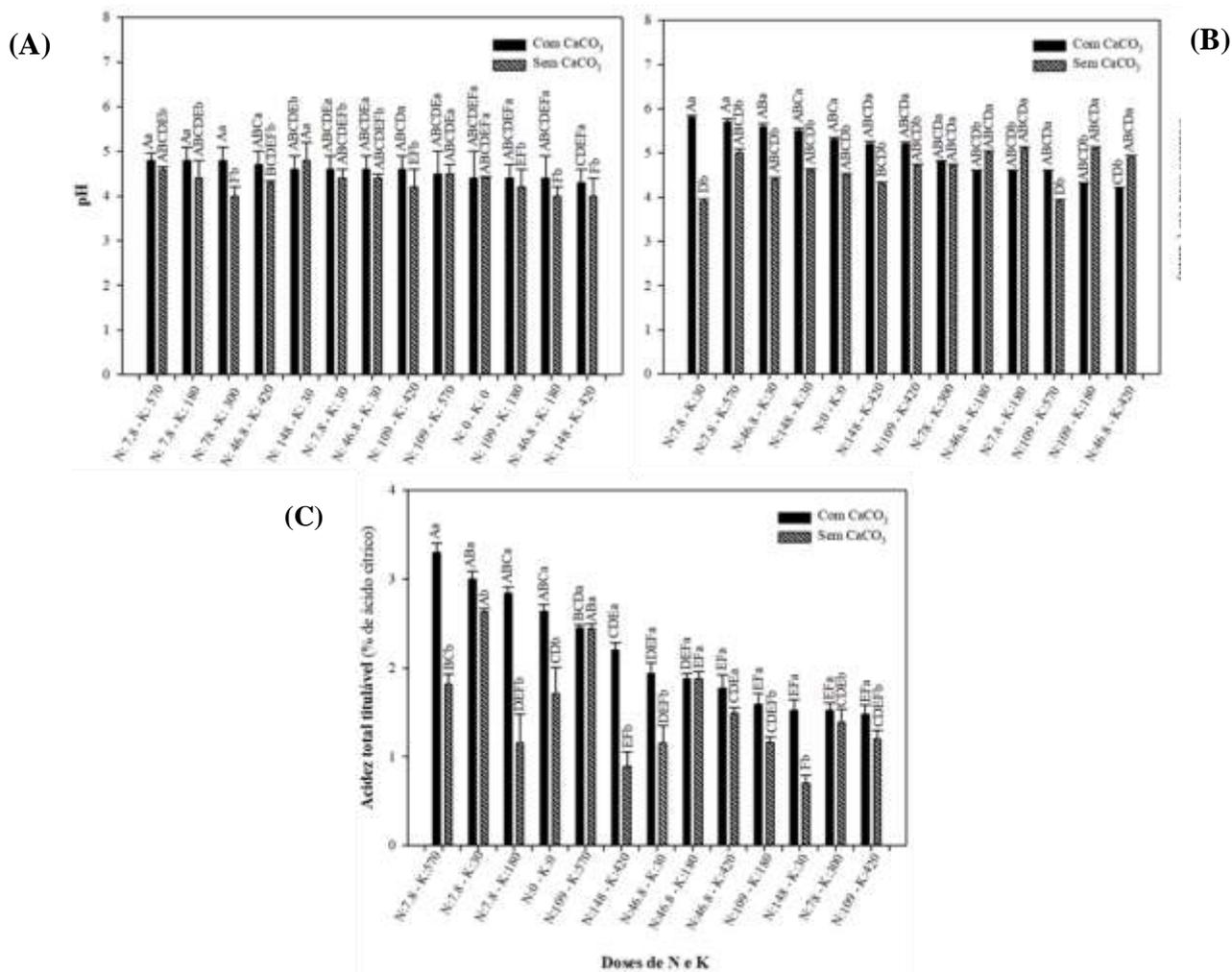
6.2. Análises físico-químicas

Houve efeito de interação significativa entre os fatores estudados, para as variáveis acidez titulável total, sólidos solúveis e pH (Figura 3), indicando que houve efeito isolado dos fatores N:K e níveis de calcário. A acidez titulável total, os sólidos solúveis e o pH variaram de acordo com as doses de nitrogênio, potássio e CaCO₃

aplicadas nas plantas. A palma *Opuntia stricta* – OEM com CaCO_3 teve maior acidez e sólidos solúveis do que a palma sem CaCO_3 . O tratamento com CaCO_3 aumentou o pH nas plantas cultivadas com diferentes doses de N e K. O pH médio foi de 4,5 nas plantas CC e de 4,4 nas plantas SC. O efeito do CaCO_3 foi mais evidente na dose de 7,8N:57K, que apresentou o maior pH em CC (4,8). Em plantas SC, as doses de 46,8N:180K, 7,8N:180K e 148N:420K tiveram menor efeito no pH da planta. A *Opuntia stricta* apresentou valores entre 4,2 e 5,8 ° Brix, tendo valores mais elevados de sólidos solúveis quando receberam as doses 7,8N:30K e 148N:30K. As plantas SC tiveram valores entre 3,9 e 5,1 ° Brix, sendo a dose mais relevante a 7,8N:180K e os menores valores nas doses de 7,8N:30K e 109N:570K. Esses resultados indicam que as doses de nitrogênio e potássio influenciam a qualidade do fruto das plantas CC e SC de forma diferente. O pH variou de 4,3 a 4,8 nas plantas CC e de 4,0 a 4,8 nas plantas SC, com o maior valor na combinação de N e K (7,8:57) em CC. Nas plantas SC a dose que teve menos influência foi a 46,8N:180K, 7,8N:180K e 148N:420K. Esses dados sugerem que o CaCO_3 aumentou todos os parâmetros avaliados.

