

BRUNA SANTANA DA SILVA MENDES

**EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO
ESTRESSE SALINO EM *Ananas porteanus***

Recife – PE

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

BRUNA SANTANA DA SILVA MENDES

**EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO
ESTRESSE SALINO EM *Ananas porteanus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), na área de concentração em Agrobioquímica, linha de pesquisa em Fisiologia Vegetal e Biotecnologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Dra. Lilia Willadino

Co - Orientadora: Dra. Terezinha Rangel Câmara

Co – Orientador: Dr. Celso Amorim Câmara

Recife – PE

2009

BRUNA SANTANA DA SILVA MENDES

**EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO
ESTRESSE SALINO EM *Ananas porteanus***

Orientadora: _____

Dra. Lilia Gomes Willadino

Examinadores: _____

Dra. Tania Maria de Sarmiento da Silva

Examinadores: _____

Dra. Terezinha de Jesus Rangel Camara

Recife – PE

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO
ESTRESSE SALINO EM *Ananas porteanus***

1. Por: Bruna Santana da Silva Mendes

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de **Mestre em Química** e aprovada em __/__/____ pelo Programa de Pós-Graduação em Química, em sua forma final.

Prof. Dr. Celso Câmara
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Lilia Willadino - Orientadora
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Helio Cabral- Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. João Rufino de Freitas Filho– Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dra. Terezinha Rangel Camara– Suplente – Membro interno (Suplente)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

DEDICO

..Ao meu amor, José Luz Mendes de Lima

.....A minha mãe, Zilda Santana da Silva

.....Aos meus mestres

.....e

.....Aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

- Ao meu Salvador Jesus Cristo

- A meu esposo, José Luiz pela compreensão e ajuda em todos os momentos.

- A minha mãe pelo incentivo e apoio constante.

- A minha orientadora Lília Willadino pela paciência em meio as minhas dificuldades

- A meus co-orientadores pela disponibilidade e dedicação.

- As amigas Patrícia, Nise,. Fábian e Luciana pela companhia nos momentos de trabalho e descontração

- Aos colegas do laboratório. Cultura de Tecidos por estarem sempre dispostos a colaborar.

- Aos mestres do Programa de Pós-Graduação em Química, pela contribuição de conhecimento em minha formação de mestre.

- Aos Professores Elinaldo, professora Kátia por terem me cedido computadores em vários momentos.

- A UFPE - Universidade Federal de Pernambuco em especial ao Programa de graduação e Pós-graduação em Química, pela insigne formação acadêmica;

- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de recursos financeiros indispensáveis à realização deste trabalho de pesquisa.

**Dirige os meus passos nos teus caminhos, para
que as minhas pegadas não vacilem.**

Salmos 17:5

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Plantas de *Ananas porteanus* aos 90 dias de cultivo: (A) em solução nutritiva sem adição de NaCl e (B) com adição de 80 mM de NaCl22

Figura 2 – Valores percentuais referentes à integridade absoluta (PIA) e relativa (PIR) e ao dano (PD) da membrana na parte aérea de plantas de *Ananas porteanus* submetidas a 80mM de NaCl.....28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios de biomassa seca (BS), suculência, teores de cloreto, sódio e potássio e relação Na^+/K^+ na parte aérea de plantas de *Ananas porteanus* submetido a 80 mM de NaCl.....24

Tabela 2 – Valores médios dos teores de prolina (Pro), carboidratos (CHO), proteínas solúveis (Prot sol.), fenóis totais e da atividade da peroxidase na parte aérea de plantas de *Ananas porteanus* submetido a 80 mM de NaCl.....27

Tabela 3 – Valores médios dos teores de clorofila a (clor a), clorofila b (Clor b), relação clorofilas a e b (Clor a/b) e Clorofila total (Clor total) na parte aérea de plantas de *Ananas porteanus* submetido a 0 e 80 mM de NaCl.....32

RESUMO

As espécies ornamentais vem destacando-se no agronegócio brasileiro e entre elas enquadra-se *Ananas porteanus*, o abacaxi ornamental. O Nordeste brasileiro, região com área propensa à salinização, é um grande produtor de plantas ornamentais tropicais e estudos sobre a tolerância dessas plantas em condições salinas são importantes para o aproveitamento de áreas já salinizadas ou em vias de salinização. Plantas de *A. porteanus* foram cultivadas durante 90 dias em areia lavada e irrigadas com solução nutritiva com 0 ou 80 mM de NaCl, constituindo dois tratamentos. Foram analisadas variáveis de crescimento, danos na membrana celular, teores de Na⁺, Cl⁻ e K⁺, proteínas solúveis totais, carboidratos solúveis totais, prolina, fenóis totais e atividade da peroxidase. Observou-se que o tratamento salino reduziu a produção de biomassa. Essa menor produção de biomassa esteve associada ao aumento nos teores de Cl⁻ (230%) e Na⁺ (39%) e à redução, da ordem de 38%, no teor de K⁺ na parte aérea. Em resposta ao aumento dos teores de Na⁺ e Cl⁻, observou-se o incremento de solutos como as proteínas solúveis e, sobretudo da prolina, cujo teor foi seis vezes superior ao controle, favorecendo o ajuste osmótico. A salinidade duplicou a atividade da peroxidase que, associada ao incremento de prolina contribuiu para a manutenção da integridade da membrana. Os teores de clorofila aumentaram em 15% para a clorofila “a” e em 10,5% para a clorofila “b” indicando uma proteção ao aparato fotossintético o que contribuiu para minimizar os danos provocados pelo sal. Os compostos fenólicos e os carboidratos solúveis totais apresentaram uma redução em seus teores e, portanto, aparentemente não contribuíram como estratégias do *A. porteanus* para proteger a planta contra os danos provocados pelo estresse salino.

Palavras-chave: salinidade, *porteanus*, estresse.

ABSTRACT

The ornamental species are standing out in the Brazilian agronegócio and among them *Pineapple porteanus*, the ornamental pineapple is framed. The Brazilian Northeast, area with prone area to the saline stress, is a big producing of tropical ornamental plants and studies on the tolerance of those plants in conditions salt beds are important for the use of areas already salinities or in salinity roads. Plants of *P. porteanus* were cultivated for 90 days in washed sand and irrigated with nutritious solution with 0 or 80 mM of NaCl, constituting two treatments. Growth variables were analyzed, damages in the cellular membrane, tenors of Na⁺, Cl⁻ and K⁺, total soluble proteins, total soluble carbohydrates, prolina, phenols and activity of the peroxidase. It was observed that the saline treatment reduced the biomass production. That smaller biomass production was associated to the increase in the tenors of Cl⁻ (230%) and Na⁺ (39%) and to the reduction, of the order of 38%, in the tenor of K⁺ in the aerial part. In response to the increase of the tenors of Na⁺ and Cl⁻, the solutos increment was observed as the soluble proteins and, above all of the prolina, whose tenor was six times superior to the control, favoring the osmotic adjustment. The salinity duplicated the activity of the peroxidase that, associated to the prolina increment it contributed to the maintenance of the integrity of the membrane, besides, the chlorophyll content also increased, the chlorophyll "a" in 15% and "b" in 10,5%, proving that the apparatus fotossintético contributed to minimize the damages provoked by the salt. The phenols and the total soluble carboidratos presented a reduction in their tenors and, therefore, seemingly they didn't contribute as strategies of the *P. porteanus* to protect the plant against the damages provoked by the saline stress.

Word-key: salinity, *porteanus*, stress

SUMÁRIO

RESUMO.....	IV
ABSTRACT.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE TABELAS.....	VII
RESUMO.....	VIII
1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Origem da espécie.....	13
2.2. Aspectos gerais da salinidade.....	13
2.2.1 Definição e causas.....	13
2.2.2 Efeitos da salinidade sobre as plantas.....	14
2.2.2.1 Efeitos sobre o crescimento.....	15
2.2.2.2 Efeito sobre o metabolismo.....	16
2.2.2.3 Efeitos oxidativos.....	18
2.3. Absorção, transporte e extrusão de sódio e cloreto pela planta.....	19
2.4 Potássio	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

1. INTRODUÇÃO GERAL

As plantas ornamentais são caracterizadas pela presença de flores ou inflorescências exuberantes, forma ou coloração das folhas e pelo aspecto geral da planta. Por isso constitui um grupo de plantas de efeito paisagístico que pode ser usado em jardins e parques, ou comercializado como folhagens e flores de corte (BOMFIM, 2006). As espécies brasileiras são bastante apreciadas em todo o mundo, tanto por suas cores e formas, como por sua arquitetura. Nesse contexto, as bromélias destacam-se como plantas ornamentais de rara beleza, que impressionam tanto por suas formas exóticas como pela gama de cores e variedades de suas flores. As espécies de abacaxizeiros ornamentais são em geral rústicas e exóticas e produzem inflorescências apreciadas por consumidores do mundo inteiro (BOMFIM, 2006). A espécie *Ananas porteanus*, Hort Veitch ex C. Koch, particularmente, apresenta perspectiva tanto no paisagismo como na produção de flor de corte (BORGES, 2003).

A região Nordeste brasileira vem se destacando cada vez mais no cultivo e comércio das flores tropicais. Nessa Região, entretanto, a ocorrência de áreas salinas vem aumentando gradativamente ao longo do tempo (FAO, 2008). O estresse salino pode provocar um conjunto de alterações deletérias observado em plantas cultivadas em condições de salinidade (XIONG; ZHU, 2001). Essas alterações ocorrem devido ao efeito tóxico provocado por íons e à diminuição da disponibilidade de água para as culturas (HASEGAWA et al., 2000). As respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas da planta variam intensamente com o genótipo e seu estágio de desenvolvimento, além da intensidade e duração do estresse, ao qual a planta é submetida (WILLADINO; CAMARA, 2004).

Os mecanismos fisiológicos das plantas que favorecem a sobrevivência em ambientes salinos incluem a regulação da concentração e compartimentalização dos íons, produção de osmoprotetores, ativação de enzimas antioxidativas, adaptação estomática, e outras formas de controle genético (BRILHANTE, 2006).

O íon Na^+ geralmente move-se passivamente para dentro das células (TESTER; DAVENPORT, 2003). Com o influxo de Na^+ , o potencial de membrana dissipa-se, facilitando a entrada de Cl^- , reduzindo o gradiente químico (HASEGAWA et al., 2000). O Na^+ também pode entrar nas células por intermédio de proteínas de membrana

transportadoras do K^+ (HASEGAWA et al., 2000). As elevadas concentrações de Na^+ e de Cl^- provocam uma série de alterações metabólicas, inclusive na fotossíntese resultando em danos ao aparato fotossintético. Um dos mecanismos de tolerância é a compartimentalização desses íons nos vacúolos. Para que ocorra o equilíbrio osmótico celular é necessária a síntese de solutos orgânicos compatíveis com o metabolismo no citoplasma (RONTEIN et al., 2002).

Entre os solutos orgânicos destacam-se a prolina, carboidratos, proteínas, ácidos orgânicos (VOLKMAR; YEO, 1998; ASHRAF; HARRIS, 2004). A prolina além de osmorregulador atua também como osmoprotetor auxiliando o equilíbrio redox das células estressadas (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008). As proteínas solúveis tendem a apresentar sua síntese prejudicada em plantas submetidas ao estresse salino. Existem, entretanto, proteínas que são acumuladas e constituem um estoque de nitrogênio que pode ser utilizado pelo vegetal após o término da condição adversa gerada pelo sal (ASHRAF; HARRIS, 2004).

