

BRUNA SANTANA DA SILVA MENDES

**EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO
ESTRESSE SALINO EM *Ananas porteanus* Hort Veitch ex C. Koch**

RECIFE

AGOSTO - 2009

BRUNA SANTANA DA SILVA MENDES

**EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO
ESTRESSE SALINO EM *Ananas porteanus* Hort Veitch ex C. Koch**

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 Camara

RECIFE

AGOSTO - 2009

EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO ESTRESSE SALINO EM *Ananas porteanus* Hort Veitch ex C. Koch

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.

ORIENTADORA:

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

EXAMINADORES:

Prof^a. Dra. Tânia Maria de Sarmiento da Silva
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. João Rufino
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Hélio Cabral
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dra. Terezinha Rangel Camara (suplente)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

RECIFE
AGOSTO - 2009

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

-Ao 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

-Aos meus co-orientadores pela disponibilidade e dedicação.

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

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

- Aos professores 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 UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco em especial ao Programa de Pós-graduação em Química, pela insigne formação acadêmica;

-Aos colegas de turma Cláudio, Isabel, José Torres e Paloma, pelos momentos de descontração e ajuda.

- 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

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Origem e característica da espécie <i>Ananas porteanus</i>.....	12
2.2. Definição e causas da salinidade.....	12
2.3 Efeitos da salinidade sobre as plantas.....	13
* Efeitos da salinidade sobre o crescimento.....	13
* Efeito da salinidade sobre o equilíbrio osmótico.....	15
* Efeitos oxidativos.....	17
* Absorção, transporte e extrusão de sódio e cloreto pela planta.....	18
* Interação sódio / potássio	19
* Relação entre os efeitos oxidativos e a integridade das membranas e clorofilas a e b.....	20
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
5. MANUSCRITO.....	31
Resumo.....	32
Abstract.....	33
Introdução.....	34
Parte Experimental.....	35
Resultados e Discussão.....	38
Conclusão.....	43
Referências.....	44

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.....49

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.....49

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.....49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Valores percentuais referentes à integridade absoluta (PIA) e relativa (PIR) e ao dano (PD) da membrana na parte aérea de plantas de <i>Ananas porteanus</i> submetidas a 80 mM de NaCl.....	50
---	----

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 et al., 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 et al., 2005; Soares, 2002).

Diante do exposto o trabalho visa avaliar o efeito de diferentes concentrações salinas sobre o crescimento, a síntese de solutos orgânicos, o equilíbrio iônico (Na⁺, Cl⁻ e K⁺) e a atividade da peroxidase em *Ananas porteanus*.

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, 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) realização da fotossíntese via CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas) com a abertura dos estômatos, para a realização da fixação do CO₂ da fotossíntese, à noite (Bartholomew et al., 2002).

2.2 Definição e causas da salinidade

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 à condutividade elétrica igual ou superior a $4,0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ (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 $1.500.000 \text{ km}^2$ 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).

2.3 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 Na^+/K^+ .

- **Efeitos da salinidade sobre o crescimento**

O modelo bifásico de redução do crescimento, proposto por Munns e Termaat (1993), 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 et al., 2006).

- **Efeitos da salinidade sobre o 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 tem sido considerada um importante mecanismo de tolerância ao estresse salino e hídrico em plantas (Azevedo Neto et al., 2004). As funções osmóticas desses compostos são devidas, 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 e 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 dos carboidratos em resposta ao aumento da salinidade (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 imina ($R=NH$) 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 (Verbrugge & 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). O acúmulo 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, tanto pela redução da síntese protéica como pelo 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 frequente 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 (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 carotenoides 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 adaptabilidade a diversos ambientes (Engel & Poggiani, 1991, Carvalho, 1994).

- **Efeitos oxidativos**

O estresse salino acarreta danos oxidativos às células vegetais. As espécies reativas de oxigênio (ROS) são moléculas formadas durante funções metabólicas normais nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos ou induzidas por estímulos ambientais aos quais as plantas estão constantemente expostas (Éaux, 2007). As ROS são, sobretudo, subprodutos do metabolismo celular regular, mas podem ser geradas com alterações no sistema de transporte de elétrons durante condições de estresse. O principal ponto de produção de ROS na célula durante o estresse são as organelas com alta atividade de oxidação metabólica ou com fluxo de elétrons sustentado: cloroplastos e mitocôndrias. O fenômeno de fotorrespiração, nos peroxissomos, é outra forma de produção de ROS (Breusegem et al., 2001). As espécies reativas de oxigênio podem agir causando danos celulares ou como moléculas sinalizadoras que ativam múltiplas respostas de defesa. A predominância de uma destas funções depende da capacidade do controle da produção e sequestro das ROS (Gadjev et al., 2006). A sinalização para o mecanismo de desintoxicação das plantas, provavelmente, não ocorre devido às mudanças iônicas ou osmóticas, mas ao nível de ROS presente nas células (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).

