

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS VEGETAIS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

MÔNICA DANIELLY DE MELLO OLIVEIRA

**INDICADORES DE ESTRESSE SALINO EM  
FAVELEIRA [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.)  
Pax et K. Hoffm], ESPÉCIE PROMISSORA PARA  
PRODUÇÃO DE BIODIESEL.**

**MOSSORÓ, RN**

**JUNHO 2012**

MÔNICA DANIELLY DE MELLO OLIVEIRA

**INDICADORES DE ESTRESSE SALINO EM FAVELEIRA  
[*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm], ESPÉCIE  
PROMISSORA PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL.**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Agronomia: Fitotecnia.

Orientadora: Profa Dra. CRISTIANE ELIZABETH COSTA DE MACÊDO

MOSSORÓ-RN

2012

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e catalogação da Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFERSA**

O48i Oliveira, Mônica Danielly de Mello.

Indicadores de estresse salino em faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm.], espécie promissora para produção do biodiesel. / Mônica Danielly de Mello Oliveira. -- Mossoró, 2012.

121 f.: il.

Tese (Doutorado Fitotecnia) Área de Concentração: Agricultura tropical – Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

Orientador(a): Profa. Dra. Cristiane E. C. de Macêdo.

Co-orientador(a): Prof. Dr. Eduardo Luiz Voigt.

1. Ajustamento osmótico. 2. Deficiência hídrica. 3. Resposta Antioxidante. 4. Salinidade. I. Título.

CDD: 631.82

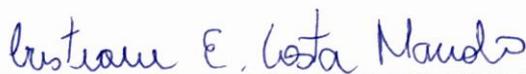
Bibliotecária: Vanessa de Oliveira Pessoa  
CRB15/453

MÔNICA DANIELLY DE MELLO OLIVEIRA

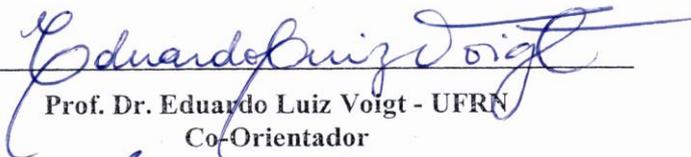
**INDICADORES DE ESTRESSE SALINO EM FAVELEIRA  
[*Cnidocolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm], ESPÉCIE  
PROMISSORA PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL.**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Agronomia: Fitotecnia.

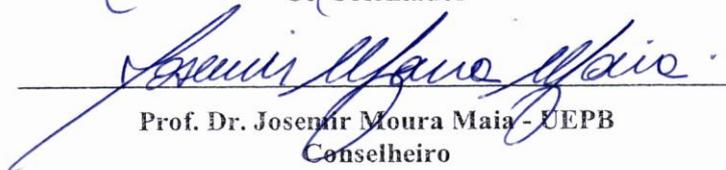
APROVADA EM: 27/06/2012



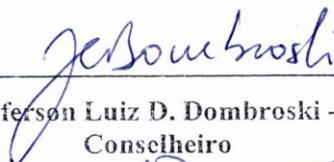
Prof. Dra. Cristiane Elizabeth C. de Macêdo - UFRN  
Orientadora



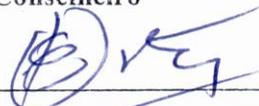
Prof. Dr. Eduardo Luiz Voigt - UFRN  
Co-Orientador



Prof. Dr. Josemir Moura Maia - UEPB  
Conselheiro



Prof. Dr. Jeferson Luiz D. Dombroski - UFERSA  
Conselheiro



Prof. Dr. Eduardo Ortega - University of Havana, CUBA  
Conselheiro

*“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza dos seus  
sonhos”*

**Eleanor Roosevelt**

**Ao DEUS eterno e todo poderoso.**

“A fé em Deus nos faz crer no incrível, ver o invisível e realizar o que muitas vezes parece ser impossível.”

**OFEREÇO.**

À minha Mãe THEREZINHA PORTELLA

Melhor do que todos os presentes. Mãe, você é a luz da minha vida!  
Obrigada pelo amor incondicional, pelas orações, confiança e  
carinho de sempre.

Aos meus amigos,

Pelo carinho, incentivo e apoio  
sempre.

Acreditar sempre! Por mais difíceis que sejam os momentos.  
“Somos exatamente aquilo que queremos ser”!

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido e ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia pela oportunidade de realização do Curso de Doutorado; à CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

À Profa. Dra. Cristiane Macêdo, minha orientadora. Sem o seu apoio, incentivo e paciência, nada disso seria possível. Obrigada pela confiança;

Ao Prof. Dr. Josemir Moura Maia pelo profissionalismo, caráter e orientações;

À UFRN pelas instalações e aos funcionários do Departamento de Genética e Biologia Celular pela colaboração, Prof. Dr. Eduardo Luiz Voigt pelas contribuições na finalização desse trabalho;

Aos amigos Cibolley, Lisiane, Jussiara, Juliana, Maraísa, Diego, Yuri e Yugo, a vocês todo o meu carinho por todos os momentos de aprendizado que esta convivência nos deu. Em especial às minhas amigas Andréia Amariz, Paulineia Andrezza e Thalita Passos, sem vocês eu não teria chegado até aqui, a vocês todo o meu amor por todos os momentos felizes e por todo o apoio nos momentos de dificuldade; vocês são presentes enviados por Deus;

E a todos os demais colegas de LaBioTec e UFERSA que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

## RESUMO

OLIVEIRA, Mônica Danielly de Mello. **Indicadores de estresse salino em faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm], espécie promissora para produção de biodiesel.** 2012. 121p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN.

O objetivo desse trabalho foi observar algumas respostas fisiológicas e bioquímicas de faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] sob salinidade, avaliando a extensão com que os íons salinos e solutos orgânicos são acumulados e distribuídos, em diferentes órgãos da planta; e avaliar a resposta oxidativa não enzimática e enzimática na mesma. Para tanto, plantas de faveleira com 45 dias de idade foram cultivadas em solução nutritiva contendo 0; 50; 100 e 150 mM de NaCl em casa de vegetação. Após 8 dias de estresse, as plantas foram coletadas e separadas em raízes, xilopódio, caule; folhas basais, medianas e apicais. Foram determinados crescimento, conteúdo relativo de água, percentual de umidade, osmólitos inorgânicos e orgânicos, vazamento de eletrólitos (VE), peroxidação lipídica (PL), ascorbato total (ASC), conteúdo de pigmentos fotossintéticos, atividades de superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e peroxidase de fenóis (POX). A salinidade reduziu a massa seca de todas as partes da planta, porém os indicadores de estado hídrico foram mantidos. A imposição do estresse salino aumentou o conteúdo de Na<sup>+</sup> nas diferentes partes da planta, especialmente no xilopódio, aumentando cerca de 8 vezes, enquanto o conteúdo de K<sup>+</sup> diminuiu em aproximadamente 40% em raízes e xilopódio sob NaCl 150 mM. Em consequência, a relação K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> foi reduzida em todas as partes da planta. Em plantas tratadas com sal, o conteúdo de açúcares solúveis totais aumentou em raízes, caule e folhas e o conteúdo de proteínas solúveis foi incrementado em todos os órgãos. Em adição, o conteúdo de aminoácidos livres totais foi aumentado em raízes, caule e folhas apicais, enquanto o conteúdo de prolina aumentou em todos os órgãos, exceto no xilopódio. O aumento da concentração de NaCl causou maior VE em raízes, folhas medianas e apicais. A salinidade aumentou a PL em todos os órgãos, especialmente sob NaCl 150 mM, exceto em raízes. Os extratos foliares acumularam cerca de 90% do conteúdo total de ascorbato da planta. A salinidade alterou o conteúdo dos pigmentos fotossintéticos. A atividade das SODs decresceu em raízes, xilopódio e caule; e aumentou nos extratos foliares. A atividade das APXs aumentou em folhas apicais e raízes, decrescendo em xilopódio, caule, folhas basais e medianas. As POXs foram aumentadas em raízes, xilopódio, caule, folhas medianas e apicais, exceto em folhas basais. De acordo com os resultados, sugere-se que o xilopódio pode estar envolvido em mecanismos de exclusão e/ou compartimentalização em *C. phyllacanthus* sob salinidade para evitar a toxicidade iônica nas folhas. Embora o acúmulo de açúcares solúveis totais, proteínas, aminoácidos livres totais e prolina possam estar relacionados ao ajustamento osmótico de faveleira devido ao déficit hídrico, é possível que a acumulação destes solutos tenha ocorrido em decorrência de distúrbios metabólicos promovidos pela salinidade. A favela apresentou sensibilidade aos efeitos da salinidade.

Provavelmente, devido a um maior efeito iônico que osmótico. A faveleira apresenta um complexo sistema de defesa enzimático e não enzimático representado pelas antocianinas, carotenóides, ascorbato e atividades de APX e POX em resposta ao estresse salino.

**Palavras-chaves:** Ajustamento osmótico. Deficiência hídrica. Pigmentos fotossintéticos. Resposta antioxidante. Salinidade. Toxicidade iônica.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Mônica Danielly de Mello. **Indicators of salt stress in faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm], a promising species for biodiesel production.** 2012. 121p. Thesis (Doctorate in Plant Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN.

The aim of this work was to observe some physiological and biochemical responses of *Cnidoscolus phyllacanthus* under salt stress, evaluating the extension in which ions and organic solutes are accumulated and distributed in different plant organs; and the oxidative enzymatic and nonenzymatic response. *C. phyllacanthus* plants were grown in nutrient solution containing 0; 50; 100 and 150 mM NaCl at a greenhouse. After 8 days of stress, plants were harvested and separated in roots, xylopodium, stem; basal, middle and apical leaves. It was determined plant growth, relative water content, moisture percentage, inorganic and organic osmolytes, electrolytes leakage (EL), lipid peroxidation (LP), ascorbate (ASC), content of photosynthetic pigments, activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and guaiacol peroxidase (POX). Salinity reduced the dry mass of all plant parts while the water status indicators were maintained. The imposition of salt stress increased the Na<sup>+</sup> content in different plant parts, especially in the xylopodium, increasing about 8-fold, while the K<sup>+</sup> content decreased approximately 40% in roots and xylopodium under NaCl 150 mM. As a consequence, the K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio was decreased in all plant parts. In the salt-treated plants the content of total soluble sugar was increased in roots, stem and leaves and the soluble protein content was enhanced in all organs. In addition, the content of total free amino acids was increased in roots, stem and apical leaves, while the content of proline was increased in all organs, except in the xylopodium. The salinity increased the LP in all organs, especially under 150 NaCl mM, except in roots. Leaf extracts accumulated about 90% of ASC content of the plant. Salinity changed the photosynthetic pigments content. The activity of SOD was decreased in roots, xylopodium and stem; and increased in leaf extracts. The APX activity increased in apical leaves and roots; decreasing in xylopodium, stem, basal and middle leaves. The POX activity was increased in roots, xylopodium, stems, middle and apical leaves, except in basal leaves. According to these results, it is suggested that the xylopodium could be involved in mechanisms of Na<sup>+</sup> exclusion and/or compartmentalization in *C. phyllacanthus* under salinity to avoid ionic toxicity in the leaves. Although the accumulation of soluble sugars, total protein, total free amino acids and proline could be related to osmotic adjustment of faveleira due to water deficit, it is possible that the accumulation of these solutes have occurred as a result of metabolic disorders promoted by salinity. The favela

presented sensibility to the salinity effects. *C. phyllacanthus* presents a complex system of enzymatic and nonenzymatic defense, represented by anthocyanins, carotenoids, ascorbato, APX and POX in response to salt stress.

**Key words:** Osmotic adjustment. Water deficiency. Photosynthetic pigments. Antioxidant response. Salinity. Ion toxicity.

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I

---

<b>Tabela 1.</b>	<i>Massa seca em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.</i>	61
<b>Tabela 2.</b>	<i>Indicadores de estresse hídrico em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.</i>	62
<b>Tabela 3.</b>	<i>Conteúdo de solutos inorgânicos em raízes, xilopódio, caule, folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.</i>	64
<b>Tabela 4.</b>	<i>Conteúdo de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> multiplicados pela Massa seca total de raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.</i>	65
<b>Tabela 5.</b>	<i>Conteúdo de Açúcares Solúveis Totais em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.</i>	66
<b>Tabela 6.</b>	<i>Conteúdo de solutos orgânicos em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.</i>	78
<b>Tabela 7.</b>	<i>Contribuição de solutos orgânicos em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.</i>	79

## LISTA DE FIGURAS

### *Revisão bibliográfica*

---

<b>Figura 1.</b>	<i>Representação esquemática das principais fontes de ROS e dos principais mecanismos enzimáticos envolvidos na eliminação do poder tóxico das ROS.</i>	30
<b>Figura 2.</b>	<i>Porte arbustivo da faveleira com espinho.</i>	33
<b>Figura 3.</b>	<i>Folhas de faveleira com espinho, apresentando exsudação de seiva.</i>	34

### *Capítulo I*

---

<b>Figura 1.</b>	<i>Sintomas de toxicidade em folhas de faveleira expostas a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM) durante 8 dias.</i>	58
<b>Figura 2.</b>	<i>Parâmetros de crescimento avaliados em faveleira submetida a diferentes concentrações salinas (controle, 50, 100 e 150 mM de NaCl) durante oito dias.</i>	60

### *Capítulo II*

---

<b>Figura 1.</b>	<i>Dano de membrana (A) e Peroxidação lipídica (B) em faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM), durante 8 dias.</i>	98
<b>Figura 2.</b>	<i>Ascorbato total em faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM), durante 8 dias.</i>	99
<b>Figura 3.</b>	<i>Clorofila total (A), Clorofila A (B) e Clorofila B (C) em faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM), durante 8 dias.</i>	101
<b>Figura 4.</b>	<i>Antocianinas (A) e Carotenóides (B) em faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM), durante 8 dias.</i>	103

**Figura 5.** *Dismutase de Superóxido (A), Peroxidase de ascorbato (B) e Peroxidase de fenóis (C) em faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM), durante 8 dias.* 108

## SUMÁRIO

### Revisão Bibliográfica

---

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b>	16
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	
2.2. Aspectos gerais da salinidade	19
2.2.1 Definição e causas	19
2.2.2 Extensão da salinidade nos solos	20
2.2.3 Influência do excesso de sais do solo na planta	21
2.2.3.1 Alterações no crescimento	21
2.2.3.2 Alterações iônicas	22
2.2.3.3 Alterações bioquímicas	23
2.2.3.4 Danos oxidativos	25
2.2.4 Mecanismos de tolerância das plantas à salinidade	26
2.2.4.1 Tolerância aos efeitos osmóticos	27
2.2.4.2 Tolerância aos efeitos iônicos	28
2.2.4.3 Tolerância aos danos oxidativos	29
2.2.5 Faveleira [ <i>Cnidoscopus phyllacanthus</i> (M. Arg.) Pax et K. Hoffm]	32
2.2.5.1 Descrição da planta	33
2.2.5.2 Potencialidades de uso	35
<b>REFERÊNCIAS</b>	37

### *CAPÍTULO I Respostas fisiológicas e bioquímicas de Faveleira [*Cnidoscopus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] ao estresse salino*

---

<b>RESUMO</b>	49
<b>ABSTRACT</b>	50
<b>INTRODUÇÃO</b>	51
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	
Material vegetal e condições experimentais	54
Efeito da salinidade no crescimento das plantas e os indicadores de estresse hídrico	55
Determinação do conteúdo de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> e relação K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>	56
Determinação dos solutos orgânicos	56
Delineamento experimental	58
<b>RESULTADOS</b>	
Efeito da salinidade no crescimento das plantas e os indicadores de estresse hídrico	58
Conteúdo de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> e relação K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup> em faveleira	62
Conteúdo de solutos orgânicos em faveleira	68

<b>DISCUSSÃO</b>	69
<b>CONCLUSÃO</b>	77
<b>REFERÊNCIAS</b>	78

**CAPÍTULO II *Defesa antioxidativa em faveleira [Cnidoscolus phyllacanthus (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] sob salinidade***

---

<b>RESUMO</b>	88
<b>ABSTRACT</b>	89
<b>INTRODUÇÃO</b>	90
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	
Material vegetal e condições experimentais	92
Danos de membranas	93
Peroxidação de lipídeos	93
Ácido ascórbico	94
Pigmentos fotossintéticos	94
Preparo do extrato enzimático e atividades enzimáticas	95
Delineamento experimental	96
<b>RESULTADOS</b>	
Efeito da salinidade sobre o sistema de membranas celulares	96
Efeito da salinidade sobre o sistema de defesa não enzimático	99
Efeito da salinidade sobre o sistema de defesa enzimático	104
<b>DISCUSSÃO</b>	106
<b>CONCLUSÃO</b>	112
<b>REFERÊNCIAS</b>	113
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	120

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

**INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Durantes séculos, a prática da agricultura em ambientes áridos e semiáridos é realizada em solos com alta salinidade. A salinidade é um dos fatores abióticos que causam estresses as plantas, as limitando em crescimento e produtividade (FLOWERS, 2004). Quase 100 milhões de hectares de solos cultivados são afetados pela alta salinidade (SZABOLCS, 1994; MONTEIRO, 2010). De acordo com dados da FAO (2008), no Brasil, embora a informação sobre as áreas salinizadas ainda não esteja bem definida, estima-se que 20 a 25 % das áreas irrigadas próximas aos rios e riachos intermitentes, principalmente nos solos aluviais, apresentam problemas de salinidade e/ou problemas de drenagem. Além dos solos salinos em áreas irrigadas, também existem grandes áreas afetadas por causas naturais no país (2,4% do total da área terrestre do Brasil).

Durante o efeito da salinidade nas plantas, determinados processos são danificados, tais como: síntese de proteínas, metabolismo de lipídios e fotossíntese. Uma das respostas iniciais é a redução da expansão da superfície foliar (WANG e NIL, 2000). Este efeito promove redução nas concentrações de carboidratos, que são a base necessária para o desenvolvimento celular (ESTEVEES e SUZUKI, 2008). Efeitos específicos do estresse salino no metabolismo de plantas, especialmente o envelhecimento de folhas, foram relacionados às atividades dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  em concentrações tóxicas (AL-KARAKI, 2000; MONTEIRO, 2010). Além disso, diversos danos oxidativos estão relacionados ao desequilíbrio iônico e ao estresse osmótico.

As plantas ampliaram seus mecanismos bioquímicos e moleculares para tolerar o estresse salino através de produtos e processos alternativos. Estes mecanismos atuam unidos (IVENGAR e REDDY, 1996; MELONI et al., 2004; SILVA et al., 2009). As estratégias bioquímicas utilizadas incluem acumulação ou exclusão seletiva de íons, controle da entrada de íons nas raízes e transporte para as folhas, compartimentalização de íons ao nível celular (vacúolos) e estrutural (folhas), síntese de osmólitos, alterações

nas vias fotossintéticas, modificações na estrutura de membrana, indução de enzimas antioxidantes e hormônios (ESTEVES e SUZUKI, 2008).

A habilidade das plantas em sobreviver sob condições salinas é importante para sua distribuição geográfica e para a agricultura nas regiões salinizadas. É necessário que se utilizem espécies que tolerem essa condição e, se possível, que sejam capazes de melhorar as características físicas e químicas deste solo, o que pode ser conseguido através do plantio de espécies arbóreas de crescimento rápido, tolerantes à salinidade (FARIAS, 2008). Espécies estas, de grande importância não só para melhorar as características do solo; como também para o homem, na indústria de alimentos (animal e humana), medicamentos e/ou cosméticos, mas também como matéria-prima na produção de biodiesel (BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007). No entanto, para que se obtenha sucesso, deve-se conhecer os efeitos da salinidade na espécie a ser empregada (FARIAS, 2008). O Nordeste brasileiro possui imensa diversidade de plantas oleaginosas que, na sua maioria, ainda precisam ser melhor estudadas, conservadas e, em alguns casos, preservadas.

Dentre estas espécies, está a faveleira, *Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm), dotada de grande resistência à seca, planta rústica e de rápido crescimento, podendo ser usada para composição de reflorestamento destinados à recuperação de áreas degradadas. A espécie apresenta potencial para exploração comercial, principalmente como planta forrageira, desde que não haja espinhos nas folhas além de utilização medicinal e alimentícia. Tentativas de torná-la uma planta cultivada em maior escala estão sendo implementadas (BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007). Com base nos resultados obtidos por Silva et al. (2007) e Conceição et al. (2007), o biodiesel do óleo da faveleira apresenta bons resultados para sua utilização como combustível.

Diante do exposto, o trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações salinas sobre o crescimento, a extensão com que os íons salinos e solutos orgânicos são acumulados e distribuídos, em diferentes órgãos da planta e a

resposta oxidativa enzimática e não enzimática em *Cnidoscolus phyllacanthus*. Trabalhos nessa área, com a citada espécie, são bastante escassos no Brasil e o país necessita concretizar estudos com culturas que apresentem potencial para subsidiar o crescimento socioeconômico, principalmente na região Nordeste.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.2 ASPECTOS GERAIS DA SALINIDADE

#### 2.2.1 DEFINIÇÃO E CAUSAS

O termo salinidade se refere à existência de níveis de sais solúveis no solo que possam prejudicar significativamente o rendimento das plantas cultivadas (RIBEIRO et al., 2007; MUNNS e TESTER, 2008). Os ambientes salinos são definidos pela elevada concentração de sais solúveis no solo ( $\geq 4 \text{ dS.m}^{-1}$  de condutividade elétrica), os quais podem ter origens tanto naturais como antropogênicas (WILLADINO e CÂMARA, 2004).

Dois tipos de salinização têm sido identificados (WILLIAMS, 1987), a primária e a secundária. A salinização primária é um processo natural onde ocorrem poucas chuvas, elevada evaporação e acumulação gradual de íons oriundos do intemperismo. Em contrapartida, a salinização secundária resulta de um evento antrópico ligado ao ambiente marinho (ESTEVES e SUZUKI, 2008).

A ocorrência de solos salinos, salino-sódicos e sódicos é comum nas regiões áridas e semiáridas em razão da baixa precipitação pluvial e alta taxa de evaporação (RUIZ et al., 2006). A evaporação e a transpiração removem água pura (sob forma de vapor) do solo e esta perda de água concentra solutos no solo. Outra forma de acúmulo de sais ocorre quando a água de irrigação contém uma alta concentração de solutos e não há possibilidade de descarregá-los em um sistema de drenagem, o que pode rapidamente alcançar níveis prejudiciais ao crescimento normal das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Atualmente, a salinização não é somente um problema para áreas continentais agrárias, mas também para áreas alagáveis costeiras, devido à entrada de água salgada e excessiva extração da água de rios para irrigação e usos urbanos. Estas alterações

provocadas pelo aumento na concentração de sais podem desencadear processos de competição e extinção das espécies ali viventes (ESTEVEES e SUZUKI, 2008).

As fontes de águas subterrâneas (poços) e superficiais (açudes de pequeno e médio portes e lagoas), utilizadas na região semiárida do Nordeste Brasileiro, apresentam elevada concentração salina, principalmente dos pequenos e médios reservatórios e aumenta durante o período seco, quando o volume da água é significativamente reduzido (AQUINO et al., 2007). A utilização de fontes de águas salinas também pode, dependendo de sua composição, alterar de forma negativa as propriedades físicas e químicas do solo (AQUINO et al., 2007).

### 2.2.2 EXTENSÃO DA SALINIDADE NOS SOLOS

A área total dos solos salinos é de 397 milhões de hectares e de solos sódicos é de 434 milhões de hectares, que não são necessariamente aráveis, mas abrangem toda área afetada pelo sal em nível mundial. Entre os 230 milhões de hectares de terras irrigadas no mundo, 45 milhões de hectares são afetados por sais (19,56%) (FAO, 2008).

No Brasil, embora a informação sobre as áreas salinizadas ainda não esteja bem definida, estima-se que 20 a 25 % das áreas irrigadas próximas aos rios e riachos intermitentes, principalmente nos solos aluviais, apresentam problemas de salinidade e/ou problemas de drenagem. Além dos solos salinos em áreas irrigadas, também existem grandes áreas afetadas por causas naturais no país (2,4 % do total da área terrestre do Brasil). De acordo com uma pesquisa realizada nos solos dos Estados da Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará, cerca de 9,1 milhões de hectares já são áreas salinizadas, o que corresponde a 9% da região analisada (FAO, 2008).

A crescente perda de terras para uso agrícola, por causa dos problemas de aridez e/ou salinidade torna difícil a tarefa de aumentar a produção alimentar, a fim de atender a demanda da população mundial (KOIWA et al., 2006).

### 2.2.3 INFLUÊNCIA DO EXCESSO DE SAIS DO SOLO NA PLANTA

#### 2.2.3.1 ALTERAÇÕES NO CRESCIMENTO

Ao longo dos últimos anos de estudo, os efeitos da salinização sobre o crescimento e distribuição de recursos nas plantas tem sido melhor compreendidos. A salinidade afeta o desempenho das plantas através de déficit de água, toxidez provocada por íons, desequilíbrio nutricional (MUNNS e TERMAAT, 1986) e indiretamente mediando competições interespecíficas (PENNINGGS e CALLAWAY, 1992). As consequências lesivas da elevada salinidade podem ser notadas na planta inteira, resultando em morte ou diminuição da produtividade (ESTEVES e SUZUKI, 2008).

Segundo Munns e Termaat (1986) inicialmente, o crescimento da planta é afetado pelos sais que estão no meio exterior e é regulado por sinalização proveniente da raiz, sobretudo pelo ácido abscísico (ABA). A segunda fase caracteriza-se pela redução do crescimento resultante do acúmulo de sais no interior da planta. A causa desta injúria é em função da elevada quantidade de sal absorvida, a qual ultrapassa a capacidade da planta de compartimentalizá-los no vacúolo.