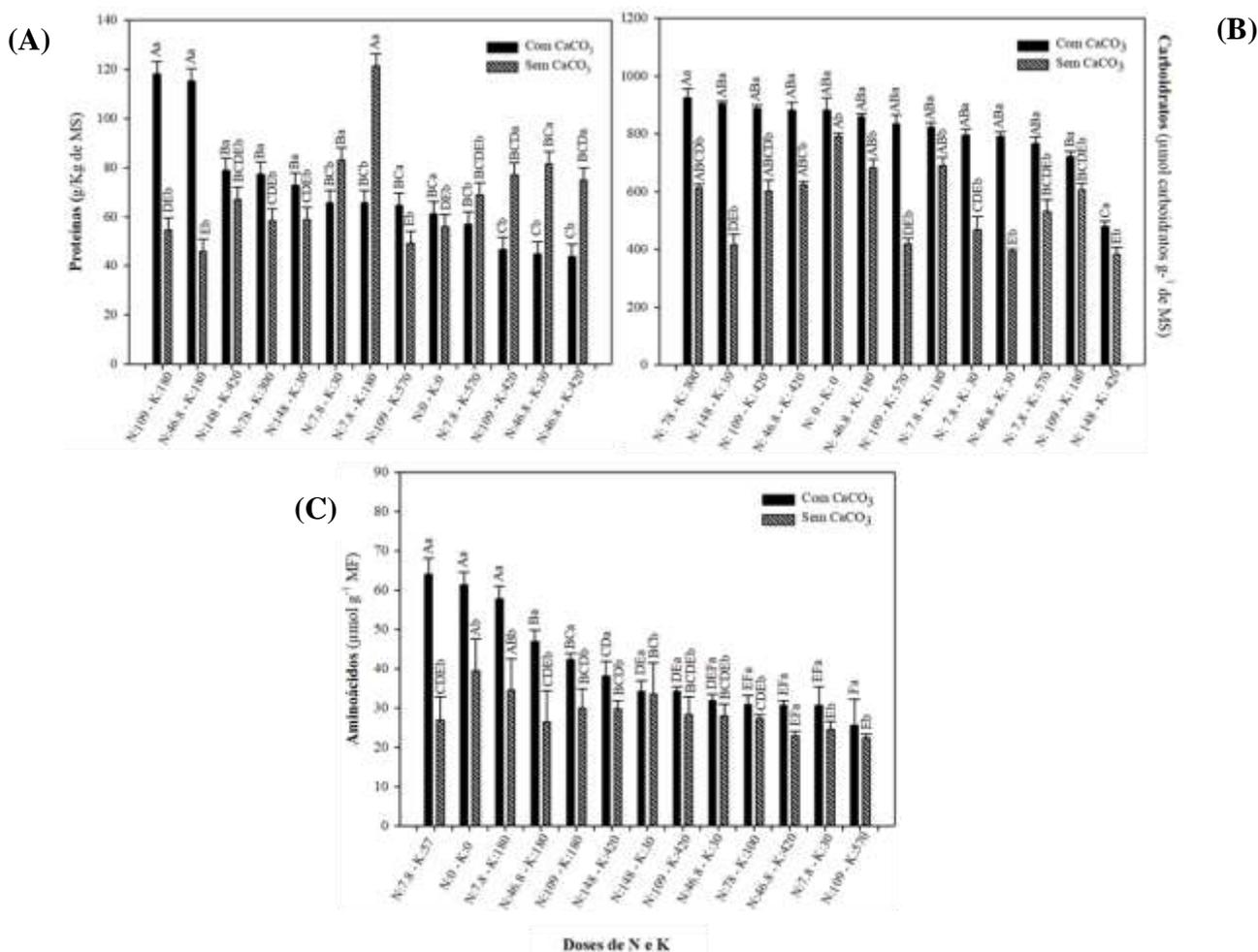
Não houve efeito de interação significativa para as variáveis proteínas, carboidratos totais e aminoácidos (Figura 4), indicando que os diferentes tratamentos aplicados não tiveram influências em cada planta. A análise do teor de proteínas mostrou que esse parâmetro não foi influenciado pelos tratamentos N e K com CaCO_3 . Os valores médios de proteínas variaram de 35 e 140 g/kg de MS, sendo que os valores foram menores em três tratamentos N e K (46,8:180 e 109:570), e o seu efeito foi maior nos tratamentos com CaCO_3 (109:180 e 46,8:180), sendo considerados nesse caso as melhores doses de N 46,8 e 109 kg ha⁻¹, e a melhor dose de K foi 180 kg ha⁻¹. Para as plantas que não receberam CaCO_3 , o melhor tratamento foi 7,8:180. Em contrapartida, o conteúdo de carboidratos resultou numa diferença significativa com valores entre 387,97 e 869,32 g 100 μmol de carboidratos g⁻¹ de MS, na interação do Fator 1, porém, o Fator 2 não promoveu incremento entre os tratamentos. Os valores de aminoácidos variaram entre 22,4 e 64,1 μmol mL⁻¹ de MF, tendo como melhores resultados os tratamentos de N:K (109:180 e 46,8: 180).

Figura 3 – Teores de pH, sólidos solúveis (°Brix) e acidez total titulável em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO_3 em condições de sequeiro. *As letras maiúsculas comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO_3 . As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).



Fonte: Cordeiro (2023).

Figura 4 – Teores de proteínas totais (mg g MF) (A), carboidratos totais (g 100 g⁻¹ MS) (B) e aminoácidos (μmol mL MF) (C) em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO₃ em condições de sequeiro. *As letras maiúsculas comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO₃. As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05).