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (Bravo, 1998). 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). Estão presentes nos vegetais na forma livre, ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (Croft, 1998). Os fenóis são compostos reconhecidos como potentes antioxidantes (Satué-Garcia et al., 1997). 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 et al., 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.

De uma maneira geral o estresse salino promove o aumento da atividade de várias enzimas do sistema oxidativo, entre elas a peroxidase. As peroxidases estão presentes em uma vasta gama de isoformas em diferentes tecidos das células e compartimentos celulares (Harborne, 1997). Essas enzimas são essenciais para a sobrevivência da planta ao estresse oxidativo, sendo responsável pelo sequestro do peróxido de hidrogênio (Jennifer & Greenberg, 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).

- **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., 2002). 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 está relacionada à capacidade de evitar seu transporte para a parte aérea e/ou de acumular esse ânion nos vacúolos (Maas, 1993).

As folhas, geralmente, 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 em função da transpiração (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 (Cabraia, 2005).

- **Interação sódio/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 proteica (Taiz & Zeiger, 2004).

- **Relação entre os efeitos oxidativos, integridade das membranas e clorofilas a e b**

Em concentrações altas, o Na^+ e outros íons tóxicos inibem fortemente muitas reações metabólicas e afetam a estrutura e permeabilidade da membrana plasmática alterando suas propriedades e funções. O estresse salino estimula a produção de ROS gerando o estresse oxidativo. As espécies citotóxicas de oxigênio são altamente reativas e podem causar danos a lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (Dionisio-Sese & Tobita, 1998).

A redução na concentração de clorofila é um dos efeitos primários da salinidade sobre a fotossíntese em plantas sensíveis ao estresse salino (Salama et al., 1994), além do efeito causado pelo fechamento dos estômatos e os efeitos diretos sobre processos bioquímicos e fisiológicos. Em plantas sujeitas ao estresse salino, nota-se um aumento na produção de radicais livres nos cloroplastos. Como a concentração de CO_2 diminui, como resultado do fechamento dos estômatos, há também redução na disponibilidade de $NADP^+$ que é acceptor de elétrons do fotossistema 1 (PS 1) e neste processo o O_2 torna-se o acceptor de elétrons resultando na produção de radicais livres. Esses radicais livres em excesso geram danos às membranas (Dionisio-Sese & Tobita, 1998).

É conhecido também que os cátions mono e divalentes associam-se as membranas plasmáticas e desempenham importantes papéis estruturais (Barber, 1982). O estresse salino altera a composição iônica do estroma afetando as cargas na superfície

da membrana tilacóide, além do próprio efeito do Na^+ , contribuindo para a sua desorganização (Salama et al., 1994). Em síntese todos os componentes dos fotossistemas, o transporte de elétrons na membrana e o gradiente de prótons entre o lúmen do tilacóide e o estroma, envolvido na produção de ATP são afetados pelo estresse oxidativo (Marcondes & Garcia, 2009).

3. 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, p. 1-53, 1999.

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.

BARBER, J. Influence of surface charges on thylacoide structure and function. **Annual Review of Psychology**, v.33, p.261-295, 1982.

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

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.

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

BOMFIM, V.G. **Efeitos de lâminas e frequências 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.

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, USA. **Fall Seminar**, 1990.

BREUSEGEM, F.V.; VRANOVÁ, E.; DAT, J.F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction . **Plant Science**, v. 161, p. 405-414, 2001.

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.

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, Cen-

tro 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.S.N.; ANDRADE, S.I.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.

DIONISIO-SESE, M.L.; TOBITA, S. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. **Plant Science**, v.135, p.1-9, 1998.

ÉAUX, B; TOLEDANO, M.B. Ros as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.8, p.813-824, 2007.

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.

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.

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. The place in engineering tolerance of rice to salinity. **Journal of Experimental Botany**, Oxford v. 51, n.8, p. 99-106, 2000.

FOREMAN, J; DEMIDCHIK, V; BOTHWELL, J.H.F; MYLONA, P; MIEDEMA, H; TORRES, M.A, 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.

GADJEV, I.; VANDERAUWERA, S.; GECHEV, T.S.; LALOI, C.; MINKOV, I.N.; SHULAEV, V.; APEL, K.; INZE, D.; MITTLER, R.; BREUSEGEM, F.V. Transcriptomic Footprints Disclose Specificity of Reactive Oxygen Species Signaling in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v.141, p.436-445, 2006.