O estresse salino provoca o estresse oxidativo, o qual pode resultar em severos danos para os vegetais. O estresse oxidativo é consequência de um desequilíbrio na relação entre compostos antioxidantes e compostos pró-oxidantes, levando ao aumento do nível das espécies reativas de oxigênio (ROS). As plantas possuem sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos (PANG; WANG, 2008). Com relação às enzimas destaca-se a maior atividade da peroxidase como resposta ao estresse (LIMA et al., 1999). Por sua vez, no sistema não-enzimático atuam o ácido ascórbico (vitamina C), a glutatona, o tocoferol e os compostos fenólicos. Estes últimos desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição (CHUN, 2005; SOARES, 2002).

O presente trabalho visa avaliar a tolerância do *A. porteanus* ao estresse salino.

2. OBJETIVO

Avaliar no abacaxizeiro ornamental *Ananas porteanus* a tolerância ao estresse salino utilizando-se variáveis fisiológicas e bioquímicas

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Origem e características da espécie *Ananas porteanus*

O abacaxizeiro ornamental, *Ananas porteanus* Hort Veitch ex C. Koch é uma espécie rústica e produz flores de grande beleza. Essa espécie pertence à família Bromeliaceae, a qual possui cerca de 3.010 espécies, distribuídas em 56 gêneros, cuja origem é exclusiva do continente americano (RODRIGUES et al., 2007).

As Bromeliaceae, no Brasil, estão dispersas da região Leste à bacia amazônica. São preferencialmente epífitas que apresentam folhas geralmente espinhosas, flores epígenas e frutos do tipo baga coriácea, contendo sementes nuas e adaptadas à dispersão por pássaros ou mamíferos. Frequentemente apresentam fusão de algumas partes da flor, como, por exemplo, fusão entre carpelos, originando a formação de frutos indeiscentes e fusão em diferentes níveis de sépalas, pétalas e filamentos. Esta tendência pode ser observada, particularmente, nas espécies do gênero *Ananas*, na formação de frutos sincárpicos devido à fusão dos ovários (RIOS; KHAN, 1998).

Uma característica importante da espécie *A. porteanus* é sua grande economia de água (BARTHOLOMEW et al., 2002), o que favorece à tolerância ao estresse salino. A eficiente economia de água deve-se a (1) estrutura de roseta, (2) habilidade de absorver água e nutrientes através de suas folhas e raízes aéreas, (3) habilidade de armazenar água em tecidos especializados das folhas, (4) presença de tricomas multicelulares que funcionam como refletores de radiação, (5) presença de estômatos em reentrâncias limitando a evapotranspiração e, (6) realizam a fotossíntese via CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas) com a abertura dos estômatos à noite (BARTHOLOMEW et al., 2002).

2.2 Aspectos gerais da salinidade

2.2.1 Definição e Causas

Os ambientes salinos do planeta caracterizam-se por uma elevada concentração de sais solúveis (WILLADINO; CAMARA, 2004). Esses ambientes podem ser

aquáticos, como os oceanos e lagos, ou terrestres, tanto em áreas úmidas e áridas costeiras ou continentais e podem ser de origem natural ou antropogênica (LARCHER, 1995). O termo salinidade refere-se à existência de sais solúveis no solo que podem prejudicar significativamente o rendimento das plantas cultivadas. Para a maioria das culturas esse nível refere-se a condutividade elétrica igual ou superior a $4\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ (correspondendo a aproximadamente 40 mM NaCl ou 0,27% sal) (RIBEIRO et al., 2007; MUNNS; TESTER, 2008). Os problemas decorrentes da salinidade surgem quando os sais acumulam-se na zona radicular, em concentrações elevadas, suficientes para restringir a absorção de água pela planta. Isso pode provocar estado de deficiência hídrica, e causar sintomas muito semelhantes aos provocados pela estiagem (AYERS; WESTCOT, 1999). Além do déficit hídrico o acúmulo de sais no tecido vegetal é outro fator que também produz efeitos deletérios ao metabolismo vegetal (MUNNS; TESTER, 2008).

A salinidade é mais frequente em regiões tropicais de clima quente e seco, as quais são caracterizadas por elevadas taxas de evaporação e baixos índices pluviométricos (SOUZA et al., 2000). O semi-árido brasileiro possui 1.500.000 km² caracterizados como insuficientes em água, constituindo o chamado “polígono das secas” (DANTAS et al., 2002). Nessa região, a irrigação assume papel fundamental no progresso da agricultura. No entanto, a prática da irrigação quando inadequadamente conduzida pode promover o aumento das concentrações de sais na superfície do solo (DANTAS et al., 2002). Estima-se que no mundo 25% dos solos irrigados estão afetados por diferentes níveis de salinidade (RHOADES et al., 1992).

2.2.2 Efeitos da salinidade sobre as plantas

As plantas estão submetidas a uma grande variedade de estresses ambientais que alteram seu metabolismo e desenvolvimento, e induzem uma grande variedade de respostas nos níveis molecular e celular (FLOWERS et al., 2000; ZHU, 2002).

O efeito do estresse salino sobre as plantas é consequência de dois distintos componentes: (1) o componente osmótico – resultante da elevada concentração de solutos na solução do solo, que provoca um déficit hídrico pela redução do potencial osmótico; (2) o componente iônico – decorrente dos elevados teores de Na^+ e Cl^- , e da alterada relação K^+/Na^+ .

2.2.2.1 Efeitos sobre o crescimento

O modelo bifásico de redução do crescimento, proposto por Munns e Termaat, identifica a diminuição do potencial osmótico como o primeiro fator de redução do crescimento e, o efeito específico dos íons como o segundo (MUNNS, 1993). Na primeira fase, o crescimento da planta é afetado pelos sais que estão no exterior da mesma (no solo) reduzindo o potencial hídrico, resultando na diminuição da disponibilidade de água para a planta. A segunda fase caracteriza-se pela redução do crescimento em função do acúmulo de sais no interior da planta. A causa desta injúria é função da elevada quantidade de sal absorvida, a qual ultrapassa a capacidade da planta de compartimentalizá-lo no vacúolo. Conseqüentemente, a concentração de sais aumenta no citoplasma e inibe a atividade de enzimas de várias rotas metabólicas (WILLADINO et al., 1996; RICCHARIA et al., 1997). Alternativamente à compartimentalização no vacúolo, os sais podem ser transportados para a parede celular, o que, por sua vez, pode resultar na desidratação da célula (MUHLING; LAUCHLI, 2002).

O estresse salino causa um rápido e potencialmente severo decréscimo da taxa de crescimento foliar. A queda na velocidade de alongação foliar resulta de uma redução no número de células em processo de alongação, na taxa de alongação dessas células, ou em ambos. Do ponto de vista biofísico, uma célula da folha de uma planta tratada com NaCl pode apresentar uma reduzida taxa de expansão devido a uma baixa taxa de absorção de água e osmólitos; ao enrijecimento da parede; ou à queda no turgor celular (COSGROVE, 1993).

Os efeitos do estresse estão baseados em quatro mecanismos: (1^o) a absorção de água dirigida osmoticamente, necessária para o crescimento celular, pode ser inibida pelo baixo potencial hídrico no espaço radicular (estresse osmótico); (2^o) os solutos normalmente usados para gerar pressão osmótica podem não estar disponíveis em quantidades suficientes devido à competição do Na⁺ e do Cl⁻ por sítios de absorção (desequilíbrio nutricional); (3^o) Na⁺ e Cl⁻ podem estar disponíveis em quantidade suficiente para serem usados como osmólitos, mas as células podem não estar habilitadas a lidar com esses íons adequadamente e sofrem efeitos tóxicos (toxidez iônica); (4^o) as células podem produzir reações específicas a elevadas concentrações de NaCl, como alteração na taxa de síntese da parede celular (resposta regulatória) (FRICKE; PETERS, 2002).

Uma das estratégias da planta para sobreviver em ambientes salinos é a suculência. A suculência possibilita a regulação da concentração de sais nos tecidos foliares, evitando que se estabeleçam altas concentrações dos mesmos. A suculência envolve adaptações anatômicas e fisiológicas em plantas submetidas a estresse (TRINDADE, 2006).

2.2.2.2 Efeitos sobre equilíbrio osmótico

As plantas utilizam diferentes ajustes bioquímicos para evitar os danos provocados pelo sal. O ajustamento osmótico, ou seja, a redução do potencial osmótico celular pelo acúmulo de solutos orgânicos compatíveis com o metabolismo celular tem sido considerado um importante mecanismo de tolerância ao estresse salino e hídrico em plantas (AZEVEDO NETO et al., 2004). As funções osmóticas desses compostos são devido, exclusivamente, às suas estruturas químicas (PARIDA; DAS, 2005). Esses solutos orgânicos têm baixo peso molecular e alojam-se no citosol, lúmen, matriz ou estroma de organelas (RHODES; SAMARAS, 1994 citado por HASEGAWA et al., 2000). Tal ajuste evita a perda de turgor ao gerar um potencial hídrico mais baixo na planta do que o presente no solo, permitindo desta forma a absorção de água da solução do solo (BRESSAN et al., 1990). Dois processos intracelulares contribuem para o decréscimo do potencial hídrico: a acumulação de íons no vacúolo e a síntese de solutos compatíveis no citosol (TAIZ; ZEIGER, 2004). Os solutos compatíveis acumulados incluem açúcares, proteínas, ácidos orgânicos, aminoácidos, e íons como o potássio (VOLKMAR; YEO, 1998; ASHRAF; HARRIS, 2004).

A elevação dos teores de carboidratos solúveis totais nas folhas favorece a manutenção do nível de hidratação, induzindo um ajustamento osmótico na planta (LACERDA et al., 2001; KERBAUY, 2004). Dentre os carboidratos solúveis destacam-se a frutose, sacarose, trealose, rafinose. Apesar de estudos relacionarem o papel dos carboidratos na osmorregulação das plantas submetidas à salinidade (CHEESEMAN, 1988), ainda é muito restrito o conhecimento sobre as alterações no metabolismo do carboidrato em resposta ao aumento da salinidade ou da sua importância como osmólito (ROLLETSCHEK; HARTZENDORF, 2000).

A alteração na concentração de prolina nas plantas é relacionada a vários estresses abióticos, principalmente aos estresses hídrico e salino. A *L*-prolina é um iminoácido por possuir uma porção imino (C=NH), um grupo funcional carboxil e um

grupo imino secundário, e é considerada como um importante osmoprotetor em muitas plantas (MOLINARI, 2006). O acúmulo de prolina livre em condições de estresse osmótico é estudado há mais de 45 anos (KAVI KISHOR et al., 2005). Sabe-se que o nível de prolina varia de espécie para espécie e pode apresentar valores 100 vezes maior nas plantas submetidas a estresse quando comparado às plantas controle (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008). Durante o estresse osmótico a prolina atua com um osmorregulador, além de ser fonte de carbono e nitrogênio (HARE; CRESS, 1997). Além disso, tem sido proposto, também, que a prolina pode atuar na estabilização das estruturas das proteínas, favorecer a estabilização do pH citossólico e auxiliar no equilíbrio redox das células estressadas (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008). Alguns autores demonstraram que a prolina pode atuar como sequestrador das espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas durante estresse (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; BOHNERT; SHEN, 1999). A acumulação de prolina também pode influenciar na sinalização de respostas adaptativas aos estresses osmóticos (MAGGIO et al., 2002).