Durante o efeito da salinidade, determinados processos são danificados, tais como síntese de proteínas, metabolismo de lipídios e fotossíntese. Uma das respostas iniciais é a redução da expansão da superfície foliar (WANG e NIL, 2000; PARIDA e DAS 2005).

As alterações morfofisiológicas da planta aos estresses em geral variam enormemente com o genótipo e seu estágio de desenvolvimento, além da intensidade e

duração do estresse ao qual a planta é submetida (WILLADINO e CÂMARA, 2004). Desta forma, a análise de crescimento pode ser muito útil no estudo da resposta do vegetal, servindo também para selecionar cultivares ou espécies que apresentem características funcionais mais apropriadas aos objetivos do estudo (BENINCASA, 2003).

#### 2.2.3.2 ALTERAÇÕES IÔNICAS

A redução na atividade fotossintética, também, depende de dois aspectos da salinização, a concentração total de sal e a sua composição iônica (PARIDA e DAS, 2005). De acordo com Maathuis e Amatmann (1999), a alta relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  e concentrações altas de sais totais inativam as enzimas e inibem a síntese proteica. Segundo esses autores, em termos de desordem nutricional, um dos principais efeitos nocivos do íon  $\text{Na}^+$  é o de deslocar o íon  $\text{Ca}^+$  da membrana plasmática das células radiculares, com a consequente perda da seletividade iônica das raízes. A membrana plasmática, em condições normais, tem alta especificidade pelo íon  $\text{K}^+$ , a qual é reduzida devido ao deslocamento do íon  $\text{Ca}^+$ , ocasionado pelo íon  $\text{Na}^+$ . É importante destacar que o íon potássio é ativador de reações enzimáticas vitais, contribui significativamente para a manutenção do potencial osmótico do vacúolo e turgor celular e é essencial na síntese de proteínas (TESTER e DAVENPORT, 2003).

Em algumas espécies, a acumulação de íons sódio e potássio também favorecem o ajustamento osmótico e a redução do potencial hídrico da planta (FRICKE et al., 2006). Porém, a exposição ao excesso de sais por um longo período pode causar na planta danos por toxicidade, quando não exportados, secretados ou compartimentados adequadamente. 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 e LAUCHLI, 2002).

### 2.2.3.3 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS

Variações na concentração de carboidratos solúveis totais (LACERDA et al., 2001; COSTA et al., 2003; GHEYI et al., 2005), fenóis totais, glicina betaína (LACERDA et al., 2001; ASHRAF e FOOLAD, 2006), prolina (LACERDA et al., 2001; ASHRAF e FOOLAD, 2006), clorofila (DOWNTON et al., 1985; SANTOS, 2004; NETONO et al., 2004), e proteínas solúveis (COSTA et al., 2003; RODRÍGUEZ-PÉREZ, 2006; LUNDE et al., 2007) são exemplos de alterações bioquímicas observadas nos vegetais cultivados sob salinidade.

O estresse salino pode reduzir a concentração de carboidratos das folhas mais jovens através do acúmulo de sais no citoplasma, após exceder a habilidade das folhas maduras de acumular os sais nos vacúolos (MUNNS, 2002). Como o carboidrato, entre outros compostos, é o substrato necessário para o crescimento do vegetal, todos os outros órgãos da planta também têm seu crescimento afetado pela salinidade (PARIDA e DAS, 2005). Porém, a elevação nos teores de carboidratos solúveis totais nas folhas, está ligada à finalidade de se manter o nível de água da folha e induzir o ajustamento osmótico na planta, visando o equilíbrio osmótico da célula (LACERDA et al., 2001; KERBAUY, 2004). 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 de carboidratos em repostas ao aumento da salinidade ou da sua importância como osmólito (ROLLETSCHKE e HARTZENDORF, 2000).

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). Os fenóis são compostos reconhecidos como potentes antioxidantes, que podem agir como redutores de oxigênio singlet, atuando nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelatação de metais

(SATUÉ-GARCIA et al., 1997). Em contrapartida, o excesso de fenóis pode atuar de forma negativa no desenvolvimento das plantas pela oxidação de compostos celulares.

A alteração na concentração de prolina nas plantas é relacionada a vários estresses abióticos, principalmente aos estresses hídrico e salino. O acúmulo de prolina livre é estudado em condições de estresse osmótico há mais de 45 anos (KAVI KISHOR et al., 2005) e sabe-se que o teor de prolina varia de espécie para espécie e pode apresentar valores 100 vezes maiores nas plantas submetidas a estresse quando comparadas às plantas controles (VERBRUGGEN e HERMANS, 2008). Durante os estresses osmóticos, a prolina atua como um osmorregulador, além de ser uma fonte de carbono e nitrogênio (HARE e CRESS, 1997). Além disso, tem sido proposto, também, que a prolina pode atuar na estabilização das estruturas das proteínas, favorecer a estabilização do pH citosólico e auxiliar no equilíbrio redox das células estressadas (VERBRUGGEN e HERMANS, 2008). Alguns autores mostraram que a prolina pode atuar como sequestrador das espécies reativas de oxigênio (EROs) geradas durante estresses (SMIRNOFF e CUMBES, 1989; BOHNERT e SHEN, 1999). A acumulação de prolina também pode influenciar na sinalização de respostas adaptativas aos estresses osmóticos (MAGGIO et al., 2002). Bellinger et al., (1991) sugerem que a acumulação de prolina não é um indicador de resistência e sim um indicador de tolerância adquirida, visto que diversos experimentos demonstram que células, calos e somaclones selecionados como tolerantes ao estresse apresentam uma maior acumulação de prolina do que os não aclimatados.

Variações na concentração de clorofila podem ocorrer através da diminuição da sua síntese, devido à alteração do ácido aminolevulínico (ALA) o qual é o precursor da protoclorofila (que é convertido em clorofila quando exposta à luz), ou pela própria degradação da clorofila, através da enzima clorofilase (SANTOS, 2004). Esse último processo tem como primeiro passo a remoção do fitol pela clorofilase, primeira enzima que age na via de degradação da clorofila (FANG et al., 1998). No entanto, os dados sobre essa enzima sugerem que a sua atividade diminui com a senescência e anóxia

(FANG et al., 1998), mas não há informações claras sobre o comportamento da enzima presente nas folhas sob condições de estresse salino.

As proteínas são encontradas em todas as partes das células, uma vez que são fundamentais sob todos os aspectos da estrutura e função celulares, e alterações nos teores de proteínas podem representar um grande dano para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Alguns autores relatam que, sob estresse salino, normalmente, há redução no conteúdo de proteínas das plantas estressadas, ou em virtude da síntese proteica ser prejudicada, ou pelo aumento da proteólise (SILVEIRA et al., 2003; PARIDA e DAS, 2005). A síntese proteica é prejudicada devido à exigência do íon potássio na ligação do tRNA aos ribossomos, a qual necessita de altas concentrações desse íon para ocorrer (BLAHA et al., 2000). Porém, sob salinidade, geralmente a concentração de  $K^+$  tende a diminuir com o aumento da concentração do íon  $Na^+$ , isso porque não há transportadores específicos para o íon  $Na^+$ , o qual compete com o íon  $K^+$ . Essa interrupção da síntese proteica parece ser um importante fator dos danos causados pelo excesso de íons  $Na^+$  (TESTER e DAVENPORT, 2003).

#### 2.2.3.4 DANOS OXIDATIVOS

Uma consequência direta dos efeitos primários do estresse salino é o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são prejudiciais às células vegetais em concentrações elevadas, mas que, em níveis relativamente baixos, podem atuar como moléculas sinalizadoras de mecanismos que minimizam o estresse abiótico (PANG e WANG, 2008). Essas EROs produzidas durante o estresse salino podem causar danos nas membranas celulares, nos pigmentos fotossintéticos, nas proteínas (HERNANDEZ et al., 2000), nos lipídios e nos ácidos nucleicos (MONK et al., 1989).

Os danos oxidativos se traduzem em diversos processos degenerativos, incluindo peroxidação de lipídios de membrana e morte celular programada (SILVEIRA et al., 2005). Podem também se expressar como hipo ou hipermetilação do

DNA, deleção e substituição de bases do DNA, alterações cromossômicas (aneuploidia e poliploidia) e rearranjo cromossômico (CASSELLS e CURY, 2001).

As EROs são formas reduzidas de oxigênio atmosférico, que normalmente resultam da excitação do  $O_2$  para formar oxigênio singleto ( $O_2^1$ ) ou a partir da transferência de um, dois ou três elétrons do  $O_2$  para formar, respectivamente, um radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) ou um radical hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ) (MITTLER, 2002).

Existem muitas fontes das EROs na planta, algumas delas estão envolvidas em reações normais do metabolismo, como na fotossíntese e na respiração (MITTLER, 2002). Nesses processos, o oxigênio molecular pode seguir duas rotas, a das oxidases, a qual consiste na formação de água pela transferência de quatro elétrons para o oxigênio na cadeia respiratória (redução tetravalente), acoplada à fosforilação oxidativa que forma ATP; e a rota das oxigenases, culminando na formação das EROs através da transferência de um elétron de cada vez para o oxigênio (redução univalente) (SOARES e MACHADO, 2007). Outras fontes também são citadas como produtoras das EROs durante os estresses abióticos, como por exemplo, a fotorrespiração nos peroxissomos (MITTLER, 2002).

#### 2.2.4 MECANISMOS DE TOLERÂNCIA DAS PLANTAS À SALINIDADE

As plantas apresentam diferentes mecanismos de tolerância frente ao estresse salino, os quais variam enormemente de acordo com os vários fatores internos e externos. Segundo Parida e Das (2005), de uma forma geral, as plantas submetidas à salinidade desenvolvem mecanismos bioquímicos e moleculares para diminuir os efeitos nocivos do sal e esses mecanismos podem ser de alta ou baixa complexidade. A salinização dos solos acarreta para os vegetais estresses osmótico, iônico e oxidativo (TESTER e DAVENPORT, 2003).

#### 2.2.4.1 TOLERÂNCIA AOS EFEITOS OSMÓTICOS

Apenas o efeito osmótico atua sobre a planta induzindo variações essencialmente instantâneas, num intervalo de tempo de minutos a horas (MUNNS, 2002). As plantas podem acumular compostos osmorreguladores, como a prolina, glicina betaína (ASHRAF e FOOLAD, 2006) e carboidratos (ROLLETSCHEK e HARTZENDORF, 2000), para minimizar os efeitos osmóticos.

Muitas plantas acumulam prolina como um osmólito atóxico e protetor sob condições salinas (LEE e LIU 1999; MUTHUKUMARASAMY et al., 2000). Elshintinawy e Elshourbagy (2001) verificaram que os aminoácidos mais abundantes (cisteína, arginina, metionina) constituem cerca de 55 % dos aminoácidos livres, sendo estes reduzidos quando as plantas foram estressadas com NaCl. Já valina, isoleucina, aspartato e prolina aumentaram em resposta ao estresse provocado por NaCl.

Um aumento na concentração dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  induz a acumulação da prolina, pela diminuição da atividade de prolina desidrogenase (uma enzima catabólica de prolina) (PARIDA e DAS, 2005). A prolina tende a acumular nos tecidos vegetais sob estresse hídrico (FERREIRA et al., 2002), mas, como a assimilação do nitrogênio é reduzida sob tais condições, pode-se supor que esse composto se origine dos processos de renovação de proteínas. É interessante destacar que entre os N-aminossolúveis que se acumulam em resposta ao estresse osmótico, a prolina é indiscutivelmente a mais relatada (FERREIRA et al., 2002).

Apesar da forte correlação entre tolerância aos estresses e acúmulo de prolina em plantas superiores, essa relação não é universal (ASHRAF e FOOLAD, 2006), pois alguns autores sugerem que o acúmulo de prolina é apenas uma consequência do estresse e não uma resposta adaptativa (COSTA et al., 2003). No entanto, o acúmulo de prolina em plantas sob estresse tem sido relacionado mais à tolerância do que à susceptibilidade às condições de estresse (ASHRAF e FOOLAD, 2006).

Segundo Fricke et al. (2006), em algumas espécies, a acumulação dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  também favorece o ajustamento osmótico e a redução do potencial hídrico da planta. Porém, a exposição ao excesso de sais por um longo período pode causar na planta danos por toxicidade, quando não exportados, secretados ou compartimentados adequadamente. A compartimentalização de sais em nível radicular pode reduzir a produção da biomassa seca da raiz, afetando, principalmente, a relação raiz/parte aérea. Porém, como a acumulação dos sais na parte aérea é menor, os efeitos tóxicos da salinidade no aparato fotossintético da planta, podem ser evitados (MAGGIO et al., 2007).

#### 2.2.4.2 TOLERÂNCIA AOS EFEITOS IÔNICOS

Frente aos efeitos iônicos do sal, os mecanismos de tolerância podem se apresentar em três níveis de organização: planta inteira, organela e molecular (MUNNS et al., 2002). No nível de planta inteira, a tolerância depende da habilidade das plantas em controlar o transporte do sal em pontos estratégicos os quais evitam que os sais alcancem níveis tóxicos nas folhas, através da retenção dos sais em outras partes da planta ou na exclusão dos mesmos (DAVENPORT et al., 2005). O controle no nível de organela é atrelado à manutenção dos íons fora das células e à compartimentalização dos íons para os vacúolos. Nesse caso, deve ocorrer paralelamente o acúmulo de íons  $\text{K}^+$  e de solutos compatíveis, como prolina e glicina betaína no citoplasma para contra-balançar a pressão osmótica dos íons no vacúolo. No nível molecular, o controle ocorre através dos transportadores de íons que os carregam para fora da célula e até mesmo não permitem sua entrada no meio intracelular (MUNNS et al., 2002).

Como não há transportadores específicos para o íon  $\text{Na}^+$ , ele compete com outros cátions, principalmente o íon  $\text{K}^+$ , através de transportadores de alta afinidade

pelo íon potássio ou daqueles de baixa afinidade, que são fortemente influenciados pelo íon  $\text{Ca}^+$  (OLIVEIRA et al., 2010).

As plantas também podem absorver os íons e mantê-los em concentração constante por longos períodos, desde que a absorção de água seja proporcional à absorção deles, resultando em aumento no grau de suculência (LARCHER, 2004). Embora muitos desses mecanismos sejam especialmente eficientes nas halófitas, eles também têm sido observados em glicófitas.

#### 2.2.4.3 TOLERÂNCIA AOS DANOS OXIDATIVOS

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio na relação entre compostos antioxidantes versus compostos pró-oxidantes, levando ao aumento da concentração das espécies reativas de oxigênio (EROs). A sinalização para o mecanismo de desintoxicação das plantas, provavelmente, não ocorre devido às mudanças iônicas ou osmóticas, mas ao aumento dessas EROs ou a própria desnaturação das proteínas (ZHU, 2002).

As plantas, em maior ou menor grau, estão adaptadas a conviverem com certos níveis de EROs. Quando, porém, as EROs se acumulam nos tecidos, tornam-se tóxicas, podendo levar as células à morte (RESENDE et al., 2003). Em função disso, as plantas desenvolveram estratégias para controlar os níveis destes EROS no interior das células (APEL e HIRT, 2004), utilizando para isso mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos, que são encontrados em diferentes organelas como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (PANG e WANG, 2008). Dentre as enzimas que participam dos sistemas de defesa das plantas destacam-se a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD), a peroxidase (POX) e a peroxidase do ascorbato (APX), além da peroxidase da glutatona (GPX) e a redutase da glutatona (GR). Dentre os metabólitos que podem ser importantes nos sistemas de defesa não enzimáticos

destacam-se o ascorbato (AsA), o monodesidroascorbato (MDHA), a glutatona reduzida (GSH), o  $\alpha$ -tocoferol e os carotenoides (MITTLER, 2002).

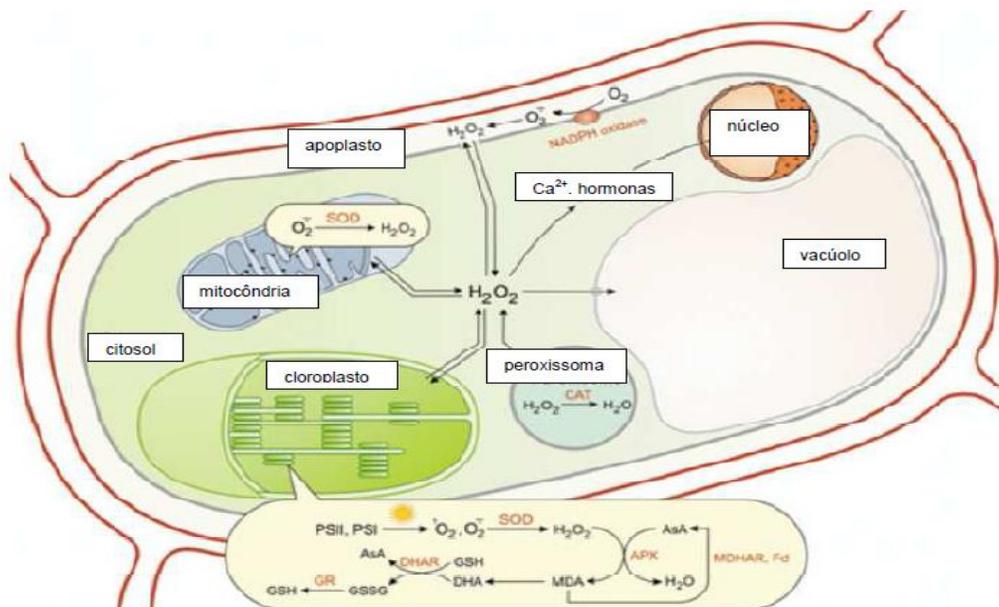


Figura 1. Representação esquemática das principais fontes de EROs e dos principais mecanismos enzimáticos envolvidos na eliminação do poder tóxico das EROs (Adaptado de GECHEV e BREUSEGEM, 2006).

As enzimas SOD e CAT formam um dos mais importantes sistemas de defesa das plantas contra as EROs, removendo, respectivamente, os radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), evitando, desta forma, a produção do radical hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ), gerado pelas reações “Haber-Weiss” (ASADA 1992; SCANDALIOS, 1993).

As SOD são metaloenzimas responsáveis pela dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (ASADA et al., 1974). Em plantas superiores as SOD apresentam-se na forma de três isoenzimas,

classificadas de acordo com o íon metálico presente no grupo prostético: Mn-SOD, Cu/Zn-SOD e Fe-SOD (ASADA, 1999; ARORA et al., 2002). Essas isoenzimas estão distribuídas em diferentes compartimentos celulares: a Fe-SOD é encontrada principalmente nos cloroplastos, a Mn-SOD nas mitocôndrias e peroxissomos e a Cu/Zn-SOD nos cloroplastos, citosol e, possivelmente, no espaço extracelular (ALSCHER et al., 2002).

O  $H_2O_2$  formado espontaneamente pela dismutação do radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) ou pela reação catalisada pelas SODs é eliminado do metabolismo celular por ação das enzimas CAT, APX e POX (ARORA et al., 2002). Assim, o balanço entre as atividades das SOD, APX, CAT e POX no metabolismo celular é crucial para a manutenção do equilíbrio dinâmico do radical  $O_2^{\cdot-}$  e  $H_2O_2$  (MITTLER, 2002).

As POX são enzimas capazes de oxidar vários substratos na presença de  $H_2O_2$  ou de hidroperóxidos orgânicos (ASADA, 1992). As peroxidases estão amplamente distribuídas nas células, sendo encontradas não apenas associadas às paredes celulares, mas, também, às membranas celulares, vacúolos e citoplasma (SIEGEL, 1993). A atividade das POXs, como parte do sistema antioxidativo das plantas, depende do tipo do causador do estresse, da espécie analisada, do órgão envolvido e do estágio de desenvolvimento das plantas (HEGEDŰS et al., 2001). Além de uma distribuição mais ampla nas células do que as CAT, as POX apresentam menor massa molecular (35 kDa), permitindo mobilidade mais rápida dentro dos diversos compartimentos celulares onde a sua ação é requerida (SIEGEL, 1993).

Um importante composto no processo antioxidativo, o ascorbato é requerido como doador de elétrons para que alguns sistemas de defesa enzimáticos possam atuar eliminando as EROs do interior das células. A síntese de ascorbato ocorre em mitocôndrias (NOCTOR e FOYER, 1998). Este metabólito encontra-se em alta concentração no interior das células, estando distribuído no citosol, mitocôndria, peroxissomos, apoplasto e, principalmente, no interior dos cloroplastos (MITTLER, 2002). Enzimas do sistema antioxidativo das plantas, ao interagirem com as formas

reduzidas deste composto, proporcionam excelente mecanismo de eliminação das EROs (CREISSEN et al., 1999). Segundo Smirnoff et al. (2001) e Dipierro et al. (2005), o ascorbato tem sido classificado como componente chave do sistema antioxidativo das plantas, estando relacionado aos estresses abióticos e bióticos. A manutenção da concentração de ascorbato, em plantas submetidas à determinada condição de estresse, envolve complexa interação entre síntese, degradação, transporte e armazenamento no interior das células (FOYER e NOCTOR, 2000).

As APX utilizam especificamente o ascorbato como doador de elétrons na reação de eliminação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, protegendo as células contra os danos oxidativos e fotooxidativos deste tipo de EROS (ASADA, 1992). Estas enzimas são encontradas, principalmente, nos cloroplastos e no citosol (ARORA et al., 2002), podendo, também, estar associadas às mitocôndrias, peroxissomos e ao apoplasto (MITTLER, 2002).

#### 2.2.5 FAVELEIRA [*Cnidoscopus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm]

*Cnidoscopus phyllacanthus*, conhecida popularmente como faveleira ou favela, é uma Euphorbiaceae das caatingas hiperxerófilas, medindo de três a cinco metros de altura, vegeta na caatinga e no sertão, de solo seco, pedregoso e sem humo, e em áreas que apresentam precipitação pluviométrica abaixo dos 600-700 mm anuais, sem cobertura protetora, exposta à forte irradiação (DUQUE, 2004; BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007).

Dotada de grande resistência à seca, a faveleira é uma planta rústica e de rápido crescimento, podendo ser usada para composição de reflorestamentos destinado à recuperação de áreas degradadas (BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007). É uma espécie exclusivamente do Brasil, ocorrendo em todos os estados do Nordeste, com exceção de Alagoas e Maranhão (MELO, 2000).



Figura 2: Porte arbustivo da faveleira com espinho.

#### 2.2.5.1 DESCRIÇÃO DA PLANTA

A planta é lactescente e armada de espinhos, sendo uma das primeiras a perder as folhas no final do período chuvoso, permanecendo a maior parte do ano sem folhas. Em geral, a frequência desta espécie, é baixa. Contudo, pode formar concentrações em pontos determinados quando as condições locais são adequadas. Floresce durante um longo período do ano, produzindo de maneira contínua, pequena quantidade de sementes. As suas folhas são longas, grossas, lanceoladas, recortadas, com pequenos acúleos no limbo e espinhos urticantes nas nervuras. As flores são díclinas, alvas e em pequenos cachos axilares e terminais (DRUMOND et al., 2007). Os frutos são cápsulas arredondadas, deiscentes, de 1,5 a 2,0 cm de diâmetro, recobertos de pelos urticantes (MAIA, 2004).

A faveleira pode ser encontrada com duas características, sem espinhos - considerada mutante - e com espinhos, sendo a forma mais comum na região semiárida. Todas as suas partes podem ser aproveitadas, desde a raiz até suas folhas (VIANA e CARNEIRO, 1991; BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007).



Figura 3. Folhas de faveleira com espinho, apresentando exsudação de látex.

A faveleira tem espinhos localizados nas vizinhanças dos pontos de inserção das folhas; nestas, distribuem-se desde o pecíolo até a nervura principal e nas faces dorsal e ventral do limbo; nos frutos, os espinhos são localizados em faixas compreendidas entre as linhas de deiscência, mantidas inermes, juntamente com as áreas basais (MOREIRA et al., 1974; BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007).

A árvore, se cortada em qualquer parte, exsuda seiva branca, semelhante a um látex, pegajosa, e que, uma vez seca, se torna quebradiça. As folhas são de forma ovada, elíptico-ovalada, sinuosa a sublobada, membranácea, de bordos profundamente lobados, terminadas em pequenos espinhos (BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007; RIBEIRO FILHO et al., 2011). Apresenta número variável de pelos urticantes, às vezes simples, ou unidos na base (DRUMOND et al., 2007).

As sementes, de aparência semelhante às da mamona, são ricas em óleo comestível; ainda assim, pouco aproveitadas, podendo ainda ser utilizadas no

tratamento de dermatites. A viabilidade das sementes armazenadas é inferior a 90 dias (MAIA, 2004; DRUMOND et al., 2007).

A faveleira possui raízes tuberculadas, xilopódios, com reservas alimentares elaboradas durante as chuvas, mediante a fotossíntese nas folhas e minerais absorvidos pelas raízes, que se acumulam nos órgãos subterrâneos para manutenção do vegetal na seca e permite o aparecimento de novas folhas, flores e frutos (DUQUE, 2004).

Esta espécie inicia a sua floração em janeiro e a frutificação prolonga-se até maio, embora possa permanecer todo o tempo com folhas e em constante floração em condições favoráveis (LIMA, 1996; NÓBREGA, 2001; DRUMOND et al., 2007).

#### 2.2.5.2 POTENCIALIDADES DE USO

O grande destaque da faveleira entre as plantas da caatinga é a sua extraordinária resistência à seca e ao aproveitamento de todas as suas partes, na alimentação humana e animal, desde a raiz até as folhas, todas com grande potencial nutricional (CALDEIRA, 2006).

A utilização da faveleira como planta medicinal é uma prática bastante comum na região semiárida. A casca e a entrecasca do caule podem ser usadas como agente anti-inflamatório, desinfetante, cicatrizante e na cura de bicheiras. O látex pode ser usado na cauterização de verrugas e como coagulante do sangue (GALVÃO, 1960; BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007).