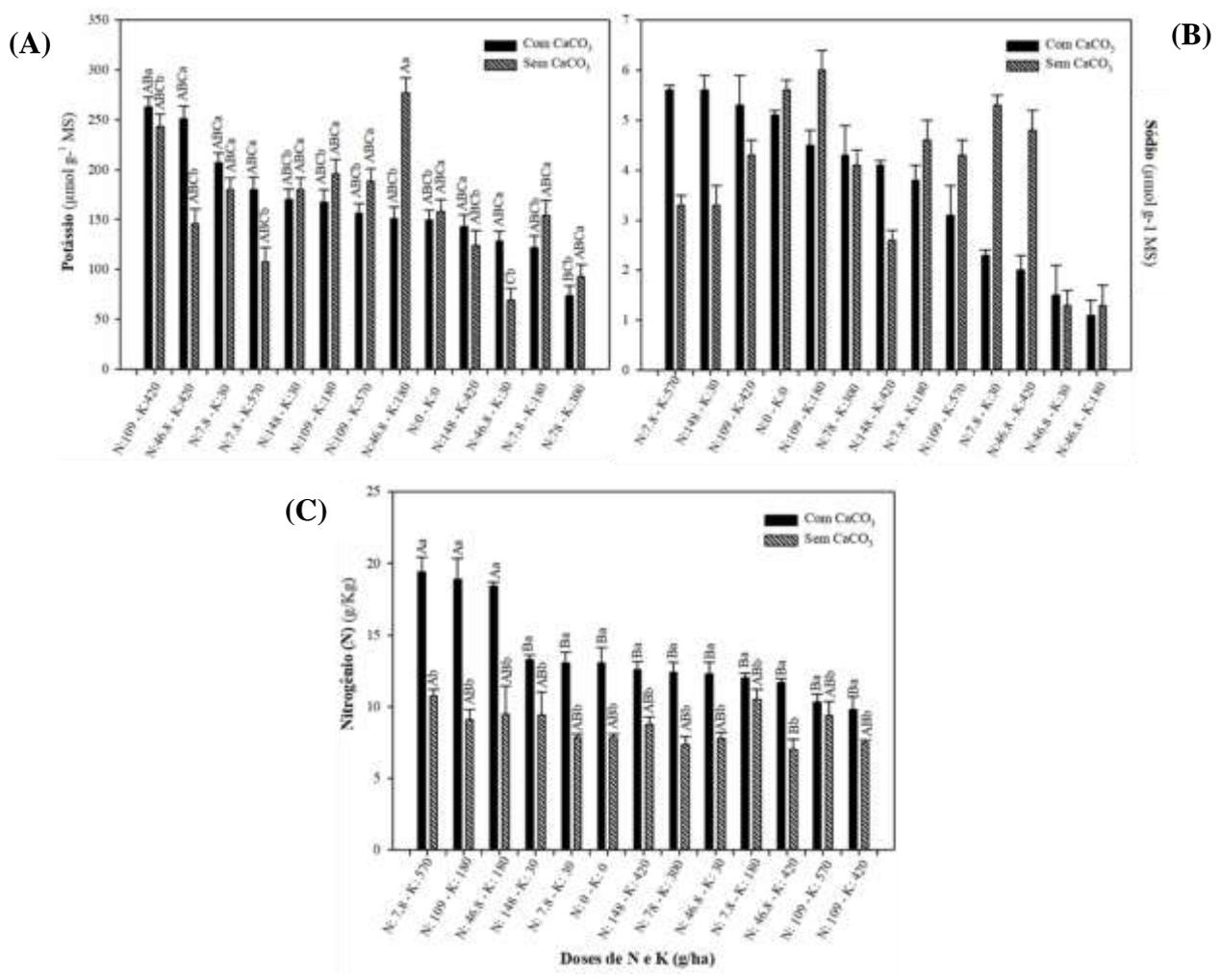


Fonte: Cordeiro (2023).

Não houve efeito de interação significativa para o conteúdo de Na⁺. Por outro lado, houve diferença significativa para o teor de potássio e nitrogênio (Figura 5), indicando que a aplicação do calcário teve influência na melhor absorção desses nutrientes. O teor de Na⁺ apresentou uma variação entre 1,1 e 5,6 para plantas CC e 1,3 e 6,0 para plantas SC. Já as concentrações de K⁺ apresentaram valores elevados e com diferença significativa (p<0,05) (Figura 5). A menor concentração de K⁺ para as plantas

CC foi de 73,5 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS, através do tratamento 78N:300K, já a maior concentração se deu através do tratamento 46,8N:180K com 277,2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS. Devido as variações significativas, a relação K/Na nos cladódios foi alta, com valores entre 124,31 e 16,93 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS para as plantas CC e 58,26 a 22,75 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS para plantas SC. O teor de nitrogênio variou entre 7 e 19,4, tendo como melhores respostas os tratamentos N:K com CaCO_3 (7,8:570, 109:180 e 46,8:180), e para as plantas que não receberam CaCO_3 , os melhores tratamentos foram 7,8N:570K e 7,8N:180K.

Figura 5 – Teores de potássio (K^+) (A), sódio (Na^+) (B) e nitrogênio (N) (C) em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO_3 em condições de sequeiro. *As letras maiúsculas comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO_3 . As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).



Fonte: Cordeiro (2023).

A interação entre os pigmentos fotossintéticos e fotoprotetores foi analisada em função do conteúdo de clorofila *b* (Chl *b*), clorofila *a* (Chl *a*) e clorofilas totais (Chl totais) (Tabela 2). Os resultados mostraram que o Fator 1 teve um efeito significativo sobre os teores de Chl *a* e Chl totais, mas não sobre o de Chl *b*. A maior concentração de Chl *a* e Chl totais foi observada na combinação 46,8N:180K com CaCO₃, que alcançou 0,036 g g⁻¹ MF de Chl *a* e 0,037 g g⁻¹ MF para Chl totais, enquanto a menor foi verificada no tratamento 148N:30K, que obteve 0,019 g g⁻¹ MF de Chl *a* e 0,020 g g⁻¹ MF para Chl totais. Isso sugere que doses mais elevadas de nitrogênio podem não ser benéficas para esses pigmentos. O teor de carotenoides não foi afetado pelo Fator 1 nem pela interação entre os fatores.

Tabela 2 – Teores de clorofilas *a*, *b*, totais (µg de clorofila/g⁻¹ de MF) e carotenoides (µg de carotenoide/g⁻¹ MF) em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO₃ em condições de sequeiro. Fonte: Cordeiro (2023).