As proteínas são encontradas em todas as partes das células, uma vez que são fundamentais sob todos os aspectos da estrutura e função celulares. Alguns autores relatam que, sob estresse salino, normalmente há redução no conteúdo de proteínas das plantas estressadas, pois a síntese protéica pode ser reduzida, assim como pode ocorrer um aumento da proteólise (PARIDA; DAS, 2005, SILVEIRA et al., 2003). A síntese protéica é prejudicada devido à exigência de íons potássio na ligação do tRNA aos ribossomos, e em condições de elevada salinidade é freqüente a redução da concentração desse cátion na planta (BLAHA et al., 2000). Porém, é importante salientar que também pode ocorrer um aumento da síntese de uma ampla variedade de proteínas em resposta ao estresse salino, as quais atuam, principalmente, na estabilização das membranas celulares e na sinalização de respostas ao estresse salino (TESTER; DAVENPORT, 2003).

Os lipídeos constituem outro grupo de compostos orgânicos envolvidos na tolerância ao estresse. Os fosfolipídeos, durante o período de estresse, quando estabilizados por açúcares, sobretudo a trealose, garantem a estabilidade das membranas celulares (PARIDA; DAS, 2005). Os pigmentos fotossintéticos clorofilas e carotenóides são lipídeos fundamentais para a fotossíntese. As clorofilas são pigmentos verdes, comuns em todas as células fotossintéticas, existem dois tipos “a” e “b” que são muito similares e diferem apenas nos substituintes de carbono C-3 (Streit et al., 2005). A presença de clorofila é um dos fatores ligados à eficiência fotossintética das plantas e ao

crescimento e adaptabilidades a diversos ambientes (ENGEL; POGGIANI, 1991, CARVALHO, 1996).

2.2.2.3 Efeitos oxidativos

O estresse salino acarreta danos oxidativos às células vegetais. A sinalização para o mecanismo de desintoxicação das plantas, provavelmente, não ocorre devido às mudanças iônicas ou osmóticas, mas ao aumento dessas ROS ou a própria desnaturação das proteínas (ZHU, 2002).

As plantas possuem mecanismos para proteger a célula e as estruturas subcelulares dos efeitos das ROS utilizando sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos, que são encontrados em diferentes organelas como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (PANG; WANG, 2008). Entre os sistemas antioxidantes não-enzimáticos, atuam a glutatona, o ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos. O efeito do estresse salino também pode provocar estímulo ou inibição de enzimas envolvidas nos processos metabólicos, como as peroxidases, superóxido dismutase, catalase entre outras (LIMA et al., 1999).

Nas plantas, os compostos fenólicos enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados dos ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (NACZK, 2004). Os fenóis são compostos reconhecidos como potentes antioxidantes, que podem agir como redutores de oxigênio singlete, atuando nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelação de metais (SATUÉ-GARCIA et al., 1997). Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (BRAVO, 1998). Estão presentes nos vegetais na forma livre, ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998). A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Essas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na de propagação do processo oxidativo (CHUN, 2005; HASLAM, 1996; SOARES, 2002). O excesso de fenóis, em contra partida, pode atuar de forma negativa no desenvolvimento das plantas pela oxidação de compostos celulares.

As peroxidases estão presentes em uma vasta gama de isoformas em diferentes tecidos das células e compartimentos celulares (HARBORNE, 1997). De uma maneira

geral o estresse salino promove o aumento da atividade de várias enzimas do sistema oxidativo, entre elas a peroxidase. A peroxidase é uma das enzimas essenciais para a sobrevivência da planta ao estresse oxidativo, sendo responsável pelo sequestro do peróxido de hidrogênio (JENNIFER, 2004). O ineficiente sequestro de peróxido de hidrogênio resulta na formação de radicais de hidroxila, extremamente reativos, que produzem danos em um grande número de biomoléculas (FOREMAN et al., 2003).

2.3 Absorção, transporte e extrusão de sódio, e cloreto pela planta

Como não existem transportadores específicos de Na^+ , esse cátion é absorvido por competição através de carregadores de K^+ e Ca^+ , que se localizam na membrana celular (MASSER et al., 2002). A similaridade entre o raio iônico hidratado do sódio e do potássio torna difícil a discriminação entre esses cátions pelas proteínas transportadoras.

O Na^+ pode também ser absorvido por meio de canais de cátions de baixa afinidade, os chamados canais não seletivos. Existem já descritas seis famílias de genes relacionadas ao transporte de K^+ e, dentre essas, quatro famílias são fortes candidatas a transportadores de Na^+ : transportadores HKT, transportadores KUP/HAK/KT e os canais CNGC e LCT1 (MASSER et al., 2000). Uma vez absorvido pela célula o processo de extrusão de Na^+ exige energia metabólica. A extrusão de Na^+ do citosol, para o vacúolo ou para o apoplasto, ocorre através do antiporte Na^+/H^+ . O antiporte é um transporte ativo secundário que utiliza o gradiente eletroquímico estabelecido por H^+ -ATPase ou H^+ -PP_iase de membrana (transporte ativo primário) (BLUMWALD, 2000). Uma H^+ -ATPase é a principal responsável pela ΔpH e pelo gradiente de potencial de membrana encontrados na membrana plasmática, enquanto que uma H^+ -PP_iase ou uma H^+ -ATPase vacuolar geram o gradiente através do tonoplasto. A atividade dessas bombas é necessária para o antiporte, Na^+/H^+ , que conduz o H^+ em uma direção e o Na^+ na direção oposta, acumulando esse cátion no vacúolo ou excluindo o mesmo da célula. (BLUMWALD, 2000).

O movimento do cloreto através das membranas celulares requer o transporte através de proteínas. O mecanismo pelo qual o cloreto passa através de uma membrana é determinado por critérios termodinâmicos. A principal força motriz para o movimento é o potencial elétrico e o gradiente de concentração através da membrana. O movimento é definido como passivo quando o cloreto (Cl^-) se move a favor de seu gradiente

eletroquímico. Sob essas condições o transporte pode ser mediado tanto por canais como por carregadores de membrana. Esse mecanismo é conhecido como difusão facilitada. O transporte ativo ocorre quando o Cl^- se move contra o gradiente eletroquímico. Esse transporte exige energia metabólica proveniente da hidrólise de ATP (ATPase) que está associado ao co-transporte Cl^-/H^+ (WHITE; BROADLEY, 2001). Sob condições salinas a absorção do Cl^- ocorre de forma passiva. A resistência à toxidez do cloreto esta relacionada à capacidade de evitar seu transporte para a parte aérea e/ou de acumular esse ânion nos vacúolos (MAAS, 1993).

As folhas são mais vulneráveis ao Na^+ e Cl^- do que as raízes porque acumulam maiores concentrações desses íons, uma vez que ambos são transportados pela corrente transpiratória no xilema e se acumulam nas folhas quando a água é transpirada (MAAS, 1993). As raízes tendem a manter convenientemente constantes os níveis de Na^+ e Cl^- ao longo do tempo de exposição ao estresse, por meio da exportação desses íons para o solo ou parte aérea. Por outro lado, há pouca evidência de recirculação do Na^+ da parte aérea para as raízes, sugerindo que o transporte é prioritariamente unidirecional, o que resulta em progressivo acúmulo desse íon à medida que as folhas envelhecem (TESTER; DAVENPORT, 2003).

O inadequado suprimento de um nutriente essencial, seja por deficiência ou excesso, além de modificações no metabolismo celular, crescimento, desenvolvimento e produtividade, pode se manifestar externamente por meio de sintomas visuais de deficiência ou toxicidade (CAMBRAIA, 2005).

2.4 Potássio

O potássio é um macronutriente essencial importante para vários aspectos da vida da planta. Em contraste com outros nutrientes minerais, a concentração de potássio em células vivas é muito alta, e em plantas, particularmente, pode alcançar até 8% do peso seco (EVANS; SORGER, 1966). A alta concentração deste cátion permite à célula manter a osmolaridade celular e compensar as cargas elétricas negativas associadas a moléculas orgânicas. Como está em maior concentração na célula, o K^+ é importante para a expansão celular que é dependente da pressão de turgor. Em nível bioquímico o potássio é essencial para a atividade de várias enzimas citosólicas (GRABOV, 2007).

A salinidade, sobretudo quando consideradas elevadas concentrações de Na^+ no solo, resulta em desequilíbrio nutricional entre os quais se destaca a redução de

absorção de potássio em função da competição do Na^+ pelo sítio de absorção do K^+ na membrana plasmática (MUNNS, 1993). Os efeitos de toxicidade iônica ocorrem, quando as concentrações de íons prejudiciais, particularmente Na^+ ou Cl^- se acumulam nas células. Uma alta relação Na^+/K^+ e alta concentração de sais totais inativam as enzimas e inibem a síntese protéica (TAIZ; ZEIGER, 2004).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v.166, p. 3-16, 2004.

AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba, 1999, 153p.

BLAHA, G.; STELZL, U.; SPAHN, C. M. T.; AGRAWAL, R. K.; FRANK, J.; NIERHAUS, K. H. Preparation of functional ribosomal complexes and effect of buffer conditions on tRNA positions observed by cryoelectron microscopy. **Methods Enzymolog.**, v. 317, p. 292-309, 2000.

AZEVEDO NETO, A.D.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; LACERDA, C.F.; SILVA, J.V.; COSTA, P. H. A.; GOMES-FILHO, E. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 31-38, 2004.

BARTHOLOMEW, R.E. PAULL; K.G. ROHRBACH. **The pineapple: botany, production, and uses**. New York: CAB Publishing, 2002. 12p.

BOHNERT, H.J.; SHEN, B. Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae*, v. 237, p. 78-260, 1999.

BOMFIM, V.G. **Efeitos de lâminas e freqüências de irrigação e de tipos e volumes de substrato na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental**. 2006. 167f. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2006.

BORGES, N. S. S.; CORREIA, D.; ROSSETTI, A. G. Influência do meio bifásico na multiplicação de gemas e no alongamento de brotos in vitro de *Ananas lucidus* Miller. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2003.

BLUMWALD, E. Sodium transport and salt tolerance in plant cells. **Current Opinion of Cell Biology**, v. 76, p. 112–12, 2000.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, New York, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BRESSAN, W. Application of vesicular - arbuscular fungi to tissue - cultured plants. In: Fall SEminar, Department of Soil Microbiology - Univ. Florida, Gainesville, Fl - USA. **Fall Seminar**, 1990.

BRILHANTE, J.C.A. **Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no potencial osmótico de folhas de *Atriplex Nummularia* submetidas ao NaCl, seca e PEG**, 2006. 194 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Fitotecnia) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: NOGUEIRA, R. J. M. et al. (Eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, p. 97, 2005.

CHEESEMAN, J. M. Mechanisms of Salinity Tolerance in Plants. **Plant Physiology**. v. 87, n. 3, p. 547-550, 1988.

CHUN, S.-S.; VATEM, D. A.; LIN, Y.-T.; SHETTY, K. **Process Biochemistry**, v. 40, 2005, p.809.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisas em Florestas. Colombo: EMBRAPA - CNPF, Brasília: EMBRAPA – SPI, p. 280-287, 1994.

COSGROVE, D.J. Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake and hydraulic conductance. **International Journal of Plant Science**, v. 154, p. 10-21, 1993.

CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v. 854, p. 435-442, 1998.

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

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, n.1, p. 39-45, 1991.

FAO: **Extent and Causes of Salt-affected Soils in Participating Countries**. FAO - Land and Plant nutrition management service. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/topic2.htm>>. Acesso em Mar. 2008.