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. M.; GREENBERG, J. T. 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.; RAO SREENATH; 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. 88 n. 3, p. 424-438, 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.

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.

MARCONDES, J.; GARCIA, A.B. Aspectos citomorfológicos do estresse salino em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). **Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 76, n. 2, p.187-194, abr./jun., 2009.

MASSER, P.; GIERTH, M.; SCHROEDER, J.I. 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 R.S, Nitrate reductase from rice seedlings: Partial purification, characterization and the effects of in-situ and in-vitro NaCl salinity. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, 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. 133 p. (Irrigation and Drainage Paper, 48).

RODRIGUES, I.M.C.; FERREIRA, F.A.; GROSSI, J.A.S.; BARBOSA, J.G.; PAULA, C.C.; REIS, M.R. Ocorrência de plantas daninhas no cultivo de bromélias. *Planta daninha*, Viçosa, v.25, n. 4, p. 727-733, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php>>. Acesso em: 16 Jan. 2009.

ROLLETSCHEK, H.; HARTZENDORF, T.H. Effects of salinity and convective rhizome ventilation on amino acid 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.

SALAMA, S.; TRIVEDI, S.; BUSHEVA, M.; ARAFA, A.A.; GARAB, G.; ERDEI, L. Effects of NaCl salinity on growth, cation accumulation, chloroplast structure and function in wheat cultivars differing in salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v.144, p.241-247, 1994.

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 proteolysis 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.

STREIT, N.M.; CANTERLE L.P.; CANTO, M.W.; HECKTHEUER, L.H.H. As Clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

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.

TRINDADE, A.R.; LACERDA, C.F.; FILHO, E.G.; PRISCO, J.T.; BEZERRA, M.A. Influência do acúmulo e distribuição de íons sobre a aclimatação de plantas de sorgo e feijão-de-corda, ao estresse salino, **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 10, n. 4, p. 804-810, 2006.

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. **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, J.M. 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.

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*, Hort Veitch ex C. Koch.

Bruna Santana da Silva Mendes*

Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 5217-900 Recife – PE, Brasil.

Terezinha Rangel Camara

Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife - PE, Brasil.

Lília Willadino

Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife - PE, Brasil.

***e-mail; lilia.willadino@bol.com.br**

RESUMO

As espécies ornamentais vêm se destacando no agronegócio brasileiro e entre elas enquadra-se a *Ananas porteanus*, o abacaxi ornamental. O Nordeste brasileiro, região com área propensa à salinização, é um grande produtor de plantas ornamentais tropicais. 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 80,0 mM de NaCl ou sem este sal, constituindo dois tratamentos. Foram analisadas variáveis de crescimento, teores de Na⁺, Cl⁻ e K⁺, proteínas solúveis totais, carboidratos solúveis totais, prolina, fenóis totais, atividade da peroxidase e danos na membrana celular. O tratamento salino reduziu a produção de biomassa que esteve associada ao aumento nos teores de Cl⁻ (230%) e Na⁺ (39%) e à redução no teor de K⁺ (38%) na parte aérea. Paralelamente observou-se redução no teor de carboidratos solúveis enquanto que o teor da prolina foi seis vezes superior ao controle. Em condições de salinidade a atividade da peroxidase (POD) foi duplicada e o teor de fenóis, que são oxidados pela POD, diminuiu. Esses fatores associados ao incremento de prolina foram importantes para que a percentagem de dano de membrana não alcançasse 20%. Os teores de clorofila “a” aumentaram em 15% sugerindo um papel protetor ao aparato fotossintético.

Palavras chave: abacaxi, salinidade.

PHYSIOLOGIC AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF THE SALINE STRESS IN

Ananas porteanus, Hort Veitch ex C. Koch.

ABSTRACT

The ornamental species are standing out in the Brazilian agribusiness and among them is the *Ananas porteanus*, the ornamental pineapple. The Brazilian Northwest, a region with a tendency to salinization, is a large producer of ornamental tropical plants. Studies on these plants' tolerance under saline conditions are important to usage on already salinized areas or in process of salinization. *A. porteanus* plants were cultivated during 90 days in sand washed and irrigated with a nutritive solution with 80,0 mM of NaCl or without this salt, constituting two treatments. Growth variables, Na⁺, Cl⁻ and K⁺ levels, total soluble proteins, total soluble carbohydrates, proline, total phenols, peroxidase activity and cellular membrane damage were observed. The saline treatment reduced biomass production that was associated with increase in Cl⁻ (230%) and Na⁺ (39%) levels and to reduction in K⁺ (38%) levels in the shoot. In parallel it was observed a reduction in soluble carbohydrate levels while the proline levels were six times higher than control. In saline conditions the peroxidase activity (POD) was doubled and the phenols levels, which are oxidized by POD, decreased. These factors associated to proline increase were important for not allowing the membrane to reach 20% damage. The levels of chlorophyll increased 15% pointing to a photosynthetic apparatus protector role.

