

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR**

**FRANCISCO VALDEREZ AUGUSTO GUIMARÃES**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM PLANTAS DE  
FEIJÃO-DE-CORDA CV PITIÚBA SUBMETIDAS AO ESTRESSE  
COM NaCl EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CaCl<sub>2</sub> E CaSO<sub>4</sub>**

**FORTALEZA - CE**

**2005**

**FRANCISCO VALDEREZ AUGUSTO GUIMARÃES**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM PLANTAS DE  
FEIJÃO-DE-CORDA CV PITIÚBA SUBMETIDAS AO ESTRESSE  
COM NaCl EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CaCl<sub>2</sub> E CaSO<sub>4</sub>**

Tese apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Doutor em Bioquímica, área de concentração em bioquímica vegetal, outorgado pela Universidade Federal do Ceará.

**ORIENTADOR:  
ENÉAS GOMES FILHO**

**FORTALEZA - CE**

**2005**

G978R

**Guimarães, Francisco Valdez Augusto**

Respostas fisiológicas e bioquímicas em plantas de feijão-de-corda cv Pitiúba submetidas ao estresse com NaCl em diferentes concentrações de CaCl<sub>2</sub> e CaSO<sub>4</sub>/ Francisco Valdez Augusto Guimarães – Fortaleza: 2005.

176f.: il. –

Orientador: Enéas Gomes Filho

Co-orientadores: Claudivan Feitosa de Lacerda e  
Fernando Monteiro de Paula

Tese (Doutorado) em Bioquímica;

1. Estresse salino 2. Feijão-de-corda 3. Relações hídricas 4. Osmorreguladores 5. Nutrição mineral 6. Lipídios

I. Universidade Federal do Ceará

II. Título

C.D.D. 572.3 (21.ed.)

**FRANCISCO VALDEREZ AUGUSTO GUIMARÃES**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM PLANTAS DE  
FEIJÃO-DE-CORDA CV PITIÚBA SUBMETIDAS AO ESTRESSE  
COM NaCl EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CaCl<sub>2</sub> E CaSO<sub>4</sub>**

Tese apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Doutor em Bioquímica, área de concentração em bioquímica vegetal, outorgado pela Universidade Federal do Ceará.

TESE APROVADA EM: 02 de setembro de 2005

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Enéas Gomes Filho  
(Orientador)

Prof. Dr. Claudivan Feitosa de Lacerda  
(Co-Orientador)

Prof. Dr. Fernando Monteiro de Paula  
(Co-Orientador)

Prof. Dr. João Licínio Nunes de Pinho

Dr. Marlos Alves Bezerra

**FORTALEZA - CE**

**2005**

*À Deus, o nosso pai celestial. Ao meu pai: **Raimundo Augusto Filho**, minha eterna saudade; ao meu padrasto: **Francisco Severo de Araújo** e à minha mãe: **Vitória Augusto Guimarães** que tudo fizeram para o adiantamento moral e intelectual dos seus filhos; aos meus irmãos: **Adelina, Adênia, Valdemir, Valdinez Valvenargue e Wanderley**, dádivas de Deus nesta jornada terrena; à minha esposa: **Vera Lúcia de Lima Guimarães**, companheira de todos os instantes, todo o meu amor e todo o meu afeto; as minhas filhas: **Lívia Lima Guimarães e Luana Lima Guimarães**, luzes ternas de minha vida; aos sobrinhos, sobrinhas, cunhados e cunhadas; aos amigos: **Gérson Bezerra Lima, Maria Assunção Costa Weyne, Raimunda Inácia da Costa e Vânia Felipe Freire Gomes**; e, finalmente, aos **amigos espirituais**, pelo auxílio fraterno nesta existência.*

**DEDICO**

*“Prossigamos no Bem, não te amedrontes, não estamos à sós nessa jornada... Alguém segue conosco, a ensinar-nos justiça, caridade e perdão... Nada receies... Sigamos para a frente, trabalhando e servindo alegremente. Esse alguém que nos segue, passo a passo, sem exigência e sem cansaço, dando-nos paz e luz, acima dos problemas e das crises, apagando os momentos infelizes, Esse alguém é Jesus!*”