FLOWERS, T. J.; KOYAMA, M. L.; FLOWERS, S. A.; SUDHAKAR, C.; SINGH, K. P.; YEO, A.R. QTL. The place in engineering tolerance of rice to salinity. **Journal of Experimental Botany**, Oxford v. 51, p. 99-106, 2000.

FOREMAN, J; DEMIDCHIK, V; BOTHWELL, JHF; MYLONA, P; MIEDEMA, H; TORRES, MA, et al. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. **Nature**; v. 6, p. 422-442, 2003.

FRICKE, W.; PETERS, W.S. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. **Plant Physiology**, v. 129, p. 374-388, 2002.

GOMES, E. W. F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L. S. S.; CAMARA, T. R. Variabilidade genética de genótipos de bananeira (*Musa spp*) submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**. Campina Grande, v. 9, p.31-36, 2005.

EVANS, H.J; SORGER, G.J. Role of mineral elements with emphasis on the univalent cations. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 17, p. 47-76, 1966.

GRABOV, A. Plant KT/KUP/HAK Potassium Transporters: Single Family – Multiple Functions, **Annals of Botany**, p. 1-7, 2007.

HARE, P.D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 21, n.1, p. 79-102, 1997.

HASLAM, E.; **Natural polyphenols (Vegetable Tannins) as drugs: possible modes of action.** **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 2, p. 205-215, 1996.

HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A.; ZHU, J.K.; BOHNERT, H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, p. 463-499, 2000.

JENNIFER, M. MACLI; JEAN, T. GREENBERG. Free Radicals and Oxidative Stress. In: LARRY NOODEN (ED.) **Plant Cell Death Processes**, Elsevier, Inc. p. 203-214, 2004.

KAVI KISHOR, P. B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N. ; SRI LAXMI, P; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; SREENATH RAO; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 424, n. 3, p. 738-788, 2005.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 452p.

LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; RUIZ, H. A. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes, under NaCl stress. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Lavras**, v. 13, n. 3, p. 270-284, 2001.

LAUNCHLI, A.; EPSTEIN, E. Plant responses to saline and sodic conditions. In: Tanji, K.K. (ed), **Agricultural Salinity Assessment and Management.** **American Society of Civil Engineers.** p.113-137, 1990.

LARCHER, W. Physiological plant ecology: Ecophysiology and stress physiology of functional groups. **Springer-Verlag**. Berlin. 1995, 506 p.

LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G. B.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, 1999.

MAAS, E.V. Salinity and citriculture. **Tree Physiology**, Victoria, v. 12, p.195-216, 1993.

MAGGIO, A.; MIYAZACKY, S.; VERONESE, P.; FUJITA, T.; IBEAS, J. I.; DAMSZ, B.; NARASIMHAN, M. L.; HASEGAWA, P.; JOLY, R. J.; BRESSANDES, R.A. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction. **The Plant Journal**, v. 31, n. 6, p. 699-712, 2002.

MASSER, P; GIERTH, M.; SCHROEDER, JI. Molecular mechanisms of potassium and sodium uptake in plants. **Plant and Soil**, v. 247, p. 43-54, 2002.

MOLINARI, H.B.C. **Expressão estresse-induzida do gene p5cs plantas transgênicas em de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico**. 2006. 109 f. Tese (Doutorado em ciências) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MUHLING, K.H.; LAUCHLI, A. Effect of salt stress on growth and compartmentation in leaves of two plants species differing in salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 159, p. 137-146, 2002.

MUNNS, R. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. **Plant Cell Environment**, Oxford v. 16, n. 1, p. 15-24, 1993.

MUNNS, R.; TESTER M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography. A**. v. 1054, p. 95-111, 2004.

PANG, C. A.; WANG, B. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. **Progress in Botany**, v. 69, p. 231-246, 2008.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, p. 324-349, 2005.

RIBEIRO, J. S.; LIMA, A. B.; CUNHA, P. C.; WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Estresse Abiótico em Regiões Semi-Áridas: Respostas Metabólicas das Plantas. In: MOURA, A. N.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. (orgs.) Biodiversidade, potencial econômico e processos eco-fisiológicos em ecossistemas nordestinos, **Recife: Comunigraf.**, 2007, 361p.

RICCHARIA, A; SHAH K; DUBEY RS, Nitrate reductase from rice seedlings: Partial purification, characterization and the effects of in-situ and in-vitro NaCl salinity. **Journal of Plant Physiology**, v. 151, p. 316-322, 1997.

RIOS, R.; KHAN, B. List of ethnobotanical use of Bromeliaceae. **Journal of the Bromeliad Society**, v. 48, p. 75-87, 1998.

RHOADES, J.P.; KANDIAH, A.; MASHALI, A.M. The use of saline waters for crop production. Roma: FAO, 1992. 133p. (FAO Irrigation and Drainage Paper, 48).

RODRIGUES, I.M.C. et al. Ocorrência de plantas daninhas no cultivo de bromélias. Planta daninha, Viçosa, Dec. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php>>. v. 25, n. 4, 2007.

ROLLETSCHEK, H.; HARTZENDORF, TH. Effects of salinity and convective rhizome ventilation on aminoacid and carbohydrate patterns of phragmites australis populations in the Neusiedler see region of Austria and Hungary. **New Phytologist.**, v. 146, p. 95-105, 2000.

RONTEIN, D.; BASSET, G.; HANSON, A. D. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. **Metabolic Engineering**, v. 4, p. 49-56, 2002.

SATUÉ-GARCIA, M.T.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E.N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 3362-3367, 1997.

SILVEIRA, J.A.G.; VIÉGAS, R.A.; ROCHA, I.M.A.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O.; MOREIRA, R.M.; OLIVEIRA, J.T.A. Proline accumulation and glutamine synthetase are increased by salt-induced protolysis in cashew leaves. **Journal of Plant Physiology**, Rockville, v. 160, p. 115-123, 2003.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, v. 28, p.1057-1060, 1989.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes, REVIEW: **Nutrition Reviews**, Campinas, v. 15, p. 71-81, n. 1, 2002.

SOUZA, L.C.; QUEIROZ, J.E.; GHEYI, H.R. Variabilidade espacial da salinidade de um solo aluvial no semi-árido Paraibano, **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n.1, p. 35-40, 2000.

STRASBURGER, E.; NOLL, F.; SCHENCK, H.; SCHUMPER, A.F.W. **Tratado de Botânica**. 8a Edicion Castellana. 33a Edicion Alemana actualizada por: SITTE, P.; ZIEGLER, H.; EHRENDORFER, F.; BRESINSKY, A. Ediciones Omega SA, Barcelona p. 264-266, 272, 273, 294-296, 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre, ARTMED. 3º ed., 2004, 719p.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, p. 503-527, 2003.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 35, p. 753-759, 2008.

VOLKMAR, K.M.; HU Y.; STEPPUHN, H. Physiological responses of plants to salinity: a review. *Can. Journal of Plant Science*, v. 78, p.19-27, 1998.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Chloride in Soils and its Uptake and Movement within the Plant: A Review. *Annals of Botany*, v. 88, p. 967-988, 2001.

WILLADINO, L.; CAMARA, T.R. Origen y naturaleza de los ambientes salinos. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; SÁNCHEZ, A. *La Ecofisiología Vegetal*, Una ciencia de síntesis. Madri, Espanha. Editora Thomsom, p. 303-330, 2004.

WILLADINO, L.; CAMARA, T.R; BOGET, N; SANTOS, M; TORNE, JM. Polyamines and free aminoacid variation in NaCl-treated embriogenic maize callus from sensitive and resistant cultivars. *Journal of Plant Physiology*, v. 149, p.179-185, 1996.

YEO, A. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. *Journal of Experimental Botany*, v. 49, p. 915-929, 1998.

XIONG, L.; ZHU, J. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant, Cell and Environment, Nottingham*, v. 25, n. 2, p. 131-139, 2001.

ZHU, J.K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review Plant Biology*, XIONG, L.; SCHUMAKE, v. 53, p. 247-273, 2002.

4. MANUSCRITO

EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO ESTRESSE SALINO EM *Ananas porteanus*¹

¹Trabalho desenvolvido no Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ/UFRPE) a ser enviado para o Journal of Chemical Ecology.

EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO ESTRESSE SALINO

EM *Ananas porteanus*

Bruna S. S. Mendes¹, **Terezinha Rangel Camara²** e **Lília Willadino³**

⁽¹⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Depto. de Química, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil.

⁽²⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Depto. de Química, R. D. Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil.

⁽³⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Depto. de Biologia, R. D. Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil.

 **Bruna S. S. Mendes**

Email: brunaquimica7@yahoo.com.br

Resumo - O objetivo do experimento foi avaliar aspectos fisiológicos e bioquímicos em *Ananas porteanus* submetido ao estresse salino. Plantas de *A. porteanus* foram cultivadas durante 90 dias em areia lavada e irrigadas com solução nutritiva com 0 ou 80 mM de NaCl. Foram analisadas variáveis de crescimento, danos na membrana celular, teores de Na⁺, Cl⁻ e K⁺, proteínas solúveis totais, carboidratos solúveis totais, prolina, fenóis totais e atividade da peroxidase. Observou-se que o tratamento salino reduziu a produção de biomassa. Essa menor produção de biomassa esteve associada ao aumento nos teores de Cl⁻ (230%) e Na⁺ (39%) e à redução, da ordem de 38%, no teor de K⁺ na parte aérea. Em resposta ao aumento dos teores de Na⁺ e Cl⁻, observou-se o incremento de solutos como as proteínas solúveis e, sobretudo da prolina, cujo teor foi seis vezes superior ao controle, favorecendo o ajuste osmótico. A salinidade duplicou a atividade da peroxidase que, associada ao incremento de prolina contribuiu para a manutenção da integridade da membrana, além disso, os teores de clorofila também aumentaram, a clorofila “a” em 15% e a “b” em 10,5%. Os compostos fenólicos e os carboidratos solúveis totais apresentaram uma redução em seus teores e, portanto, aparentemente não contribuíram como estratégias do *A. porteanus* para proteger a planta contra os danos provocados pelo estresse salino.

Palavras-chave: Abacaxi, Estresse, Salinidade.

INTRODUÇÃO

As espécies de abacaxizeiros ornamentais são em geral rústicas e exóticas e produzem inflorescências apreciadas por consumidores do mundo inteiro (BOMFIM, 2006). A espécie *Ananas porteanus*, Hort Veitch ex C. Koch, particularmente, apresenta perspectiva tanto no paisagismo como na produção de flor de corte (BORGES, 2003). A região Nordeste brasileira vem se destacando cada vez mais no cultivo e comércio das flores tropicais. Nessa Região, entretanto, a ocorrência de áreas salinas vem aumentando gradativamente ao longo do tempo (FAO, 2008). O estresse salino pode provocar um conjunto de alterações deletérias observado em plantas cultivadas em condições de salinidade (XIONG; ZHU, 2001). Essas alterações ocorrem devido ao efeito tóxico provocado por íons e à diminuição da disponibilidade de água para a cultura (HASEGAWA et al., 2000). As respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas da planta variam intensamente com o genótipo e seu estágio de desenvolvimento, além da intensidade e duração do estresse, ao qual a planta é submetida (WILLADINO; CAMARA, 2004). Os mecanismos fisiológicos das plantas que favorecem a sobrevivência em ambientes salinos incluem a regulação da concentração e compartimentalização dos íons, produção de osmoprotetores, ativação de enzimas antioxidativas, e outras formas de controle genético (BRILHANTE, 2006). Elevadas concentrações de Na^+ e de Cl^- são normalmente encontradas em plantas cultivadas sob estresse salino. Esse acúmulo de Na^+ e Cl^- provoca uma série de alterações metabólicas incluindo danos às membranas e ao aparato fotossintético. Um dos mecanismos de tolerância é a compartimentalização desses íons nos vacúolos. Para que ocorra o equilíbrio osmótico celular é necessária à síntese de solutos orgânicos compatíveis com o metabolismo no citoplasma (RONTEIN et al., 2002). Entre os solutos orgânicos destacam-se a prolina, carboidratos, proteínas, ácidos orgânicos (VOLKMAR; YEO, 1998; ASHRAF; HARRIS, 2004). A prolina além de osmorregulador atua também como osmoprotetor favorecendo o equilíbrio redox das células estressadas (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008). As plantas possuem também sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos (PANG; WANG, 2008) que minimizam o os efeitos do estresse. Em condições de estresse salino observa-se, normalmente, maior atividade da peroxidase, sendo essa enzima considerada um marcador de estresse

(LIMA et al., 1999). Por sua vez, no sistema não-enzimático atuam o ácido ascórbico (vitamina C), a glutatona, o tocoferol e os compostos fenólicos.