Key words: pineapple, salinity.

Introdução

As bromeliáceas são plantas rústicas e de beleza exótica, apreciadas por consumidores do mundo inteiro como plantas ornamentais¹. A espécie *Ananas porteanus* Hort Veitch ex C. Koch, particularmente, apresenta potencial tanto no paisagismo como na produção de flor de corte². A região do Nordeste brasileiro apresenta condições edafoclimáticas favoráveis ao cultivo destas plantas. Nessa Região, entretanto, a ocorrência de áreas salinas vem aumentando gradativamente ao longo do tempo³.

O estresse salino pode provocar um conjunto de alterações deletérias⁴ devido ao efeito tóxico provocado pelos íons Na^+ e Cl^- como também em decorrência da diminuição da disponibilidade de água para a cultura, em função do baixo potencial osmótico do solo⁵. As respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas da planta à salinidade variam em função do genótipo e do estágio de desenvolvimento da planta. A intensidade e duração do estresse são fatores que também interferem no metabolismo das plantas⁶. A regulação da concentração e a compartimentalização dos íons tóxicos, a produção de osmoprotetores e a ativação de enzimas antioxidativas são mecanismos fisiológicos das plantas que favorecem a sobrevivência em ambientes salinos⁷.

O excesso de Na^+ no ambiente radicular afeta a integridade da membrana⁸ e favorece o acúmulo desse cátion no interior da célula podendo causar distúrbio na absorção de K^+ , aumento na relação Na^+/K^+ e redução do crescimento da planta⁹. Além do Na^+ , a absorção e o acúmulo do Cl^- sob condições salinas também pode resultar em efeitos tóxicos¹⁰. Para evitar toxicidade iônica no citoplasma o Na^+ e o Cl^- podem ser compartimentalizados no vacúolo das células das raízes e da parte aérea¹¹. A síntese de solutos orgânicos compatíveis no citoplasma é necessária para restabelecer o equilíbrio osmótico celular, rompido pelo excesso de sais no meio externo e pela

compartimentalização iônica no vacúolo¹². Entre os solutos orgânicos destacam-se a prolina, glicinabetaína e alguns carboidratos¹³. A prolina, além de osmorregulador, atua favorecendo o equilíbrio redox em células estressadas¹⁴. É provável que de fato haja mais de uma função para um osmólito em particular e dentre essas funções destaca-se o papel na prevenção da produção de radicais livres ou no sequestro de espécies reativas de oxigênio (ROS: íon superóxido, peróxido de hidrogênio e os radicais hidroxila e peroxila)¹⁵. Para evitar o acúmulo de ROS geradas sob condições de estresse, como o salino, as plantas desenvolveram um eficiente mecanismo de defesa antioxidativo do qual participam alguns enzimas, dentre as quais as peroxidases (POD), que são consideradas marcadores de estresse¹⁶. As POD são óxido-redutases capazes de catalisar a transferência do hidrogênio de um doador de elétrons, diferente do ascorbato, para o H₂O₂¹⁷. O presente trabalho visou avaliar os mecanismos de tolerância do *A. porteanus* submetido ao estresse salino utilizando parâmetros fisiológicos e bioquímicos.

Parte experimental

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, procedentes da Biofábrica 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 3,0 Kg, contendo areia lavada como substrato, seguida de uma camada de brita. As mudas foram regadas uma vez ao dia durante sete dias com a solução de Hoagland e Arnon¹⁸, (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. O acréscimo de sal foi feito

gradativamente, durante os 45 dias iniciais foi aplicada uma solução com 40 mM de NaCl 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. Ao final do experimento foram determinadas as variáveis: biomassa seca da parte aérea, 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 biomassa da matéria seca foi determinada após secagem das plantas em estufa de aeração a 70 °C, até peso constante, segundo Benincasa¹⁹.

A prolina foi determinada pelo método de Bates *et al.*²⁰. Utilizou-se o tolueno como branco. 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.

A determinação de carboidratos foi efetuada pelo método de Yemm & Willis²¹. O teor de glicose foi obtido utilizando-se uma curva padrão com concentrações conhecidas de glicose (20, 40, 60, 80 e 100 mgL⁻¹).