N:K (kg ha ⁻¹)	Chl <i>a</i>		Chl <i>b</i>		Chl totais		Car	
	CC	SC	CC	SC	CC	SC	CC	SC
148:420	22,3 ABCa	24,3 ABb	1,16	1,55	23,5 ABCa	25,9 ABb	1945,8	1173,5
148:30	37,9 Aa	19,6 Ba	1,21	1,23	39,1 Aa	20,8 Ba	1245,5	1603,5
109:570	30,24 ABCa	19,3 Ba	1,31	0,81	31,55 ABCa	20,1 Ba	1538,3	1598,9
109:420	33,2 ABa	19,9 Bb	1,66	1,22	34,9 ABa	21,2 Bb	1441,9	2904,1
109:180	23,4 BCa	28,3 ABb	1,29	1,13	24,7 BCa	29,4 ABb	1972,4	1332,5
78:300	34,2 Aa	23,7 ABb	0,97	1,94	35,2 Aa	25,6 ABb	1568,2	1359,5
46,8:420	29,6 ABCa	20,3 Bb	1,46	1,51	31,1 ABCa	21,8 Bb	1739,8	1371,7
46,8:180	33,2 Aa	22,6 Bb	1,28	1,09	34,5 Aa	23,7 Bb	1467,6	1321,2
46,8:30	33,6 Aa	26,6 ABb	1,23	1,43	34,8 Aa	28,0 ABb	1573,7	1457,6
7,8:570	22,6 Ca	23,0 ABb	0,94	1,47	23,54 Ca	24,5 ABb	1465,5	1563,4
7,8:180	34,4 Aa	20,0 Bb	1,43	1,34	35,88 Aa	21,34 Bb	1643,2	1594,9
7,8:30	37,9 Aa	32,5 Ab	1,10	1,63	39,0 Aa	34,1 Ab	1546,5	1302,4
0:0	33,9 Aa	26,2 ABb	1,28	1,38	35,2 Aa	27,6 ABb	2190,8	1468,9

CC: com calcário; SC: sem calcário. *Valores com letras diferentes comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO₃. Valores sem letras indicam que não houve diferença significativa. As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05).

6.5. Medição do sistema antioxidante não enzimático

Não houve diferença significativa entre as variáveis estudadas para o conteúdo de FRAP e DPPH (Tabela 3). Por outro lado, o conteúdo de ácido ascórbico e compostos fenólicos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). O aumento da relação N:K na ausência de CaCO_3 , provocou um incremento significativo do conteúdo de AsA. Nas plantas cultivadas com CaCO_3 , a maior concentração de AsA foi observada na combinação 109N:180K, com 12,23 mM de ácido ascórbico g^{-1} MF. Já para o conteúdo de compostos fenólicos, o melhor tratamento foi o de 46,8N:180K com CaCO_3 , com valor de 145,18 mg de ácido gálico 100 g^{-1} MF, não havendo efeito do CaCO_3 nos demais tratamentos.

Tabela 3 – Ácido ascórbico (AsA), compostos fenólicos (TPC), DPPH e FRAP em *Opuntia stricta* – OEM, sob efeito da aplicação combinada de N e K com CaCO_3 .
Fonte: Cordeiro (2023).

N:K (kg ha ⁻¹)	AsA		TPC		FRAP		DPPH	
	CC	SC	CC	SC	CC	SC	CC	SC
148:420	8,7 CDa	8,9 CDa	68,6 Db	137,0 ABa	12,9	12,5	1,5	1,4
148:30	8,6 CDa	8,6 CDa	84,6 Db	129,2 ABCa	13,9	14,0	1,3	1,5
109:570	8,9 CDb	10,3 ABCa	96,9 CDb	112,2 ABCDa	12,2	15,1	1,3	1,6
109:420	8,3 CDb	10,3 ABCa	108,9 ABCDb	137,3 ABa	12,4	14,0	1,3	1,5
109:180	12,2 Aa	9,3 CDb	93,0 CDb	145,5 Aa	13,1	12,2	1,3	1,3
78:300	9,6 BCDA	8,8 CDb	118,6 ABCDb	127,2 ABCa	13,2	13,4	1,4	1,6
46,8:420	9,9 ABCDA	7,7 Db	99,1 BCDA	91,9 CDb	12,2	10,7	1,5	1,3
46,8:180	8,4 CDb	9,4 BCDA	145,2 Aa	144,6 Ab	10,9	12,2	1,4	1,4
46,8:30	8,3 CDb	8,8 CDa	80,7 Db	108,4 ABCDa	11,3	12,9	1,3	1,5
7,8:570	9,5 BCDA	9,5 BCDA	111,5 ABCDa	79,6 Db	14,3	13,1	1,3	1,3
7,8:180	8,9 CDa	10,2 ABCa	114,2 ABCDb	117,5 ABCDa	13,8	14,6	1,4	1,5
7,8:30	9,6 BCDB	11,8 ABa	117,3 ABCDb	128,9 ABCa	13,4	15,5	1,5	1,6
0:0	8,7 CDa	8,7 CDa	106,6 ABCDa	101,8 BCDB	10,7	12,7	1,2	1,4

CC: com calcário; SC: sem calcário. *Valores com letras diferentes comparam a aplicação combinada de N:K e as minúsculas a aplicação de CaCO_3 . Valores sem letras, indicam que não houve diferença significativa. As letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

6.6. Associação das variáveis com a Análise de Componentes Principais (PCA)

A Figura 8 apresenta os resultados da PCA, no qual seis componentes principais foram suficientes para explicar 70% da variação total dos dados em função da aplicação combinada de nitrogênio e potássio com calcário: a componente principal 1 (PC1), responsável por 28%, a componente principal 2 (PC2), responsável por 11%, a componente principal 3 (PC3), responsável por 9%, a componente principal 4 (PC4), responsável por 8%, a componente principal 5 (PC5), responsável por 7%, e a componente principal 6 (PC6), responsável por 6%. Observou-se que os parâmetros de produtividade, os físico-químicos (pH, proteínas, carboidratos e aminoácidos), a concentração dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofilas totais e a relação *a/b*), o teor de nutrientes (potássio, sódio e nitrogênio), as atividades antioxidantes enzimáticas (APX) e nas atividade antioxidantes não enzimáticas (ácido ascórbico, FRAP e DPPH) apresentaram correlações positivas entre si e esses parâmetros foram positivamente associados aos tratamentos com calcário (0N:0K; 7,8N:570K; 46,8N:30K; 46,8N:420K; 109N:570K; 148N:30K) e o tratamento sem calcário (109N:570K) (Figura 8). Por outro lado, essas variáveis se correlacionaram de forma negativa no sistema oxidante (TBARS e H₂O₂) e no sistema antioxidante não enzimático (compostos fenólicos), os quais tiveram correlação positiva entre si, entre o tratamento que recebeu calcário (109N:420K) e alguns tratamentos que não receberam calcário (7,8N:30K; 46,8N:30K; 46,8N:180K; 78N:300K; 109N:180K; 148N:30K; 148N:420K).