O grande potencial forrageiro da faveleira está nas folhas maduras e cascas novas, que servem para alimentação de caprinos, ovinos, muares e bovinos (LIMA 1996; MAIA, 2004). Segundo Beltrão e Oliveira (2007) os galhos e folhas da faveleira tem um potencial nutritivo semelhante ao do farelo do caroço de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). Com a redução dos seus espinhos, a mesma poderá ser mais facilmente explorada para fins forrageiros e de produção de óleo, gerando, assim, a torta de suas

sementes, que são fontes de alimento humano e de animais domésticos e silvestres (LIMA, 1996; CANDEIA et al., 2010).

Por se tratar de uma espécie com significativos teores de óleo em suas sementes, entre 50 a 70% (RIBEIRO FILHO et al., 2007), pode tornar-se uma alternativa sustentável para produção racional de biodiesel. Com base em resultados preliminares (SILVA et al., 2007; CONCEIÇÃO et al., 2007), o biodiesel do óleo da faveleira apresenta-se com bons resultados para sua utilização como combustível.

### 3 REFERÊNCIAS

ALBERICO, G.J.; CRAMER, G.R. Is the salt tolerance of maize related to sodium exclusion? I. Preliminary screening of seven cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, v.16, n.11, p.2289-2303, 1993.

AL-KARAKI, G.N. Growth, water use efficiency, and sodium and potassium acquisition by tomato cultivars grown under salt stress. **Journal of Plant Nutrition**, v.23, p.1-8, 2000.

ALSCHER, R.G.; ERTURK, N.; HEATH, L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.1331-1341, 2002.

AQUINO A.J.S.; LACERDA, C.F.; BEZERRA, M.A.; GOMES FILHO, E.; COSTA, R.N.T. Crescimento, partição de matéria seca e retenção de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> em dois genótipos de sorgo irrigados com águas salinas. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, v.31, p.961-971, 2007.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373-399, 2004.

ARORA, A.; SAIRAM, R.K.; SRIVASTAVA, G.C. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, v.82, p.1227-1238, 2002.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, v.85, p.235-241, 1992.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p.601-639, 1999.

ASADA, K.; TAKAHASHI, M.A.; NAGATE, M. Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutases. **Agriculture Biology Chemistry**, v.38, p.471-473, 1974.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, p.1-11, 2006.

AZEVEDO NETO, A.D.; TABOSA, J.N. Estresse salino em plântulas de milho: Parte I análise do crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.2, p.159-164, 2000.

BELLINGER, Y; BENSOUUD, A.; LARHER, F. Physiological significance of proline accumulation, a trait of use to breeding for stress tolerance. In: ACEVEDO, E.; CONESA, A.P. AND SRIVASTAVA, J.P. (Eds.) **Physiology- breeding of winter cereals for stressed mediterranean environments**. INRA, p.449-458. 1991.

BELTRÃO, N.E.M.; OLIVEIRA, M.I.P. **Oleaginosas potenciais do Nordeste para a produção de biodiesel**. Campina Grande: EMBRAPA. 53p. (Embrapa Algodão. Documentos, 177). 2007.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: FUNEP, São Paulo, 2003. 41 p.

BLAHA, G.; STELZL, U.; SPAHN, C.M.; 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 Enzymol.**, v.317, p.292-309. 2000.

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

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

CALDEIRA, V.P.S. **Avaliação comparada dos índices químicos nitrogênio e fósforo nas porções morfológicas das espécimes de faveleira com e sem espinhos (*Cnidocolus quercifolius*)**. Trabalho Acadêmico Orientado – Universidade Estadual da Paraíba – Centro de Ciências e Tecnologia. Campina Grande – Paraíba, 2006.

CANDEIA, B.L.; BAKKE, O.A.; ARIEL, E.F.; BAKKE, I.A. Production of thornless *Cnidocolus phyllacanthus* progênies from open pollinated native trees. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.30, n.62, p.147-152, 2010.

CASSELLS, A.C.; CURY, R.F. Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.64, p.145-157, 2001.

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

CONCEIÇÃO, M.M.; DANTAS, M.B.; VASCONCELOS, A.F.F.; LIMA, A.E.A.; SILVA, M.C.D.; DANTAS, J.P.; SILVA, F.C.; SANTOS, I.M.G.; SOUZA, A. G. **Estabilidade oxidativa do óleo e biodiesel etílico de faveleira 2007**. Disponível em: <<http://www.cpamn.embrapa.br/agrobioenergia/trabalhos/107.PDF>.> Acesso em: 8 jan. 2011.

COSTA, P.H.A.; SILVA, J.V.; BEZERRA, M.A.; ENÉAS FILHO, J.; PRISCO, J.T.; GOMES FILHO, E. Crescimento e níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de *Vigna unguiculata* submetidos à salinidade. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.3, p.289-297, 2003.

CREISSEN, G.; FIRMIN, J.; FRYER, M.; KULAR, B.; LEYLAND, N.; REYNOLDS, H.; PASTORI, G.; WELLBURN, F.; BAKER, N.; WELBURN, A.; MULLINEAUX, P. Elevated glutathione biosynthetic capacity in the chloroplasts of transgenic tobacco plants paradoxically causes increased oxidative stress. **The Plant Cell**, v.11, p.1277-1291, 1999.

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

DAVENPORT, R.; JAMES, R.A.; ZAKRISSON-PLOGANDER, A.; TESTER, M.; MUNNS, R. Control of sodium transport in durum wheat. **Plant Physiology**, v.137, p.807-818, 2005.

DIPIERRO, N.; MONDELLI, D.; PACIOLLA, C.; BRUNETTI, G.; DIPIERRO, S. Changes in the ascorbate system in the response of pumpkin (*Curcubita pepo* L.) roots to aluminium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.539-536, 2005.

DOWNTON, W.J.S.; GRANT, J.R.; ROBINSON, S.P. Photosynthetic and stomatal responses of spinach leaves to salt stress. **Plant Physiology**, v.77, p.85-88, 1985.

DRUMOND, M.A.; SALVIANO, L.M.C.; CAVALCANTI, N.B. Produção, distribuição da biomassa e composição bromatológica da parte aérea da faveleira. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.2, n.4, p.308-310, 2007.

DUQUE, G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 4. ed. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 330 p, 2004.

ELSHINTINAWY, F.; ELSHOURBAGY, M.N. Alleviation of changes in protein metabolism in NaCl-stressed wheat seedlings by thiamine. **Biologia Plantarum**, v.44, p.541-545, 2001.

ESTEVEES, B.S.; SUZUKI, M.S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecol. Brasileira**, v.4, n.12, p.662-679, 2008.

FANG, Z.; BOUWKAMP, J.; SOLOMOS, T. Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L. **J. Experimental Botany**, v.49, p.503-510, 1998.

FAO: **Extent and Causes of Salt-affected Soils in Participating Countries**. 2008. FAO - Land and Plant nutrition management service. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/topic2.htm#top>. Acesso em: 10 mar. 2012.

FARIAS, S.G.G. **Estresse Osmótico na germinação, crescimento e nutrição mineral da Gliricídia (*Gliricidia sepium* Jack. Walp)**. 2008. 49f. Dissertação - Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris. Universidade Federal de Campina grande. Patos, PB.

FERREIRA, V.M.; MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M.; OLIVEIRA, L.E.M.; PURCINO, A.A.C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, v.32, n.1, p.13-17, 2002.

FLOWERS, T.J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.307-319, 2004.

FRICKE, W.; AROVA, G.A.; WEI, W.; ALEXANDERSSON, E.; MILLER, A.; KJELLBOM, P.O.; RICHARDSON, A.; WOJCIECHOWSKI, T.; SCHREIBER, L.; VESELOV, D.; KUDROYAROVA, G.; VOLKOV, V. The short-term growth response to salt of the developing barley leaf. **Journal of Experimental Botany**. Plants and Salinity Special Issue, v.57, n.5, p.1079–1095, 2006.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. **New Phytologists**, v.146, p.359-388, 2000.

GALVÃO, I.B. Forrageiras nativas do Seridó. **Seleções Agrícolas**, v.15, n.174, p.13-7, 1960.

GECHEV, T.S.; BREUSEGEM, F.V. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. **BioEssays**, v.28, p.1091–1101, 2006.

GHEYI, H.R.; CORREIA, K.G.; FERNANDES, P.D. Salinidade do solo e crescimento e desenvolvimento das plantas. In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E.L.;

WILLADINO, L.G.; CAVALCANTE, U.M.T. (Org.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: MXM Gráfica e editora, v. único, p. 138-147. 2005.

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

HEGEDÜS, A.; ERDEI, S.; HORVÁTH, G. Comparative studies of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. **Plant Science**, v.160, p.1085-1093, 2001.

HERNANDEZ, J.A.; JIMENEZ, A.; MULLINEAUX, P.; SEVILLA, F. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. **Plant Cell Environmental**, v.23, p.853–862. 2000.

IYENGAR, E.R.R.; REDDY, M.P. Photosynthesis In highly salt tolerant plants. In: M. Pesserkali (ed.). **Handbook of photosynthesis**. Marshal Dekar: Baten Eroze, USA. p. 879-909, 1996.

KAVI KISHOR, P.B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R.N. ; SRI LAXMI, P; NAIDU, K.R.; RAO, K.R.S.S.; SREENATH, R.; 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.424-738, 2005.

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

KOIWA, H.; BRESSAN, R.A.; HASEGAWA, P.M. Identification of plant stressresponsive determinants in arabidopsis by large-scale forward genetic screens. **Journal of Experimental Botany**, v.57, n.5, p.1119–1128, 2006.

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**, v.13, p.270-284, 2001.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima, 2004. 531 p.

LEE, T.M.; LIU, C.H. Correlation of decreases calcium contents with proline accumulation in the marine green macroalga *Ulva fasciata* exposed to elevated NaCl contents in seawater. **Journal of Experimental Botany**, v.50, p.1855–1862, 1999.

LIMA, J.L.S. Favela. In: LIMA, J.L.S. **Plantas forrageiras das caatingas: Usos e potencialidades**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA; PNE; RGB-KEW, 1996. 24p.

LUNDE, C.; DREW, D.P.; JACOBS, A.K.; TESTER, M. Exclusion of Na<sup>+</sup> via sodium ATPase (ppen1) ensures normal growth of *Physcomitrella patens* under moderate salt stress. **Plant Physiology**, vol.144, p.1786-1796, 2007.

MAGGIO, A.; MIYAZAKI, S.; VEROSNESE, 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.

MAGGIO, A.; RAIMONDI, G.; MARTINO, A.; PASCALE, S. Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p.276-282, 2007.

MAIA, G.M. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora, 2004. 413 p.

MANDHANIA, S.; MADAN, S.; SAWHNEY, V. Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings. **Biologia Plantarum**, v.227, p.227-231, 2006.

MELO, A.L. **Estudos taxonômicos sobre o gênero *Cnidocolus* Pohl (Crotonoideae- Euphorbiaceae) no Estado de Pernambuco – Brasil**. Recife, 2000. 153p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2000.

MELLONI, R.; SILVA, F. A. M.; CARVALHO, J. G. Cálcio, magnésio e potássio como amenizadores dos efeitos da salinidade sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*). **CERE**, v.6, n.2, p.35-40, 2000.

MELLONI, D.A.; GULOTTA, M.R.; MARTÍNEZ, C.A.; OLIVA, M.A. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycine betaine accumulation in *Prosopis alba*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.16, p.39-46, 2004.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n.9, 2002.

MONK, L.S.; FAGERSTEDT, K.V.; CRAWFORD, R.M.M. Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress. **Physiology Plant**, v.76, p.456-459, 1989.

MONTEIRO, C.C. **Análise bioquímica do mutante hormonal de tomateiro *Never ripe (Nr)* submetido aos estresses por cádmio e salinidade.** 2010. 120p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, SP.

MOREIRA, J. A. N; SILVA, F. P; COSTA, J. T. A.; KOKAY, L. Ocorrência de faveleira sem espinho no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Agrônômica**, v.4, n.1/2, p.51-55, 1974.

MÜHLING, 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.; TERMASAT, A. Whole-plant response to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.13, p.143-160, 1986.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell and Environment**, v.25, p.239-250, 2002.

MUNNS, R.; HUSAIN, S.; RIVELLI, A.R.; JAMES, R.A.; CONDON, A.G.; LINDSAY, M.P.; LAGUDAH, E.S.; SCHACHTMAN, D.P.; HARE, R.A. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Plant and Soil**, v.247, p.93-105, 2002.

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

MUTHUKUMARASAMY, M.; GUPTA, S.D.; PANNERSELVAM, R. Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activities by triadimefon in NaCl stressed *Raphanus sativus* L. **Biologia Plantarum**, v.43, p.317–320, 2000.

NETONO, G. W.; ONYANGO, J. C.; BECK, E. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. **Crop Science**, v.44, p.806-811, 2004.

NÓBREGA, S. B. **A faveleira (*Cnidocolus quercifolius*) como uma fonte alternativa na alimentação humana e animal no semiárido Paraibano.** 2001. 87 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and Glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.49, p.249-279, 1998.

OLIVEIRA, A.B.; GOMES-FILHO, E.; ENÉAS-FILHO, J. O problema da salinidade na agricultura e as adaptações das plantas ao estresse salino. **Enciclopédia Biosfera**, v.6, n.11, p.1-16, 2010.

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.

PENNINGS, S.C.; CALLAWAY, R.M. Salt marsh plant zonation: the relative importance of competition and physical factors. **Ecology**, v.73, p.681-690, 1992.

RESENDE, M.L.V.; SALGADO, S.M.L.; CHAVES, Z.M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.123-130, 2003.

RHOADES, J.D.; KANDIAH, A.; MASHALI, A.M. **The use of saline waters for crop production**. Rome, 1992. (FAO Irrigation and Drainage Paper, 48). Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/t0667e/t0667e00.htm>>. Acesso em: 03 ago. 2011.

RIBEIRO, J. S.; LIMA, A. B.; CUNHA, P. C.; WILLADINO, L.; CÂMARA, T. R. O estresse abiótico em regiões semiáridas: 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. 361 p.

RIBEIRO FILHO, N.M.; CALDEIRA, V.P.S.; FLORÊNCIO, I.M.; AZEVEDO, D.O.; DANTAS, J.P. Avaliação comparada dos índices químicos nitrogênio e fósforo nas porções morfológicas das espécimes de faveleira com espinhos e sem espinhos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.9, n.2, p.149-159, 2007.

RIBEIRO FILHO, N.M.; FLORÊNCIO, I.M.; BRITO, A.C.; DANTAS, J.P.; CAVALCANTI, M.T. Avaliação nutricional de raízes de faveleira e cenoura em períodos equidistantes de coleta. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, n.2, p.163-168, 2011.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, L. Implicaciones fisiológicas de la osmorregulación en plantas. **Agronomía Colombiana**, v.24, p.28-37, 2006.

ROLLETSCHEK, H.; HARTZENDORF, T. 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.

RUIZ, H.A.; SAMPAIO, R.A.; OLIVEIRA, M.; FERREIRA, P.A. Características físicas de solos salino-sódicos submetidos a parcelamento da lâmina de lixiviação. **Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal**, v.6, n.3, p.1-12, 2006.

SANTOS, C.V. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. **Scientia Horticulturae**, v.103, p.93-99, 2004.

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.

SAYRAM, R.K.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Current Science**, v.86, p.407-421, 2004.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v.103, p.7 -12, 1993.

SIEGEL, B.Z. Plant pEROxidaes – an organismic perspective. **Plant Growth Regulation**, v.12, p.303-312, 1993.

SILVA, C.C.; DANTAS, J.P.; SANTOS, J.C.O.; SANTOS, T.T.S. **Obtenção do biodiesel derivado do óleo de faveleira (*Cnidocolus quercifolius*) uma espécie forrageira.** 2007. Disponível em: <<http://www.annq.org/congresso2007/trabalhosapresentados/T76.pdf>>. Acesso em: 9 jan. 2011.

SILVA, E.N.; SILVEIRA, J.A.G.; RODRIGUES, C.R.F.; LIMA, C.S.; VIÉGAS, R.A. Contribuição de solutos inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.5, p.437-445, 2009.

SILVEIRA, J.A.G.; VIÉGAS, R.A.; ROCHA, I.M.A.; MOREIRA, A.C.O.M.; MOREIRA, R.A.; OLIVERIA, J.T.A. Proline accumulation and glutamine synthase activity are increased by salt-induced proteolysis in cashew leaves. **Journal Plant Physiology**, v.160, p.115-123, 2003.

SILVEIRA, J.A.G.; LIMA, J.P.M.S.; CAVALCANTI, F.R.; MAIA, J.M.; VIÉGAS, R.A. Salt induced oxidative response in plants: damage or protection? In: Nogueira, R.J.M.C.; Araújo, E. De L.; Willadino, L.; Cavalcante, U.M.T. (eds). **Estresses**

**ambientais: danos e benefícios em plantas.** Recife. MXM Gráfica e Editora. 2005. parte.II, cap.9, p.106- 117.

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

SMIRNOFF, N.; CONKLIN, P.L.; LOEWUS, F. A. Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.52, p.437-467, 2001.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n.1, p.19, 2007.

SZABOLCS, I. PEROSpects of soil salinity for the 21st century. In: WORLD CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 15., 1994, Acapulco. **Proceedings...** Acapulco: Mexiko University, 1994, p. 123-141.

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

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> Tolerance and Na<sup>+</sup> 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.

VIANA, O.J.; CARNEIRO, M.S.S. Plantas Forrageiras xerófilas – I Faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (Muell. Arg.) Pax et K. Hoffm] inerme no semiárido cearense. **Ciência Agrônômica**, v.22, n.1-2, p.17-21, 1991.

WANG, Y.; NIL, N. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase–oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.75, p.623–627, 2000.

WILLADINO, L; CÂMARA, T. Origen y naturaleza de los ambientes salinos. In: REIGOSA. M. J.; PEDROL, N.; SÁNCHEZ, A. **La Ecofisiologia Vegetal**, Una ciência de síntesis. Madri, Espanha. Editora Thomsom, p.303-329, 2004.

WILLIAMS, W.D. Salinization of rivers and streams: an important environmental hazard. **Ambio**, v.16, p.180–185, 1987.

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

**CAPÍTULO I**

---

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE FAVELEIRA [*Cnidocolus  
phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] AO ESTRESSE SALINO**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE FAVELEIRA [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] AO ESTRESSE SALINO**

**RESUMO** – O objetivo deste estudo foi avaliar algumas respostas fisiológicas e bioquímicas de *Cnidoscolus phyllacanthus* sob salinidade. Plantas de faveleira foram cultivadas em solução nutritiva contendo 0, 50, 100 e 150 mM de NaCl em casa de vegetação. Após 8 dias de estresse, as plantas foram colhidas e separadas em raízes, xilopódio, caule; folhas basais, medianas e apicais. Foram determinados crescimento, conteúdo relativo de água, percentual de umidade, e osmólitos inorgânicos e orgânicos. A salinidade reduziu a massa seca de todas as partes da planta, apesar de que os indicadores de status hídrico foram mantidos. A imposição do estresse salino aumentou o conteúdo de Na<sup>+</sup> nas diferentes partes da planta, especialmente no xilopódio, aumentando cerca de 8 vezes, ao mesmo tempo que o conteúdo de K<sup>+</sup> decresceu em aproximadamente 40% em raízes e xilopódio sob 150 mM de NaCl. Como consequência, a relação K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> diminuiu em todos os órgãos da planta. Nas plantas submetidas ao tratamento salino, o conteúdo de açúcares solúveis totais foi aumentado em raízes, caule e estratos foliares e o conteúdo de proteínas solúveis aumentou em todos os órgãos. Em adição, o conteúdo de aminoácidos livres totais aumentou em raízes, caule e folhas apicais, enquanto o conteúdo de prolina aumentou em todos os órgãos, exceto em xilopódio. De acordo com os resultados, sugere-se que o xilopódio pode estar envolvido em mecanismos eficientes de exclusão e/ou compartimentalização em faveleira sob salinidade para evitar a toxicidade iônica nas folhas.

**Palavras-chave:** Ajustamento osmótico. Deficiência hídrica. Salinidade. Toxicidade iônica.

## PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES OF FAVELEIRA

[*Cnidocolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] TO SALT STRESS

**ABSTRACT** - The aim of this work was to evaluate some physiological and biochemical responses of *Cnidocolus phyllacanthus* under salinity. *C. phyllacanthus* plants were grown in nutrient solution containing 0; 50; 100 and 150 mM NaCl at a greenhouse. After 8 days of stress, plants were harvested and separated in roots, xylopodium, stem; basal, middle and apical leaves and growth, relative water content, moisture percentage, and inorganic and organic osmolytes were determined. Salinity reduced the dry mass of all plant parts while the water status indicators were maintained. The imposition of salt stress increased the Na<sup>+</sup> content in different plant parts, especially in the xylopodium, increasing about 8-fold. The K<sup>+</sup> content decreased approximately 40% in roots and xylopodium under 150 mM NaCl. As a consequence, the K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio was decreased in all plant parts. In the salt-treated plants, the total soluble sugar content was increased in roots, stem and leaves and the soluble protein content was enhanced in all organs. In addition, the content of total free amino acids was increased in roots, stem and apical leaves while the content of proline was increased in all organs, except in xylopodium. According to these results, it is suggested that the xylopodium could be involved in efficient mechanisms of Na<sup>+</sup> exclusion and/or compartmentalization in *C. phyllacanthus* under salinity to avoid ionic toxicity in the leaves.

**Key words:** Osmotic adjustment. Water deficiency. Salinity. Ion toxicity.

## INTRODUÇÃO

A salinidade causada por NaCl, no solo e/ou na água de irrigação é um dos principais fatores limitantes da produção agrícola no mundo (ACOSTA et al., 2011). Nas regiões semiáridas, onde o problema é mais agudo, a baixa pluviosidade e a elevada taxa de evapotranspiração contribuem decisivamente para o agravamento da salinização dos solos, propiciando o aumento do processo de desertificação (IMADA et al., 2009; ANDRADE et al., 2012). Nestes ambientes, o estresse salino desencadeia danos celulares que afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas (CHANG et al., 2011).

A inibição da taxa de crescimento radicular é um dos primeiros efeitos causados pelos componentes osmótico e iônico do estresse salino (LIN e KAO, 2002; LOPES et al., 2008; D'SOUZA e DEVARAJ, 2010). Como consequência, a planta sofre prejuízos nos processos de absorção, acúmulo e manutenção do conteúdo de água e de íons nos tecidos (IMADA et al., 2009), desencadeando modificações no potencial hídrico, na nutrição mineral, no balanço de íons e na eficiência fotossintética.

O componente osmótico leva à desidratação e à perda de turgor nas células induzida por solutos externos (VICENTE et al., 2004; D'SOUZA e DEVARAJ, 2010). Uma estratégia para garantir a manutenção da homeostase hídrica é o ajustamento osmótico. A hiperosmolaridade no vacúolo pode ser contrabalançada pela síntese e acumulação de solutos compatíveis no citosol (ASHRAF e HARRIS, 2004; BUCHANAN et al., 2009). Desta forma, a homeostase hídrica depende da contribuição relativa de diferentes solutos inorgânicos e orgânicos (OUESLATI et al., 2010).

Em espécies como *Schinopsis quebracho colorado* (MELONI et al., 2008), *Zea mays* L. (KHOLOVA et al., 2010) e *Anacardium occidentale* L. (FERREIRA-SILVA et al., 2008) o K<sup>+</sup> e o Cl<sup>-</sup> foram apontados como sendo os solutos que mais contribuem para o equilíbrio hídrico celular (FORD e WILSON, 1981). Outras espécies, como *Plantago crassifolia* (VICENTE et al., 2004); e *Zea mays* L.,

(KÖSKEROSGLU e TUNA, 2010) a osmorregulação ocorre através do acúmulo de aminoácidos como a prolina. Além disso, em *Excoecaria agallocha* L., são os açúcares não-redutores (JENCI e NATARAJAN, 2009), em *Lablab purpureus* os redutores (D'SOUZA e DEVARAJ, 2010). Em *Zea mays* L. compostos quaternários de amônio como a glicína betaína (KHOLOVA et al., 2010), que são sintetizados em resposta à salinidade (YOUSIFI et al., 2010).

O componente iônico envolve a interferência dos íons salinos na absorção, distribuição e utilização dos nutrientes minerais, acarretando distúrbios na homeostase iônica celular (MAATHIUS et al., 1996; ZHU, 2003; SHABALA e CUIN, 2008; SHABALA, 2009). Estas alterações afetam a atividade de enzimas que atuam em processos metabólicos fundamentais como a síntese de proteínas, a respiração e a fotossíntese (ELLOUZI et al., 2011; SHABALA et al., 2012).

Na planta, alguns mecanismos podem ser utilizados para minimizar os danos causados pela toxidez iônica, dentre eles: (1) minimizar a entrada inicial de  $\text{Na}^+$  nas células e maximizar o seu efluxo; (2) minimizar a condução destes íons para parte aérea; (3) elevar ao máximo a recirculação de  $\text{Na}^+$  via floema; (4) compartimentalizar o  $\text{Na}^+$  e o  $\text{Cl}^-$  ou direcioná-los para partes velhas da planta (folhas velhas) e; (5) secretar os sais em alta concentração (TESTER e DAVENPORT, 2003). Quantidades de  $\text{Na}^+$  podem ser acumuladas em vacúolos pela ação de carreadores  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  no tonoplasto (ASHRAF e FOOLAD, 2007), os quais, sob estresse salino, têm sua atividade rapidamente aumentada em plantas resistentes (ANDREEV, 2001).

A participação dos solutos envolvidos na osmorregulação em resposta à salinidade e os mecanismos utilizados para minimizar os danos causados pela toxidez iônica variam com a espécie (VICENTE et al., 2004; CHAVES et al., 2009). Neste contexto, o acúmulo e a distribuição de íons, bem como a contribuição ao ajustamento osmótico, no estabelecimento e na produtividade de plantas cultivadas em resposta aos estresses salino e hídrico vem sendo largamente estudados (BOYER, 1982; SERRAJ e SINCLAIR, 2002; VIÉGAS et al., 2004; SOUZA et al., 2011). Entretanto, a literatura

para plantas nativas é ainda incipiente, especialmente na região semiárida, onde espécies arbóreas podem ser utilizadas na fitorremediação de terras degradadas pela salinidade.

A faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] é uma Euphorbiaceae arbórea, nativa da região semiárida, com características tipicamente xerófilas (RIBEIRO FILHO et al., 2011). Esta espécie cresce em ambientes com condições restritas, como precipitação reduzida, altas temperaturas, condições de solo pobre, onde a maioria das espécies agronomicamente importantes não são capazes de crescer satisfatoriamente (BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007; SILVA et al., 2010). A faveleira detém grande potencial para o desenvolvimento socioeconômico da região (BELTRÃO e OLIVEIRA, 2007), podendo tornar-se uma alternativa sustentável para a produção de biodiesel, pois a mesma apresenta significativos teores de óleo em suas sementes, entre 50 a 70% (RIBEIRO FILHO et al., 2007).

Embora as sementes de *C. phyllacanthus* representem uma promissora fonte de bioenergia, o conhecimento a cerca das respostas fisiológicas desta espécie à salinidade é escasso. Sabe-se que a faveleira, assim como outras espécies das Euphorbiaceae, apresenta o xilopódio como órgão de reserva (BRAGA et al., 2006). Entretanto as informações são limitadas quanto ao papel deste órgão na manutenção hídrica seja por acumulação e/ou compartimentalização de íons salinos, ou ainda síntese e acumulação de osmólitos como estratégia de sobrevivência em regiões com escassez de água e excesso de sais no solo. Neste sentido, a melhor compreensão é essencial a fim de se adotar estratégias competitivas para melhorar a produção vegetal e a exploração racional desta espécie nas regiões áridas e semiáridas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações fisiológicas significativas nos indicadores de estresse associados ao crescimento, estado hídrico, e a distribuição dos solutos inorgânicos e orgânicos em diferentes órgãos vegetativos de faveleira.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Material vegetal e condições experimentais*

Sementes de faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] foram desinfetadas com hipoclorito de Na<sup>+</sup> 0,2% (m/v), seguido de 3 lavagens consecutivas em água destilada. As sementes foram semeadas em papel de germinação (dimensões 28 x 38 cm) umedecido com água destilada (1,5 x a massa do papel) e mantidas em câmara de crescimento a  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas (VIEIRA e CARVALHO, 1994).

Aos trinta dias de idade, as mudas foram padronizadas de acordo com o número de folhas, altura e peso, onde foram determinados: comprimento inicial da parte aérea (PA<sub>0</sub>) e das raízes (RA<sub>0</sub>); massa fresca total inicial (MF<sub>0</sub>); número de folhas inicial (NF<sub>0</sub>); e mantidas em cultura hidropônica (HOAGLAND e ARNON, 1950) complementada com NaCl (0, 50, 100 e 150 mM). As culturas hidropônicas foram mantidas em casa de vegetação, sob fotoperíodo de 12 h, à temperatura ambiente de  $30 \pm 5$  °C e umidade relativa de 50 %. As culturas foram aeradas continuamente com um borbulhador de ar. A solução nutriente foi substituída por solução recentemente preparada com 7 dias de intervalo.

Oito dias após o início da imposição do estresse, foram avaliados o comprimento final da parte aérea (PA<sub>1</sub>) e raízes (RA<sub>1</sub>); as plantas foram pesadas e, obtida a massa fresca total final (MF<sub>1</sub>) e número de folhas final (NF<sub>1</sub>). Em seguida, as plantas foram coletadas e suas partes separadas em raízes (RA); xilopódio (XIL); caule + pecíolo (CA); folhas com idades mais avançadas (folhas basais – FB, as mais próximas à base do caule); folhas medianas (FM) e folhas recém-expandidas e em expansão (folhas apicais - FA, folhas que se localizavam mais próximas do ápice caulinar). Ao final do experimento, foi avaliado o efeito da salinidade sob o crescimento das plantas através dos indicadores de crescimento (comprimento de parte

aérea e raízes, números de folhas e taxa de crescimento relativo) e de estresse hídrico (conteúdo relativo de água e percentual de umidade) e determinado o acúmulo e distribuição dos solutos inorgânicos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) e orgânicos (açúcares solúveis totais, proteínas solúveis, aminoácidos livres totais e prolina).

### ***Efeito da salinidade no crescimento das plantas e os indicadores de estresse hídrico***

Os sintomas de toxidez foram avaliados pela presença de folhas cloróticas e/ou necróticas.

A taxa de comprimento da parte aérea e raízes, bem como o número de folhas, ao final dos tratamentos com NaCl, foram determinadas segundo Macêdo et al. (2009), como segue:  $PA \% = (PA_1/PA_0) \times 100$ , onde PA % é a taxa de comprimento da parte aérea em relação ao controle,  $PA_0$  é o comprimento inicial e  $PA_1$ , o comprimento final após a exposição ao estresse. Da mesma forma, foram calculadas a taxa de comprimento das raízes ( $RA_t$ ) e o número de folhas ( $NF_t$ ). A massa fresca total inicial e final foi ainda utilizada para determinação da taxa de crescimento relativo de acordo com a fórmula,  $T.C.R. = (MF_{final}/ MF_{inicial}) \times 100$ . Todas as taxas ( $PA_t$ ,  $RA_t$ ,  $NF_t$  e TCR) das plantas tratadas com sal foram expressas como porcentagem das taxas das plantas que não foram expostas ao sal (controle).

Para determinação do conteúdo relativo de água (CRA), porções das partes de cada planta foram pesadas para obtenção da massa fresca (MF). As amostras foram transferidas e mergulhadas em beakers contendo 50 mL de água deionizada sob temperatura ambiente de  $25 \pm 5$  °C, durante 6 horas. Decorrido o tempo, as amostras foram secas com papel toalha e aferidas suas massas para obtenção da massa túrgida (MT). Para obtenção da massa seca (MS), as porções das plantas, foram transferidas para sacos de papel e secas em estufa a 75° C durante 72 horas. O cálculo do C.R.A. foi feito com base na expressão matemática de Irigoyen et al. (1992),  $CRA = (MF -$

$MS/MT-MS$ ) x 100. O percentual de umidade foi determinado segundo Slavick (1974) utilizando a seguinte relação:  $\%U = [(MF-MS)/MF] \times 100$ .

#### ***Determinação do conteúdo de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e relação K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>***

Após a coleta, foi feita pesagem da matéria fresca das raízes, xilopódio, caule e estratos foliares que foram, posteriormente, transferidas para secagem em estufa com circulação de ar a 75 °C, por 48 horas. Após esse período, foi determinada a massa da matéria seca.

As determinações das concentrações de sódio e potássio foram realizadas segundo Silva et al. (2009). A extração em farinha do tecido vegetal foi feita utilizando 50 mg do tecido para 20 mL de água deionizada em banho-maria a 100 °C por 1 hora. O extrato obtido foi centrifugado e seu sobrenadante foi analisado em fotômetro de chama (Micronal B462) para determinação dos conteúdos de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>. A relação K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> também foi determinada.

#### ***Determinação dos solutos orgânicos***

Para determinação dos solutos orgânicos, as amostras foram obtidas a partir das porções das plantas. 200 mg de raízes, xilopódio, caule e estratos foliares foram pesados e distribuídas em frascos contendo 100 mL de água deionizada. Os frascos foram hermeticamente fechados e aquecidos em banho-maria a 100 °C por 1 (uma) hora. Posteriormente o material vegetal foi transferido para sacos de papel e desidratado em estufa a 75 °C durante 72 horas para obtenção de massa seca. A solução líquida restante no frasco foi filtrada e armazenada a -18 °C em *freezer* para posterior dosagem de AST, AALT e PRO.

Os açúcares solúveis totais (AST) foram determinados pelo método de “fenol-sulfúrico” descrito por Dubois et al. (1956). Alíquotas de 100 µL da amostra foram

adicionadas a 400  $\mu\text{L}$  de água deionizada, 500  $\mu\text{L}$  de fenol a 5 % (m/v) e agitados vigorosamente. Para iniciar a reação, foram adicionados 2500  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. A homogeneização foi realizada em agitador vórtex, permanecendo por 20 min em temperatura ambiente. A absorção foi determinada em espectrofotômetro a 490 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  glicose  $\text{g}^{-1}$  de massa seca.

O conteúdo de proteínas solúveis totais (PST) foi determinado de acordo com o método de Bradford (1976). A concentração de aminoácidos livres totais (AALT) foi determinada segundo o método descrito por Peoples et al. (1989). Alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  do extrato foram acrescidas a 400  $\mu\text{L}$  de água deionizada, 250  $\mu\text{L}$  de solução de tampão citrato 200 mM (pH = 5,0) e 250  $\mu\text{L}$  de reagente de ninhidrina (0,1 mMol de KCN e 5 % (m/v) de ninhidrina em metoxi-etanol). Os tubos foram agitados em vórtex e incubados em banho-maria a 100 °C por 15 min. A reação da solução foi interrompida com banho de gelo, sendo adicionados à solução 1,5 mL de etanol 50 % (v/v). Após nova agitação, a solução permaneceu por 20 minutos em temperatura ambiente para posterior leitura em espectrofotômetro a 570 nm de absorbância. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  glutamina  $\text{g}^{-1}$  de massa seca.

A concentração de prolina foi determinada seguindo o método de Bates (1973). Alíquotas de 1 mL do extrato foi misturado a 1 mL do reagente de ninhidrina ácida [1 g de ninhidrina + 24 mL de ácido acético glacial (98 %) + 16 mL ácido fosfórico (6 M)], e 1 mL de ácido acético glacial (98 %), e incubados em banho-maria a 100 °C por 1 hora. A reação foi interrompida por resfriamento sobre o gelo e em seguida, adicionados à solução 2 mL de tolueno (97%) e agitados vigorosamente por 20 segundos. Após estabilização, duas fases foram estabelecidas, sendo a fase aquosa superior formada pelo tolueno e o cromóforo de coloração avermelhada. A absorbância da fase orgânica foi determinada a 520 nm, usando tolueno como branco.

### *Delineamento experimental*

Um delineamento inteiramente casualizado foi utilizado com quatro tratamentos - 0; 50; 100 e 150 mM de NaCl - e cinco repetições. Todos os parâmetros foram analisados por análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a um nível de confiança 0,05.

## **RESULTADOS**

### *Efeito da salinidade no crescimento das plantas e indicadores de estresse hídrico*

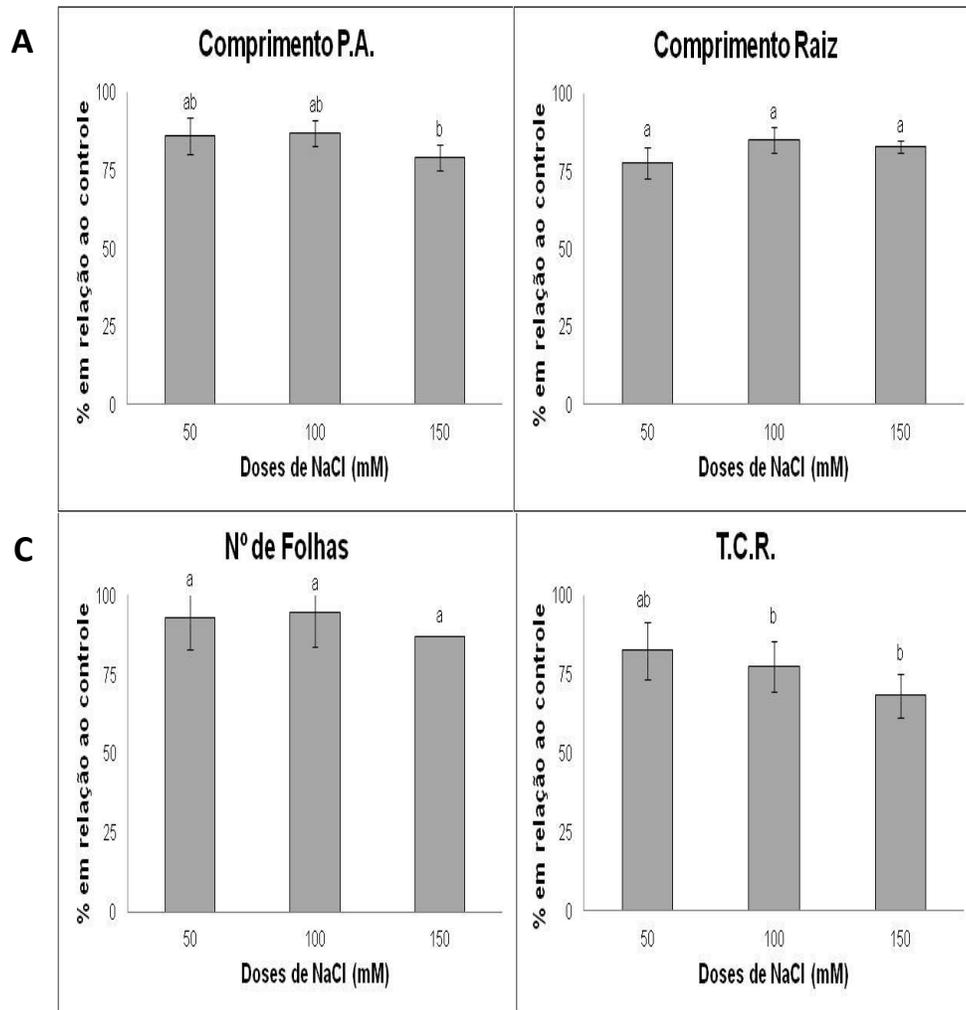
Sintomas visuais de toxicidade foram observados nas folhas mais velhas (basais e medianas) de faveleira submetidas às doses mais elevadas de NaCl (100 e 150 mM). Tais sintomas, quando comparados ao limbo das folhas controle (Figura 1A), foram caracterizados pela presença de clorose e necrose, inicialmente em áreas localizadas das folhas (Figura 1B) com progressiva expansão (Figura 1C e D). Não foram observados sintomas visuais de toxicidade nas folhas mais jovens (folhas apicais) e nos tratamentos 0 (controle) e 50 mM.



**Figura 1. Sintomas de toxicidade em folhas de faveleira expostas a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM) durante 8 dias.** A – Folha basal, tratamento controle, sem sintomas de toxicidade; B – Folha basal submetida à concentração 100 mM, apresentando áreas localizadas de necrose; C – Folha basal submetida à concentração 150 mM, apresentando clorose; D – Folha mediana submetida à concentração 150 mM, apresentando necrose avançada.

A salinidade afetou o crescimento das plantas de *Cnidocolus phyllacanthus*, independentemente da dose de sal utilizada. Comparando-se ao controle, houve redução das taxas de crescimento das partes aéreas e raízes, das folhas e da taxa de crescimento relativo indicada pela massa fresca total das plantas (Figura 2A, B, C e D).

O comprimento da parte aérea das plantas cultivadas por oito dias na presença de 150 mM de NaCl foi cerca de 20 % menor em comparação ao controle, enquanto que nas doses de 50 e 100 mM, a redução foi de 14 e 13 %, respectivamente (Figura 2A). A redução do comprimento das raízes foi entre 14 e 22 % quando comparado ao controle, não existindo diferenças significativas entre as três doses de NaCl (Figura 2B). O número de folhas também foi afetado pela salinidade. Em relação ao controle, houve diminuição nas doses 50 (7 %) e 100 (5 %) mM de NaCl. Contudo, na dose 150 mM a redução foi de 13 % (Figura 2C). A taxa de crescimento relativo (TCR), obtida através da massa fresca total da planta antes e após a exposição ao estresse, que reflete todos os parâmetros de crescimento acima descritos, foi afetada pelas concentrações de NaCl (Figura 2D). Houve redução na TCR de todos os tratamentos salinos em comparação a TCR do controle, porém tal efeito foi mais pronunciado na dose de 150 mM de NaCl. As plantas submetidas às concentrações de 50; 100 e 150 mM tiveram redução no crescimento de 17; 23 e 32 %, respectivamente, em relação às plantas cultivadas na ausência de NaCl (Figura 2D).



**Figura 2. Parâmetros de crescimento avaliados em plantas de faveleira submetidas a diferentes concentrações salinas (controle, 50, 100 e 150 mM de NaCl) durante oito dias. A - Taxa de comprimento da parte aérea; B - Taxa de comprimento das raízes (%); C - Números de Folhas; D - Taxa de Crescimento Relativo em relação ao controle. Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).**

A massa seca dos diferentes órgãos de faveleira diminuiu com o aumento da concentração externa de NaCl, especialmente em raízes, folhas basais e apicais (Tabela 1). Nas raízes, foi observada redução de 60 % da massa seca na dose de 50 mM em relação ao controle, enquanto que nas doses de 100 e 150 mM, essa redução foi de 46 e 47 %, respectivamente. Em xilopódio e caule, a redução da massa seca atingiu percentual maior na dose de 150 mM de NaCl de aproximadamente 37 e 48%, respectivamente, quando comparados aos seus controles. Nos estratos foliares, foi observada redução significativa da massa seca, principalmente na presença da maior dose de sal (150 mM). Em folhas basais, essa redução foi mais expressiva, especialmente nas doses de 50 e 150 mM de NaCl, atingindo 69 e 60 % de redução, respectivamente. Nas folhas medianas e apicais, a redução caiu para 38 e 51% respectivamente, na dose de 150 mM de NaCl.

**Tabela 1. Massa seca em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.** Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Tratamentos de NaCl	MS ( $g^{-1}.MS$ )					
	Partes da Planta					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle						
50 mM	0,11 a	0,30 a	0,22 a	0,08 a	0,21 a	0,24 a
100 mM	0,04 b	0,29 a	0,15 b	0,02 c	0,15 b	0,11 c
150 mM	0,06 b	0,27 a	0,16 b	0,05 b	0,17 b	0,14 b
	0,06 b	0,19 b	0,12 c	0,03 c	0,13 c	0,12 c

A presença de NaCl na solução nutritiva não afetou os indicadores de estado hídrico expressos pelo conteúdo relativo de água (CRA) e percentual de umidade (%U). Em todas as partes das plantas e quando comparados ao controle, o CRA e o %U não diminuíram significativamente na presença do sal (Tabela 2).

**Tabela 2. Indicadores de estresse hídrico em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.** A - Conteúdo relativo de água (C.R.A.); B – Percentual de umidade (%U). Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Tratamentos de NaCl	Conteúdo Relativo de Água (C.R.A.)					
	Partes da Planta					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	88 a	80 a	83 a	84 a	90 a	86 a
50 mM	94 a	88 a	90 a	90 a	91 a	88 a
100 mM	93 a	88 a	88 a	85 a	93 a	87 a
150 mM	89 a	86 a	85 a	88 a	93 a	84 a
	Percentual de Umidade (%U)					
Controle	91 a	88 a	89 a	85 a	84 a	85 a
50 mM	94 a	89 a	86 a	87 a	82 a	85 a
100 mM	93 a	87 a	84 a	84 a	84 a	86 a
150 mM	93 a	88 a	87 a	87 a	84 a	86 a

#### *Conteúdo de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e relação K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>*

O aumento da concentração externa de NaCl ocasionou aumento progressivo do conteúdo de Na<sup>+</sup> nas diferentes partes da faveleira, especialmente em raízes, xilopódio e caule (Tabela 3). Nas raízes e na dose de 150 mM, foi observado um aumento no teor de Na<sup>+</sup> superior a 7 vezes em relação ao controle. Em xilopódio e caule, os teores de Na<sup>+</sup> na dose 150 mM de NaCl atingiram aumento superior a 9 vezes quando comparados aos valores encontrados nos seus respectivos controles. Nas partes aéreas (estratos foliares) os teores de Na<sup>+</sup> também aumentaram em relação aos seus

controles e este aumento foi diretamente proporcional ao aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva. Dentre os três estratos foliares analisados, e em presença da maior dose de sal (150 mM), o aumento mais expressivo ocorreu nas folhas apicais (folhas mais jovens) 3,5 vezes seguido de 2,5 e 2 vezes, em folhas basais e medianas, respectivamente em relação aos valores encontrados nos seus respectivos controles (Tabela 3).

O teor de  $K^+$  foi maior na parte aérea das plantas tratadas e não tratadas com NaCl. Tal acúmulo foi maior nas folhas mais jovens (apicais), seguido das folhas medianas, basais e caule (Tabela 3). O NaCl reduziu o teor de  $K^+$  nas diferentes partes das plantas expostas ao sal, exceto no caule e nas folhas medianas, onde observou-se aumento no conteúdo desse íon, quando comparados aos teores nos respectivos controles. A redução no teor de  $K^+$  foi mais severa nas doses mais elevadas de NaCl. Contudo, tal redução foi mais marcante em raízes e xilopódio. Na dose mais elevada de NaCl (150 mM), a redução nas raízes foi cerca de 40 % e em xilopódio de 45 %, enquanto que nos estratos foliares, as folhas apicais apresentaram redução de 15 % e as folhas basais de 3 %, quando comparadas aos seus controles. No caule, houve aumento de aproximadamente 45 % e nas folhas medianas o incremento foi de 11 %, quando comparado aos respectivos controles (Tabela 3).

A relação  $K^+/Na^+$  das plantas tratadas com NaCl apresentou decréscimo em relação às plantas do tratamento controle a partir de 50 mM de NaCl (Tabela 3), principalmente em raízes, xilopódio e caule, cuja relação foi inferior a 1. Tal decréscimo foi diretamente proporcional ao aumento da concentração externa de NaCl. Na dose de 150 mM de NaCl, as raízes e o xilopódio apresentaram decréscimo na relação  $K^+/Na^+$  superior a 90 %, enquanto que no caule este decréscimo foi de 84 % quando comparados aos respectivos controles. O mesmo efeito, embora menos severos, mantendo-se uma relação superior a 1, foi observado nos estratos foliares analisados, com exceção da dose 50 mM de NaCl em folhas basais e medianas. Na presença de

150 mM de NaCl, as folhas basais, medianas e apicais tiveram redução na relação  $K^+/Na^+$  de 61; 45 e 76 % respectivamente em relação aos seus controles (Tabela 3).

**Tabela 3. Conteúdo de  $Na^+$  e  $K^+$  e relação  $K^+/Na^+$  em raízes, xilopódio, caule, folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.** Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Tratamentos de NaCl	$Na^+$ ( $\mu\text{Mol.g}^{-1}$ MS)					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	37,3 b	49,0 b	54,9 b	82,4 b	58,8 b	56,5 b
50 mM	196,1 a	374,9 a	345,1 a	162,1 a	64,7 b	75,3 b
100 mM	198,7 a	395,3 a	355,6 a	219,6 a	152,2 a	185,6 a
150 mM	294,1 a	472,5 a	501,9 a	206,5 a	117,6 a	196,1 a
Tratamentos de NaCl	$K^+$ ( $\mu\text{Mol.g}^{-1}$ MS)					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	181,7 a	164,4 a	257,7 b	372,3 a	377,9 b	488,5 a
50 mM	186,2 a	124,4 a	323,1 ab	299,0 ab	414,1 a	477,7 a
100 mM	146,2 a	129,5 a	261,5 b	281,5 ab	420,8 a	425,4 a
150 mM	107,7 b	89,7 b	374,4 a	363,5 a	416,9 a	412,3 ab
Tratamentos de NaCl	$K^+/Na^+$					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	4,88	3,35	4,69	4,52	6,42	8,65
50 mM	0,95	0,33	0,94	5,45	6,40	6,34
100 mM	0,74	0,33	0,74	1,28	2,76	2,29
150 mM	0,37	0,19	0,75	1,76	3,54	2,10

O conteúdo de  $Na^+$  por parte da planta aumentou progressivamente nos diferentes órgãos de faveleira, especialmente em raízes, xilopódio e caule (Tabela 4). O conteúdo de  $Na^+$  por raízes aumentou cerca de 4 vezes na dose de 150 mM, em relação ao controle. Os conteúdos de  $Na^+$  por xilopódio nas doses de 100 e 150 mM de NaCl atingiram aumento de aproximadamente 7 e 6 vezes, quando comparados aos valores encontrados nos seus respectivos controles, enquanto que no caule, o conteúdo de  $Na^+$  atingiu aumento máximo de 4,7 vezes em relação ao controle. Nos estratos foliares os conteúdos também aumentaram em relação aos seus controles e este aumento foi

diretamente proporcional ao aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva, com exceção da dose 150 mM em folhas basais. O aumento mais expressivo ocorreu na dose 100 mM em folhas medianas e apicais, de aproximadamente 2 vezes quando comparados aos seus respectivos controles (Tabela 4).

A concentração externa de NaCl ocasionou diminuição do conteúdo de K<sup>+</sup> por parte, considerando os diferentes órgãos de faveleira (Tabela 4). Nas raízes e no xilopódio, foi observada redução de cerca de 3 vezes do conteúdo de K<sup>+</sup> na dose de 150 mM, em relação ao controle. No caule, a redução máxima foi de apenas 1,4 vezes quando comparado ao controle. Nos estratos foliares os teores também diminuíram em relação aos seus controles e esta diminuição foi mais expressiva em folhas basais e apicais, atingindo valores de cerca de 4 e 2 vezes respectivamente. Nas folhas medianas esta diminuição foi de cerca de 1,6 vezes quando comparado ao controle (Tabela 4).