Os fenóis totais foram determinados de acordo com método de Folin-Dennis²², utilizou-se uma curva padrão com concentrações conhecidas de ácido tânico (0, 25, 50, 75, 100 e 200 mgL⁻¹).

A dosagem de proteínas solúveis foi realizada seguindo o método de Bradford²³. O teor protéico da amostra foi expresso em mg de proteína.g⁻¹ de matéria fresca.

A quantificação da clorofila “a”, “b” e total foi realizada segundo metodologia de Arnon²⁴ (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.

Para determinação da atividade da peroxidase foram macerados 0,05g tecido vegetal fresco, em nitrogênio líquido acrescido 0,1 mol.L⁻¹ (pH 6,5) de tampão fosfato. O extrato foi centrifugado a 8.000 x g a 4°C por 15 minutos. A atividade específica da enzima peroxidase (POD) foi medida no sistema de reação com 1,35 mL guaiacol 15 mmol.L⁻¹, peróxido de hidrogênio 3 mmol.L⁻¹ e 0,1 mL de extrato enzimático. A variação da absorvância no intervalo de um minuto foi lida em espectrofotômetro, a 470 nm. Os resultados foram expressos em U. min⁻¹. mg⁻¹ proteína. g⁻¹ massa fresca, de acordo com a metodologia adaptada de Fatibello-Filho & Vieira²⁵.

A percentagem da integridade das membranas foi estimada pelo extravasamento de eletrólitos, segundo adaptação da metodologia de Pimentel *et al.*,²⁶. Segmentos foliares contendo 0,03 g de tecido fresco permaneceram em tubos de ensaio, imersos em 15 mL de água destilada por 24 horas, sendo realizada a primeira leitura, a condutividade livre (L1). Em seguida, os tubos de ensaio permaneceram em banho-Maria por uma hora a 100°C, quando foi realizada a segunda leitura, a condutividade 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: $PIA \text{ de plantas sob estresse} / PIA \text{ de plantas controle}$.

Os teores de Na⁺ e K⁺ foram determinados a partir da matéria seca da terceira folha completamente expandida, a contar do ápice da planta. As determinações analíticas de sódio e potássio foram feitas por fotometria de chama conforme descrito

por Malavolta et al.,²⁷. Para a determinação de cloreto foi empregada a titulometria do nitrato de prata pelo método de Mohr, segundo Malavolta et al.,²⁷.

Foi utilizado o desenho experimental inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por uma planta por vaso. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o programa ASSISTAT²⁸.

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 e do teor de clorofila que não diferiu entre plantas tratadas com solução nutritiva acrescida de NaCl e plantas que não receberam NaCl (Tabelas 1, 2 e 3).

Observou-se redução na produção de biomassa nas plantas submetidas ao tratamento salino (Tabela 1). A diminuição na biomassa foi acompanhada pelo acúmulo dos teores dos íons cloreto (Cl^-) e sódio (Na^+), apresentando uma correlação negativa altamente significativa ($r = -0,8704$ e $r = -0,7996$, respectivamente).

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^{29,30}. 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. As elevadas concentrações de Na^+ e Cl^- podem provocar desequilíbrio nutricional nas plantas, sendo frequente a deficiência de íons como potássio³¹. 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^+ pode 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.

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 resposta típica 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 salinidade³² em várias espécies. A concentração de prolina (PRO) 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 proteica, como também constatado por outros autores com *Vigna unguiculata*³³. A acumulação de PRO pode ocorrer por meio do incremento de sua síntese e/ou inibição do seu catabolismo³⁴ sendo frequentemente um mecanismo de tolerância ao estresse³². 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 situações³⁵. Por outro lado a prolina atua protegendo as células de espécies reativas de oxigênio uma vez que em sua síntese, a partir do glutamato, ocorrem duas reações de redução às custas de NADPH, primeiro na formação de glutamato semi-aldeído e posteriormente na redução da P5C (pirrolina 5-carboxilato) à prolina. Portanto a síntese de prolina fornece NADP que será receptor de elétrons no fotossistema 1³⁶, evitando que esses elétrons reduzam o O₂ levando a geração de $\cdot\text{O}_2^-$ e H₂O₂ processo conhecido como Reação de Meller (Halliwell³⁷).

No que se refere ao acúmulo de proteínas solúveis, sabe-se que muitas plantas têm a síntese proteica estimulada quando submetidas a condições salinas³⁸. Strogonov³⁹ constatou uma maior concentração de proteínas em plantas de milho submetidas à salinidade. De acordo com ele, as plantas tolerantes ao sal mantêm a síntese proteica sob condições salinas, mas as plantas suscetíveis não o fazem.