7. DISCUSSÃO

7.1. Análises físico-químicas

Os resultados mostraram que as combinações de baixas doses de N:K com CaCO_3 foram as mais favoráveis para o teor de sólidos solúveis, contrariando o estudo de (Santana, 2019). Por outro lado, estão em consonância com esse trabalho, pois observaram que na estação seca, os maiores teores de sólidos solúveis foram obtidos nas doses mais baixas de N e K^+ . O pH da palma foi influenciado pelas doses de N e K^+ , sendo que o aumento de N elevou o pH, enquanto o aumento de K^+ reduziu o pH, corroborando com Hussain et al. (2015) e Zahoor et al. (2017). Esses dados estão relacionados com a acidez da planta, que é inversamente proporcional ao pH. O pH do cladódio ficou dentro da faixa esperada para cactáceas, entre 3 e 5,5, de acordo com Izuegbuna et al. (2019). O teor de sólidos solúveis não foi alterado pelas doses de N e K^+ , segundo Santana (2019). Esse resultado está associado com o grau de acidez da planta, isto é, quanto maior a acidez menor será o pH.

A combinação de N:K com CaCO_3 influenciou o conteúdo de carboidratos solúveis totais, que apresentou valores mais elevados nas doses intermediárias de N:K. Esse resultado contrasta com o encontrado por Santana (2019), que observaram um aumento do teor de carboidratos solúveis totais com o incremento das doses de N, independentemente da dose de K^+ , indicando uma melhor resposta da cultura ao N. O nitrogênio desempenha um papel importante no teor de proteínas, a fim de determinar a qualidade do produto Asthir et al. (2017). Os resultados mostraram que o aumento das doses de N aumentou significativamente o teor de proteína da forragem. Esses resultados corroboram com Donato et al. (2014) que ao usar diferentes doses de esterco em palma forrageira, observou teores de proteína bruta de 107 g/kg^{-1} de PB. Por outro lado, Farinelli et al. (2004) analisaram o impacto de doses variadas de N e K na composição química de outra cultura forrageira. Eles observaram que doses intermediárias de N e K foram as mais adequadas para otimizar o teor de proteína total da forragem. O atual estudo corrobora com Farinelli et al. (2004), tendo melhor resposta com doses intermediárias de N:K com calcário. A assimilação de NH_4^+ é um processo bioquímico que envolve a incorporação de nitrogênio inorgânico em compostos orgânicos, como os aminoácidos. Essa reação requer uma grande quantidade de energia,

consumindo entre 12 e 18 ATP por cada molécula de nitrogênio assimilada. Além disso, a assimilação de NH_4^+ afeta o metabolismo energético e carbônico das plantas, bem como a sua capacidade de obter N a partir do solo (Epstein & Bloom, 2006).

Neste trabalho, observou-se que o calcário aumentou o Na^+ nas plantas, mas o K^+ em excesso diminuiu o Na^+ , conforme Santana (2019). As plantas CAM usam o sódio do solo para várias funções metabólicas, podendo substituir o potássio em alguns casos. O sódio é importante para o crescimento e o desenvolvimento das células vegetais, pois ele regula a osmose e o equilíbrio iônico. A falta de sódio pode causar clorose, necrose, prejudicando a qualidade e a produtividade. Por isso, é preciso fornecer uma quantidade adequada de sódio às plantas CAM, principalmente em solos pobres ou salinos (Kathpalia & Bhatla, 2018). Sobre o potássio, o atual estudo corrobora com Hussain et al. (2015); Viana & Kiehl (2010), pois observaram que o N:K com CaCO_3 teve efeito positivo sobre o conteúdo de K^+ em plantas *Opuntia stricta* – OEM, sendo que a combinação de uma dose baixa de N com uma dose média de K^+ resultou em um maior rendimento, em comparação com a dose mais alta de K^+ . Segundo Hussain et al. (2015); Viana & Kiehl (2010), o potássio é um elemento fundamental para o crescimento das plantas forrageiras, pois afeta diretamente no teor desse nutriente na parte aérea, independentemente do nível de nitrogênio aplicado. O atual estudo corrobora com Santos et al. (2013) que fala que altas doses de N aumentam o teor de N nas plantas. A redutase do nitrato é uma enzima essencial para o aproveitamento do nitrogênio pelas plantas, pois catalisa a redução do nitrato em nitrito, o primeiro passo da assimilação do nitrogênio. A atividade da redutase do nitrato é influenciada por vários fatores, como a disponibilidade de nitrato no solo, a demanda de nitrogênio pelas plantas e a interação com outros nutrientes, especialmente o potássio. O potássio é um elemento importante para o metabolismo do nitrogênio, pois participa da síntese de aminoácidos e proteínas, além de regular o transporte e a distribuição de nitrato nas plantas. Portanto, a redutase do nitrato pode ser considerada um indicador da eficiência do uso do nitrogênio pelas culturas, pois reflete a capacidade das plantas de absorver e assimilar o nitrato presente no solo. Assim, plantas com alta atividade da redutase do nitrato tendem a ter maior produtividade e qualidade, especialmente em condições de alta adubação nitrogenada (Viana & Kiehl, 2010).

Neste trabalho, a adição conjunta de N e K com CaCO_3 elevou os níveis de clorofilas *a*, clorofilas totais e carotenoides em *Opuntia stricta* – OEM, devido ao

aumento da clorofila induzido pelo maior teor de nitrogênio total nos tecidos. Conforme Viana & Kiehl (2010), o potássio influencia a absorção de nitrogênio pelas plantas, favorecendo a formação de clorofila no tecido vegetal. Esse efeito pode estar associado à melhor nutrição e ao maior crescimento vegetativo quando as plantas receberam as doses mais altas de N e K⁺ combinadas (Megda, 2013). O estresse abiótico afeta a produção de pigmentos fotossintéticos nas plantas, como clorofilas e carotenoides (Zahoor et al., 2017). A seca, por sua vez, diminui a oferta de água para as plantas, aumentando a pressão osmótica no solo (Ilyas et al., 2021). O nitrogênio é um nutriente fundamental para a síntese de clorofila, que capta a luz para a fotossíntese nas plantas. O nível de nitrogênio nas plantas pode ser estimado pela medição do teor de clorofila nas folhas, usando um instrumento portátil denominado clorofilômetro. Esse método fornece uma medida relativa da clorofila na folha, que indica o estado nutricional da planta (Zahoor et al., 2017).