**Tabela 4. Conteúdo de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> multiplicados pela massa seca total de raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.** Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Na <sup>+</sup> (μMol.MS <sup>-1</sup> )						
Tratamentos de NaCl	Partes da Planta					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	4,1 d	14,7 c	12,5 b	6,5 b	12,5 b	13,4 b
50 mM	8,6 c	107,2 a	51,0 a	4,0 b	9,9 b	8,5 b
100 mM	11,9 b	108,7 a	55,8 a	10,9 a	26,4 a	26,3 a
150 mM	17,0 a	88,8 b	59,2 a	6,6 b	15,5 b	22,7 a
K <sup>+</sup> (μMol.MS <sup>-1</sup> )						
Controle	20,0 a	49,3 a	58,0 a	29,8 a	80,9 a	116,3 a
50 mM	8,2 b	35,6 b	47,8 a	7,5 b	63,8 c	54,5 c
100 mM	8,8 b	35,6 b	41,1 b	14,1 b	73,2 b	60,4 b
150 mM	6,2 b	16,9 c	44,2 b	11,6 b	55,0 d	47,8 d

### *Conteúdo de solutos orgânicos*

O conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) apresentou acréscimo significativo nas raízes, caule, folhas basais e apicais com a imposição do tratamento salino, porém houve um decréscimo de 55 % em xilopódio (Tabela 5). Nas raízes e no caule, o aumento dos AST se situou entre 1 e 1,8 vezes. Nos estratos foliares, com exceção das folhas medianas, cujo conteúdo de AST permaneceu inalterado quando comparado ao controle, o aumento foi mais pronunciado, situando-se entre 2,5 e 3,1 vezes para folhas basais e 1,5 e 3,2 vezes para as folhas apicais (Tabela 5).

**Tabela 5. Conteúdo de Açúcares Solúveis Totais em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.** Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Tratamentos de NaCl	AST ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}$ )					
	Partes da Planta					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	0,48 b	0,36 a	0,29 b	0,33 b	0,31 a	0,22 b
50 mM	0,60 ab	0,25 ab	0,52 a	1,03 a	0,35 a	0,71 a
100 mM	0,89 a	0,16 b	0,29 b	0,82 a	0,34 a	0,34 b
150 mM	0,67 ab	0,31 ab	0,38 ab	0,98 a	0,33 a	0,73 a

O conteúdo de proteínas solúveis totais (PST) aumentou nas raízes aproximadamente 4,5 vezes em relação ao do controle na presença de 50 mM de NaCl, enquanto que, no xilopódio, houve incremento de 1,6 vezes na dose 150 mM de NaCl. No caule, o aumento no conteúdo de PST foi de 3,2 vezes na presença da dose mais elevada (150 mM) quando comparado ao das plantas controle. Nos estratos foliares, também foi observado aumento no conteúdo de PST, principalmente nas folhas apicais (5,1 vezes) das plantas tratadas com 150 mM de NaCl. Nos demais estratos foliares

(folhas basais e medianas), o conteúdo foi aumentado em 3,5 e 1,5 vezes, respectivamente, em relação aos respectivos controles (Tabela 6).

O conteúdo de aminoácidos livres totais (AALT) diminuiu nas raízes aproximadamente de 41 % em relação ao do controle na presença de 150 mM de NaCl, enquanto que no xilopódio houve incremento de 18,5 % na mesma dose. No caule das plantas submetidas ao estresse salino, houve aumento no conteúdo de AALT entre 16,5 e 126 % quando comparado ao das plantas controle. O aumento mais pronunciado (235,6 %) foi observado nas folhas apicais das plantas tratadas com 150 mM de NaCl. Nos demais estratos foliares (folhas basais e medianas), o conteúdo permaneceu inalterado, em relação aos respectivos controles (Tabela 6).

O aumento no conteúdo de prolina (PRO) foi observado em todos os órgãos de faveleira, com exceção do xilopódio que apresentou uma diminuição entre 36 a 57 % em comparação as plantas não tratadas com NaCl (Tabela 6). Nas raízes, o aumento do conteúdo PRO foi de 2,7 a 3,9 vezes e no caule o aumento deste soluto foi de 1,7 a 2,7 vezes em relação ao das plantas controle. Contudo, o aumento mais pronunciado do conteúdo de prolina foi observado nos estratos foliares, principalmente nas folhas basais (2,9 a 5 vezes) seguida das apicais (2,8 a 4,1 vezes) e as medianas (1,1 a 1,3 vezes).

**Tabela 6. Conteúdo de solutos orgânicos em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias. Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).**

PST ( $\text{mg}^{-1} \text{ PROT} \backslash \text{g}^{-1} \text{MS}$ )						
Tratamentos de NaCl	Partes da Planta					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	15,6 c	6,9 b	6,6 b	23,2 c	13,1 b	7,9 c
50 mM	70,1 a	5,7 b	19 a	82 a	20 a	19,3 b
100 mM	12,7 c	7,5 b	14,2 b	58,9 b	17,6 a	15,3 b
150 mM	24,7 b	11,5 a	21,2 a	81,3 a	17,6 a	40,7 a
AALT ( $\mu\text{mol GLU} \backslash \text{g}^{-1} \text{MS}$ )						
Tratamentos de NaCl	Partes da Planta					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	691,5 a	232,3 a	204,4 b	288,1 a	189,1 a	68,7 c
50 mM	684,0 a	189,6 a	462,0 a	220,8 a	214,6 a	138,5 b
100 mM	491,5 b	164,0 a	238,2 b	303,7 a	172,9 a	88,1 c
150 mM	406,4 b	275,5 a	279,3 b	223,2 a	141,4 a	230,6 a
PRO ( $\mu\text{mol} \backslash \text{g}^{-1} \text{MS}$ )						
Controle	6,86 b	7,43 a	2,81 b	4,64 b	2,99 a	2,24 d
50 mM	26,78 a	3,21 b	7,70 a	23,49 a	2,97 a	5,38 b
100 mM	18,53 a	4,77 b	5,07 b	13,63 a	4,14 a	4,05 c
150 mM	21,36 a	4,70 b	4,97 b	22,39 a	3,40 a	9,24 a

A contribuição de prolina (PRO) com relação aos AALT aumentou nas plantas tratadas com NaCl. Nas raízes, observou-se aumento de aproximadamente 3,9; 3,8 e 5,3 % em relação ao controle na presença das doses salinas, enquanto que no xilopódio houve diminuição de até 1,7 % nas doses 50 e 150 mM de NaCl. No caule esse aumento foi mais discreto de aproximadamente 2,1 % na dose 100 mM em relação ao seu respectivo controle. Nos estratos foliares esse incremento foi mais pronunciado, especialmente nas folhas basais e apicais; e menor nas folhas medianas. Nas folhas basais das plantas submetidas ao estresse salino, houve um aumento no percentual de PRO de aproximadamente 10 % nas doses 50 e 150 mM de NaCl. O aumento mais

pronunciado observado nas folhas apicais ocorreu nas plantas tratadas com 100 mM de NaCl, cerca de 4,6 % (Tabela 7).

**Tabela 7. Contribuição de solutos orgânicos em raízes; xilopódio; caule; folhas basal, mediana e apical de faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl (controle, 50, 100 e 150 mM) durante oito dias.** Os resultados foram analisados por ANOVA.

Tratamentos de NaCl	Relação PRO/AALT					
	Partes da Planta					
	Raiz	Xilopódio	Caule	Folha Basal	Folha Média	Folha Apical
Controle	1,0	3,2	1,4	1,6	1,6	3,3
50 mM	3,9	1,7	1,7	10,6	1,4	3,9
100 mM	3,8	2,9	2,1	4,5	2,4	4,6
150 mM	5,3	1,7	1,8	10,0	2,4	4,0

## DISCUSSÃO

Os resultados desse estudo indicam que os tratamentos com NaCl foram capazes de induzir alterações fisiológicas significativas nos indicadores de estresse associados aos crescimento, e a distribuição dos solutos inorgânicos e orgânicos. Contudo, os tratamentos salinos não alteraram o estado hídrico nos diferentes órgãos vegetativos das plantas de faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm)] após 8 dias de tratamento.

### *Efeito da salinidade no crescimento das plantas*

Sintomas visuais caracterizados por clorose seguida de necrose (Figura 1) foram observados em folhas basais e medianas de faveleira em consequência da toxicidade causada pelo estresse salino. Manchas avermelhadas ao longo das nervuras foliares, amarelecimento/avermelhamento do limbo foliar, queima das bordas e ápice

do limbo, necrose nas folhas basais a partir do 6º dia do estresse salino, além de senescência precoce já foram descritos na literatura em espécies como a aroeira (SILVA et al., 2000) e o cajueiro (VIÉGAS et al., 2004; MORAIS et al., 2007). Sabe-se que um dos primeiros efeitos da salinidade é o estresse osmótico seguido do iônico (MUNNS, 2002). Como as plantas de faveleira permaneceram 8 dias nos diferentes tratamentos com NaCl, tempo de exposição longo ao estresse, é provável que os sintomas observados nesta espécie seja devido à ocorrência do estresse iônico ocasionado por níveis tóxicos de íons salinos no tecido vegetal foliar o que, segundo Nabil e Coudert (1995) pode levar a necrose e à morte precoce de folhas basais.

Os processos de crescimento são particularmente sensíveis ao efeito dos sais, tornando análises de crescimento como altura média, números de folhas, e outros bons critérios para a avaliação da severidade do estresse e da capacidade da planta de superá-lo (ESTEVEES e SUZUKI, 2008). Em faveleira, a redução na taxa de crescimento relativo (TCR), expressa através da massa fresca total da planta antes e após a exposição ao estresse e que reflete os parâmetros de crescimento como: altura da planta, comprimento de raiz e número de folhas, foi afetada pelas concentrações de NaCl. Verificou-se que a diminuição na taxa de crescimento foi proporcional ao aumento da concentração do sal na solução nutritiva (Figura 2 A-D). Em trabalhos anteriores, Silva et al. (2005) observaram significativa redução na altura das plantas de faveleira com aumento da salinidade, corroborando com os resultados do presente trabalho.

A redução e/ou inibição do crescimento e a produção de fitomassa causadas pela salinidade tem sido amplamente notificado em outras espécies como *Ricinus communis* L. (PINHEIRO et al., 2008), *Anacardium occidentale* L. (FERREIRA-SILVA et al., 2008), *Schinopsis quebracho colorado* (MELONI et al., 2008), *Populus alba* L. (IMADA et al., 2009), *Mentha pulegium* (OUSLATI et al., 2010) e *Jatropha curcas* (SILVA et al., 2009; DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012). Tal fenômeno tem sido atribuído a: i) mudanças drásticas no estado hídrico da planta devido à interrupção na

homeostase do potencial de água causada pelo efeito osmótico; ii) toxicidade iônica devido ao desbalanço iônico, gerando danos metabólicos, fisiológicos e estresse oxidativo e iii) desbalanço nutricional causado pela interferência na absorção de nutrientes essenciais (MUNNS, 2006; MUNNS e TESTER, 2008). Neste trabalho, é provável que a redução no crescimento das plantas de faveleira foi devido à ocorrência de níveis tóxicos de íons e/ou a um desbalanço nutricional visto que o NaCl não afetou os indicadores de estresse hídrico expressos pelo conteúdo relativo de água e percentual de umidade nas diferentes partes da planta. Contudo a razão  $K^+/Na^+$  superior a 1 nos estratos foliares das plantas tratadas com NaCl não explica completamente a toxicidade pelo  $Na^+$  e/ou o desbalanço nutricional causado pelo  $K^+$ . Embora não se saiba:

i) efetivamente do teor total de  $Na^+$  o quanto se encontra compartimentalizado nos vacúolos, e o quanto se encontra disponível no citosol e que possa gerar toxicidade nos tecidos foliares;

ii) se outros íons como o  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ , entre outros possam estar envolvidos no desbalanço nutricional (VICENTE et al., 2004; MANDHANIA et al., 2006).

### ***Homeostase Iônica***

O aumento da concentração externa de NaCl ocasionou o aumento do conteúdo de  $Na^+$  nos diferentes órgãos da faveleira, especialmente no xilopódio, no caule e nas raízes. Considerando o teor de  $Na^+$  por órgão analisado, o xilopódio das plantas tratadas com NaCl acumulou mais de  $Na^+$  em relação ao controle, seguido do caule e raízes (Tabela 4). Resultados semelhantes foram obtidos com outras espécies arbóreas tais como *Anacardium occidentale* L. (MORAIS et al., 2007), *Schinopsis quebracho* (MELONI et al., 2008) e *Populus alba* L. (IMADA et al., 2009).

Em faveleira, é provável que o maior acúmulo do  $Na^+$  observado nas partes baixas da planta esteja associado a um mecanismo de controle da translocação deste

íon para a parte aérea. É possível ainda inferir que o xilopódio possa atuar como órgão acumulador de  $\text{Na}^+$ , compartimentalizando-o provavelmente em seus vacúolos e controlando o fluxo deste íon para as partes superiores da planta. Adicionalmente, é ainda provável que nos estratos foliares, o  $\text{Na}^+$  possa ser direcionado para as folhas mais velhas, cujo acúmulo foi maior quando comparada às folhas medianas, que são folhas completamente expandidas com intensa atividade fotossintética. Sabe-se que as plantas podem minimizar os danos causados pela salinidade compartimentalizando o  $\text{Na}^+$  em vacúolos pela ação de carreadores  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  no tonoplasto ou ainda o redirecionando para partes mais velhas da planta (folhas velhas) (TESTER e DAVENPORT, 2003, ANDREEV, 2001; ASHRAF, 2002).

O  $\text{K}^+$  é um dos macronutrientes mais requeridos pelas plantas sendo também o cátion mais abundante nas células vegetais (GIERTH e MASER, 2007). A elevada salinidade no solo compromete a absorção do  $\text{K}^+$  pelas plantas induzindo a deficiência deste íon e gerando na célula distúrbios metabólicos resultantes da competição entre o  $\text{Na}^+$  com o  $\text{K}^+$  pelos sítios ativos das enzimas (MAATHIUS e AMTMANN, 1999).

Em faveleira, a redução de  $\text{K}^+$  pode ser atribuída à maior competição entre o  $\text{Na}^+$  e o  $\text{K}^+$  pelos sítios de absorção e/ou a um maior carregamento de  $\text{K}^+$  no xilema e alocação deste íon nas partes aéreas.

Algumas espécies de plantas sensíveis à toxicidade iônica também exibem incremento na acumulação de  $\text{K}^+$  nas folhas em condições de estresse salino (CHEESEMAN, 1995). Contudo, o acúmulo deste íon não favoreceu o crescimento da parte aérea da espécie em questão (Figura 2A). Contrariamente, na presença das doses mais elevadas de sal (100 e 150 mM), as folhas de faveleira exibiram sintomas característicos de senescência precoce, como clorose e necrose bastante acentuadas (Figura 1 C-D). Tal fato reforça que provavelmente a redução no crescimento das plantas de faveleira foi devido a ocorrência de níveis tóxicos de íons salinos e/ou a um desbalanço nutricional (VICENTE et al., 2004, SAIRAM e TYAGI, 2004; MANDHANIA et al., 2006). Adicionalmente, sabe-se que pelo menos em parte a

redução na taxa de crescimento das plantas é devido à alocação de energia para manter um eficiente ajustamento osmótico celular (SILVEIRA et al., 2003), obtido pelo acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos a exemplo de  $K^+$ . Assim, a manutenção e/ou acúmulo de  $K^+$  observado nos estratos foliares de faveleira pode indicar efeitos benéficos no estado hídrico, induzido ao menos em parte, por reduções no potencial osmótico celular, visto que o NaCl não afetou nem o conteúdo relativo de água nem o percentual de umidade da planta. Resultados reforçando a importância do  $K^+$  no ajustamento osmótico foram observados em *Vitis vinifera* (PATAKAS et al., 2002) e em *Anacardium occidentale* L. (MORAIS et al., 2007).

De forma geral, a salinidade pode causar dois tipos de estresse nos tecidos e órgãos das plantas superiores: déficit hídrico, como resultado de uma alta concentração de solutos no ambiente radicular, e estresse iônico, em que este último decorre, em grande parte, de alterações nas relações  $K^+/Na^+$  e de concentração excessiva de íons salinos ( $Na^+$ ,  $Cl^-$ ), em especial nas folhas, que são prejudiciais ao metabolismo celular (HORIE e SCHROEDER, 2004). Desta forma, em condições de estresse salino a manutenção do equilíbrio iônico celular (“homeostase” iônica) se torna ainda mais relevante (ZHU, 2003).

Informações quanto à dinâmica da acumulação de íons de  $K^+$  e  $Na^+$ , em condições de salinidade, podem ser obtidas mediante análise da relação  $K^+/Na^+$  (Tabela 2). De acordo com Maathuis e Amtmann (1999) a razão  $K^+/Na^+$  é um indicador de toxicidade iônica, onde valores inferiores a 1 indicam um acúmulo preferencial de  $Na^+$  no tecido em detrimento ao  $K^+$ . Em faveleira, a razão  $K^+/Na^+$  inferior a 1,0 observada nas raízes, xilopódio e caule e superiores a 1 nos estratos foliares sugerem uma possível toxicidade iônica e que provavelmente as raízes e principalmente o xilopódio tenham sido eficientes tanto em prevenir um acúmulo excessivo de  $Na^+$  na parte aérea até a dose de 100 mM de NaCl como em garantir a manutenção de uma relação  $K^+/Na^+$  compatível com os requerimentos metabólicos da planta. Como discutido anteriormente, é provável que o xilopódio, órgão de reserva de faveleira possa reter o

Na<sup>+</sup> nas suas células, compartimentalizando-o dentro de vacúolos e simultaneamente, pode ocorrer um maior carregamento de K<sup>+</sup> no xilema.

### ***Conteúdo de solutos orgânicos em faveleira***

O ajustamento osmótico é um dos mecanismos de tolerância à salinidade associado à síntese e acumulação de solutos orgânicos tais como açúcares, aminoácidos, prolina, proteínas entre outros (HRIDARI-SHARIFABAD e MIRZAIE-NODOUSHAN, 2006).

Os açúcares contribuem em cerca de 50% ou mais para o potencial osmótico total sob estresses abióticos (ASHRAF e HARRIS, 2004), além de prevenir contra a desidratação e serem fonte de energia para células ativas sob condições de estresse (ELAVUMOOTIL et al., 2003). Em faveleira, e na presença de NaCl, o conteúdo de açúcares solúveis totais aumentou cerca de 1,8; 3,2 e 3,3 vezes em raízes, folhas basais e apicais, respectivamente, em relação aos seus controles (Tabela 3A).

Em espécies como *Zea mays* L. (KHOLOVA et al., 2010), *Ricinus communis* L. (BABITA et al., 2010), *Triticum aestivum* L. (NIO et al., 2011), o aumento dos açúcares foi considerado um indicativo da ocorrência da osmorregulação.

Em faveleira, é possível que o aumento dos AST observado nas folhas possa estar relacionado à osmorregulação, visto que o estado hídrico das folhas foi mantido (Tabela 2), contudo não se pode excluir que tal aumento seja devido a uma maior degradação de amido e/ou um menor consumo desses açúcares pelos tecidos foliares. De acordo com Munns e Weir (1981) a acumulação de açúcares tais como frutose e sacarose, que fazem parte do pool de AST, pode estar relacionada a uma menor utilização desses carboidratos quando o crescimento é inibido ou reduzido ou ainda a uma inibição da atividade enzimática da sacarose sintase ou invertase (STURM e TAN, 1999). Não se exclui a possibilidade de estar ocorrendo provavelmente, um aumento na exportação de carboidratos da parte aérea até as raízes, privilegiando assim

o crescimento radicular a despeito das condições restritivas e adversas às quais as plantas de faveleira foram cultivadas (SILVEIRA et al., 2003).

O acúmulo de compostos nitrogenados em plantas é comumente relacionado à tolerância a salinidade (MANSOUR, 2000). A maioria das plantas, frequentemente, acumula na forma de aminoácidos, amidas, proteínas solúveis e poliaminas, sendo este conteúdo variável entre as espécies (MELONI et al. 2008; ESTEVES e SUZUKI, 2008). Estes compostos atuam no ajuste osmótico, proteção de macromoléculas celulares, estocagem de nutrientes, manutenção do pH celular, desintoxicação de células e minimização dos efeitos das espécies reativas de oxigênio (ASHRAF e HARRIS, 2004).

Contudo, em condições de estresse salino, as respostas bioquímicas relacionadas às vias metabólicas desses compostos nitrogenados são bastante complexas. Sabe-se que um aumento da síntese de proteínas pode estar relacionado a proteínas que atuam, principalmente na estabilização das membranas celulares e na sinalização de respostas ao estresse salino (TESTER e DAVENPORT, 2003). Por outro lado, o acúmulo de AALT e PRO pode ser causado tanto por um aumento da atividade hidrolítica de proteínas motivado por danos metabólicos causados pelo sal, quanto por síntese *de novo* relacionada a mecanismos que induzam o aumento de solutos compatíveis no meio intracelular (CHANDRASHEKAR e SANDHYARANI, 1996; ALVES e SETTER, 2004; DA SILVA et al., 2006; BRITO et al., 2008)

Em faveleira, o aumento ou diminuição observado no conteúdo desses compostos nitrogenados em resposta à salinidade variou conforme a parte da planta estudada, embora no xilopódio e nas folhas medianas a resposta não teve maiores efeitos significativos tanto do ponto de vista biológico quanto estatístico.

Os resultados relacionados aos conteúdos de proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT) e prolina (PRO) mostram que houve síntese de proteínas em ambas as partes da planta. Comparando este fato com os dados de AALT

e de PRO e com os do CRA e da %U, duas hipóteses podem ser inferidas em função do órgão em questão:

i) como o estresse salino não alterou o CRA e o %U no caule nem nas folhas apicais, é possível que o aumento do conteúdo de AALT nestes órgãos seja uma resposta fisiológica da planta como tentativa de ajustamento osmótico, ocorrida através da ativação de vias de síntese de aminoácidos (anabolismo). Pode-se ainda sugerir que a PRO é um dos aminoácidos responsável por este ajustamento. Adicionalmente, é possível que o aumento da concentração de PST possa também estar relacionado à síntese de proteínas específicas a estas condições adversas, já que certas proteínas de estresse podem contribuir na tolerância ao sal (MOHAMMADKANI e HEIDARI, 2008).

ii) nas folhas basais e nas raízes, é provável que a síntese de proteínas, esteja relacionada a diminuição do conteúdo de AALT devido a uma maior incorporação destas as proteínas, embora os dados da prolina não reforcem esta afirmação. Neste caso, o aumento da prolina parece ser devido a um desequilíbrio no metabolismo, como já observado no cajueiro (SILVEIRA et al., 2003; MORAIS et al., 2007). Embora não se possa excluir a possibilidade de um ajustamento osmótico por parte da prolina, considerando que o NaCl não alterou o CRA e o %U nesses órgãos. Estudos têm demonstrado que a acumulação de prolina está relacionada à resistência a estresses abióticos, o que indica que esse soluto tem papel na osmoproteção (ASHRAF e HARRIS, 2004).

Resultados com aumento significativo da concentração de AALT foram relatados em outras espécies como o *Carthamus mareoticus* L. (ABDEL-NASSER e ABDEL-ASAL, 2002) e o *Helianthus annuus* L. (RADY et al., 2011), sob estresse salino.

O que pode ser interpretado como um mecanismo para a manutenção da homeostase metabólica em um processo de aclimação, alterando a alocação de carbono de forma a aumentar o teor de aminoácidos (LAWLOR e FOCK, 1977).

Contudo, em faveleira, o acúmulo de AALT no caule e nas folhas apicais não pode ter relação direta com a redução do conteúdo de açúcares solúveis totais (AST), visto que observou-se aumento no conteúdo desses açúcares.

O acúmulo de AST, PST, ASLT e PRO em órgãos de faveleira evidencia uma possível alteração metabólica. Porém, o aumento no conteúdo desses solutos orgânicos não descarta a ocorrência do ajustamento osmótico, já que o estado hídrico das diferentes partes da planta não foi alterado.

## CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo indicam que os tratamentos com NaCl foram capazes de induzir alterações fisiológicas e bioquímicas significativas nos indicadores de estresse associados ao crescimento, e a distribuição dos solutos inorgânicos e orgânicos nos diferentes órgãos vegetativos das plantas de *C. phyllacanthus*. Os íons provocaram sintomas de clorose e necrose em folhas basais e medianas, frequência em função da dose. A salinidade afetou o crescimento das plantas, observados pela determinação da taxa de crescimento relativo, crescimento de raízes e parte aérea, bem como o número de folhas. Provavelmente tenha ocorrido um maior efeito iônico nos órgãos estudados, já que os tratamentos salinos não alteraram o estado hídrico das plantas, determinado através do conteúdo relativo de água e umidade. As condições de estresse salino provocaram aumento no conteúdo de Na<sup>+</sup> em todos os órgãos da planta, especialmente no xilopódio, o que sugere o envolvimento deste órgão na acumulação e/ou compartimentalização de Na<sup>+</sup> e controle do fluxo deste íon para as partes superiores da planta como forma de evitar a toxicidade nas folhas. A manutenção e/ou acúmulo de K<sup>+</sup> nos estratos foliares de faveleira pode indicar efeitos benéficos no estado hídrico. Observou-se resposta diferenciada nos diferentes órgãos de faveleira em relação aos solutos orgânicos (AST, PST, AALT e PRO). O acúmulo desses

solutos orgânicos evidencia uma possível alteração metabólica e provável ocorrência do ajustamento osmótico.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-NASSER, L.E.; ABDEL-ASAL, A.E. Effect of elevated CO<sub>2</sub> and drought on proline metabolism and growth of safflower (*Carthamus mareoticus* L.) seedlings without improving water status. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.5, n.5, p.523–528, 2002.

ACOSTA, J.A.; FAZ, A.; JANSEN, B.; KALBITZ, K.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S. Assessment of salinity status in intensively cultivated soils under semiarid climate, Murcia, SE Spain. **Journal of Arid Environments**, v.75, n.11, p.1056-1066, 2011.

ALVES, A.A.C.; SETTER, T.L. Response of cassava leaf area expansion to water deficit: cell proliferation, cell expansion and delayed development. **Annals of Botany**, v.94, p.605-613, 2004.

ANDRADE, T.S.; MONTENEGRO, S.M.G.L.; MONTENEGRO, A.A.A.; RODRIGUES, D.F.B. Variabilidade espaço-temporal da condutividade elétrica da água subterrânea na região semiárida de Pernambuco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n 5, p.496-504, 2012.