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^{40,41} e ervilha⁴² 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. Segundo Strogonov³⁹, 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 foi reduzido à metade quando comparado às plantas do tratamento controle (Tabela 2). O menor teor de fenóis pode ser decorrente, em parte, do aumento da atividade da POD que utiliza principalmente compostos fenólicos como doadores de elétrons para reduzir o peróxido de hidrogênio⁴³. A propriedade redutora dos fenóis na neutralização e/ou sequestro de radicais livres foi comprovada por diversos pesquisadores^{45,46,47}. 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 NaCl⁴⁸. 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 salinidade⁴⁹. 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^{50,51}. O aumento no teor dos compostos fenólicos em plantas de cana-de-açúcar submetidas a tratamento salino ocorreu apenas nos genótipos tolerantes à salinidade⁵⁰. 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 NaCl⁵¹, concentração salina adequada a uma halófito. Embora reconhecidamente os compostos fenólicos solúveis sejam poderosos antioxidantes em tecidos vegetais sujeitos a estresse⁴⁵, as modulações nos níveis fenólicos sob condição de estresse abiótico ainda precisam ser melhor estudadas⁵⁰.

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^{52,53}. 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 hídrico⁵⁴. 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 fotossintético⁵⁴. 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 no conteúdo total de clorofila.

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 membrana⁵. Vários estudos sugerem que a membrana plasmática é o principal local de injúria pelo sal⁵⁵. O decréscimo na estabilidade da membrana reflete a extensão da peroxidação de lipídios causados por espécies reativas de oxigênio (ROS)⁴². O radical superóxido (O_2^-), além de outras espécies químicas altamente reativas como o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), o radical hidroxila (OH^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são capazes de iniciar a peroxidação lipídica⁵⁶. Variedades de trigo⁵⁷ e canola⁵⁸ cultivadas sob estresse salino apresentam danos na membrana celular. Em canola a variedade

considerada mais tolerante à salinidade apresentou um aumento de 10% na permeabilidade membranar quando submetida a 150 mM de NaCl por 30 dias⁵⁸. Neste trabalho com *A. porteanus*, a percentagem de integridade absoluta (PIA) da membrana caiu em 6,18% em relação ao controle, sugerindo uma boa capacidade de manutenção da estrutura membranar nas plantas submetidas a 80 mM de NaCl. Ashraf e Ali⁵⁸ 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 queda relativamente pequena na integridade da membrana.

Conclusão

As alterações metabólicas ocorridas nas plantas de *A. porteanus* submetidas ao tratamento com cloreto de sódio (NaCl) possivelmente contribuíram para a manutenção da integridade da membrana a níveis próximos daqueles encontrados nas plantas cultivadas sem NaCl. Destaca-se neste contexto a maior atividade da peroxidase. O incremento nos teores de prolina e proteínas parece ser também uma das estratégias para fazer frente aos danos gerados pelo excesso de sal. O incremento nos teores de clorofila, por sua vez, pode ser resultado da ativação de um mecanismo de proteção ao aparato fotossintético. Por outro lado os carboidratos solúveis aparentemente não são os osmólitos utilizados para ajuste do potencial osmótico em plantas submetidas a 80mM de NaCl.

Referências

1. Bonfim, V. G.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2006.
2. Borges, N.S.S.; Correia, D.; Rossetti, A.G.; *Rev. Bras. Hort. Ornamental*. **2003**, 9, 37.
3. 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.
4. Xiong, L.; Zhu, J.; *Plant Cell Environ*. **2001**, 25, 131.
5. Hasegawa, P.M.; Bressan, R.A.; Zhu, J.K. & Bohnert, H. J.; *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*. **2000**, 51, 463.
6. Willadino, L.; Camara, T.R.; In *Ecofisiol. Veg, Una ciencia de síntesis* Reigosa, M.J.; Pedrol, N.; Sánchez, A., ed.; Editora Thomsom. **2004**, p. 303.
7. Brilhante, J.C.A; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2006.
8. Cramer, G.R.; Lauchli, A.; Polito, V.S.; *Plant Physiol*. **1985**, 79:207-211.
9. Epstein, E.; *Science*. **1998**, 40,1906.
10. Xu, G.; Magen, H.; Tarchitzky, J.; Kafkafi, V.; *Adv. Agron*. **2000**, 68: 96-150.
11. Munns, R.; Husain, S.; Rivelli, A.R.; James, R.A.; Condon, A.G.T.; Lindsay, M.P.; Lagudah, E.S.; Schachtman, D.P.; Hare, R.A.; *Plant Soil*. **2002**, 247, 93.
12. Rontein D, Basset G, Hanson AD.; *Metab. Eng*. **2002**, 4, 49.