O presente trabalho visou avaliar a tolerância do *A. porteanus* submetido ao estresse salino utilizando parâmetros fisiológicos e bioquímicos.

MÉTODOS E MATERIAIS

Condução do Experimento

O experimento foi realizado na casa de vegetação do Laboratório da Área de Química Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no período de janeiro a junho de 2008. As mudas oriundas do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) foram selecionadas com base na sanidade e similaridade nas médias da altura e do número de folhas. As mudas foram plantadas em vasos de polietileno com capacidade para 3 Kg, contendo areia lavada como substrato, seguida de uma camada de brita para reduzir a evaporação. As mudas foram regadas uma vez ao dia durante sete dias com a solução de Hoagland e Arnon (com metade da sua força iônica) com um volume suficiente para haver drenagem. Foram definidos dois tratamentos um não salino e outro salino, com concentração de 80 mM de NaCl. A concentração de 80 mM de NaCl foi utilizada com base em experimentos prévios, sendo essa concentração a que reduz a produção de biomassa a aproximadamente 50%. O acréscimo de sal foi feito gradativamente, foram aplicadas soluções com 40 mM de NaCl durante os 45 dias iniciais e logo após a concentração do sal foi duplicada (80 mM) e mantida nos 45 dias finais do experimento. Semanalmente a condutividade elétrica foi verificada utilizando-se o drenado dos potes. O experimento foi conduzido durante 90 dias. Foi utilizado o desenho experimental inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por uma planta por vaso.

Ao final do experimento foram determinadas as variáveis: biomassa fresca e seca da parte aérea, suculência, teor de prolina, carboidratos solúveis totais, fenóis totais, proteínas solúveis totais, clorofilas “a” e “b”, atividade da peroxidase, integridade absoluta e relativa das membranas celulares, porcentagem de danos na membrana e teores de Na⁺, Cl⁻ e K⁺ na parte aérea da planta.

A análise estatística foi realizada através do programa Assisat. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Determinação da biomassa

A produção da biomassa seca (BS) foi obtida pela pesagem das folhas após a secagem das plantas em estufa dotada de sistema de circulação forçada a uma temperatura de 70°C, até peso constante (Benincasa, 2003).

A suculência da parte aérea foi calculada utilizando-se a metodologia de Benincasa (2003): $(BF - BS/BS)$, onde, BS é a matéria seca e BF a matéria fresca.

Determinação do teor de prolina

A prolina foi determinada pelo método de Bates et al. (1973). Utilizou-se 250mg de tecido foliar fresco triturado com 5,0 mL de ácido sulfossalicílico a 3%. Em seguida o material foi centrifugado por 10 minutos a 2000g. Em um tubo de ensaio contendo 1,0 mL do sobrenadante foi adicionado 1,0 mL de ninhidrina ácida e 1,0 mL de ácido acético glacial P.A. A solução foi aquecida por 1 hora em banho-maria à 100° C, e posteriormente resfriada em banho de gelo. Após a adição de 2,0 mL de tolueno P.A. utilizou-se o sobrenadante para as leituras em espectrofotômetro a 520nm. O teor de prolina foi obtido utilizando-se uma curva padrão com concentrações conhecidas (0, 5, 10, 15, 20 e 25 mgL⁻¹) de prolina, os resultados foram expressos em microgramas de prolina/g de matéria fresca.

Determinação de carboidratos solúveis

Para determinação de carboidratos solúveis pesou-se 500 mg de tecido vegetal fresco, o qual foi macerado com solução de álcool etílico a 80%. O macerado foi filtrado para obtenção do extrato. Em seguida fez-se a separação da fase aquosa da orgânica utilizando clorofórmio P.A. para retirada dos pigmentos fotossintéticos. A 200 µL do extrato etanólico da amostra foi adicionado 1,0 mL de antrona a 0,2%, os tubos de ensaio foram mantidos em gelo. Posteriormente os tubos foram levados a banho-maria à 100 °C por 10 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a

620 nm de comprimento de onda. O teor de glicose foi obtido utilizando-se uma curva padrão com concentrações conhecidas (20, 40, 60, 80 e 100 mgL⁻¹) de glicose de acordo segundo metodologia de Yemm e Willis (1954).

Determinação de fenóis totais

Os fenóis totais foram determinados a partir de 200 µL do extrato etanólico da amostra ao qual foi adicionado 5,0 mL de água destilada, 1,0 mL da solução saturada de carbonato de sódio e 0,5 mL do reagente de Folin-Denis. Em seguida, os tubos foram agitados suavemente e deixados em repouso por 30 minutos, para posterior leitura espectrofotométrica a 760 nm. O teor de fenóis totais foi obtido utilizando-se uma curva padrão com concentrações conhecidas (0, 25, 50, 75, 100 e 200 mgL⁻¹), de ácido tânico de acordo com método de Folin-Dennis (Waterman; Mole, 1994).

Determinação das Proteínas Solúveis

A dosagem de proteínas foi realizada seguindo o método de Bradford (1976). Para análise do material, utilizaram-se 500 mg de cada amostra, macerados com etanol a 80%. O extrato foi centrifugado a 8.000 rpm durante 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para frascos translúcidos. Em tubos de ensaio foram colocados 200 µL do sobrenadante e adicionados 4,0 mL de reagente Coomassie brilliant blue. As leituras foram realizadas em 595 nm, em espectrofotômetro. A concentração de proteínas foi obtida utilizando-se uma curva-padrão com concentrações conhecidas (50, 100, 200, e 500 µg.mL⁻¹) de albumina de soro bovino, para o branco foi empregado o reagente Coomassie brilliant blue.

Determinação do conteúdo de Clorofilas

A extração dos pigmentos realizada utilizando-se 500 mg do tecido fresco macerados com 5,0 mL da solução de acetona 80%. Após a trituração em um homogeneizador de tecido vegetal, o triturado foi filtrado e transferido para um balão volumétrico de 20 mL. Em seguida uma alíquota de 10 mL do filtrado foi centrifugada por 5 minutos a 2000 g. O sobrenadante foi coletado e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 663 e 645 nm, correspondente aos picos de absorção das clorofilas

“a” e “b”, respectivamente. A quantificação da clorofila “a”, “b” e total foi realizada segundo metodologia de Arnon (1949), baseado nos seguintes cálculos: Clorofila “a” = $(12,72 \times A_{663} - 2,59 \times A_{645}) \times V/1000/W$; Clorofila “b” = $(22,88 \times A_{645} - 4,67 \times A_{663}) \times V/1000/W$; Clorofila total = $(20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}) \times V/1000/W$. Sendo, A = absorvância dos extratos no comprimento de onda determinado; V = o volume do extrato clorofila-acetona e W = matéria fresca em grama do material vegetal utilizado.

Determinação da atividade da enzima peroxidase

O extrato enzimático foi obtido por maceração do tecido vegetal em nitrogênio líquido acrescido de tampão fosfato $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 6,5). O extrato foi em seguida centrifugado a 25000 g durante 15 min, a 4°C. A atividade específica da enzima peroxidase (POD) foi medida no sistema de reação com 1,35 mL guaiacol, peróxido de hidrogênio e 0,1 mL de extrato enzimático. A variação da absorvância no intervalo de um minuto foi lida em espectrofotômetro (Micronal 8582), a 470 nm. Os resultados foram expressos em $\text{U.mg}^{-1} \text{ proteína.g}^{-1}$ massa fresca, de acordo com a metodologia adaptada de Fatibelo Filho (2002).

Determinação da Integridade das Membranas

A percentagem da integridade das membranas foi estimada pelo extravazamento de eletrólitos, segundo Pimentel et al., 2002. Para determinação, 10 discos de folhas de 1 cm de diâmetro, foram incubados em tubos de ensaio com 20 mL de água destilada, durante 24 h. Após este período mediu-se a condutividade elétrica livre (L1). Logo em seguida os tubos foram mantidos em banho-maria por 1h a 100°C e procedida nova leitura da condutividade elétrica total (L2). O percentual de danos nas membranas (PD) foi estimado pela equação: $\%PD = (L1/ L2) \times 100$. A porcentagem de integridade absoluta (PIA) foi estimada pela equação: $PIA = 1 - L1/L2$. e a porcentagem de integridade relativa (PIR) pela equação: $PIA \text{ de plantas sob estresse} / PIA \text{ de plantas controle}$.

Determinação dos teores de Na^+ , Cl^{-1} e K^+

Os teores de Na^+ e K^+ foram determinados a partir da matéria seca da terceira folha completamente expandida, a contar do ápice da planta. Adicionou-se a 500 mg de

matéria seca 1,0 mL de ácido perclórico e 5,0 mL de ácido nítrico para a digestão nitroperclórica. As determinações analíticas de sódio e potássio foram feitas por fotometria de chama conforme descrito por Malavolta et al., (1989). Para a determinação de cloreto foi empregada a titulometria do nitrato de prata pelo método de Mohr, segundo Malavolta et al., 1989.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento das plantas com 80 mM de NaCl teve efeito significativo sobre as variáveis analisadas, com exceção apenas do teor de carboidratos que não diferiu entre plantas tratadas com solução nutritiva acrescida de NaCl e plantas que não receberam NaCl (Tabelas 1 e 2; Figura 1).

Observou-se redução na produção de biomassa nas plantas submetidas ao tratamento salino (Figura 1). A diminuição na biomassa foi acompanhada pelo acúmulo nos teores dos íons cloreto (Cl^-) e sódio (Na^+), apresentando, com cada um deles, uma correlação negativa altamente significativa ($r = -0,8704$ e $r = -0,7996$, respectivamente). Sob condições de salinidade, o crescimento das plantas é afetado por dois fatores que compõem o modelo bifásico de redução de crescimento: a queda no potencial osmótico e o efeito específico dos íons (MUNNS, 1993). A elevada concentração dos íons no tecido vegetal afeta o crescimento da planta quando ultrapassa a capacidade das células de compartimentalizá-los no vacúolo.