ANDREEV, I.M. Functions of the vacuole in higher plant cells. **Russ. J. Plant Physiol.**, v.48, p.672-680, 2001.

ASHRAF, M. Breeding for salinity tolerance in plants. **Critical Review in Plant Sciences**, v.13, n.1, p.17-42, 1994.

ASHRAF, M. Salt Tolerance of Cotton: Some New Advances. **Critical Review in Plant Science**, v.21, p.1-30, 2002.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, n.1, v.6, p.3–16, 2004.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environm. Exp. Bot.**, v.59, p.206-216, 2007.

BABITA, M.; MAHESWARI, M.; RAO, L.M.; SHANKER, A.K.; RAO, D.G. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. **Environmental and Experimental Botany**, v.69, n.3, p.243-249, 2010.

BATES, L.S., WALDREN, R.P., TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p.205-7, 1973.

BELTRÃO, N.E.M.; OLIVEIRA, M.I.P. **Oleaginosas potenciais do Nordeste para produção de biodiesel**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Algodão. Campina Grande, Documentos 117 (ISSN 0103-0205), 2007; 53p. Disponível em: <[www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/277417/.../DOC177](http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/277417/.../DOC177)>. Acesso em: 15 out.2011.

BOYER, J.S. Plant productivity and environment. **Science**, n.218, p.443–448, 1982.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRITO, L.K.F.L.; SILVEIRA, J.A.G.; LIMA, L.L.F.; TIMÓTEO, A.R.S.; CHAGAS, R.M.; MACEDO, C.E.C. Alterações no perfil de frações nitrogenadas em calos de cana-de-açúcar induzidas por déficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.683-690, 2008.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W. JONES, R.L. Biochemistry e Molecular Biology of Plants. Rockville. **American Society of Plant Physiologists**, 2009. 1407p.

CHANDRASHEKAR, K.R.; SANDHYARANI, S. Salinity induced chemical changes in *Crotalaria striata* dc. plants. **Indian Journal Plant Physiology**, v.1, p.44-48, 1996.

CHANG, I.; CHENG, K.; HUANG, P.; LIN, Y.; CHENG, L.; CHENG, T. Oxidative stress in greater duckweed (*Spirodela polyrhiza*) caused by long-term NaCl exposure. **Acta Physiol Plant**, n.1, 2011.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Ann Botanical**, v.103, p.551–560, 2009.

CHEESEMAN, J.M. Effect of Na<sup>+</sup> on K<sup>+</sup> uptake in intact seedlings of *Zea mays*. **Physiology Plantarum**, v.64, n.1, p.243-246, 1995.

DA SILVA, A.L.S.; SPERLING, P.; HORST, W.; FRANKE, S.; OTT, C.; BECKER, D.; STAB, A.; LORZ, H.; HEINZ, E. A possible role of sphingolipids in the aluminium resistance of yeast and maize. **Journal of Plant Physiology**, v.163, n.1, p.26-38, 2006.

DÍAZ-LÓPEZ, L.; GIRMENO, V.; LIDÓN, V.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. To tolerance of *Jathopha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological analysis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.54, p.34-42, 2012.

D'SOUZA, M.R.D.; DEVARAJ, V.R. Biochemical responses of Hyacinth bean (*Lablab purpureus*) to salinity stress. **Acta Physiol Plant**, v.32, p.341-353, 2010.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356, 1956.

ELAVUMOOTIL, O. C; MARTIN, J. P; MORENO, M. L. Changes in sugars, sucrose synthase activity and proteins in salinity tolerant callus and cells suspension cultures of *Brassica oleraceae* L. **Biology Plant.**, v.46, p.7-12, 2003.

ELLOUZI, H.; HAMED, K.B.; CELA, J.; MUNNÉ-BOSCH, S.; ABDELLY, C. Early effects of salt stress on the physiological and oxidative status of *Cakile maritima* (halophyte) and *Arabidopsis thaliana* (glycophyte). **Physiologia Plantarum**, v.142, p.128–143, 2011.

ESTEVEES, B.S.; SUZUKI, M.S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecol. Brasileira**, v.4, n.12, p.662-679, 2008.

FERREIRA-SILVA, S.L.; SILVEIRA, J.A.G.; VOIGT, E.L.; SOARES, L.S.P.; VIÉGAS, R.A. Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.20, p.51-59, 2008.

FORD, C.W.; WILSON, J.R. Changes in levels of solutes during osmotic adjustment to water stress in leaves of four tropical pasture species. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.8, p.77-91, 1981.

GIERTH, M.; MASER, P. Potassium transporters in plants – involvement in K<sup>+</sup> acquisition, redistribution and homeostasis. **FEBS Lett.**, v.581, p.2348–2356, 2007.

HEIDARI-SHARIFABAD, H.; MIRZAIE-NODOUSHAN, H. Salinity-induced growth and some metabolic changes in three *Salsola* species. **Journal of Arid Environments**, v.67, p.715–720, 2006.

HIEN, D. T.; JACOBS, M.; ANGENON, G.; HERMANS, C.; THU, T. T.; VAN SON, L.; ROOSENS, N. H. Proline accumulation and  $\Delta$ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene properties in three rice cultivars differing in salinity and drought tolerance. **Plant Science**, v.165, p.1059-1068, 2003.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water-culture method for growing plants without soil**. California Agricultural Experimental Station, Berkeley. 347p. 1950.

HORIE, T.; SCHROEDER, J.I. Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. **Plant Physiology**, v.136, n.6, p.2457-2462, 2004.

IMADA, S.; YAMANAKA, N.; TAMAI, S. Effects of salinity on the growth, Na partitioning, and Na dynamics of a salt-tolerant tree, *Populus alba* L. **Journal of Arid Environments**, v.73, p.245-251, 2009.

IRIGOYEN, J.J.; EMERICH, D.W.; SANCHEZ-DIAZ, M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, v.84, p.55-66, 1992.

JENCI, A.; NATARAJAN, S. Growth and organic constituent variations with salinity in *Excoecaria agallocha* L., an important Halophyte. **Botany Research International**, v.1, n.2, p.50-54, 2009.

KHOLOVA, J.; SAIRAM, R.K.; MEENA, R.C. Osmolytes and metal ions accumulation, oxidative stress and antioxidant enzymes activity as determinants of salinity stress tolerance in maize genotypes. **Acta Physiol Plant**, v.32, p.477-486, 2010.

KÖSKEROSGLU, S.; TUNA, A.L. The investigation on accumulation levels of proline and stress parameters of the maize (*Zea mays* L.) plants under salt and water stress. **Acta Physiol Plant**, v. 32, p.541-549, 2010.

LAWLOR, D. W.; FOCK, H. Water stress induced changes in the amounts of some photosynthetic assimilation products and respiratory metabolites of sunflower leaves. **Journal of Experimental Botany**, v.28, p.329-337, 1977.

LIN, C.C.; KAO, C.H. Osmotic stress-induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings. **Plant Growth Regul.**, v.37, p.177-183, 2002.

LOPES, A.P.; LÚCIO, A.A.; SILVA, F.F.S.; SILVA, P.P. DANTAS, B.F. **Crescimento inicial de plantas de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.) submetidas ao estresse salino.** 2008. pdf. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em 10 nov. 2010.

MACÊDO, C.E.C.; VAN SINT JAN, V.; KINET, J.M.; LUTTS, S. Effects of aluminium on root growth and apical root cells in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. Reliability of screening tests to detect Al resistance at the seedling stage. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.31, n.6, p.1255-1262, 2009.

MASATHIUS, F.J.M.; DAWN VERLIN, F.; SMITH, F.A.; SANDERS, D.; FERNANDEZ, J.A.; WALKER, N.A. The physiological relevance of the Na<sup>+</sup> coupled K<sup>+</sup> transport. **Plant Physiology**, v.112, n.2, p.1609-1616, 1996.

MAATHIUS, F.J.M.; AMTMANN, A. K<sup>+</sup> Nutrition and Na<sup>+</sup> Toxicity: Basis of Cellular K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> Ratios. **Annals of Botany**, v.84, n.02, p.123-133, 1999.

MANDHANIA, S.; MADAN, S.; SAWHNEY, V. Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings. **Biologia Plantarum**, v.50, p.227-231, 2006.

MANSOUR, M.M.F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. **Biologia Plantarum**, v.43, p.491-500, 2000.

MELONI, D.A.; GULOTTA, M.R.; MARTÍNEZ, C.A. Salinity tolerance in *Schinopsis quebracho colorado*: Seed germination, growth, ion relations and metabolic responses. **Journal of Arid Environments**, v.72, p.1785-1792, 2008.

MOHAMMDKHANI, N.; HEIDARI, R. Effects of Drought Stress on Soluble Proteins in two Maize Varieties. **Turk Journal Biology**, v.32, p.23-30, 2008.

MORAIS, D.L.; VIÉGAS, R.A.; SILVA, L.M.M.; LIMA JR, A.R.; COSTA, R.C.L.; ROCHA, I.M.A.; SILVEIRA, J.A.G. acumulação de íons e metabolismo de N em cajueiro anão em meio salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n.2, p.125-133, 2007.

MUNNS, R.; WEIR, R. Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficit at two light levels. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.8, p.93-105, 1981.

- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell Environment**, v.25, p.239–250, 2002.
- MUNNS, R.; JAMES, R.A.; LÄUCHLI, A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. **Journal of Experimental Botany**, n.57, p.1025-1043, 2006.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annu. Rev. Plant. Biol.**, n.59, p.651–681, 2008.
- NABIL, M.; COUDERT, A. Effects of sodium chloride on growth, tissue elasticity and solute adjustment in two *Acacia nilotica* subspecies. **Physiology Plantarum**, v.93, p.217-224, 1995.
- NIO, S.A.; CAWTHRAY, G.R.; WADE, L.J.; COLMER, T.D. Pattern of solutes accumulated during leaf osmotic adjustment as related to duration of water deficit for wheat at the reproductive stage. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.49, p.1126-1137, 2011.
- OUESLATI, S.; KARRAY-BOURAOUI, N.; ATIA, H.; RABHI, M.; KSOURI, R.; LACHASAL, M. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. **Acta Physiol Plant**, v.32, p.289-296, 2010.
- PATAKAS, A.; NIKOLAOU, N.; ZIOZIOIU, E.; RADOGLU, K.; NOITSAKIS, B.X. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. **Plant Science**, n.163, p.361-367, 2002.
- PEOPLES, M.B.; FAIZAH, A.W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D.F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian Center for International Agricultural Research, 1989. 76p.
- PINHEIRO, H.A.; SILVA, J.V.; ENDRES, L.; FERREIRA, V.M.; CÂMARA, C.A.; CABRAL, F.F.; OLIVEIRA, J.F.; CARVALHO, L.W. T.; SANTOS, J.M.; FILHO, B. G. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v.27, p.385-392, 2008.
- RADY, M.M.; SADAK, M.S.; EL-BASSIOUNY, H.M.S.; ABD EL-MONEM, A.A. Alleviation the adverse effects of salinity stress in sunflower cultivars using nicotinamide and  $\alpha$ -tocopherol. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, n.5, v.10, p.342–355, 2011.

RIBEIRO FILHO, N.M.; CALDEIRA, V.P.S.; FLORÊNCIO, I.M.; AZEVEDO, D.O.; DANTAS, J.P. Avaliação comparada dos índices químicos nitrogênio e fósforo nas porções morfológicas das espécimes de faveleira com espinhos e sem espinhos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.9, n.2, p.149-159, 2007.

RIBEIRO FILHO, N.M.; FLORÊNCIO, I.M.; BRITO, A.C.; DANTAS, J.P.; CAVALCANTI, M.T. Avaliação nutricional de raízes de faveleira e cenoura em períodos equidistantes de coleta. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, n.2, p.163-168, 2011.

ROCHA, L.M.A. **Regulação metabólica da acumulação de prolina em folhas de cajueiro expostas ao estresse salino**. Fortaleza: UFC, 2003. 104p. Tese Doutorado.

SAIRAM, R.K.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Curri Science**, n.86, p.407-421, 2004.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant, Cell and Environment**, v.25, p.333-341, 2002.

SHABALA, S.; CUIN, T.A. Potassium transport and plant salt tolerance. **Physiologia Plantarum**, v.133, p.651-669, 2008.

SHABALA, S. Salinity and programmed cell death: unravelling mechanisms for ion specific signalling. **Journal Exp. Bot.**, v.60, p.709-711, 2009.

SHABALA, L.; MACKAY, A.; TIAN, Y.; JACOBSEN, S.; ZHOU, D.; SHABALA, S. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia Plantarum**, n.1, p.1-13, 2012.

SILVA, F. A. M.; MELLONI, R.; MIRANDA, J. R. P.; CARVALHO, J. G. Efeito do estresse salino sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) cultivadas em solução nutritiva. **Revista Cerne**, v. 6, n. 1, p. 52-59, 2000.

SILVA, L.M.M.; AGUIAR, I.B. Efeito dos substratos e temperaturas na germinação de sementes de *Cnidocolus phyllacanthus* Pax e K. Hoffm. (faveleira). **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.9-14, 2004.

SILVA, M. B. R; BATISTA, R. C.; LIMA, V. L. A.; BARBOSA, E. M.; BARBOSA, M. F. N. Crescimento de plantas jovens da espécie florestal favela (*Cnidocolus*

*phyllacanthus* Pax et K. Hoffm) em diferentes níveis de salinidade da água. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.5, n.2, p.1-14, 2005.

SILVA, C.C.; DANTAS, J.P.; SANTOS, J. C.O.; SANTOS, T.T.S. Obtenção do biodiesel derivado do óleo de faveleira (*Cnidoscopus quercifolius*) uma espécie forrageira. 2007. Disponível em: <<http://www.annq.org/congresso2007/trabalhosapresentados/T76.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2011.

SILVA, E.N.; SILVEIRA, J.A.G.; RODRIGUES, C.R.F.; LIMA, C.S.; VIÉGAS, R.A. Contribuição de solutos inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-manso submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.5, p.437-445, 2009.

SILVA, E.N.; RIBEIRO, R.V.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v.74, p.1130-1137, 2010.

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**, v.160, n.2, p.115-123, 2003.

SLAVICK, B. **Methods of studying plant water relations**. New York: Springer-Verlong, 449p. 1974.

SOUSA, A.E.C.; GHEYI, H.R.; CORREIA, K.G.; SOARES, F.A.L.; NOBRE, R.G. Crescimento e consumo hídrico de pinhão manso sob estresse salino e doses de fósforo. **Rev. Ciênc. Agronômica**, v.42, n.2, p.310-318, 2011.

STURM, A.; TANG, G-Q. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. **Trends in Plant Science**, v.4, p.401-407, 1999.

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

VICENTE, O.; BOSCAIU, M.; NARANJO, M.A.; ESTRELLES, E.; BELLÉS, J.M.; SORIANO, P. Responses to salt stress in the halophyte *Plantago crassifolia* (Plantaginaceae). **Journal of Arid Environments**, v.58, p.463-481, 2004.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

VIÉGAS, R.A.; SILVA, L.M.M.; VIÉGAS, P.R.A; QUEIROZ, J.E.; ROCHA, I.M.A. Redução assimilatória de  $\text{NO}_3^-$  em plantas de cajueiros cultivados em meio salinizado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.2/3, p.189-195, 2004.

YOUSIFI, N.; SLAMA, I.; GHNAYA, T.; SAVOURE, A.; ABDELLY, C. Effects of water deficit stress on growth, water relations and osmolyte accumulation in *Medicago truncatula* and *M. laciniata* populations. **Comptes Rendus Biologies**, v.333, p.205-213, 2010.

ZHU, J.K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v.6, n.5, p.441-445, 2003.

## CAPÍTULO II

---

**DESEFA ANTIOXIDATIVA EM FAVELEIRA [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M.  
Arg.) Pax et K. Hoffm] SOB SALINIDADE**

**DEFESA ANTIOXIDATIVA EM FAVELEIRA [*Cnidocolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] SOB SALINIDADE**

**RESUMO** – O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta oxidativa enzimática e não enzimática de *Cnidocolus phyllacanthus* submetida a diferentes níveis de salinidade. Plantas de faveleira foram cultivadas em solução nutritiva contendo 0, 50, 100 e 150 mM de NaCl em condições de casa de vegetação. Após 8 dias de estresse, as plantas foram coletadas e separadas em raízes, xilopódio, caule, folhas basais, medianas e apicais. Foram determinados vazamento de eletrólitos (VE), peroxidação lipídica (PL), conteúdo de ascorbato (ASC), conteúdo de pigmentos fotossintéticos, atividades de superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e ascorbato peroxidase (POX). O aumento na concentração de NaCl causou maior VE em raízes, folhas medianas e apicais. A salinidade aumentou o PL em todos os órgãos, especialmente em 150 mM de NaCl, exceto nas raízes. Os estratos foliares acumularam cerca de 90% do conteúdo de ASC da planta. O conteúdo de clorofila manteve-se constante em folhas basais e medianas. O conteúdo de antocianinas apresentou comportamento similar ao das clorofilas. O conteúdo de carotenóides reduziu de acordo com o incremento das concentrações de NaCl em caule e estratos foliares. A atividade de SOD foi diminuída em raízes, xilopódio e caule, e aumentada nos estratos foliares. A atividade de APX aumentou em folhas apicais e raízes; decaindo em xilopódio, caule, folhas basais e medianas. A atividade de POX foi aumentada em raízes, xilopódio, caule, folhas medianas e apicais, exceto em folhas basais. De acordo com os resultados, *C. phyllacanthus* apresenta um complexo sistema de defesa não enzimático e enzimático representado pelas antocianinas, carotenóides, ascorbato, APX e POX em resposta ao estresse salino.

**Palavras-chave:** Estresse oxidativo. Peroxidação lipídica. Pigmentos fotossintéticos. Salinidade.

**ANTIOXIDATIVE DEFENSE IN FAVELEIRA [*Cnidoscopus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et Hoffm k.] UNDER SALINITY**

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the antioxidative enzymatic and nonenzymatic response of *Cnidoscopus phyllacanthus* subjected to different levels of salinity. *C. phyllacanthus* plants were grown in nutrient solution containing 0, 50, 100 and 150 mM NaCl at a greenhouse. After 8 days of stress, plants were harvested and separated in roots, xylopodium, stem, basal, middle and apical leaves. It was determined electrolytes leakage (EL), lipid peroxidation (LP), ascorbate (ASC), content of photosynthetic pigments, activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and guaiacol peroxidase (POX). The increase in the concentration of NaCl caused a greater EL in roots, middle and apical leaves. Salinity increased the LP in all organs, especially under 150 mM NaCl, except in roots. Leaf extracts accumulated about 90% of the ASC content plant. The chlorophyll content remained constant in basal and middle leaves. The anthocyanins content showed similar trend to that of chlorophylls. The carotenoid content reduced according to the increasing NaCl concentrations in stem and leaf extracts. The activity of SOD was decreased in roots, xylopodium and stem; and increased in leaf extracts. The APX activity increased in apical leaves and roots; decreasing in the xylopodium, stem, basal and middle leaves. The POX activity was increased in roots, xylopodium, stems, middle and apical leaves, except in basal leaves. According to these results, *C. phyllacanthus* presents a complex system of nonenzymatic and enzymatic defense, mainly represented by anthocyanins, carotenoids, ascorbate, APX and POX in response to salt stress.

**Key words:** Oxidative stress. Lipid peroxidation. Photosynthetic pigments. Salinity.

## INTRODUÇÃO

A salinização dos solos é um dos grandes problemas enfrentados não só nas regiões áridas e semiáridas do Nordeste brasileiro, mas também em muitas outras regiões do mundo, principalmente em razão da intensa evapotranspiração, baixas precipitações e irrigação (SILVEIRA et al., 2001). O sal afeta as plantas em nível fisiológico, bioquímico e molecular diminuindo o crescimento e a produtividade, sobretudo devido aos efeitos osmóticos e de toxicidade iônica (BUCHANAN et al., 2009; MUNNS, 2002; BRILHANTE et al., 2007).

Uma consequência direta dos efeitos primários do estresse salino é a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Em condições normais, as EROs podem atuar como moléculas intermediárias de sinalização, participando normalmente do metabolismo celular (PANG e WANG, 2008). Contudo, em condições de estresse, o aumento dos níveis de EROs pode causar estresse oxidativo, que culmina em diversos processos degenerativos (HERNANDEZ et al., 2000), incluindo a peroxidação dos lipídios de membrana e a morte celular programada (SILVEIRA et al., 2005). As EROs podem causar hipo ou hipermetilação do DNA, deleção e substituição de bases do DNA, alterações cromossômicas (aneuploidia e poliploidia) e rearranjo cromossômico (CASSELLS e CURY, 2001).

O estresse oxidativo afeta uma série de vias metabólicas que são protegidas por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos que removem as EROs. O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é considerado um dos mais importantes compostos formados durante o estresse oxidativo. Este é decomposto por meio da oxidação enzimática de co-substratos não enzimáticos, tais como compostos fenólicos (DIONISIO-SESE e TOBITA, 1998).

Em plantas superiores, dentre os sistemas antioxidantes não enzimáticos, atuam o ácido ascórbico (AsA), a glutatona e compostos fenólicos (PANG e WANG,

2008). Pigmentos fotossintéticos como as clorofilas (*a* e *b*), carotenóides e antocianinas também podem atuar como antioxidantes não enzimáticos (AMARANTE et al., 2007). Esses pigmentos normalmente são fitocromo. No entanto, sob estresse oxidativo estes pigmentos podem evitar danos oxidativos nos fotossistemas (MITTLER, 2002). Em especial, os carotenóides, pigmentos também presentes nos cloroplastos, ao absorverem o excedente de fótons das clorofilas, favorecem a não formação de oxigênio singleto, prevenindo, assim, a fotoinibição (SIMÃO, 2010).

As EROs produzidas em qualquer compartimento celular também são controladas por um sistema antioxidante enzimático que atua de forma coordenada com os não enzimáticos e são encontrados principalmente no citosol e em organelas como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (PANG e WANG, 2008). Entre as enzimas antioxidantes, as mais importantes são as superóxido dismutase (EC 1.15.1.1), ascorbato peroxidase (EC 1.11.1.11), peroxidase de fenóis (EC 1.11.17) e calatase (E.C. 1.11.1.6) (MILLER et al., 2008; 2010).

Como o estresse oxidativo é considerado um fenômeno secundário chave em plantas sob condições de estresse abiótico, os antioxidantes não enzimáticos e enzimáticos constituem componentes importantes do sistema de defesa de plantas (PARIDA e JHA, 2010). Embora vários estudos tenham relatado mecanismos de defesa antioxidante para combater estresses ambientais em diversas culturas, existem poucos estudos sobre sistemas de defesa antioxidante em espécies arbóreas, principalmente no tocante à região semiárida.

Segundo Batista et al. (2007) poucas espécies vegetais têm aptidão agrícola para as condições adversas do semiárido brasileiro, incluindo a salinidade. Uma alternativa pouco explorada para ampliar o número de espécies economicamente aproveitáveis é o aumento do grau de domesticação de espécies nativas com boa resistência à condições adversas. Dentre estas, uma das espécies mais promissoras é a faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K.Hoffm.] (VIANA e CARNEIRO, 1991; BATISTA et al., 2007), uma Euphorbiaceae, endêmica das

caatingas (RIBEIRO FILHO et al., 2011) e muito adaptada às condições adversas existentes em seu ambiente natural. Por se tratar de uma espécie oleaginosa, apresenta grande potencial na produção de biocombustíveis (CONCEIÇÃO et al., 2007).

Assim, devido à escassez de estudos relacionados ao efeito da salinidade nesta espécie, principalmente relacionados às respostas oxidativas, o presente estudo propõe testar a hipótese de que as partes da planta respondem ao estresse oxidativo de forma diferenciada. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo examinar o possível envolvimento do estresse oxidativo e a alteração no status dos componentes não enzimáticos e enzimáticos do mecanismo de defesa antioxidante em diversos órgãos de *C. phyllachanthus* submetida a diferentes níveis de salinidade.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Material vegetal e condições experimentais***

Sementes de faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm] foram desinfestadas com hipoclorito de Na<sup>+</sup> 0,2% (m/v), seguido de 3 lavagens consecutivas em água destilada. As sementes foram semeadas em papel de germinação (dimensões 28 x 38 cm) umedecido com água destilada (na proporção 1,5 vezes a massa do papel) e mantidas em câmara de crescimento a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas (VIEIRA e CARVALHO, 1994).

Aos trinta dias de idade, mudas sadias de tamanho uniforme foram selecionadas para a cultura hidropônica em meio de Hoagland e Arnon (1950) complementada com NaCl 0, 50, 100 e 150 mM. As culturas hidropônicas foram mantidas em casa de vegetação sob fotoperíodo de 12 h uma temperatura ambiente de 30±5 °C e umidade relativa de 50 %. As culturas foram aeradas continuamente com um borbulhador de ar. A solução nutritiva foi substituída por solução recentemente preparada com 7 dias de intervalo.

Oito dias após o início da imposição do estresse, as plantas foram separadas em: raízes (RA); xilopódio (XIL); caule + pecíolo (CA); folhas com idades mais avançadas (folhas basais – FB, as mais próximas à base do caule); folhas medianas (FM) e folhas recém-expandidas e em expansão (folhas apicais - FA, folhas que se localizavam mais próximas do ápice caulinar). Ao final do experimento, foram determinados dano de membranas, peroxidação lipídica, conteúdo de ascorbato e pigmentos fotossintéticos, bem como as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e peroxidase de fenóis (POX).

### ***Dano de membranas***

O dano às membranas foi estimado pelo vazamento de eletrólitos (VE) como previamente descrita por Cavalcanti et al. (2004). Segmentos das partes da planta foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de água deionizada, incubados a 25 ° C por 6 h e a condutividade elétrica do lixiviado foi medida ( $L_1$ ). Depois disso, os segmentos foram fervidos por 60 min, resfriado a 25 ° C e a condutividade elétrica foi medida novamente ( $L_2$ ). A porcentagem de vazamento de eletrólitos foi estimada pela relação  $DM (\%) = (L_1/L_2) \times 100$ .