7.2. Medição do estresse oxidativo

Neste trabalho, não se observou um efeito significativo do tratamento com CaCO₃ na resposta antioxidante da planta, porém, o calcário contribuiu para diminuir o estresse oxidativo causado pela seca, protegendo as membranas celulares. A degradação dos lipídios nas membranas celulares é um processo que ocorre quando as células são expostas a condições de estresse, como a deficiência hídrica. As espécies reativas de oxigênio (EROs), que são moléculas altamente reativas e instáveis, podem atacar os lipídios e causar a sua oxidação, gerando produtos tóxicos que afetam a estrutura e a função da membrana (Schmidt & Kunert, 1986). Neste estudo, avaliou-se o efeito da calagem e da adubação com N:K na produção de EROs e no dano oxidativo em plantas de palma forrageira submetidas à deficiência hídrica. Os resultados mostraram que a ausência de CaCO₃ aumentou o estresse oxidativo nas plantas, enquanto que a combinação de N:K com CaCO₃ reduziu os níveis de TBARS e de H₂O₂, um dos principais agentes oxidantes nas células vegetais. O H₂O₂ pode causar danos irreversíveis às biomoléculas e às organelas celulares, comprometendo o metabolismo e o desenvolvimento das plantas sob condições adversas (Sachdev et al., 2021). Em outro estudo com planta forrageira, Atieno & Lesueur (2018) observou que a inoculação com rizóbios diminuiu os níveis de TBARS e H₂O₂ nas plantas, sugerindo que a simbiose

com as bactérias melhorou o sistema de defesa das plantas e atenuou os efeitos do estresse hídrico.

7.3. Medição do sistema antioxidante enzimático

Neste trabalho, foi avaliado o efeito de diferentes doses de N:K e de calcário na atividade das enzimas antioxidantes em plantas submetidas a condições abióticas adversas. Os resultados mostraram que as plantas que receberam doses de N:K com calcário tiveram maior atividade das enzimas antioxidantes, o que sugere que essa combinação favorece a capacidade antioxidante das plantas e aumenta a sua tolerância ao estresse abiótico. O estresse hídrico é um fator abiótico que afeta o crescimento e o desenvolvimento das plantas (Seleiman et al., 2021; Ilyas et al., 2021). Uma das consequências é o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem causar danos oxidativos às biomoléculas celulares. As enzimas antioxidantes são proteínas que catalisam a remoção ou a conversão das EROs em compostos menos reativos, protegendo as células dos efeitos nocivos do estresse oxidativo. As enzimas antioxidantes podem aumentar a tolerância das plantas ao estresse salino, ao preservar a atividade fotossintética e a produção de biomassa (Rezazad Bari et al., 2021; Xavier & Megda, 2013).

7.4. Medição do sistema antioxidante não enzimático

Neste trabalho, verificou-se que a interação entre N:K e CaCO_3 teve um impacto significativo no aumento da atividade antioxidante. Os compostos fenólicos são conhecidos por eliminar os radicais livres, neutralizando sua capacidade de causar danos celulares. Essa capacidade de prevenir o estresse oxidativo celular é sugerida como um meio de prevenir danos oxidativos (Izuegbuna et al., 2019). O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é um composto orgânico que desempenha um papel importante na defesa antioxidante da planta, bem como protege as células do estresse oxidativo. A vitamina C é conhecida por desempenhar papel fundamental na homeostase celular vegetal, a qual neutraliza o desenvolvimento de EROs e, como tal, podem desempenhar um papéis antioxidantes. No atual estudo, observou-se que a combinação N:K com CaCO_3 provocou um aumento da capacidade antioxidante dos

compostos fenólicos sob a palma. O FRAP e o DPPH são um método amplamente utilizado para medir o potencial antioxidante total de extratos vegetais, o qual baseia-se na redução de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil e do complexo férrico 2,4,6-tripiridil-s-triazina ($[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$) ao complexo ferroso de cor azul intensa. No trabalho atual não houve diferença entre os tratamentos avaliados, indicando que as doses combinadas de N:K com CaCO_3 não tiveram influência na capacidade antioxidante dessas variáveis (Boudjouan et al., 2022).

8. CONCLUSÕES

Neste trabalho, testou-se a hipótese de que a adubação combinada de nitrogênio e potássio com calcário melhora significativamente as características físico-químicas e bioquímicas da palma forrageira em condições de sequeiro, por meio de uma maior proteção antioxidante, maior acúmulo de fitoquímicos orgânicos e inorgânicos de reserva, favorecendo a produtividade da palma forrageira. Constatou-se que a aplicação de doses combinadas de N:K com calcário favorece a hipótese proposta, na qual a *Opuntia stricta* apresenta uma maior capacidade de tolerar o estresse hídrico, além de melhorar a sua produtividade. A aplicação desses adubos melhora os parâmetros físico-químicos e bioquímicos da planta, como o conteúdo de clorofilas, a atividade das enzimas antioxidantes e a produção de compostos fenólicos. Esses mecanismos de defesa permitem que a planta mantenha sua integridade celular e sua eficiência fotossintética, mesmo sob condições adversas. Portanto, conclui-se que a fertilização com N:K e calcário é uma estratégia eficaz para aumentar a tolerância da *Opuntia stricta* aos estresses abióticos. Contudo, novas pesquisas devem ser realizadas a fim de compreender melhor os efeitos do N:K e do calcário no crescimento e na tolerância ao estresse de plantas.