## AGRADECIMENTOS

Ao professor **Enéas Gomes Filho**, exemplo de orientador, não somente pelo seu discernimento e saber, mas, sobretudo, pelos seus gestos de dignidade, de compreensão, de simplicidade. Deixo registrado, o meu muito obrigado, não somente pelo convívio fraterno, como, também, pelos ensinamentos, sugestões, discussões e críticas que muito contribuíram para o enriquecimento dessa Tese;

Ao professor **Claudian Feitosa de Lacerda**, com quem muito cedo tive o privilégio de conviver. Disse-lhe em certa ocasião, de que essa Tese, foi concebida pelo seu espírito de pesquisador contumaz. Além de sua capacidade de trabalho, é um professor, obstinado pela pesquisa planejada, bem cuidada e bem conduzida. Todo o meu apreço e estima;

Ao emérito professor **José Tarquínio Prisco**, a quem tenho profunda admiração, não somente pelo seu conhecimento da fisiologia vegetal e disciplinas afins, mas, sobretudo, pela forma de elaborar suas idéias e convicções;

Ao professor **Fernando Monteiro de Paula**, com quem nas diversas oportunidades, avaliamos os resultados obtidos do presente estudo. Agradeço pelas sugestões, pela manifestação de confiança, apoio, incentivo, e, sobretudo pela amizade;

Ao professor **Joaquim Albenísio Gomes da Silveira**, agradeço pelo incentivo, pela amizade e pelo apoio a mim dispensado;

Aos professores do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará: Ana Cecília Góes Horta, Ana Lúcia Pontes Freitas, Benildo de Sousa Cavada, Dirce Fernandes de Melo, Francisco de Assis de Paiva Campos, Ilka Maria Vasconcelos, Joaquim Enéas Filho, José Gilberto Vieira Façanha, José Tadeu

Abreu de Oliveira, Márcio Viana Ramos, Maria da Guia Silva Lima, Maria Raquel Alcântara de Miranda, Norma Maria Barros Benevides e Renato de Azevedo Moreira;

Aos Professores do Departamento de Ciências do Solo da Universidade Federal do Ceará: Boanerges Freire de Aquino, Fernando Felipe Ferreyra Hernandez, Francisco Ocian Bastos Mota, Ismail Soares, Paulo Furtado Mendes Filho, Raimundo Nonato de Assis Júnior, Ricardo Espíndola Romero, Sebastião Cavalcante de Souza, Teógenes Senna de Oliveira e Vânia Felipe Freire Gomes, pela amizade e pelo irrestrito apoio para a realização deste curso;

Aos Doutores, André Dias de Azevedo Neto, Francisco Linhares Arruda Ferreira Gomes e José Vieira Silva;

Aos colegas do Laboratório do Departamento de Fisiologia Vegetal: Aldo Cirino Neto, Alexcyane Rodrigues Feijão, Ana Raquel Cardoso Nogueira, Carlos Eduardo Braga de Abreu, Elton Camelo Marques, Franklin Aragão Gondim, Gislainy Karla da Costa Barbosa, Jand-Venes Rolim Medeiros, Juan Carlos Alvarez Pizarro, Lorena Gama Ribeiro, Nara Lúcia Mendes Alencar, Paulo Henrique Alves da Costa e Valdinéia Soares Freitas;

À Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME), especialmente a Francisco de Assis de Souza Filho e Margareth Silvia Benício de Souza Carvalho e a todos os funcionários desta instituição, pelo apoio indispensável para a realização deste trabalho;

Aos técnicos do Laboratório de Solos UFC/FUNCEME: Antônio Carlos Hermes Monteiro, Antônio José Duarte Menezes, José Tavares da Costa e Maria Vilalba Silva do Nascimento, além da amizade pessoal, agradeço pelo fundamental apoio durante todas as fases de condução e análise dos experimentos;

Aos funcionários do Departamento de Ciências do Solo da Universidade Federal do Ceará: Adenir Alves de Macedo, Aldo Cirino Filho, Carlos Henrique Martins Ximenes,



Fátima Rego da Silva, Francisco José da Silva, José Aldemir Gonçalves, José Almir Ramos Maia, José Edílson Dote, Maria da Penha Leite Araújo, Maria Geórgia Brandão de Oliveira, Maria Ivonete Lopes Gonçalves, Naurício Maia Lima, Odete Viana Barreto, Solange S. H. Albuquerque e Vilene Freire Venâncio;

Ao Laboratório de Ciências do Solo da Universidade Federal do Ceará local onde foram feitas as análises dos elementos minerais;