### ***Peroxidação de lipídeos***

A extensão da peroxidação lipídica foi estimada pela determinação da concentração de malondialdeído (MDA) produzido pelo ácido tiobarbitúrico (TBA) seguindo o método de Heath e Packer (1968), Popinigis (1987) e Osawa et al. (2005). O material vegetal (200 mg) foi homogeneizado em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1 % (m/v). O homogenato foi centrifugado a  $10.000 \times g$  por 10 min e 500  $\mu$ L do sobrenadante obtido foi adicionado em 2 mL de 0,5 % de TBA (m/v) em 20 % de TCA (m/v). A mistura foi incubada a 95 ° C por 1 h e a reação foi interrompida em

banho de gelo. As absorvâncias foram lidas a 532 e 660 nm. A concentração de MDA foi calculada a partir do coeficiente de extinção molar de  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (HEATH e PACKER, 1968) e expressa como  $\text{nmol MDA-TBA g}^{-1} \text{ MS}$ .

### ***Conteúdo de ascorbato***

O conteúdo de ascorbato total (AsA + DHA) foi determinado de acordo com o método de Kampfenkel et al. (1995). O tecido vegetal (0,2 g) foi homogeneizado em 2,0 mL de 6 % de TCA (m/v). O homogenato foi centrifugado a  $10.000 \times g$ , por 15 minutos a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . O sobrenadante foi usado no ensaio. A mistura de reação continha 0,2 mL de ditioneitol (DTT) 10 mM, dissolvido em tampão fosfato de potássio 0,2 M (pH 7.4), 0,2 mL de TCA 6 % (m/v) e 0,4 mL de tampão fosfato de potássio 0,2 M (pH 7.4). As misturas foram incubadas por 15 min a  $42 \text{ }^\circ\text{C}$ . Em seguida foi acrescentado 0,2 mL de N-etilmaleimida 0,5 % e a mistura foi incubada por 1 min à temperatura ambiente. Aos meios de reação foram adicionados: 1 mL de TCA 10 % (m/v), 0,8 mL de  $\text{H}_2\text{PO}_4$  42 % (v/v), 0,8 mL de 2,2'-bipiridil 4 % (m/v) dissolvido em etanol 70 % (v/v), 0,4 mL de  $\text{FeCl}_3$  3 % (m/v) e imediatamente agitados vigorosamente. A solução foi incubada a  $42 \text{ }^\circ\text{C}$  por 40 min e então procedida leitura a 525 nm. A concentração foi determinada por meio de uma curva de calibração. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MF}$ .

### ***Conteúdo dos pigmentos fotossintéticos***

Os conteúdos de clorofilas, carotenóides e antocianinas foram obtido pelos métodos de Lichtenthaler (1987) e Sims e Gamon (2002). Amostras de 200 mg de tecido foram homogeneizadas em acetona 85 % (v/v) e 15 % (v/v) de Tris 1 % (pH 8). As amostras foram centrifugadas a  $10000 \times g$  por 10 min a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . O sobrenadante foi coletado e, em seguida, ajustado para o volume inicial de 5 mL. A absorvância foi

realizada em 663 nm, 647 nm, 470 nm e 537 nm. O resultado de clorofila total foi expresso em  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS, enquanto que os demais foram expressos em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS.

### *Atividades enzimáticas*

Para o preparo do extrato enzimático, tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7), adicionado de EDTA 1 mM e ácido ascórbico 1 mM, foi homogeneizado com 200 mg de massa fresca dos estratos previamente macerados com  $\text{N}_2$  líquido, em almofariz e pistilo. Após centrifugação a 14.000x g por 25 min à 4 °C, o sobrenadante foi recolhido e utilizado na determinação da atividade das enzimas superóxido dismutase (EC 1.15.1.1), ascorbato peroxidase (EC 1.11.1.11) e peroxidase de fenóis (EC 1.11.1.7).

Atividade de superóxido dismutase (SOD) foi medida por sua capacidade de inibir a foto-redução do nitroazul de tetrazólio (NBT) (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971). A mistura de reação continha  $\text{KPO}_4$  50 mM (pH 7,8), 0,1 mM de EDTA, 13 mM de L-metionina e 75  $\mu\text{M}$  de riboflavina e 100  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático. A riboflavina foi adicionada por último e os tubos de ensaio contendo mistura de reação foram incubados por 10 min em irradiância de 30 W a 25 °C. O aumento da absorbância devido à formação de formazan foi lida a 560 nm. A mistura de reação sem enzima desenvolveu cor máxima por causa da taxa máxima de redução de NBT. A reação não irradiada da mistura foi usada como controle, por não desenvolver cor. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe a foto-redução do NBT em 50 %.

A atividade de ascorbato peroxidase (APX) foi feita como descrito por Nakano e Asada (1981). A mistura de reação continha 50 mM de fosfato de potássio (pH 6,0), 0,8 mM de ácido ascórbico e 2 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ . A reação foi iniciada a 25 °C pela adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  após a adição do extrato enzimático contendo 100  $\mu\text{L}$  do extrato. A diminuição

da absorvância a 290 nm para 1 min foi observado e a quantidade de ascorbato oxidado foi calculado a partir do coeficiente de extinção  $2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Atividade da peroxidase de fenóis (POX) foi medida seguindo o método de Kar e Mishra (1976). A mistura de reação (2 ml) consistia em fosfato de potássio 25 mM de (pH 6,8), ácido pirogálico 20 mM e  $\text{H}_2\text{O}_2$  20 mM. A reação foi iniciada pela adição de 20  $\mu\text{L}$  de extrato protéico. A formação de tetraguaiacol foi medida em 420 nm ( $\epsilon = 26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

### *Delineamento experimental*

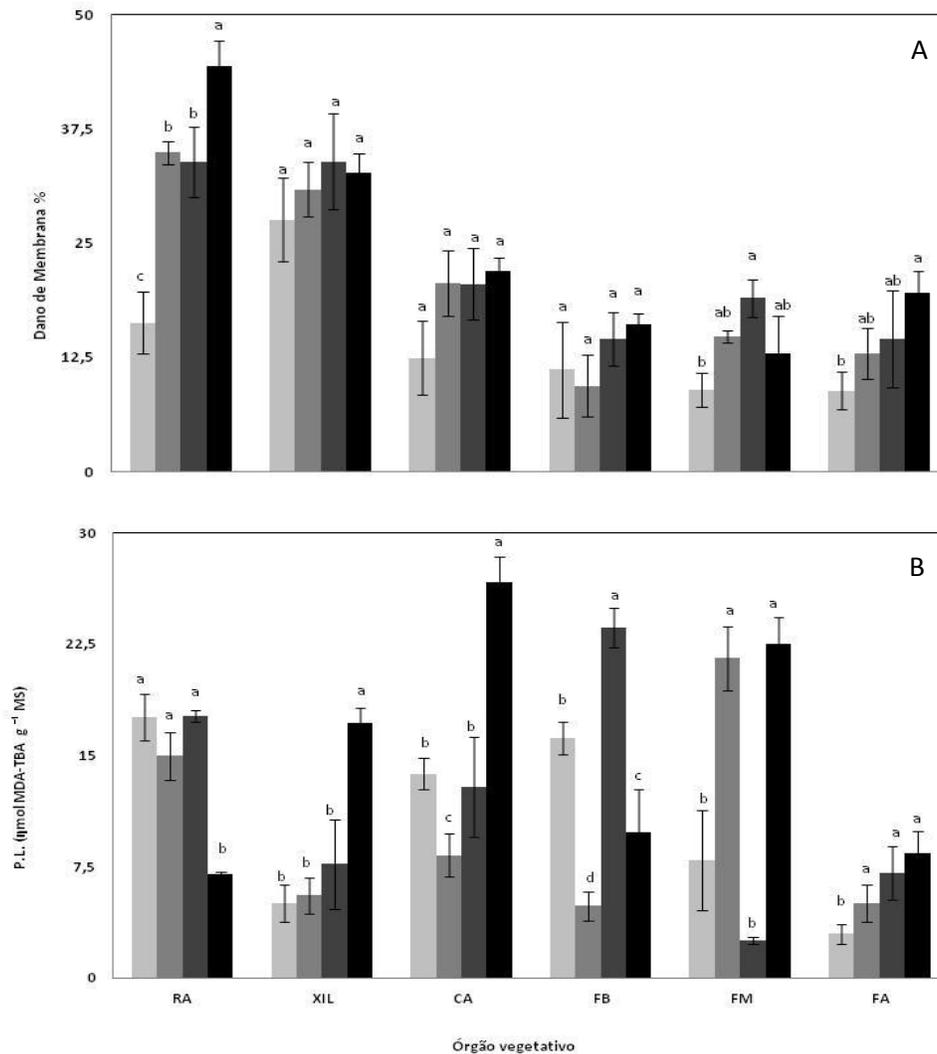
Um delineamento inteiramente casualizado foi utilizado com quatro tratamentos - 0; 50; 100 e 150 mM de NaCl - e cinco repetições, com três triplicatas em cada repetição. Todos os parâmetros foram analisados por análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a um nível de confiança 0,05.

## **RESULTADOS**

### *Efeito da salinidade sobre as membranas celulares*

O estresse salino causou maior vazamento de eletrólitos (VE) em RA, FM e FA. Em raízes e folhas apicais, o VE aumentou proporcionalmente à dose de sal. Em plantas tratadas com 150 mM o VE aumentou cerca de 2,7 e 2,2 vezes em RA e FA, respectivamente. Em folhas medianas, os danos em membranas dos tratamentos salinos não diferiram significativamente embora tenha sido, em média, 1,7x maior que o controle (0 mM de NaCl). Não houve vazamento de eletrólitos significativos em XIL, CA e FB (Figura 1A).

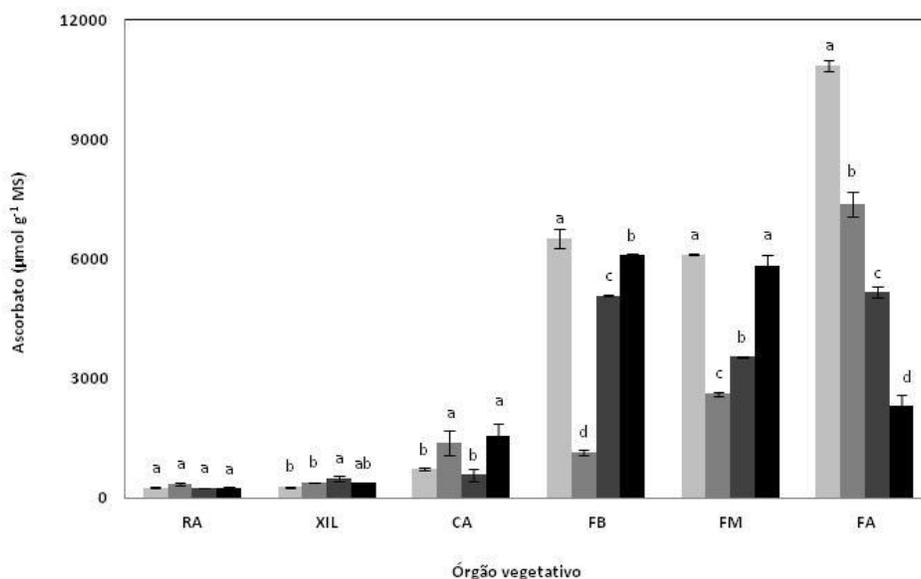
Com exceção das raízes, em todas as partes observou-se aumento expressivo na peroxidação de lipídeos (TBARS), principalmente em plantas tratadas com 150 mM de NaCl. Neste órgão as TBARS diminuíram em até 2,5 vezes quando tratadas com 150 mM de NaCl. No xilopódio e caule tratados com 150 mM de NaCl, a peroxidação de lipídeos aumentou 3,4 e 1,9 vezes, respectivamente. Nas folhas basais foi observado aumento de 1,4 vezes da TBARS em plantas tratadas com 100 mM de NaCl. Porém houve uma diminuição de 3,3 e 1,6 vezes, nas doses 50 e 150 mM, respectivamente. Observou-se ainda um aumento desta variável em folhas medianas, nas doses 50 e 150 mM. Em folhas apicais a peroxidação de lipídeos aumentou proporcionalmente à dose de sal atingindo um valor máximo de 8,4 nmol g<sup>-1</sup>MS (Figura 1B).



**Figura 1. Vazamento de eletrólitos (A) e Peroxidação lipídica (B) em plantas de faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM) durante 8 dias. RA - raízes, XIL - xilopódio, CA - caule; FB - folha basal, FM - folha mediana e FA - folha apical. Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).**

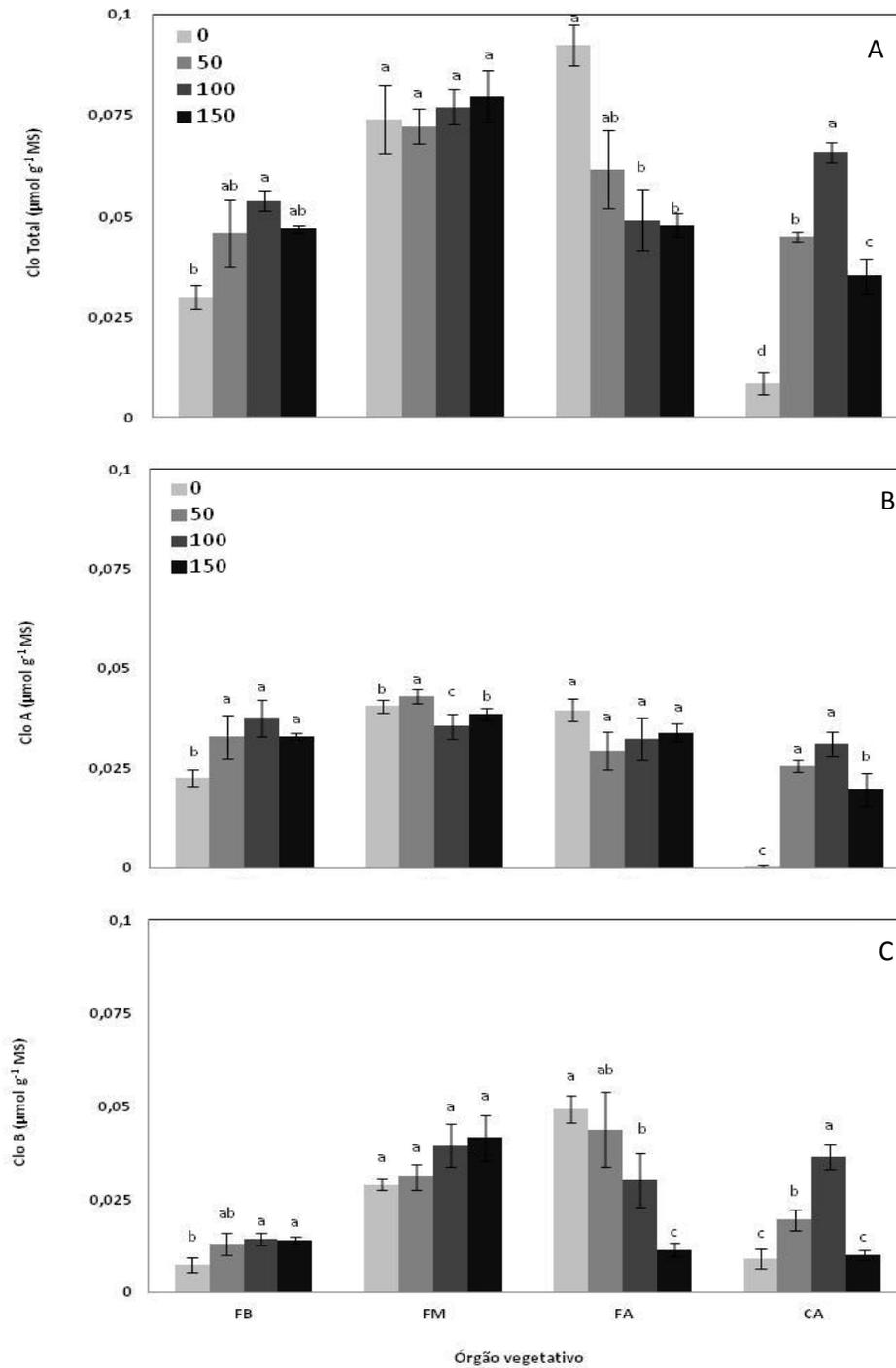
### *Efeito da salinidade sobre o sistema de defesa não enzimático*

A concentração de ascorbato total foi extremamente baixa em raízes, xilopódio e caule, não apresentando diferenças significativas entre os tratamentos. As folhas detiveram cerca de 90% do conteúdo de ascorbato total da planta. Em FB e FM, os controles apresentaram em média 6000  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$  de ascorbato. O tratamento com 50 mM de NaCl causou uma diminuição drástica no teor de ascorbato. Contudo, houve aumento progressivo da concentração de ascorbato até a dose de 150 mM, atingindo o nível do controle. Em folhas apicais o tratamento controle apresentou o nível mais elevado (10855  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$ ). Nestes órgãos o aumento da dose de NaCl diminuiu progressivamente o teor de ascorbato total (Figura 2).



**Figura 2.** Ascorbato total em plantas de faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM) durante 8 dias. RA - raízes, XIL - xilopódio, CA - caule, FB - folha basal, FM - folha mediana e FA - folha apical. Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Os teores de clorofila total mantiveram-se constantes, nas folhas basais e medianas (Figura 3A). Não diferindo estatisticamente ( $P < 0,05$ ) entre seus controles e as doses salinas. Houve queda no teor de clorofila total nas folhas apicais a partir da dose 50 mM de NaCl, diferindo estatisticamente ( $P < 0,05$ ), em relação ao seu controle. Em caule, os teores de clorofila aumentaram nos tratamentos salinos, diferindo estatisticamente entre seu controle e as doses salinas.

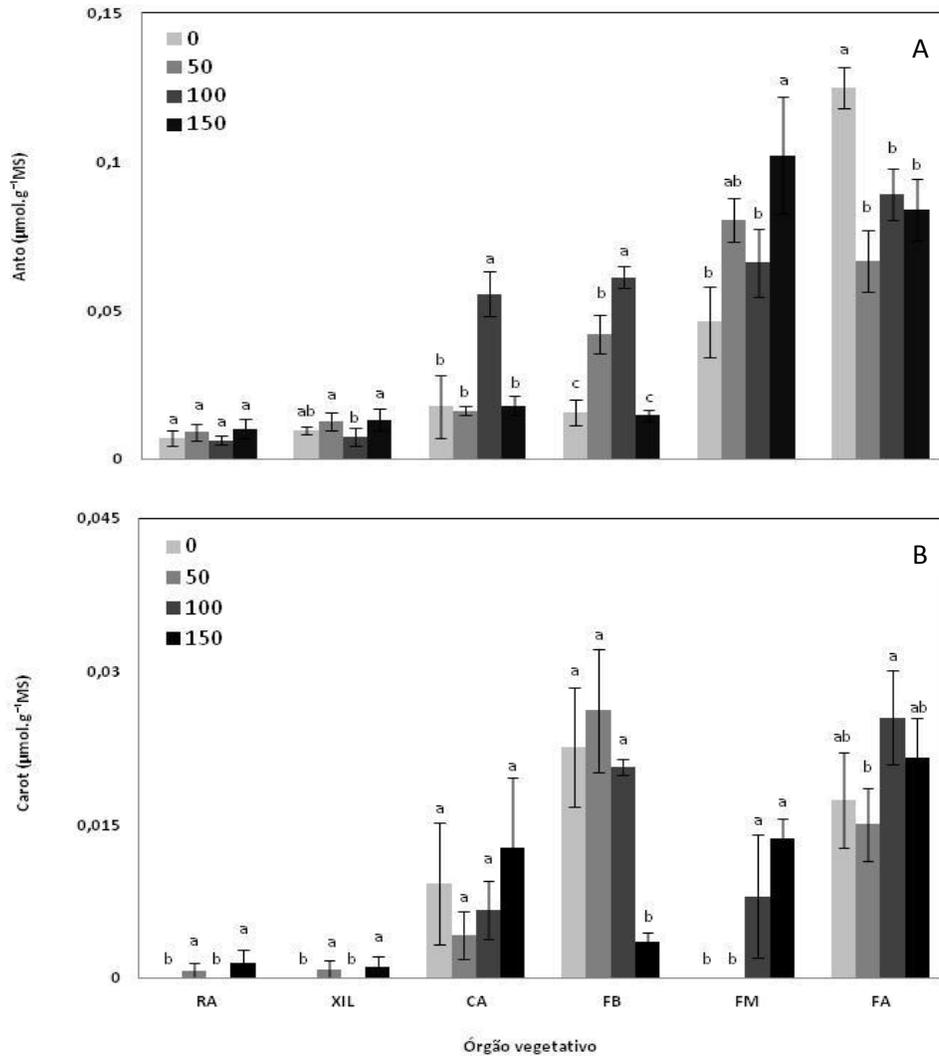


**Figura 3. Conteúdo de Clorofila total (A), Clorofila a (B) e Clorofila b (C) em faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM) durante 8 dias. RA = raízes, XIL = xilopódio, CA = caule; FB = folha basal, FM =**

folha mediana e FA = folha apical. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tendência semelhante foi observada para os teores de clorofila a e b (Figuras 3B e 3C). Mantendo-se constantes nas folhas basais e medianas. Apresentando queda nas folhas apicais e aumento em caule.

A Figura 4A mostra que o teor de antocianinas apresentou comportamento similar ao de clorofilas. Não houve alteração nos teores de antocianinas nas raízes quando expostas ao tratamento salino. Não havendo diferença significativa entre as doses de NaCl e o seu respectivo controle. Em xilopódio, os teores mantiveram-se constantes (Figura 4A). Houve uma ligeira alta no tratamento 100 mM de NaCl, em caule. Comportamento semelhante foi observado em folhas basais e medianas nas doses 50 e 100 mM, e 50 e 150 mM de NaCl, respectivamente. E uma tendência de queda em folhas apicais. Diferindo estatisticamente dos seus respectivos controles ( $P < 0,05$ ). O teor de antocianinas não apresentou alteração significativa em tecidos não clorofilados.

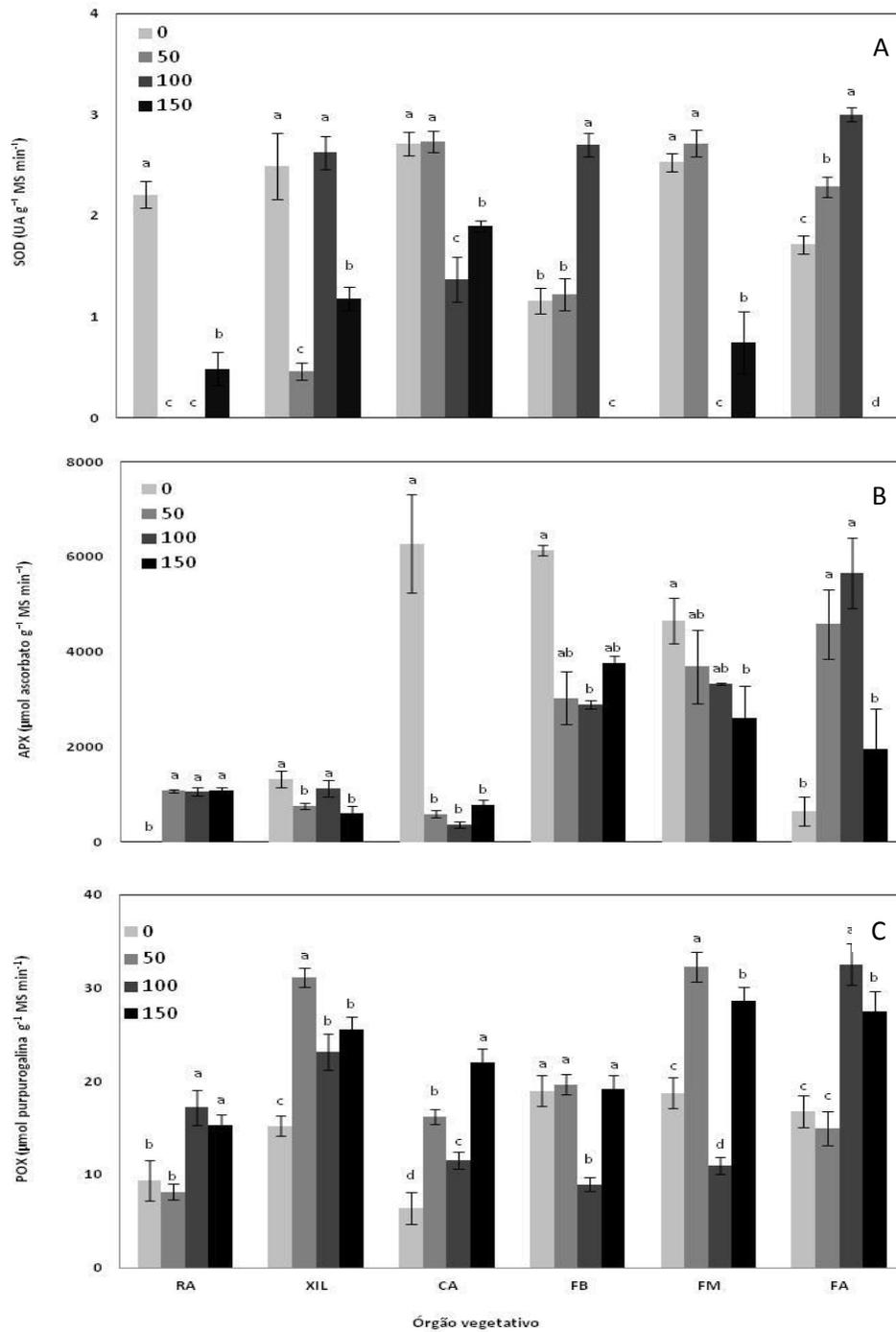


**Figura 4. Conteúdo de Antocianinas (A) e Carotenóides (B) em plantas de faveira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM) durante 8 dias. RA = raízes, XIL = xilopódio, CA = caule; FB = folha basal, FM = folha mediana e FA = folha apical. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).**

Teores de carotenóides semelhantes foram observados em raízes e xilopódio, em vista da concentração de NaCl, não havendo diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey (Figura 4B). Em caule, houve um moderado aumento, assim como, nas folhas basais, medianas e apicais, em função do incremento na concentração salina.