REFERÊNCIAS

- Ahanger, M. A., Tomar, N. S., Tittal, M., Argal, S., & Agarwal, R. M. (2017). Plant growth under water/salt stress: ROS production; antioxidants and significance of added potassium under such conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants : An International Journal of Functional Plant Biology*, 23(4), 731–744. <https://doi.org/10.1007/S12298-017-0462-7>
- Anie, D., & Ar No N, L. I. (1949). COPPER ENZYMES IN ISOLATED CHLOROPLASTS. POLYPHENOLOXIDASE IN BETA VULGARIS. *PLANT PHYSIOLOGY VOLUME*, 24(1).
- AOAC (2012) *Método Oficial de Análise da Associação de Químicos Analíticos. 19ª Edição, Washington DC, 121-130. - Referências - Publicação de Pesquisa Científica.* (n.d.). Retrieved December 10, 2023, from <https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1819676>
- Atieno, M., & Lesueur, D. (2018). Opportunities for improved legume inoculants: enhanced stress tolerance of rhizobia and benefits to agroecosystems. *Symbiosis 2018 77:3*, 77(3), 191–205. <https://doi.org/10.1007/S13199-018-0585-9>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- BORGES, V. E. et al. Fertirrigação nitrogenada de palma forrageira resistente à cochonilha do carmin. 2018.
- Boudjouan, F., Zeghib, W., Carneiro, J., Silva, R., Morais, J., Vasconcelos, V., & Lopes, G. (2022). Comparison Study on Wild and Cultivated *Opuntia* sp.: Chemical, Taxonomic, and Antioxidant Evaluations. *Agriculture 2022, Vol. 12, Page 1755*, 12(11), 1755. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE12111755>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cavalcante, P. R., & Lima, D. E. (n.d.). *UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE TECNOLOGIA CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL*.
- Chaves, L. H. G., & Lenur, E. O. (2014). Effect of nitrogen and phosphorus in the development of crambe culture. *American Society of Agricultural and Biological Engineers Annual International Meeting 2014, ASABE 2014*, 1, 1-. <https://doi.org/10.13031/AIM.20141883762>
- Clarete, E., Silva, D., Penido, P., Alvarenga, M., Gabriel, :, & Maciel, M. (2013). Avaliações físico-químicas de frutos de tomateiro em função de doses de potássio e nitrogênio. *Bioscience Journal*, 29(6), 1788–1795. <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/21896>
- da Silva, B., R, S. L., V, A. J., C, R. C., & R, P. E. (2012). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes espaçamentos e adubações química Revista Brasileira de Ciências*. 7, 866–875. <https://doi.org/10.5039/agraria.v7isa2134>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. https://doi.org/10.1021/AC60111A017/ASSET/AC60111A017.FP.PNG_V03
- Duncan, E. G., O’Sullivan, C. A., Roper, M. M., Biggs, J. S., & Peoples, M. B. (2018). Influence of co-application of nitrogen with phosphorus, potassium and sulphur on the apparent efficiency of nitrogen fertiliser use, grain yield and protein content of wheat: Review. *Field Crops Research*, 226, 56–65. <https://doi.org/10.1016/J.FCR.2018.07.010>
- Effect of nitrogen on starch and protein content in grain influence of nitrogen doses on grain starch and protein accumulation in diversified wheat genotypes - ProQuest*. (n.d.). Retrieved December 10, 2023, from

<https://www.proquest.com/openview/957b361378acaacf52888068d42e4b45/1?pq-origsite=gscholar&cbl=636374>

- Farinelli, R., Penariol, F. G., Fornasieri Filho, D., & Bordin, L. (2004). Características agronômicas de arroz de terras altas sob plantio direto e adubação nitrogenada e potássica. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*, 28(3), 447–454. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832004000300006>
- Fernando, L., Reyes, Villarreal, J., & Cisneros-Zevallos, L. (n.d.). *The Increase in Antioxidant Capacity after Wounding Depends on the Type of Fruit or Vegetable Tissue*.
- Figueredo, L. F. de, & <http://lattes.cnpq.br/9291558551384580>. (2020). *Desenvolvimento, produção e qualidade de frutos de melancia sob adubação nitrogenada e Ethephon*. <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/18455>
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). ON TYROSINE AND TRYPTOPHANE DETERMINATIONS IN PROTEINS. *Journal of Biological Chemistry*, 73(2), 627–650. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)84277-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84277-6)
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants 1,2. *Plant Physiology*, 59(2), 309. <https://doi.org/10.1104/PP.59.2.309>
- Havir, E. A., & McHale, N. A. (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 84(2), 450–455. <https://doi.org/10.1104/PP.84.2.450>
- HEATH, R. L., & PACKER, L. (2022). Reprint of: Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 726. <https://doi.org/10.1016/J.ABB.2022.109248>
- Ilyas, M., Nisar, M., Khan, N., Hazrat, A., Khan, A. H., Hayat, K., Fahad, S., Khan, A., & Ullah, A. (2021). Drought Tolerance Strategies in Plants: A Mechanistic Approach. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(3), 926–944. <https://doi.org/10.1007/S00344-020-10174-5/TABLES/2>

- Izuegbuna, O., Otunola, G., & Bradley, G. (2019a). Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of *Opuntia stricta* cladodes. *PLOS ONE*, *14*(1), e0209682. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0209682>
- Izuegbuna, O., Otunola, G., & Bradley, G. (2019b). Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of *Opuntia stricta* cladodes. *PloS One*, *14*(1). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0209682>
- Kathpalia, R., & Bhatla, S. C. (2018). Plant Mineral Nutrition. *Plant Physiology, Development and Metabolism*, 37–81. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2023-1_2/COVER
- Khattak, R. A., Irshad, M., Hussain, Z., Khattak, R. A., Fareed, I., Irshad, M., & Mahmood, & Q. (2015). Interaction of Phosphorus and Potassium on Maize (*Zea mays* L.) in Saline-Sodic Soil. *Article in The Journal of Agricultural Science*, *7*(3). <https://doi.org/10.5539/jas.v7n3p66>
- Kristoph Muniz Nunes Alves, H., & Maniçoba da Rosa Ferraz Jardim, A. (n.d.). *The application of agrometeorological techniques contributes to the agricultural resilience of forage cactus: A review*. <https://doi.org/10.26545/ajpr.2018.b00026x>
- Matthew, C. (2017). *Forage Plant Ecophysiology*. www.mdpi.com/journal/agriculture
- Michael Sousa Santana, F. DE. (2019). *UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA ADUBAÇÃO NITROGENADA E POTÁSSICA NO CULTIVO IRRIGADO DE PITAIA VERMELHA (*Hylocereus* sp.), SOB CONDIÇÕES TROPICAIS FORTALEZA*.
- Mostofa, M. G., Rahman, M. M., Ghosh, T. K., Kabir, A. H., Abdelrahman, M., Rahman Khan, M. A., Mochida, K., & Tran, L. S. P. (2022). Potassium in plant physiological adaptation to abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, *186*, 279–289. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2022.07.011>
- Nakano, Y. e Asada, K. (1981) *O peróxido de hidrogênio é eliminado pela peroxidase específica do ascorbato em cloroplastos de espinafre*. *Fisiologia Vegetal e Celular*, *22*, 867-880. - *Referências - Publicação de Pesquisa Científica*. (n.d.). Retrieved December 10, 2023, from <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1878534>