Ao Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da Universidade Federal do Ceará pelas análises de ácidos graxos;

À Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade oferecida à realização do curso;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro;

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, pela bolsa concedida;

E, finalmente, a todas as **pessoas** que, **direta** ou **indiretamente**, contribuíram com o seu apoio indispensável para que esse trabalho fosse realizado.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	14
LISTA DE TABELAS E FIGURAS.....	16
DEFINIÇÕES E ABREVIATURAS.....	21
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>24</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>28</b>
2.1. O Feijão-de-Corda.....	28
2.1.1. Aspectos gerais.....	28
2.1.2. Características agronômicas, importância econômica e respostas à salinidade....	29
2.2. O Problema da Salinidade.....	30
2.3. A Salinidade no Solo.....	32
2.4. Respostas das Plantas à Salinidade.....	35
2.5. Tolerância das Plantas à Salinidade.....	37
2.6. Ajustamento Osmótico.....	38
2.7. Solutos Orgânicos.....	39
2.7.1. A prolina.....	39
2.7.2. Os carboidratos solúveis e os polióis.....	40
2.7.3. Os N-aminossolúveis e as proteínas solúveis.....	42
2.8. Solutos Inorgânicos.....	44
2.9. As Membranas Celulares e suas Interações com o Ambiente.....	46
2.9.1. Composição, organização e função das membranas celulares.....	46
2.9.2. Efeitos das injúrias causadas pelo frio às membranas.....	49
2.9.3. Efeitos dos estresses hídrico e salino nas membranas.....	49
2.9.4. Efeito do estresse oxidativo nas membranas.....	51
2.9.5. Estimativa dos danos de membranas e peroxidação dos lipídios.....	53
2.10. O Cálcio e a Salinidade.....	54

2.11. Nutrição Mineral e a Salinidade.....	57
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>62</b>
3.1. Local do Experimento, Material Vegetal e Tratamentos.....	62
3.2. Delineamento Experimental.....	63
3.3. Coletas das Plantas e Análise de Crescimento.....	64
3.4. Relações Hídricas, Trocas Gasosas e Teores Relativos de Clorofila.....	64
3.5. Determinação dos Elementos Minerais na Planta.....	65
3.6. Determinação de Solutos Orgânicos e Inorgânicos.....	67
3.6.1. Solutos orgânicos.....	67
3.6.1.1. Carboidratos solúveis.....	68
3.6.1.2. Proteínas solúveis.....	68
3.6.1.3. N-aminossolúveis.....	69
3.6.1.4. Prolina.....	69
3.6.2 Solutos inorgânicos.....	70
3.7. Contribuição dos Solutos Orgânicos e Inorgânicos para o Potencial Osmótico.....	71
3.8. Determinação de Lipídios Totais.....	71
3.9. Determinação de Ácidos Graxos.....	72
3.10. Determinação de Glicolipídios.....	74
3.11. Danos nas Membranas e Peroxidação de Lipídios.....	74
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>76</b>
4.1. Crescimento das Plantas.....	76
4.2. Fotossíntese e Transpiração.....	82
4.3. Teor de Clorofila.....	85
4.4. Suculência Foliar e Massa Específica Foliar.....	87
4.5. Potenciais Hídrico e Osmótico.....	90
4.5.1. Potencial hídrico foliar.....	90
4.5.2. Potenciais osmóticos.....	92
4.6. Solutos Orgânicos.....	94

4.6.1. Carboidratos solúveis.....	94
4.6.2. N-aminossolúveis.....	96
4.6.3. Prolina.....	100
4.6.4. Proteínas solúveis.....	103
4.7. Contribuição dos Solutos Orgânicos e Inorgânicos para o <i>Pool Osmótico</i> .....	105
4.8. Elementos Minerais e Relações Iônicas sob Condições de Salinidade.....	111
4.8.1. Nitrogênio, fósforo e enxofre.....	111
4.8.2. Potássio, cálcio e magnésio.....	115
4.8.3. Sódio e cloreto.....	120
4.8.4. Ferro, manganês, cobre e zinco.....	124
4.8.5. Relações Na/K e Na/Ca.....	126
4.9. Lipídios Totais.....	132
4.10. Peroxidação de Lipídios e Danos de Membranas.....	135
4.11. Glicolipídios.....	140
4.12. Ácidos Graxos.....	143
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>152</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>153</b>