#### ***Efeito da salinidade sobre o sistema de defesa enzimático***

Na Figura 5A observou-se que a atividade da superóxido dismutase (SOD) nas raízes sofreu decréscimo durante a exposição às diferentes concentrações de NaCl. O mesmo foi observado em xilopódio nas doses 50 e 150 mM e em caule a partir da dose 100 mM de NaCl. A SOD tendeu a um aumento na dose 100 mM em folhas basais, 50 mM em folhas medianas e 50 e 100 mM em folhas apicais.



**Figura 5. Atividade de Superóxido dismutase (A), Ascorbato peroxidase (B) e peroxidase de fenóis (C) em plantas de faveleira, exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM) durante 8 dias. RA = raízes, XIL =**

xilopódio, CA = caule; FB = folha basal, FM = folha mediana e FA = folha apical. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) aumentou em raízes e diminuiu em xilopódio e drasticamente em caule (Figura 5B). Nas folhas basais e medianas houve uma tendência de redução, no entanto, esta diminuição foi relacionada ao aumento da concentração salina. Nas folhas apicais, houve um aumento da atividade de APX nas doses 50 e 100 mM de NaCl (Figura 10).

A atividade da peroxidase de fenóis (POX) aumentou em raízes, xilopódio e caule (Figura 5C). Nas folhas basais, a atividade mostrou-se constante entre o controle e as doses de NaCl, não diferindo estatisticamente, apresentando um leve decréscimo na dose 100 mM. A atividade de POX aumentou nas doses 50 e 150 mM em folhas medianas. Nas folhas apicais, houve aumento na atividade enzimática nas doses 100 e 150 mM, havendo diferença significativa entre as doses e seus respectivos controles.

## **DISCUSSÃO**

De acordo com os resultados, os tratamentos com NaCl foram capazes de ativar o sistema de defesa antioxidante através de respostas não enzimáticas e enzimáticas em faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm)]. Os dados sugerem, principalmente, a indução de defesas antioxidantes não enzimáticas, que incluem ascorbato, antocianinas e carotenoides e o aumento da atividade de enzimas antioxidantes como APX e POX.

### ***Efeito da salinidade sobre membranas celulares***

As membranas celulares são uma das primeiras estruturas afetadas pelo estresse salino em condições típicas de ambiente semiárido. O grau de danos às

membranas pode ser estimado indiretamente através da condutividade elétrica, que mede o vazamento de eletrólitos (VE) das células para a solução aquosa (MUNNS e TESTER, 2008). Nesse contexto, o VE ocorrido em faveleira ocorreu principalmente em raízes e folhas apicais, especialmente na dose 150 mM de NaCl (Figura 1A). O VE em faveleira pode estar relacionado mais ao estresse iônico que ao estresse osmótico, pois o excesso de  $\text{Na}^+$  e principalmente o excesso de  $\text{Cl}^-$  no protoplasma causam toxicidade e ocasionam distúrbios em relação ao balanço iônico, provocando alterações na estrutura das membranas (SHABALA et al., 2012).

Íons salinos como o  $\text{Na}^+$  são rapidamente detectados pelas membranas das células vegetais, mas tal mecanismo sensorial de resposta à adição do  $\text{Na}^+$  ao ambiente celular e a mudança na pressão osmótica, ainda não é bem compreendido (TRACY et al., 2008). De fato, sob salinidade, há uma menor absorção de  $\text{Ca}^{+2}$  pelas células, permitindo que o  $\text{Na}^+$  seja incorporado à estrutura da membrana plasmática, o que reduz a seletividade, aumenta a sua fluidez e permite o efluxo de íons, principalmente  $\text{K}^+$  (ABOGADALLAH, 2010). O estresse iônico, em xilopódio e caule, pode ter levado ao dano oxidativo, estando relacionado ao dano de membrana.

O aumento na peroxidação lipídica (TBARS) tem sido considerado como um sintoma da ocorrência de danos oxidativos nas células e pode ser considerado como um indicador dos mesmos (AZEVEDO NETO et al., 2006). O aumento na peroxidação de lipídeos em plantas estressadas pode indicar extensos danos em membranas celulares, causada por estresse oxidativo (SAIRAM et al., 2002). Em faveleira, com exceção das raízes, observou-se aumento expressivo nas TBARS em todas as partes vegetativas, principalmente em plantas tratadas com 150 mM de NaCl. O aumento mais expressivo observado ocorreu em xilopódio e caule (Figura 1B).

Em raízes, houve diminuição da TBARS seguida pela diminuição da atividade de SOD e aumentos nas atividades de POX e APX e carotenóides totais. Em xilopódio observou-se maior TBARS que nos estratos foliares e o seu aumento foi proporcional ao aumento da dose de sal, corroborado pela redução da atividade dos antioxidantes

enzimáticos e diminuição da concentração dos não enzimáticos. Em caule, os resultados corroboram com os vistos em xilopódio. Parida e Jah (2010) avaliando o dano oxidativo devido à salinização de *Salicornia brachiata*, sugerem que este é em grande parte controlado pelas enzimas antioxidantes. Resultados semelhantes que se correlacionam à peroxidação lipídica também foram relatados por outros pesquisadores (HERNANDEZ e ALMANSA, 2002; BOR et al., 2003; AZEVEDO NETO et al., 2006; SEKMEN et al., 2007). Em folhas basais não foram observadas peroxidação lipídica nem atividade de POX, ocorrendo diminuição da atividade de APX e aumento na atividade de SOD.

Ao avaliar o nível de peroxidação de lipídios de membrana nos tecidos foliares de arroz, Benitez et al. (2010), constataram aumento significativo no conteúdo de malondialdeído (MDA) entre os tratamentos controle e 300 mM de NaCl. Embora tenha ocorrido aumento das TBARS nas partes da faveleira esse aumento não foi significativo nos danos de membranas. Provavelmente, os pontos necróticos visualizados nas plantas tratadas com NaCl podem estar relacionados com a acumulação de íons. A diminuição da atividade enzimática e a concentração dos antioxidantes não enzimáticos não foram suficientes para evitar a peroxidação nos estratos foliares.

### ***Efeito da salinidade sobre o sistema de defesa não enzimático***

O ascorbato é um importante antioxidante não enzimático em plantas, através do seu envolvimento no ciclo glutatona-ascorbato, uma importante via de desintoxicação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (FOYER e NOCTOR, 2003). A via de síntese e degradação está distribuída nas mitocôndrias, citosol (GREEN e FRY, 2005) e apoplasto (PASSARDI et al., 2004), indicando que os processos regulatórios que o ascorbato participa envolvem mecanismos localizados em diversos compartimentos subcelulares, sendo consumido naturalmente ou pela produção da enzima ascorbato peroxidase. Os

resultados deste estudo mostram que o conteúdo de ascorbato em faveleira diminuiu nos estratos foliares com o aumento da salinidade (Figura 2). Tal perda de ascorbato, que é inversamente proporcional a atividade de APX, sugere que o mesmo provavelmente supre a proteção oxidativa de todos os órgãos em faveleira submetida a diferentes concentrações de NaCl, bem como está relacionado com a menor taxa de crescimento observada nas plantas tratadas com sal. Corroborando com dados de Parida e Jah (2010). Em xilopódio e caule, o consumo de ascorbato provavelmente não está relacionado à proteção de APX, o que pode ser considerado em parte nas raízes.

Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e, conseqüentemente, ao crescimento e à adaptabilidade a diversos ambientes é o conteúdo de clorofila e carotenóides. Além da concentração total desses pigmentos, a proporção entre eles e entre as clorofilas *a* e *b* muda em função da intensidade luminosa (RÊGO e POSSAMAI, 2004). A salinidade pode afetar vários processos fisiológicos, dentre os quais a fotossíntese, reduzindo assim a produção e alocação de biomassa. Isto ocorre porque o estresse salino, mais propriamente associado ao acúmulo de íons nos tecidos, promove redução nos processos de síntese de ATP, acoplada à fase fotoquímica da fotossíntese, além de promover alterações no processo respiratório, assimilação de nitrogênio e metabolismo de proteínas (MUNNS, 2002).

Em faveleira, foi observado comprometimento na parte apical das plantas expostas ao NaCl, com relação aos teores de clorofilas (total, *a* e *b*) sendo compensado pelas folhas basais (figura 3A, B e C). Isto sugere que a presença do sal não afetou a formação de clorofila nesses estratos foliares consideradas mais tolerantes ao estresse salino. No entanto, as folhas apicais apresentaram uma queda significativa ( $P < 0,05$ ) no teor de clorofila, com relação ao controle, mostrando que a salinidade afetou a formação de clorofila em concentrações salinas a partir de 50 mM. A formação de clorofila em folhas basais e medianas não foi afetada pelo NaCl. Resultados semelhantes foram obtidos por Sultana et al. (1999), quando avaliaram o efeito da salinidade em plantas de arroz.

Os carotenóides são pigmentos acessórios na absorção e transferência de energia radiante, e protetores da clorofila no tocante à fotoxidação. Em plantas submetidas à salinidade, decréscimos na concentração de clorofila podem ser atribuídos ao aumento da atividade da enzima clorofilase que degrada a clorofila (LIMA et al., 2004). O estresse salino induz a degradação de  $\beta$ -caroteno e a redução na formação de zeaxantina, produzindo diminuição no teor de carotenóides, pigmentos aparentemente envolvidos na proteção contra a fotoinibição (SHARMA e HALL, 1991). No presente estudo não foi observada relação direta entre as doses de sal e o teor de carotenóides nos órgãos não clorofilados (Figura 4B). Com relação aos antioxidantes não enzimáticos observa-se que os teores dos mesmos aumentam nas folhas medianas e caem nas folhas apicais. Em faveleira, a imposição do estresse salino causou algumas alterações no conteúdo destes antioxidantes, como Clo *b*, antocianinas e carotenóides, principalmente com relação à maior dose de NaCl.

#### ***Efeito da salinidade sobre o sistema de defesa enzimático***

Uma importante consequência do estresse salino em plantas é a geração excessiva de radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) altamente tóxicos, particularmente nos cloroplastos e mitocôndrias (MITTLER, 2002). Radicais superóxido gerados por metabolismo oxidativo são dismutadas em  $H_2O_2$  e  $O_2$  pela superóxido dismutase (SOD). A atividade de SOD é, portanto, fundamental para a manutenção da concentração do radical  $O_2^{\cdot-}$  em níveis que não causem danos ao metabolismo celular. Huang e Guo (2005), trabalhando com cultivares de arroz apresentando tolerância diferencial ao estresse salino, observaram decréscimo na atividade da SOD nas folhas dos cultivares sensíveis. Eles concluíram que a redução na atividade dessa enzima teve como consequência o aumento da peroxidação de lipídeos, provocando sérios danos à integridade das membranas.

A peroxidase de fenóis (POX) tem sido usada como um indicador de estresses (LEE et al., 2001) como altas temperaturas (DASH e MOHANTY, 2002), salinidade (PARIDA et al., 2004) e seca (SHARMA e DUBEY, 2005). A POX protege as células contra as concentrações prejudiciais de hidroperóxidos. Por outro lado, a enzima ascorbato peroxidase (APX) impede o acúmulo excessivo de  $H_2O_2$  nas células através da via ascorbato-glutationa (ASADA, 2006), sendo, provavelmente responsável pela modulação fina nos níveis dos EROs (MITTLER, 2002). Em faveleira, há proteção peroxidativa em raízes, relacionada às POX e APX e, em contrapartida, a peroxidação de lipídeos se mantém constante ou cai em NaCl 150 mM. Comportamento similar pode ser observado nos estratos foliares. A atividade das peroxidases apresentou-se compensatória em raízes, xilopódio e caule, onde provavelmente possa ter ocorrido uma resposta induzida. A atividade de POX mostrou-se maior que a atividade de APX, o que pode estar relacionada à taxa de crescimento da parte aérea. Na espécie faveleira, a atividade de POX aumentou com a concentração salina em cada tratamento à medida que houve uma diminuição do crescimento das plantas.

Os resultados mostram que em faveleira, provavelmente, exista proteção oxidativa radicular, pois as atividades de APX e POX aumentam neste órgão e em contrapartida há uma diminuição de TBARS. O aumento da atividade de POX ocorre principalmente no sistema radicular-xilopódio-caule; e este, pode estar relacionado à diminuição do comprimento das raízes, observado nas variáveis de crescimento também avaliadas, ou ainda, com a remoção de radicais livres por esta enzima.

Em *C. phyllacanthus*, é importante observar que a atividade das POXs avaliada não foi específica para a região do apoplasto, mas é possível generalizar o comportamento das suas isoformas. Trabalhos relataram a diminuição na atividade enzimática após longos períodos de exposição ao estresse. LEE et al. (2001) ao quantificar a atividade das enzimas SOD, CAT, APX e GR (glutationa redutase) em plantas de arroz cultivadas com NaCl 150 mM, observaram aumento nas atividades

enzimáticas de SOD e APX até 3 dias de exposição ao sal e diminuição após este período.

A diminuição no conteúdo de ascorbato, o conteúdo de pigmentos fotossintéticos e as atividades enzimáticas de APX e POX possivelmente suprem a proteção oxidativa nos órgãos de faveleira submetida ao estresse salino, bem como as atividades de APX e POX, que podem relacionar-se a um menor crescimento em plantas submetidas ao estresse. Pelo menos as atividades de SOD e APX sofreram efeito diferente ou exclusivo na dose NaCl 150 mM, principalmente em folhas apicais. Esta espécie apresenta respostas dose-dependente com relação ao estresse oxidativo, apresentando um complexo sistema de defesa não enzimático e enzimático.

## **CONCLUSÃO**

A faveleira investe na proteção não enzimática incluindo antocianinas, carotenóides e ascorbato total que é responsável à dose de sal, específico de cada órgão.

Esta espécie apresentou diferenças na resposta oxidativa que podem ser agrupadas em dois conjuntos: raízes, xilopódio e caule; e estratos foliares. Essas diferenças envolveram principalmente a ação de antioxidantes não enzimáticos como ascorbato total, antocianinas, carotenóides e as atividades enzimáticas de APX e POX. Mais estudos devem ser realizados para compreender melhor o papel das enzimas antioxidantes e dos antioxidantes não enzimáticos nos estratos foliares de *C. phyllacanthus*.

## REFERÊNCIAS

- ABOGADALLAH, G.M. Antioxidative defense under salt stress. **Plant Signalling & Behavior**, v.5, n.4, p.369-374, 2010.
- AMARANTE, L.; COLARES, D.S.; OLIVEIRA, M.L.; ZENZEN, I.L.; BADINELLI, P. G.; BERNARDI, E. Teores de Clorofilas em Soja Associada Simbioticamente com Diferentes Estirpes de *Bradyrhizobium* sob Alagamento. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 906-908, 2007.
- AZEVEDO NETO, A.D.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; ABREU, C.E.B.; GOMES-FILHO, E. Effects of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, n. 1, p. 87-94, 2006.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiol.**, v. 141, p. 391–396, 2006.
- BATISTA, C.E.A.; MENESES, C.H.S.G.; DANTAS, J.P.; HOFFMANN, L.V.; ESTEVAM, A.T.; BAREROSO, P.A.V. Variabilidade molecular de acessos de faveleira [*Cnidioscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & Hoffm.] inermes e com espinhos. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 11, n. 1, p. 31-36, 2007.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. SupEROxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Anal Biochemistry**, v. 44, p. 276-287, 1971.
- BENITEZ, L.C.; BANDEIRA, J.M.; RIBEIRO, M.V.; ARGE, L.W.P.; DEUNER, S.; BRAGA, E.J.B. Teores de pigmentos fotossintéticos em plantas de arroz sob estresse salino. 2010. Disponível em: <[http://www.ufpel.edu.br/cic/2010/cd/pdf/CB/CB\\_01118.pdf](http://www.ufpel.edu.br/cic/2010/cd/pdf/CB/CB_01118.pdf)>. Acesso em: 10 set. 2011.
- BOR, M.; OZDEMIR, F.; TURKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, v. 164, p. 77–84, 2003.
- BRILHANTE, J.C.A.; SILVEIRA, J.A.G.; ROCHA, I.M.A.; MORAIS, D.L.; VIÉGAS, R.A. Influência do tempo de aclimação na resposta do cajueiro à salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 11, n. 2, p. 173-179, 2007.

BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W., JONES, R.L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 1407p. 2009.

CASSELLS, A.C.; CURY, R.F. Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 64, p. 145-157, 2001.

CAVALCANTI, F.R.; OLIVEIRA, J.T.A.; MARTINS-MIRANDA, A.S.; VIEGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, v. 163, p. 563-571, 2004.

CONCEIÇÃO, M.M.; DANTAS, M.B.; VASCONCELOS, A.F.F.; LIMA, A.E.A.; SILVA, M.C.D.; DANTAS, J.P.; SILVA, F.C.; SANTOS, I.M.G; SOUZA, A.G. **Estabilidade oxidativa do óleo e biodiesel etílico de faveleira 2007**. Disponível em: <<http://www.cpamn.embrapa.br/agrobioenergia/trabalhos/107.PDF>.> Acesso em: 24 jun. 2010.

DASH, S.; MOHANTY, N. Response of seedling to heat-stress in cultivars of wheat: growth temperature-dependent differential modulation of photosystem 1 and 2 activity, and foliar antioxidant defense capacity. **J. Plant Physiol.**, v. 159, p. 49–59, 2002.

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

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiol. Plant**, v. 119, p. 355–364, 2003.

GREEN, M.A.; FRY, S.C. Vitamin C degradation in plant cells via enzymatic hydrolysis of 4-O-oxalyl-L-threonate. **Nature**, v. 433, p. 83-87, 2005

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 2. Role of Electron Transfer. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, p. 850-&, 1968.

HERNANDEZ, J.A., JIMENEZ, A., MULLINEAUX, P., SEVILHA, F. Tolerance of pea plants (*Pisum sativum*) to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. **Plant Cell Environment**, v. 23, p. 853–862, 2000.

HERNANDEZ, J.A.; ALMANSA, M.S. Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves. **Physiol. Plant.**, v. 115, p. 251–257, 2002.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water-culture method for growing plants without soil.** California Agricultural Experimental Station, Berkeley. 347p. 1950.

HUANG, M.; GUO, Z. Responses of antioxidative system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity. **Biologia Plantarum**, v. 49, n. 1, p. 81-84, 2005.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, pEROxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Physiologia Plantarum**, v. 57, p. 315-319, 1976.

KAMPFENKEL, K.; VAN MONTAGU, M. INZÉ, D. Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. **Analytical Biochemistry**, v. 225, p. 165-167, 1995.

LEE, D.H.; KIM, Y.S.; LEE, C.B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **J. Plant Physiol.**, v. 158, p. 737–745, 2001.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: **Methods in Enzymology** (eds S.P. Colowick, & N.O. Kaplan), v. 48, p. 350-382. Academic press, San Diego, 1987.

LIMA, A.L.S.; DA MATTA, F.M.; PINHEIRO, H.A.; TÓTOLA, M.R.; LOUREIRO, M.E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, p. 239-247, 2002.

LIMA, M.G.S.; LOPES, N.F.; BACARIN, M.A.; MENDES, C.R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, v. 63, n. 3, p. 335-340, 2004.

MILLER, G.; SHULAEV, V.; MITTLER, R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. **Physiologia Plantarum**, v. 133, p. 481-489, 2008.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, v. 33, p. 453-467, 2010.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell and Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002.

NAKANO, Y., ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867–880, 1981.

OSAWA, C.C.; DE FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

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.; Mohanty, P. Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. **J. Plant Physiol.**, v. 161, p. 531–542, 2004.

PARIDA, A.K.; JHA, B. Antioxidative defense potential to salinity in the Euhalophyte *Salicornia brachiata*. **J. Plant. Growth Regul.**, v. 29, p. 137-148, 2010.

PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C. Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 534-540, 2004.

POPINIGIS, F. **Fisiologia de Sementes**. Avaliação da qualidade fisiológica. Brasília: AGIPLAN, 1987. 289p. (249-288).

RÊGO, G. M.; POSSAMAI, E. Avaliação dos teores de clorofila no crescimento de mudas do Jequitibá-Rosa (*Cariniana legalis*). Comunicado Técnico 128. ISSN 1517-5030. Paraná: EMBRAPA CNPF. 2004. 4p. Disponível em: <[http://www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/com\\_tec128.pdf](http://www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/com_tec128.pdf)>. Acesso em: 03 nov. 2011.

RIBEIRO FILHO, N. M.; FLORÊNCIO, I. M.; BRITO, A. C.; DANTAS, J. P.; CAVALCANTI, M. T. Avaliação nutricional de raízes de faveleira e cenoura em períodos equidistantes de coleta. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 163-168, 2011.

SAIRAM, R.K.; RAO, K.V.; SRIVASTAVA, G.C. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. **Plant Science**, v. 163, p. 1037-1046, 2002.

SHABALA, L.; MACKAY, A.; TIAN, Y.; JACOBSEN, S.; ZHOU, D.; SHABALA, S. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia Plantarum**, n.1, p.1-13, 2012.

SHARMA, P.K.; HALL, D.O. Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghum. **Journal of Plant Physiology**, v. 138, n. 5, p. 614-619, 1991.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Growth Regul.**, v. 46, p. 209–221, 2005.

SEKMEN, A.H.; TURKAN, I.; TAKIO, S. Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. **Physiol. Plant**, v. 131, p. 399–411, 2007.

SIMS, D.A.; GAMON J.A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of environment**, v. 81, p. 337-354, 2002.

SILVEIRA, J.A.G., MELO, A.R.B., VIÉGAS, R.A., OLIVEIRA, J.T.A.: Salinity-induced effects on nitrogen assimilation related to growth in cowpea plants. **Environ. Exp. Bot.**, v. 46, p. 171-179, 2001.

SILVEIRA, J.A.G.; LIMA, J.P.M.S.; CAVALCANTI, F.R.; MAIA, J.M.; VIÉGAS, R.A. Salt induced oxidative response in plants: damage or protection? In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E.L.; WILLADINO, L.; CAVALCANTE, U.M.T. (eds). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife. MXM Gráfica e Editora. 2005. parte.II, cap.9, p.106- 117.

SIMÃO, A.A. **Antioxidantes, clorofila e perfil de ácidos graxos em folhas de mandioca**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras (MG), 2010.

SULTANA, N.; IKEDA, T.; ITOH, R. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. **Environmental and Experimental Botany**, v. 42, n. 3, p. 211-220, 1999.

TRACY, F.E.; GILLIHAM, M.; DODD, A.N.; WEBB, A.A.R.; TESTER, M. NaCl-induced changes in cytosolic free Ca<sup>2+</sup> in *Arabidopsis thaliana* are heterogeneous and

modified by external ionic composition. **Plant, Cell and Environment**, v.31, p.1063-1073, 2008.

VIANA, O.J.; CARNEIRO, M.S.S. Plantas forrageiras xerófilas – Faveleira [*Cnidosculus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K. Hoffm] inerme no semiárido cearense. **Ciência Agrônômica**, v. 22, p. 17-21, 1991.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

---

**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do biodiesel em substituição ao óleo diesel mineral, além da possível mitigação das emissões de dióxido de carbono, proporciona redução de gases e partículas pelos veículos que são diretamente prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, como o monóxido de carbono, enxofre e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (cancerígenos). Poucas espécies vegetais têm aptidão para as condições adversas do semiárido brasileiro, incluindo a salinidade. Uma alternativa pouco explorada para ampliar o número de espécies oleaginosas economicamente aproveitáveis como matéria-prima para produção de biocombustíveis é o aumento do grau de domesticação de espécies nativas com boa tolerância e/ou resistência à salinidade. Neste trabalho, observou-se que a faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K. Hoffm.] manteve o estado hídrico nos órgãos vegetativos avaliados, mesmo apresentando sintomas visuais de toxicidade, como clorose e necrose, ao NaCl nas doses utilizadas. Apesar do conteúdo de  $\text{Na}^+$  ter aumentado nas partes da planta, o conteúdo de  $\text{K}^+$  não foi prejudicado com as doses salinas, possivelmente atuando como um osmoprotetor. Provavelmente a quantidade de  $\text{K}^+$  presente nas células de faveleira, pode não estar presente no citosol, o que não tenha sido suficiente para evitar a toxicidade causada pelo  $\text{Na}^+$ . O xilopódio, órgão de reserva da planta, pode estar atuando como órgão captador de  $\text{Na}^+$ , suportando o impacto da acumulação desse íon e controlando o seu fluxo para as outras partes da planta. Embora, a acumulação de açúcares solúveis totais, proteínas, aminoácidos livres totais e prolina possam estar relacionados ao ajustamento osmótico de faveleira devido ao déficit hídrico, é possível que a acumulação destes solutos tenha ocorrido em decorrência de distúrbios metabólicos promovidos pela salinidade. Em relação à resposta oxidativa, dois grupos diferentes podem ser destacados: raízes, xilopódio e caule; e estratos foliares, envolvendo principalmente a ação de antioxidantes não enzimáticos e as atividades

enzimáticas de APX e POX. O ascorbato total participa efetivamente da proteção oxidativa de todos os órgãos em faveleira, sendo responsável a dose de sal, bem como as atividades de APX e POX, que podem estar relacionadas a um menor crescimento em plantas submetidas ao estresse salino.