- Panaullah, G. M., Timsina, J., Saleque, M. A., Ishaque, M., Pathan, A. B. M. B. U., Connor, D. J., Saha, P. K., Quayyum, M. A., Humphreys, E., & Meisner, C. A. (2006). Nutrient Uptake and Apparent Balances for Rice-Wheat Sequences. III. Potassium. *Journal of Plant Nutrition*, 29(1), 173–187. <https://doi.org/10.1080/01904160500416554>
- Physiological tolerance to drought under high temperature in soybean cultivars / Australian Journal of Crop Science.* (n.d.). Retrieved December 7, 2023, from <https://search.informit.org/doi/abs/10.3316/INFORMIT.582938210629373>
- Restelatto, J. C. (2016). Fracionamento do nitrogênio na biomassa aveia branca sob adubação nitrogenada. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- Rezazad Bari, L., Ghanbari, A., Darvishzadeh, R., Giglou, M. T., & Baneh, H. D. (2021). Discernment of grape rootstocks base on their response to salt stress using selected characteristics in combination with chemometric tools. *Food Chemistry*, 365, 130408. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130408>
- Rodrigues, A. C., Bonifacio, A., Antunes, J. E. L., da Silveira, J. A. G., & Figueiredo, M. do V. B. (2013). Minimization of oxidative stress in cowpea nodules by the interrelationship between Bradyrhizobium sp. and plant growth-promoting bacteria. *Applied Soil Ecology*, 64, 245–251. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2012.12.018>
- Sachdev, S., Ansari, S. A., Ansari, M. I., Fujita, M., & Hasanuzzaman, M. (2021). Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. *Antioxidants* 2021, Vol. 10, Page 277, 10(2), 277. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10020277>
- Saldanha, D. D., Moraes, J. G. L., Silva, E. M. da, de Sousa, G. G., & Moraes, A. E. (2023). Cultivo de Palma Forrageira (*Opuntia stricta* Haw) sob Biofertilização nas Condições Climáticas Observadas na Região Jaguaribana (Região Semiárida do Estado do Ceará). *Revista Brasileira de Meteorologia*, 38, e38230023. <https://doi.org/10.1590/0102-77863810023>
- Scalisi, A., Morandi, B., Inglese, P., & Lo Bianco, R. (2016). Cladode growth dynamics in *Opuntia ficus-indica* under drought. *Environmental and Experimental Botany*, 122, 158–167. <https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2015.10.003>

- Schmidt, A., & Kunert, K. J. (1986). Lipid Peroxidation in Higher Plants: The Role of Glutathione Reductase. *Plant Physiology*, 82(3), 700–702. <https://doi.org/10.1104/PP.82.3.700>
- Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroglu, T., Abdul-Wajid, H. H., & Battaglia, M. L. (2021). Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. *Plants*, 10(2), 1–25. <https://doi.org/10.3390/PLANTS10020259>
- Silva, R. R; Sampaio, E. V. S. Ba. Palmas forrageiras Opuntia fícus-indica e Nopalea cochenillifera: sistemas de produção e usos| Opuntia fícus-indica and Nopalea cochenillifera cacti: production systems and uses. *Revista Geama*, p. 151-161, 2015.
- Shanahan, J. F., Edwards, I. B., Quick, J. S., & Fenwick, J. R. (1990). Membrane Thermostability and Heat Tolerance of Spring Wheat. *Crop Science*, 30(2), 247–251. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI1990.0011183X003000020001X>
- Spormann, S., Soares, C., & Fidalgo, F. (2019). Salicylic acid alleviates glyphosate-induced oxidative stress in *Hordeum vulgare* L. *Journal of Environmental Management*, 241, 226–234. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2019.04.035>
- SUCESSÃO DE CULTIVO DE FEIJÃO-ARROZ COM DOSES DE ADUBAÇÃO NITROGENADA APÓS ADUBAÇÃO VERDE, EM SEMEADURA DIRETA (1)*. (n.d.).
- Viana, E. M., & Kiehl, J. de C. (2010). Doses de nitrogênio e potássio no crescimento do trigo. *Bragantia*, 69(4), 975–982. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000400024>
- Xavier, M., & Megda, V. (2013). *Transformações do N derivado do fertilizante no solo e a eficiência de utilização pela cultura da cana-de-açúcar cultivada em solo coberto por palha*. <https://doi.org/10.11606/T.11.2013.TDE-23082013-163619>
- Zahoor, R., Zhao, W., Abid, M., Dong, H., & Zhou, Z. (2017). Title: Potassium application regulates nitrogen metabolism and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) functional leaf under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, 215, 30–38. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2017.05.001>
- Zhang, W., Almgren, A., Beckner, V., Bell, J., Blaschke, J., Chan, C., Day, M., Friesen, B., Gott, K., Graves, D., Katz, M. P., Myers, A., Nguyen, T., Nonaka, A., Rosso, M.,

Williams, S., & Zingale, M. (2019). AMReX: a framework for block-structured adaptive mesh refinement. *Journal of Open Source Software*, 4(37), 1370. <https://doi.org/10.21105/JOSS.01370>