**GUIMARÃES, F. V. A. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE FEIJÃO-DE-CORDA CV PITIÚBA SUBMETIDAS AO ESTRESSE COM NaCl EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CaCl<sub>2</sub> E CaSO<sub>4</sub>**

**RESUMO**

O excesso de sais no solo é um problema sério para a agricultura das regiões áridas e semi-áridas do mundo, limitando o crescimento e a produtividade das culturas e trazendo enormes prejuízos sócio-econômicos. O presente trabalho teve por objetivo investigar os efeitos de diferentes doses de cálcio, na forma de CaCl<sub>2</sub> e CaSO<sub>4</sub>, sobre algumas variáveis fisiológicas e bioquímicas em plantas de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], cultivar Pitiúba, sob condições de estresse salino (NaCl). As plântulas, com cinco dias após a semeadura em vermiculita, em condições de casa de vegetação, foram transplantadas para bandejas de plástico contendo solução nutritiva de Hoagland ½, onde permaneceram por três dias para aclimação, até serem transplantadas individualmente para vasos de plástico, contendo três litros de solução nutritiva. Nesse mesmo dia, foram iniciados os tratamentos adicionando-se CaCl<sub>2</sub> à solução nutritiva de um grupo de plantas e CaSO<sub>4</sub> a um outro grupo, ambos nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM. Como controle do experimento, um grupo de plantas permaneceu durante todo o experimento apenas em solução de Hoagland ½. Após 24 h da adição dos sais de cálcio, iniciou-se a adição de NaCl, o que foi feito de forma parcelada, na base de 25 mM a cada 48 h, até atingir a concentração final de 75 mM, sendo a coleta do experimento realizada aos 24 dias do início da adição de NaCl. A salinidade induziu alterações nas trocas gasosas e nas relações hídricas, provocando reduções na fotossíntese líquida, na taxa transpiratória e nos potenciais hídrico e osmótico e aumentos na suculência foliar, no peso específico foliar e nos teores relativos de clorofila, sendo tais respostas pouco influenciadas pelo cálcio suplementar ao meio. O crescimento das plantas de feijão-de-corda em meio salino (NaCl) foi afetado tanto pela fonte como pelas concentrações de cálcio adicionadas ao meio. Não foi possível identificar a dose limite de cálcio em relação ao crescimento vegetativo em meio salino, visto que o CaCl<sub>2</sub> provocou efeito negativo em concentrações acima de 2,5 mM e o CaSO<sub>4</sub> provocou efeito positivo até a maior concentração utilizada. Nas folhas, a salinidade causou aumentos nos teores de carboidratos solúveis, prolina e N-aminossolúveis sendo tais aumentos, para o caso dos dois primeiros solutos, intensificados pelo aumento na concentração de cálcio. A prolina, diferentemente dos outros dois solutos, não pareceu ter contribuído para o ajustamento osmótico das plantas.

Nas folhas, sob condições de salinidade, os solutos que mais contribuíram para o *pool* osmótico foram os carboidratos solúveis, o  $\text{Cl}^-$  e o  $\text{K}^+$ , independentemente do sal de cálcio suplementar ao meio. Contudo, nas raízes, a contribuição dos solutos para o *pool* osmótico variou com o sal de cálcio empregado. O estudo sobre a nutrição mineral mostrou que a salinidade aumentou os teores de N nas raízes e caules + pecíolos, e os de P em todas as partes estudadas da planta, porém o aumento na concentração do cálcio no meio favoreceu apenas o acúmulo de fósforo nas raízes. A salinidade causou redução nos teores de S nas raízes, e o cálcio não influenciou nessa resposta, porém aumentou os teores de  $\text{Cl}^-$  na parte aérea, sendo essa resposta intensificada pelo  $\text{CaCl}_2$  no meio. Nas raízes, os teores de Mg foram reduzidos pela salinidade e o cálcio atuou de forma antagônica, reduzindo sua absorção. De modo geral, os teores dos micronutrientes Fe, Mn, Cu e Zn foram aumentados pela salinidade e variaram pouco com o cálcio no meio. Os grandes aumentos nos teores de Na, associados às pequenas alterações nos teores de K e às diminuições nos teores de Ca, pela salinidade, provocaram grandes aumentos nas relações Na/K e Na/Ca e o aumento na concentração de cálcio reverteu em grande parte estes aumentos. Contudo, tal efeito benéfico do Ca, proporcionando um melhor balanceamento iônico das plantas, não foi proporcional à melhoria no crescimento pela presença dos sais de cálcio. A grande redução nos teores dos lipídios totais, causada pela salinidade, foi acompanhada de um grande aumento em sua peroxidação, causando fortes danos nas membranas e o cálcio acentuou esta resposta. Os teores de glicolipídios, nas folhas, foram influenciados pelo tipo de sal de cálcio no meio salino e se correlacionaram com os efeitos do  $\text{CaCl}_2$  e do  $\text{CaSO}_4$  sobre o crescimento da parte aérea. Nas folhas, a salinidade aumentou a relação ácido graxo saturado/ácido graxo insaturado, sendo essa resposta intensificada em concentrações mais elevadas de cálcio. O aumento nessa relação deveu-se a um aumento percentual em ácido palmítico, em relação ao total de ácidos graxos detectados, em detrimento das diminuições percentuais nos ácidos graxos insaturados, oléico e  $\alpha$ -linolênico. Nas raízes, foram detectados somente ácidos graxos saturados, cujos percentuais foram alterados apenas pela salinidade. Enquanto os ácidos graxos caprílico e cáprico aumentaram seus percentuais em relação ao total, o ácido láurico diminuiu e o ácido mirístico praticamente não apresentou alteração.