13. Volkmar, K.M., Y. Hu, and H. Steppuhn.; *J. Plant Sci.* **1998**, 78, 19; Ashraf, M., Harris, P.J.C.; *Plant Sci.* **2004**, 166, 3.
14. Verbruggen, N.; Hermans, C.; *Amino Acids.* **2008**, 35, 753.
15. Niyogi, K.; *Ann. Rev. Plant Mol. Biol.*, **1999**, 50, 333.
16. Lima, G.P.P.; Brasil, O.G.B.; Oliveira, A.M.; *Sci. Agric.* **1999**, 56.
17. Bor, M.; Ozdemir, F.; Türkan, I. L.; *Plant Sci.* **2003**.164, 77.
18. Hoagland, D.R.; Arnon, D.I.; California Agricultural Experiment Station. **1950**, 347, 3.
19. Benincasa, M.M.P. *Análise de crescimento de plantas* ; FUNEP, São Paulo, **2003**, 41.
20. Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, I.D.; *Plant Soil, Dorderecht.* **1973**, 39, 205.
21. Yemm, E.W.; Willis, A. J.; *Biochem. J.* **1954**, 57, 508.
22. Waterman, P.G.; Mole, S. ; *Sci. Public.*, **1994**.
23. Bradford, M.M.; *Anal. Biochem.* **1976**, 72, 248.
24. Arnon, D.I.; *Plant Physiol.* **1949**, 24, 1.
25. Fatibello-Filho, O.; Vieira, I.C.; *Quim. Nova.* **2002**, 25, 455.
26. Pimentel, C.; Sarr, B.; Diouf, O.; Abboud, A.C.S.; Roy-Macauley, H.; *Rev. Univ. Rural, Série Ciências da Vida.* **2002**, 7, 14.
27. Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A.; *Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e aplicações.* **1989**, 201p.
28. Silva, F.A.S.; Azevedo, C.A.V.; *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais.* **2002**, 4, 71.

29. Lauchli, A. In: Staples, R.C., Toenniessen, G.H. (Eds.), *Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement*. Wiley, New York, **1984**, 171.
30. Storey, R.; Walker R.R.; *Sci. Hortic.* **1999**, 78, 39.
31. Lauchli, A.; Epstein, E. In: Tanji, K.K. (ed), *Agricultural Salinity Assessment and Management*. ASCE, **1990**, 113.
32. Jaleel, C.A.; KishorekumaR A.; Manivannan, P.; Sankar, B.; Panneerselvam R. *C. R.; Biol.* **2007**, 330, 674.
33. Costa, P.H.A.; Silva J.V.; Bezerra, M.A.; Enéas-Filho J.; Prisco J.T.; Gomes Filho, E.; *Rev. Bras. Bot.* **2003**, 26, 289.
34. Azooz, M.M.; Shaddad, M.A.; Abdel-Latef, A.A.; *Indian. J. plant physiol.* **2004**, 1.
35. Storey, R.; Wyn Jones, R.G.; *J. Plant Physiol.*, **1978**, 831.
36. Lehninger, A L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Principles of Biochemistry*, 2. ed. New York: Worth Publishers, 1993, cap.
37. Halliwell B. In: *The toxic effects of oxygen on plant tissues*; L.W. Oberley ed.; CRC Press, **1982**, 89.
38. Sen, D.N.; Kasera, P.K. Mohammed, S. Em *Biology and Physiology of Saline Plants*; Pessaraki, M. ed.; *Handbook of Plant and Crop Physiology*, New York, Marcel Dekker, 2002, 563.
39. Strogonov, B.P. *Physiological Basis of Salt Tolerance of Plants*. Traduz do Russo por A.Poljakoff. Mayber & A. M. Mayer. Israel Prog. Scient. Transl. Ltd., Jerusalém, Israel, **1964**, 279.
40. Meneguzzo, S.; Navari-Izzo, F.; Izzo, R.; *J. plant physiol.* **1999**, 155, 274.