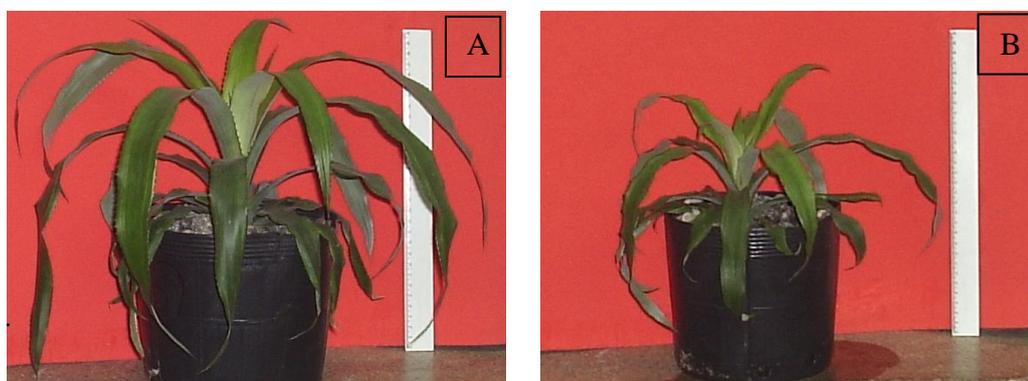


Figura 1 – Plantas de *Ananas porteanus* aos 90 dias de cultivo: (A) em solução nutritiva sem adição de NaCl e (B) com adição de 80 mM de NaCl.

As plantas submetidas ao tratamento com NaCl apresentaram redução da suculência (Tabela 1) com correlação negativa altamente significativa com os teores de Na^+ e de Cl^- ($r = -0.8135$ e -0.8577 , respectivamente), demonstrando que o acúmulo desses íons na parte aérea interferiu negativamente na capacidade de manter a hidratação dos tecidos. Estudo com diversos cultivares de feijão *Vigna unguiculata* registrou proporcionalidade da suculência foliar com o grau de tolerância à salinidade, com aumento significativo da suculência em função do aumento do nível de salinidade apenas nas cultivares mais tolerantes (COSTA et al., 2003). Acredita-se que, em estresses de curta duração, predominem os efeitos osmóticos dos sais, fazendo com que o potencial hídrico do ambiente radicular diminua e restrinja a absorção de água; em estresses de longa duração, todavia, os íons se acumulam e provocam distúrbios nutricionais e metabólicos (MUNNS, 2002).

Os teores de Cl^- registrados nas plantas de abacaxi tratadas com 80 mM de NaCl foram três vezes maior que o das plantas tratadas sem NaCl, enquanto que o acúmulo de Na^+ correspondeu a um acréscimo de aproximadamente 1,4 vezes o das plantas controle (Tabela 1). Apesar de, na maioria das plantas, o Na^+ atingir concentrações tóxicas mais rapidamente que o Cl^- , existem algumas espécies para as quais esse ânion é mais tóxico que o Na^+ , como é o caso da soja, videira e alguns citros (LÄUCHLI, 1984; STOREY & WALKER, 1999). O cloro é um mineral essencial ao metabolismo vegetal e, na sua forma aniônica, é o principal soluto osmoticamente ativo no vacúolo, está envolvido na regulação osmótica e do turgor celular, e seu fluxo está implicado na estabilização do potencial de membrana (WHITE & BROADLEY, 2001). As células das raízes absorvem o Cl^- a partir da solução do solo por meio de um processo denominado de co-transporte H^+/Cl^- (simporte) quando a concentração externa de cloreto é baixa. Sob condições salinas, entretanto, a absorção do Cl^- se dá, ademais, por meio de canais aniônicos. A seletividade e a magnitude do transporte de Cl^- podem ser controladas por transportadores específicos e a habilidade em restringir o fluxo de Cl^- para a parte aérea e evitar seu efeito tóxico é uma característica genotípica. Importantes cereais, hortaliças e frutíferas são susceptíveis à toxidez por Cl^- durante o cultivo. Essa é uma das principais restrições à produção hortícola em áreas irrigadas ou em solos salinos (MAAS & HOFFMAN, 1977; XU et al., 2000). Nas espécies vegetais em que o acúmulo de Cl^- , em relação às plantas do tratamento controle, supera o de Na^+ , a toxidez do Cl^- é mais importante, não porque o Cl^- seja metabolicamente mais tóxico, mas porque a espécie em questão é melhor exclusiva de Na^+ , evitando o excesso desse

cátion na lâmina foliar, enquanto que o Cl^- se acumula (PRIOR et al, 2007; MUNNS & TESTER, 2008). A concentração na qual o Na^+ torna-se tóxico ainda não está bem definida. Alguns estudos *in vitro* mostraram que o Na^+ começa a inibir a maioria das enzimas a concentrações próximas dos 100 mM (GREENWAY & OSMOND, 1972), embora algumas enzimas sejam sensíveis a menores concentrações (FLOWERS & DALMOND, 1992). Altos teores de Na^+ ou uma elevada relação Na^+/K^+ podem interromper vários processos enzimáticos no citoplasma (BLAHA et al. 2000). Muitos distúrbios metabólicos ocasionados pelo excesso de Na^+ na célula são devido, em parte, à competição com o K^+ por sítios ativos de enzimas (BLUMWALD et al., 2000).

A redução na biomassa seca da parte aérea das plantas de abacaxi ornamental tratadas com NaCl foi acompanhada por uma diminuição no teor de K^+ no tecido foliar (Tabela 1), com uma correlação positiva altamente significativa ($r = 0,7572$) entre essas variáveis. A queda na absorção do potássio coincidiu com a presença de NaCl na solução de rega. Do ponto de vista biofísico, uma célula da folha de uma planta tratada com NaCl pode apresentar uma reduzida taxa de expansão devido ao enrijecimento da parede, à queda no turgor celular ou a uma baixa taxa de absorção de água e osmólitos (COSGROVE, 1993). De acordo com Fricke e Peters (2002), os efeitos do estresse salino que acarretam a redução no crescimento das plantas baseiam-se em alguns fatores, dentre os quais se destacam a inibição na absorção de água ocasionada pelo baixo potencial hídrico no espaço radicular (estresse osmótico) e a indisponibilidade de quantidades suficientes dos solutos normalmente usados para gerar pressão osmótica devido à competição do Na^+ e do Cl^- por sítios de absorção (desequilíbrio nutricional). As elevadas concentrações de Na^+ e Cl^- podem provocar desequilíbrio nutricional nas plantas, sendo frequente a deficiência de íons como potássio (LAUNCHLI & EPSTEIN, 1990). O K^+ é um importante ativador enzimático do metabolismo vegetal e o Na^+ não pode substituí-lo nessa função, de modo que um alto teor de Na^+ ou uma elevada relação Na^+/K^+ podem acarretar a inibição de diversos processos metabólicos essenciais. Nas plantas submetidas à rega com 80 mM de NaCl na solução nutritiva, a relação Na^+/K^+ foi o dobro daquelas tratadas sem NaCl (Tabela 1). A queda no teor de K^+ foi mais representativo no incremento da relação Na^+/K^+ do que a variação na concentração de Na^+ . O aumento na relação Na^+/K^+ correlacionou-se negativamente com a produção de biomassa ($r = -0,8613$), evidenciando o efeito deletério ocasionado pelo acúmulo de Na^+ em detrimento da concentração de K^+ no tecido vegetal.

Tabela 1 – Valores médios de biomassa seca (BS), suculência, teores de cloreto, sódio e potássio e relação Na^+/K^+ na parte aérea de plantas de *A. porteanus* submetidas a 80 mM de NaCl.

Tratamentos mM de NaCl	BS g	Suculência $\text{g H}_2\text{O.g mat seca}^{-1}$	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺ / K ⁺
			mg.Kg ⁻¹	g.Kg ⁻¹		
0 (controle)	7,3961a	9,9503a	4,32b	1,11b	4,14a	0,28b
80	3,8911b	7,8060b	14,28a	1,54a	2,57b	0,59a
CV (%)	18,05	6,38	10,43	8,08	14,48	10,23

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. Todos os valores são médias de seis repetições.

As plantas que receberam solução nutritiva acrescida de NaCl acumularam prolina (PRO) e proteínas solúveis (Prot. sol.), enquanto que a concentração de carboidratos solúveis não variou em função da presença do sal na solução de rega (Tabela 2). A primeira típica resposta das plantas ao estresse salino é o ajuste osmótico. O acúmulo de solutos compatíveis no citoplasma é considerado como um mecanismo que contribui para a tolerância à salinidade (JALEEL et al., 2007). Os solutos compatíveis tendem a ser eletricamente neutros, não iônicos ou bipolares (zwitteriônicos: com as cargas positiva e negativa separadas espacialmente) e não rompem a película de hidratação das macromoléculas, assegurando a conformação das mesmas (BRAY et al., 2000).

Os solutos compatíveis constituem um pequeno grupo de substâncias de natureza química distinta, podendo ser incluídos açúcares solúveis ou poliméricos, além de aminoácidos como a prolina, entre outros compostos. Também podem ser incluídas algumas proteínas que protegem a formação ou a estabilidade de outras proteínas (MUNNS, 2005).

A concentração de prolina nas plantas submetidas ao estresse salino foi mais de seis vezes superior à concentração nas plantas não estressadas, enquanto que o aumento no teor de proteínas não foi tão expressivo (Tabela 2). Esses dados sugerem que o aumento da concentração de prolina não foi consequência da hidrólise protéica, como também constatado por outros autores com *Vigna unguiculata* (COSTA et al., 2003). A acumulação de PRO pode ocorrer por meio do incremento de sua síntese e/ou inibição do seu catabolismo (AZOOZ et al., 2004) e pode ser um mecanismo de tolerância ao estresse (JALEEL et al., 2007). O nível de acumulação de solutos como a prolina está

mais relacionado ao efeito osmótico do que ao efeito iônico, como demonstrado em plantas de cevada tratadas com NaCl e polietileno glicol (PEG) cujo acúmulo de prolina foi equivalente em ambas as situações (WYN JONES & STOREY 1978).

No que se refere ao acúmulo de proteínas solúveis, sabe-se que muitas plantas tem a síntese protéica estimulada quando submetidas a condições salinas (SEN et al., 2002). Strogonov (1964) constatou uma maior concentração de proteínas em plantas de milho submetidas à salinidade. De acordo com ele, as plantas tolerantes ao sal mantem a síntese protéica sob condições salinas, mas as plantas suscetíveis não o fazem. Um grupo de proteínas sintetizadas sob condição de estresse, as chaperonas, atuam mantendo a conformação das demais proteínas, prevenindo a agregação, *refolding* de proteínas desnaturadas e removendo as proteínas não funcionais, mas potencialmente nocivas (Sengupta & Majumder, 2009). A espécie de arroz selvagem *Porteresia coarctata*, é uma halófito que sob condições de estresse sintetiza a chaperona Hsp70 entre outras proteínas, em conjunto as mesmas conferem vantagens fisiológicas indicando caracterizando um padrão de tolerância à salinidade (Sengupta & Majumder, 2009). Em *Arabidopsis thaliana* é a chaperona AtEF1 que protege as proteínas nativas contra o estresse salino e conferem resistência à salinidade (Shin et al; 2009).