**Palavras-chave:** ácidos graxos, crescimento, danos de membrana, estresse salino, feijão-de-corda, lipídios, nutrição mineral, osmorreguladores, peroxidação, relações hídricas, trocas gasosas, *Vigna unguiculata*.

GUIMARÃES, F. V. A. **PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES OF COWPEA PLANTS CV PITIÚBA SUBJECTED TO SALINE STRESS WITH NaCl UNDER DIFFERENT CaCl<sub>2</sub> AND CaSO<sub>4</sub> CONCENTRATIONS**

**ABSTRACT**

Salt excess in soil is a very serious problem for agriculture on arid and semi-arid regions of the world. Such a problem decreases both plant growth and plant productivity, besides its serious social and economical damages. The present study had the objective of investigating the different effects of calcium, as CaCl<sub>2</sub> and CaSO<sub>4</sub>, on some physiological and biochemical variables of the cowpea plants [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], Pitiúba cultivar, under saline stress (NaCl) conditions. The five day-old seedlings, sowed on vermiculite in greenhouse, were moved to plastic trays containing a ½ Hoagland nutrient solution and maintained for three days for environment acclimation. Afterwards, the plants were moved to plastic pots containing three liters of nutrient solution. Then, treatments started with application of CaCl<sub>2</sub> solution to the nutrition solution for a group of plants; for the other group, a CaSO<sub>4</sub> solution was applied. Both solutions had the following concentrations: 0.50, 1.25, 2.50, 5.00, 7.50, and 10.00 mM. A group of control plants was maintained through all the experimental period with only a ½ Hoagland nutrition solution. After adding the calcium salts for a period of 24 hours, it was then added a 25 mM NaCl solution every 48 hours until a 75 mM final concentration was reached. Samples were collected 24 days after the NaCl application had started. Salinity induced changes in both gas exchanges and in the water relations causing reductions on the following variables: the net photosynthesis, the transpiration rates and the water and osmotic potentials. On the other hand, salinity increased the following variables: the foliar succulence, the specific leaf mass and the relative contents of chlorophyll, being these effects slightly influenced by the medium supplemental calcium. The cowpea plant growth in saline medium (NaCl) was affected by both sources and concentrations of added calcium. It was not possible to identify the calcium limit concentration for plant growth in saline medium, since CaCl<sub>2</sub> caused negative effects at concentrations above 2.5 mM, while on the contrary, all added concentrations of CaSO<sub>4</sub> resulted in positive effects on growth. In the leaves, the salinity caused increases in the concentrations of the soluble carbohydrates, the proline, and the N-amino soluble. The increase in both soluble carbohydrates and amines contents were greater as calcium increased. Proline, differently from the other solutes, did not seem to affect the plant osmotic adjustment. In the leaves, under salinity conditions, the solutes that