41. Sairam, R.K.; Rao, K.V.; Srivastava, G.C.; *Plant Sci.* **2002**, 163, 1037.
42. Hernandez, J.A.; Campillo, A.; Jimenez, A.; Alacon, J.J.; Sevilla, F.; *New Phytol.* **1999**, 141, 241.
43. Gara, L.; *Phytochem. Rev.* **2004**, 3, 195.
44. Sousa, C.M.M.; Silva, H.R.; Vieira J.R.; 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.; Chaves, M.H.; *Quím. Nova.* **2007**, 30, 351. 1
45. Sgherri, C.; Stevanovic, B.; Izzo Navari-Izzo, F.; *Physiol. Plant.* **2004**, 122, 88.
46. Andreo, D.; Jorge, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. Boletim. CEPPA, Curitiba. **2006**, 24, 319.
47. Roesler, R.; Malta, L.G.; Carrasco, L.C.; Holanda, R.B.; Sousa, C.A.S.; Pastore, G.M.; *Ciênc. Tecn. Alim.* **2007**, 27, 53.
48. Kim, H.J.; Fonseca, J.M.; Choi, J.H.; Kubota, C.; Kwon, D.Y.; *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 3772.
49. Navarro, J.M.; Flores, P.; Garrido, C.; Martinez, V.; *Food Chem.* **2006**, 66.
50. Wahid, A.; Ghazanfar, A.; *J. Plant Physiol.* **2006**, 163, 723.
51. Ksouri, R.; Megdiche, W.; Debez, A.; Falleh, H.; Grignon C.; Abdelly C.; *Plant Physiol. Biochem.* **2007**, 45, 244.
52. Agastian, P.; Kingsley S.J.; Vivekanandan M.; *Photosynthetica.* **2000**, 38, 287.
53. Parida, A.K.; Das, A.B.; *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2005**, 60, 324.
54. García-Valenzuela, X.; Garcia-Moya, E.; Cruz, Q.R.; Herrera-Estrella, L.; *J. Plant Physiol.* **2005**, 162, 650.

55. Mansour, M.M.F.; *Plant Physiol. Biochem.* **1998**, 36, 767.
56. Mittler, R.; *Trends Plant Sci.* **2002**, 7, 405.
57. Farooq, S.; Azam, F.; *J. plant physiol.* **2006**, 163, 629.
58. Ashraf, M.; Ali, Q.; *Environ. Exp. Bot.* **2008**, 63, 266.

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	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺ / K ⁺
		mg.Kg ⁻¹	g.Kg ⁻¹		
0 (controle)	7,3961a	4,32b	1,11b	4,14a	0,28b
80	3,8911b	14,28a	1,54a	2,57b	0,59a
CV (%)	18,05	10,43	8,08	14,48	10,23

59. 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.

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	CHO	Prot. sol.	Fenóis	POD
	µg.g ⁻¹ mat. fr	µg.g ⁻¹ mat. fr	mg.g ⁻¹ mat. fr	mg.g ⁻¹ mat. fr	U.min ⁻¹ .mg ⁻¹ prot.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.

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	Clor b	Clor a/Clor b	Clor Total
	mg.g ⁻¹ mat. fr	mg.g ⁻¹ mat. fr		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	10,9

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.

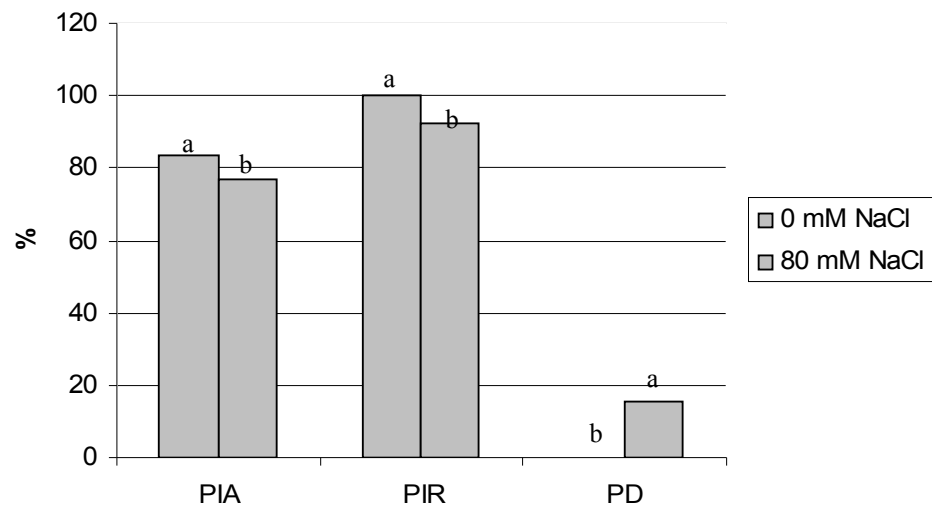


Figura 1 – Valores percentuais referentes à integridade absoluta (PIA) e relativa (PIR) e ao dano (PD) da membrana na parte aérea de plantas de *A. porteanus* submetidas a 80 mM de NaCl.