A atividade da peroxidase nos tecidos da parte aérea de plantas tratadas com 80 mM de NaCl foi quase o dobro dos valores encontrados nas plantas mantidas no tratamento controle (Tabela 2). O aumento da atividade de enzimas antioxidantes foi observado em plantas de trigo (MENEGUZZO et al. 1999, SAIRAM & SRIVASTAVA 2002) e ervilha (HERNANDEZ et al. 1999) submetidas à salinidade. A maioria dos resultados mostram uma correlação entre resistência ao NaCl e uma maior efetividade do sistema antioxidativo. O estresse oxidativo resulta na formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), entre as quais se destaca o peróxido de hidrogênio, substrato da peroxidase. A peroxidase é uma enzima oxidativa essencial para a conversão do H₂O₂ a H₂O e O₂ na fotorrespiração. Segundo Strogonov (1964), a peroxidase desempenha um importante papel na adaptação de plantas sob condições salinas por mediar a regulação dos níveis de H₂O₂, evitando seu acúmulo a níveis tóxicos.

O teor de fenóis totais na parte aérea das plantas submetidas ao tratamento com 80 mM de NaCl caiu à metade em relação ao das plantas do tratamento controle (Tabela 2). Esses resultados contrariam alguns autores segundo os quais a síntese e a acumulação de polifenóis é, geralmente, estimulada em resposta ao estresse, como aquele induzido pela salinidade (NAVARRO et al., 2006). O incremento na síntese ou o

acúmulo de substâncias fenólicas em resposta ao estresse salino parece ser um caráter dependente do genótipo, como evidenciado em cana-de-açúcar e em *Cakile marítima*, uma oleaginosa halófito (WAHID & GHAZANFAR, 2006; KSOURI et al., 2007). O aumento no teor dos compostos fenólicos em plantas de cana-de-açúcar submetidas a tratamento salino ocorreu apenas nos genótipos tolerantes à salinidade (WAHID & GHAZANFAR, 2006). O genótipo Tabarka, da halófito *Cakile marítima*, não apresentou qualquer alteração no teor de fenóis quando submetido aos tratamentos não salino ou com 100 e 400 mM de NaCl, enquanto que o genótipo Jerba aumentou a produção de biomassa e a área foliar, juntamente com a concentração de compostos fenólicos, quando tratado com 100 mM de NaCl (KSOURI et al., 2007), concentração salina mais adequada a uma halófito. Nas plantas que não receberam NaCl e quando tratado com 400 mM de NaCl, esse genótipo apresentou diminuição na concentração de fenóis. Plantas de alface irrigadas com NaCl também reduziram o teor de compostos fenólicos quando os tratamentos salinos foram mantidos por dois dias em concentrações que variaram de 50 a 1.000 mM de NaCl (KIM et al., 2008). Os fenóis constituem um grupo quimicamente heterogêneo com várias funções nos vegetais (SALGADO, 2004), possuem propriedade redutora e podem desempenhar um importante papel na neutralização e/ou seqüestro de radicais livres, sendo apontados como participantes da atividade antioxidante (ANDREO JORGE, 2006; ROESLER et al., 2007), bem como da quelatação de metais de transição (SOUSA et al., 2007). Embora reconhecidamente os compostos fenólicos solúveis sejam poderosos antioxidantes em tecidos vegetais sujeitos a estresse (SGHERRI et al., 2004), as modulações nos níveis fenólicos sob condição de estresse abiótico ainda precisam ser melhor estudadas (WAHID & GHAZANFAR, 2006).

Tabela 2 – Valores médios dos teores de prolina (Pro), carboidratos (CHO), proteínas solúveis (Prot sol.), fenóis totais e da atividade da peroxidase na parte aérea de plantas de *A. porteanus* submetido a 80 mM de NaCl.

Tratamentos mM de NaCl	PRO $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ mat. fr	CHO $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ mat. fr	Prot. sol. $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ mat. fr	Fenóis $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ mat. fr	POD $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ prot. $\cdot\text{g}^{-1}$ mat. fresca
0 (controle)	39,27b	0,084a	0.27b	2,19a	325,72b
80	244,67a	0,087a	0.35a	1,03b	604,06a
CV (%)	18,73	16,58	15,71	16,68	17,81

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. Todos os valores são médias de seis repetições.

Observou-se um incremento significativo no teor de clorofila “a” nas plantas submetidas ao estresse salino (Tabela 3). Os teores de clorofila e carotenóides nas folhas variam em função do estresse salino aplicado. Enquanto alguns autores registram redução dos teores de clorofila outros registram incrementos da mesma como resposta ao estresse salino (AGASTIAN et al., 2000; PARIDA, 2005). O incremento no conteúdo de clorofila em função do estresse salino e hídrico foi reportado em células de *Bouteloua gracilis*, uma gramínea tolerante ao estresse hídrico (GARCÍA-VALENZUELA et al., 2005). A análise conjunta do efeito do estresse hídrico e do estresse salino permitiu a demonstração de que nas células submetidas ao estresse salino o acúmulo de clorofila ocorre em função do estresse osmótico, e não do estresse iônico. O incremento nos teores de clorofila pode ser resultado do desenvolvimento do cloroplasto (aumento no número de tilacóides) ou do aumento no número de cloroplastos sugerindo a ativação de um mecanismo de proteção ao aparato fotossintético (GARCÍA-VALENZUELA et al., 2005). Observou-se também uma tendência ao incremento dos teores de clorofila “b” nas plantas de *A. porteanus* submetidas ao estresse salino. Essa tendência manteve-se na relação clorofila “a”/clorofila “b” e no total de clorofila.

Tabela 3 – Valores médios dos teores de clorofila “a” (Clor a), clorofila “b” (Clor b), relação clorofilas “a” e “b” (Clor a/b) e Clorofila total (Clor Total) na parte aérea de plantas de *A. porteanus* submetido a 0 e 80 mM de NaCl.

Tratamentos mM de NaCl	Clor a mg.g ⁻¹ mat. fr	Clor b mg.g ⁻¹ mat. fr	Clor a/Clor b	Clor Total mg.g ⁻¹ mat. fresca
0 (controle)	12,78b	0,380a	33,47a	0,87a
80	14,70a	0,420a	43,25a	0,95a
CV (%)	10,75	15,50	33,56	15,20

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. Todos os valores são médias de seis repetições.

O tratamento das plantas com solução nutritiva acrescida de 80 mM de NaCl afetou a integridade da membrana e causou dano (PD) da ordem de 15% em relação às plantas do tratamento sem NaCl. A percentagem de integridade absoluta (PIA) caiu de 83,28% nas plantas controle para 77,10% nas plantas tratadas com NaCl, enquanto que a integridade relativa (PIR) foi da ordem de 92% do controle (Figura 2). A salinidade

pode causar efeitos hiperiônicos e hiperosmóticos que levam à desorganização da membrana (HASEGAWA et al., 2000). Vários estudos sugerem que a membrana plasmática é o principal local de injúria pelo sal (MANSOUR, 1998). A permeabilidade à água e a não-eletrólitos é marcadamente alterada pela exposição à salinidade (PARVAIZ & SATYAWATI, 2008). A estabilidade das membranas biológicas tem sido considerada uma importante ferramenta na avaliação dos efeitos da salinidade sobre as plantas (KUKREJA et al., 2005). Farooq e Azam (2006) registraram incremento nos danos na membrana celular de variedades de trigo sob estresse salino. O decréscimo na estabilidade da membrana reflete a extensão da peroxidação de lipídios causados por espécies reativas de oxigênio (ROS) (SAIRAM et al., 2002). A peroxidação de lipídios requer O_2 ativo e envolve a produção de radical superóxido ($\cdot O_2^-$), além de outras espécies químicas altamente reativas como o oxigênio singlete (1O_2), o radical hidroxila ($\cdot OH$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), todas elas capazes de iniciar a peroxidação lipídica (MITTLER, 2002). O efeito da salinidade sobre as membranas pode ser expresso como o percentual de integridade ou permeabilidade, quanto maior for a injúria induzida pelo sal menor será a integridade ou, ao contrário, maior será a permeabilidade da membrana. Variedades de canola (*Brassica napus* L.) submetidas a 150 mM de NaCl por 30 dias apresentaram aumento na permeabilidade de membrana. A variedade que é considerada mais tolerante à salinidade teve aumento de 10% na permeabilidade membranar (ASHRAF & ALI, 2008). Neste trabalho com *A. porteanus*, a percentagem de integridade absoluta (PIA) da membrana caiu em 6,18% em relação ao controle e a PIR foi reduzida em 8%, sugerindo uma boa capacidade de manutenção da estrutura membranar nas plantas submetidas a 80 mM de NaCl. Ashraf e Ali (2008) atribuem o menor aumento na permeabilidade da membrana da variedade mais tolerante ao aumento na atividade de enzimas antioxidantes, entre elas a peroxidase. Esses resultados coincidem com os dados obtidos neste trabalho, no qual se verificou aumento expressivo na atividade da peroxidase nas plantas tratadas com NaCl, que pode ter sido responsável pela relativamente pequena queda na integridade da membrana.

O aumento no teor de prolina também pode ter contribuído para minimizar a ação de espécies reativas de oxigênio sobre os constituintes da membrana, uma vez que já se confirmou que os solutos compatíveis, além de garantirem o fluxo contínuo de água na planta, atuam como osmoprotetores de macromoléculas como proteínas e lipídios, bem como das membranas.

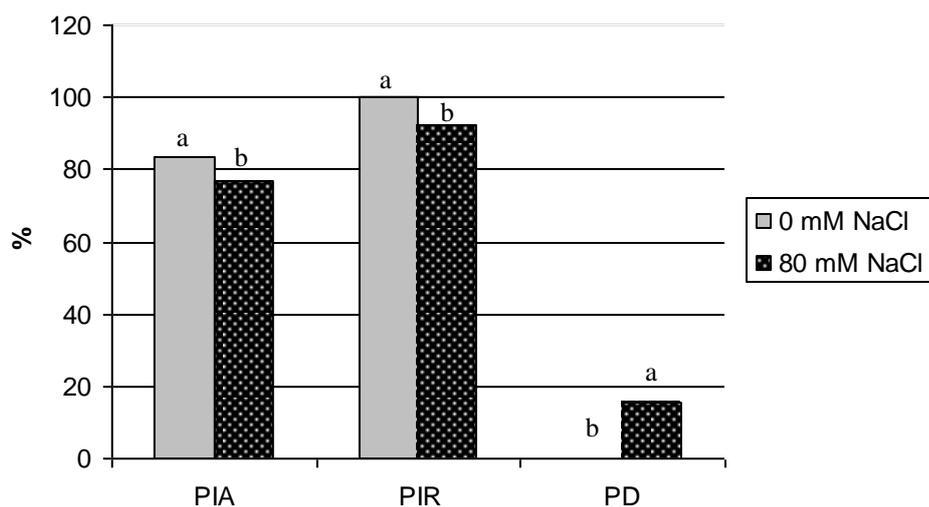


Figura 2 – Valores percentuais referentes à integridade absoluta (PIA) e relativa (PIR) e ao dano (PD) da membrana na parte aérea de plantas de *A. porteanus* submetidas a 80 mM de NaCl.

A partir dos resultados apresentados, observa-se que a redução na produção de biomassa nas plantas de *A. porteanus* tratadas com 80 mM de NaCl foi acompanhada pelo aumento dos teores de Na^+ e Cl^- e queda na absorção de K^+ , com conseqüente aumento da relação Na^+/K^+ . O desequilíbrio acarretado pelo efeito específico dos íons induziu a síntese de prolina e proteínas solúveis, e incrementou a atividade da peroxidase. Essas alterações metabólicas possivelmente contribuíram para a manutenção da integridade da membrana a níveis próximos daqueles encontrados nas plantas cultivadas sem NaCl. Os carboidratos solúveis não são os osmólitos utilizados por essa espécie para ajuste do potencial osmótico frente ao estresse salino e o acúmulo de compostos fenólicos não parece ser a estratégia antioxidativa para fazer frente aos danos gerados pelo excesso de sal, em plantas de *A. porteanus* submetidas a 80mM de NaCl.