most contributed for the osmotic pool were soluble carbohydrates and ions  $\text{Cl}^-$  and  $\text{K}^+$ , despite the sources of calcium added to the medium. In plant roots, the contribution of solutes for plant osmotic pool varied accordingly to the calcium sources added to the medium. Concerning plant mineral nutrition, the present study showed that salinity increased N contents in roots, stem and petiole. Increases in P contents occurred in all plant parts, although increasing calcium additions favored P accumulation only in the roots. Salinity reduced S contents in the roots, which was not influenced by the calcium added, although calcium addition increased the  $\text{Cl}^-$  contents in shoots which were intensified as  $\text{CaCl}_2$  was added to the medium. In the roots, salinity diminished the Mg content due to calcium presence contributing through competition in ion absorption. In general, Fe, Mn, Cu and Zn concentrations increased with salinity and showed little variations with calcium in the medium. The great increase in Na content induced by salinity and associated to the little changes in K contents and also with the decrease in Ca content caused great increases in the Na/K and Na/Ca relations, even though calcium increasing concentrations had reversed such increases. This positive calcium reversion effect, which permitted a better plant ionic balance, did not permit a higher plant growth. The great reduction in total lipid contents induced by salinity was followed by a great increase in their peroxidation which caused strong membranes damages; these events were enhanced by calcium presence. The leaf glycolipid contents were influenced by the calcium source added to the saline medium and were correlated with the  $\text{CaCl}_2$  and  $\text{CaSO}_4$  effects on the shoot growth. Salinity caused increases in the saturated fatty acid/unsaturated fatty acid ratio in leaves, being enhanced at higher calcium concentrations. Considering the fatty acid determined, an increase in palmitic acid content occurred related to the above ratio increase; this palmitic acid increase was detrimental for the unsaturated fatty acids as oleic and  $\alpha$ -linolenic acids. In the roots, only saturated fatty acids were detected and their percent concentrations were only affected by salinity. On the other hand, the caprilic and the capric fatty acid content increased in relation to the total fatty acid contents; the lauric acid decreased while the miristic acid did not change.

**Key words:** fatty acids, plant growth, membrane damages, saline stress, cowpea plants, lipids, plant mineral nutrition, osmotic regulators, peroxidation, water relations, gas exchange, *Vigna unguiculata*.



## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

<b>Tabela 1.</b> Contribuição percentual dos potenciais osmóticos dos solutos orgânicos e inorgânicos calculados pela equação de van't Hoff, em relação ao total ( <i>pool</i> osmótico), em folhas de plantas de feijão-de-corda sob condições-controle e estressadas com NaCl a 75 mM e suplementada com doses crescentes dos sais de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ou CaSO <sub>4</sub> ).....	<b>106</b>
<b>Tabela 2.</b> Contribuição percentual dos potenciais osmóticos dos solutos orgânicos e inorgânicos calculados pela equação de van't Hoff, em relação ao total ( <i>pool</i> osmótico), em raízes de plantas de feijão-de-corda sob condições-controle e estressadas com NaCl a 75 mM e suplementada com doses crescentes dos sais de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ou CaSO <sub>4</sub> ).....	<b>110</b>
<b>Figura 1.</b> Matéria seca da parte aérea, matéria seca das raízes, matéria seca total e relação raiz/parte aérea de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com Ca <sup>2+</sup> a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl <sub>2</sub> ou CaSO <sub>4</sub> nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM).....	<b>77</b>
<b>Figura 2.</b> Área foliar de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições controle (solução nutritiva com Ca <sup>2+</sup> a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl <sub>2</sub> ou CaSO <sub>4</sub> nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM).....	<b>80</b>
<b>Figura 3.</b> Fotossíntese líquida e taxa de transpiração de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com Ca <sup>2+</sup> a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl <sub>2</sub> ou CaSO <sub>4</sub> nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM).....	<b>83</b>
<b>Figura 4.</b> Teor relativo de clorofila nas folhas de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com Ca <sup>2+</sup> a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl <sub>2</sub> ou CaSO <sub>4</sub> nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM).....	<b>86</b>
<b>Figura 5.</b> Suculência foliar e massa específica foliar de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com Ca <sup>2+</sup> a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl <sub>2</sub> ou CaSO <sub>4</sub> nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM).....	<b>88</b>

## CONTINUAÇÃO (LISTA DE TABELAS E FIGURAS)

- Figura 6.** Potencial hídrico das folhas de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 91
- Figura 7.** Potencial osmótico das folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 93
- Figura 8.** Teores de carboidratos solúveis nas folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 95
- Figura 9.** Teores de N-aminossolúveis em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 98
- Figura 10.** Teores de prolina em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 101
- Figura 11.** Teores de proteínas solúveis em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 104
- Figura 12.** Teores de nitrogênio e fósforo em folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 112

## CONTINUAÇÃO (LISTA DE TABELAS E FIGURAS)

- Figura 13.** Teores de enxofre nas folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 114
- Figura 14.** Teores de potássio em folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 116
- Figura 15.** Teores de cálcio e magnésio em folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 119
- Figura 16.** Teores de sódio e cloro em folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 121
- Figura 17.** Teores de ferro e manganês em folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 125
- Figura 18.** Teores de cobre e zinco em folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 127
- Figura 19.** Relação Na/K em folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 129

## CONTINUAÇÃO (LISTA DE TABELAS E FIGURAS)

- Figura 20.** Relação Na/Ca em folhas, caules + pecíolos e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 130
- Figura 21.** Lipídios totais em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 133
- Figura 22.** Teores de malondialdeído em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 136
- Figura 23.** Danos de membranas em discos de folhas e segmentos de raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 139
- Figura 24.** Teores de glicolipídios em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 141
- Figura 25.** Ácidos láurico, palmítico, oléico e  $\alpha$ -linolênico em folhas de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 144
- Figura 26.** Relação de ácidos graxos saturados/ácidos graxos insaturados em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM)..... 147

## CONTINUAÇÃO (LISTA DE TABELAS E FIGURAS)

**Figura 27.** Ácidos caprílico, cáprico, láurico e mirístico em raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle (solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM) e de estresse salino (solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM).....

150

## DEFINIÇÕES E ABREVIATURAS

- Ácido graxo** – Um composto com um grupo carboxila em uma extremidade, e uma longa cauda de hidrocarbonetos sem ramificações na outra; a cauda de hidrocarbonetos pode ser saturada ou insaturada.
- Aclimação** – Aumento da capacidade das plantas sobreviverem a condições adversas, em decorrência de modificações fisiológicas temporárias provocadas por mudanças ambientais. Embora a aclimação possa envolver mudanças na expressão gênica, ela é uma resposta homeostática e não é transmitida de uma geração para outra. Conseqüentemente, *aclimação é uma alteração fisiológica*.
- Adaptação** – Aumento da capacidade das plantas sobreviverem a condições adversas, em decorrência de alterações morfo-fisiológicas definitivas provocadas pela seleção evolucionária (natural ou artificial) de genes. Como a adaptação envolve a alteração gênica, ela é transmitida de uma geração para outra. Conseqüentemente, *adaptação é uma evolução*.
- Ajuste osmótico** – A capacidade da célula de acumular solutos compatíveis e reduzir o potencial hídrico durante períodos de estresse osmótico.
- Carboidratos Solúveis** – São aldeídos ou cetonas poli-hidroxílicos, solúveis em água, e inclui os monossacarídeos (ou açúcares) e alguns oligossacarídeos.
- Clorofila** – Pigmento que absorve luz, de função fundamental na fotossíntese.
- Condutividade elétrica** – Capacidade de conduzir eletricidade; grandeza (expressa em  $\text{dS.m}^{-1}$ ) que se correlaciona diretamente com a quantidade de íons dissolvidos em água e presentes no extrato de saturação do solo, nas águas de irrigação ou nas soluções nutritivas.
- Crescimento** – É o aumento permanente em tamanho, volume, peso (fresco ou seco) da célula, do órgão ou do organismo.
- Estresse** – Diz-se que uma planta sofreu um estresse quando qualquer fator ambiental provoca alterações reversíveis e/ou irreversíveis no seu metabolismo, induzindo, em consequência, mudanças no seu crescimento e desenvolvimento.
- Estresse oxidativo** – É um distúrbio no estado de equilíbrio da relação entre oxidantes e antioxidantes em células intactas e resulta das reações metabólicas que reduzem parcialmente o oxigênio molecular.
- Fosfolipídio** – Tipo de molécula lipídica encontrada nas membranas biológicas. Geralmente composta por dois ácidos graxos ligados através do glicerol fosfato a um grupo polar.
- Fotossíntese** – Processo pelo qual as plantas e algumas bactérias utilizam a energia da luz solar para promover a síntese de moléculas orgânicas, a partir do dióxido de carbono e água.
- Glicerol** – Uma molécula de três carbonos, contendo três grupos hidroxila. As moléculas de glicerol combinam-se com ácidos graxos, formando os triacilgliceróis.
- Glicolipídio** – Qualquer lipídio ao qual está covalentemente ligado uma cadeia curta de carboidratos. Comumente encontrado na membrana citoplasmática.
- Lipídio** – Uma biomolécula relativamente pequena e insolúvel na água contendo, em geral, ácidos graxos, esteróis ou isoprenóides. A maioria das moléculas lipídicas contém

um ou mais ácidos graxos de cadeia longa dos quais o palmitato e o oleato são os compostos típicos.