REFERÊNCIAS

AGASTIAN, P., KINGSLEY S.J., e VIVEKANANDAN M. 2000. Effect of Salinity on Photosynthesis and Biochemical Characteristics in Mulberry Genotypes. *Photosynthetica* 38 : 287-290(2).

- ANDREO, D. e JORGE, N. 2006. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. Boletim. CEPPA, Curitiba 24 : 319-336(2).
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. 1949. Plant Physiology, Rockville 24 : 1-15(1).
- ASHRAF, M. e ALI, Q. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany 63: 266-273.
- AZOOZ, M.M., SHADDAD, M.A., e ABDEL-LATEF, A.A., 2004. The accumulation and compartmentation of proline in relation to salt tolerance of three sorghum cultivars, Indian. Journal of plant physiology pp. 1-8 (9).
- BATES, L.S., WALDREN, R.P., e TEARE, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, Dordrecht 39 : 205-207(6).
- BENINCASA, M. M. P. 2003. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). Jaboticabal: FUNEP, São Paulo, 41 p.
- BLAHA, G., STELZL, U., SPAHN, C. M. T., AGRAWAL, R. K., FRANK, J., e NIERHAUS, K. H. 2000. Preparation of functional ribosomal complexes and effect of buffer conditions on tRNA positions observed by cryoelectron microscopy. Methods Enzymolog. 317 : 292-309.
- BLUMWALD, E. 2000. Sodium transport and salt tolerance in plant cells. Current Opinion of Cell Biology 76 : 112–12.
- BORGES, N. S. S.; CORREIA, D.; ROSSETTI, A. G. 2003. Influência do meio bifásico na multiplicação de gemas e no alongamento de brotos in vitro de *Ananas lucidus* Miller. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental, Campinas 9 : 37-44(1).
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantifications of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72 : 248-254.
- BRAY, E.A., BAILEY-SERRES, J., e WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W. JONES, R.L. (Eds). 2000. Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Rockville. American Society of Plant Physiologists : 1158-1203.

COSGROVE, D.J. 1993. Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake and hydraulic conductance. *International Journal of Plant Science* 154 : 10-21.

COSTA, P.H.A., SILVA J.V., BEZERRA, M.A., ENÉAS-FILHO J., PRISCO J.T., e GOMES FILHO, E. 2003. Crescimento e níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de *Vigna unguiculata* submetidos à salinidade. *Revista Brasileira de Botânica* 26 : 289-297.

CSONKA, L.N., 1981. Proline overproduction results in enhanced osmotolerance in *Salmonella thyphimurium*. *Mol Gen Genet* 182: 82–86.

Dongjin Shin, Seok-Jun Moon, Sang Ryeol Park, Beom-Gi Kim, Myung-Ok Byun. 2009. Elongation factor from *A. thaliana* functions as molecular chaperone and confers resistance to salt stress in yeast and plants *Plant Science* 177 : 156–160.

FAROOQ, S. e AZAM, F. 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. *Journal of plant physiology* 163: 629-637(6).

FATIBELO FILHO, O. 2002. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. *Quimica Nova* 25 : 455-464(3).

FRICKE, W. e PETERS, W.S. 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology* 129 : 374-388.

GARCIA-VALENZUELA, X; GARCIA-MOYA, E.; CRUZ, Q.R.; HERRERA-ESTRELLA, L.; AGUADO-SANTACRUZA, G.A. 2005. Chlorophyll accumulation is enhanced by osmotic stress in graminaceous chlorophyllic cells. *Journal of Plant Physiology* 162: 650—661.

GREENWAY, H. e OSMOND C.B. 1972. Salt responses of enzymes from species differing in salt tolerance. *Plant Physiology* 49 : 59-256.

HASEGAWA, P.M., BRESSAN, R.A., ZHU, J.K., e BOHNERT, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto 51 : 463-499.

HOAGLAND, D.R. e ARNON, D.I. 1950. The water cultured method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station, San Francisco* 347 : 3-31.

- JALEEL, C.A., MANIVANNAN, P., B. SANKAR, e KISHOREKUMAR A., PANNEERSELVAM R. 2007. Calcium chloride effects on salinity-induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. *Comptes Rendus Biologies* 330 : 674–683.
- KAFI, M., STEWART, W. S., E BORLAND, A. M. 2003. Carbohydrate and Proline Contents in Leaves, Roots, and Apices of Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Wheat Cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology* 50 : 155–162(2).
- KIM, H-J., FONSECA, J.M., CHOI, J-H., KUBOTA, C., e KWON, D.Y. 2008. Salt in irrigation water affects the nutrition and visual properties of Romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 : 3772-3776.
- KSOURI, R., MEGDICHE, W., DEBEZ, A., FALLEH, H., GRIGNON C., e ABDELLY C. 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. *Plant Physiology and Biochemistry* 45 : 244-249.
- KUKREJA, S., NANDWAL, A.S., KUMAR, N., SHARMA, S.K., e UNVI, V. 2005. Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biology Plant* 49 : 305-308,
- LAUCHLI, A. 1984. Salt exclusion: an adaptation of legumes for crops and pastures under saline conditions. In *Salinity Tolerance in Plants: strategies for Crop Improvement*, ed. RC Staples, New York (USA) pp.171-187.
- MAAS, E. V. e HOFFMANN GJ. 1977. Crop salt tolerance-current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division of the American Society for Civil Engineering* 103 : 115-134.
- MALAVOLTA, E., VITTI, G.C., e OLIVEIRA, S.A. 1989. Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e aplicações. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 201p.
- MANSOUR, M.M.F. 1998. Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiology Biochemistry* 36 : 767-772.

- MENEGUZZO, S., NAVARI-IZZO, F., e IZZO, R. 1999. Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations, *Journal of plant physiology* 155 : 274-280 (2).
- MIRANDA, J.R.P. 2000. Silício e cloreto de sódio na nutrição mineral e produção de matéria seca de plantas de Cajueiro Anão-Precoce (*Anacardium occidentale* L.) e de Moringa (*Moringa oleifera* Lam.). Lavras: Universidade Federal de Lavras, 186 p. (Tese de doutorado).
- MIRANDA, J.R.P. 2000. Silício e cloreto de sódio na nutrição mineral e produção de matéria seca de plantas de Cajueiro Anão-Precoce (*Anacardium occidentale* L.) e de Moringa (*Moringa oleifera* Lam.). Tese de doutorado. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 186 p.
- MITTLER, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7 : 405-410.
- MUNNS, R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environment*, Oxford 16 : 15-24(1).
- MUNNS, R. 2005. Genes and salt tolerance: bring them together. *New Phytologist* 67 : 645-663.
- MUNNS, R. e TESTER M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59 : 651-681.
- MUNNS, R., HUSAIN, A.R., RIVELLI, R.A., e HARE, R.A. 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. *Plant and Soil*. 247 : 93-105.
- NAVARRO, J.M., FLORES, P., GARRIDO, C., e MARTINEZ, V. 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stages, as affected by salinity, *Food Chemistry*, pp. 66-73(96).
- PARIDA, A. K. e DAS, A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60 : 324-349.
- PARVAIZ, A. e SATYAWATI, S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review. *Plant Soil Environment* 54 : 89-99(3).

- PAULA, M.B., MESQUITA, H.A. , e NOGUEIRA, F.D. 1998. Nutrição e adubação do abacaxizeiro. Informe Agropecuário, 19: 33-39(195).
- PIMENTEL, C., SARR, B., DIOUF, O., ABOUD, A. C. S., e ROY-MACAULEY, H. 2002. Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo. Revista Universidade Rural, Série. Ciências da Vida 7 : 14-22(1).
- PIZA, ISABELA M. T., LIMA, GIUSEPPINA P. P., BRASIL, Oswaldo G. 2003. Atividade de peroxidase e níveis de proteínas em plantas de abacaxizeiro micropropagadas em meio salino. Revista brasileira Agrociência 9 : 361-366(4).
- PRIOR, LD, GRIEVE, A.M., BEVINGTON, K.B., e SLAVICH, P.G. 2007. Long-term effects of saline irrigation water on ‘Valencia’ orange trees: relationships between growth and yield, and salt levels in soil and leaves. Australian Journal of Agricultural Research 58 : 342-348.
- ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. 2007. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. Ciências e Tecnologia de Alimentos 27 : 53-60(1).
- SAIRAM, R.K., RAO, K.V., e SRIVASTAVA, G.C., 2002. Differential response of wheat genotypes to long-term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163 : 1037-1046.
- SALGADO, P.R. 2004. Fenóis totais no cafeeiro em razão das fases de frutificação e do clima. Dissertação (Mestrado em Agronomia). 60p. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), Piracicaba.
- SANTOS, C., AZEVEDO, H., e CALDEIRA, G. 2001. In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism. Journal of Experimental Botany 52 : 351-360.
- SEN, D.N., KASERA, P.K. e MOHAMMED, S. 2002. Biology and Physiology of Saline Plants. In PESSARAKLI, M. (Ed). Handbook of Plant and Crop Physiology. New York, Marcel Dekker, pp. 563-581.
- SENGUPTA, S.; MAJUMDER, A.L. 2009. Insight into the salt tolerance factors of a wild halophytic rice, *Porteresia coarctata*: a physiological and proteomic approach. Planta 229:911–929.

- SHIN, D.; MOON, S.J.; PARK, S.R.; KIM, B.G.; BYUN, M.O. 2009. Elongation factor from *A. thaliana* functions as molecular chaperone and confers resistance to salt stress in yeast and plants *Plant Science* 177 : 156–160.
- SOUSA, C.M.M., SILVA, H.R., VIEIRA JR, G. M., AYRES, M. C. C., COSTA, C. L. S., ARAÚJO, D. S., CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S., ARAÚJO, P. B. M., BRANDÃO, M. S., e CHAVES, M. H. 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova* 30: 351-355(2).
- STOREY, R. e WALKER R.R. 1999. Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam 78 : 39-81.
- STOREY, R. e WYN JONES, R.G. 1978. Salt Stress and Comparative Physiology in the Gramineae. III. Effect of Salinity Upon Ion Relations and Glycinebetaine and Proline Levels in *Spartina × townsendii* . *Australian Journal of Plant Physiology* 831-838(5).
- STREIT, N. M., CANTERLE L. P., CANTO, M.W., HECKTHEUER, L. H.H. 2005. As Clorofilas. *Ciência Rural*, Santa Maria 35 : 748-755(3).
- STROGONOV, B.P. 1964. Physiological basis of salt tolerance of plants, Jerusalem, Israel Program for Scientific Translations, 279p.
- TAIZ, L. e ZEIGER, E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed. 3º ed., 719p.
- WAHID, A., GHAZANFAR, 2006. A. Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *Journal of Plant Physiology* 163 : 723-30.
- WATERMAN, P.G. e MOLE, S. 1994. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Oxford, Blackwell Scientific Publications.
- WHITE, P.J., BROADLEY M.R. 2001. Chloride in Soils and its Uptake and Movement within the Plant: A Review. *Annals of Botany* 88 : 967-988.
- YAHYA, A. 1998. Salinity effects on growth and on uptake and distribution of sodium and some essential mineral nutrients in sesame. *Journal of Plant Nutrition* 21 : 1439-1451(7).
- YEMM, E.W. e WILL., A.J. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal*, London 57 : 508-514.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)