**Macronutrientes** – Elementos químicos inorgânicos necessários em grandes quantidades para o crescimento das plantas, tais como o nitrogênio, o potássio, o cálcio, o fósforo, o magnésio e o enxofre.

**Membrana plasmática ou plasmalema** – A membrana que circunda a célula, regulando a entrada e saída de moléculas e íons. Cada célula possui uma membrana plasmática; a membrana exterior que envolve o citoplasma de uma célula.

**Metilação** - Uma reação química na qual um grupo metil ( $-\text{CH}_3$ ) é introduzido numa molécula. Um exemplo particular é a substituição de um átomo de hidrogênio por um grupo metil.

**Micronutrientes** – Elementos químicos inorgânicos requeridos apenas em quantidades muito pequenas ou traços, necessários para o crescimento das plantas, tais como o ferro, o cloro, o cobre, o manganês, o zinco, o molibdênio, o níquel e o boro.

**Nitrogênio aminossolúveis** – Compostos de baixos pesos moleculares, contendo nitrogênio e que são solúveis em água. Em geral, são determinados quantitativamente com o reagente da ninhidrina.

**Osmólitos ou osmorreguladores** – São substâncias que se acumulam em plantas sob condições de estresse hídrico e salino, e englobam diversos compostos, tais como aminoácidos livres, carboidratos solúveis, algumas aminas, sais de amônio quaternário (as betaínas e seus derivados) e sais sulfônicos. São também chamados de solutos compatíveis e mesmo em elevadas concentrações não são tóxicos.

**Pecíolo** – O pedúnculo da folha, que une a lâmina foliar ao caule.

**Permeabilidade de membrana** – A extensão com que uma membrana permite ou restringe o movimento de uma substância.

**Permeabilidade seletiva** – Propriedade da membrana que permite a difusão de algumas moléculas através dela e impede a de outras moléculas.

**Peroxidação de lipídios** – Termo que trata da oxidação enzimática dos lipídios poliinsaturados presentes nas membranas biológicas.

**Peso fresco** – Peso do tecido vivo.

**Peso seco** – Peso do tecido dessecado. Frequentemente usado para medir crescimento.

**Potencial de soluto ou potencial osmótico ( $\Psi_s$ )** – O efeito de solutos dissolvidos sobre o potencial hídrico.

**Potencial hídrico ( $\Psi_w$ )** – O potencial hídrico é uma medida da energia livre associada com água por unidade de volume ( $\text{J. m}^{-3}$ ). Essas unidades são equivalentes a unidades de pressão, tais como pascals. O  $\Psi_w$  é uma função do potencial de soluto, do potencial de pressão e do potencial devido a gravidade:  $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g$ . O potencial  $\Psi_g$  é frequentemente ignorado, porque ele é desprezível para alturas abaixo de cinco metros.

**Proteínas solúveis** – Polímeros lineares de aminoácidos, ligados em uma sequência específica, usualmente contendo mais de 50 resíduos e solúveis em água. Proteínas formam os elementos-chave nas estruturas celulares e participam de quase todas as atividades celulares.

**Resistência** – O conceito de resistência, estabelecido por Levitt (1972), refere-se a qualquer tipo de mecanismo desenvolvido pelas plantas que garantam a sua sobrevivência em condições ambientais adversas. Esses mecanismos podem ser agrupados em duas categorias gerais: (a) **escape ou fuga**, que permite à planta completar seu ciclo vital sem ter sido exposta ao agente estressor e (b) **tolerância**, que permite à planta completar seu ciclo vital, mesmo sendo exposta ao agente estressor.

**Salinidade** – Quantidade de sais solúveis presentes na água do mar, nas águas de irrigação ou nos perfis dos solos, capazes de reduzir ou, até mesmo, impedir o crescimento, desenvolvimento e a produção das culturas.

**Salinidade limiar (SL)** – É o nível máximo de salinidade média da zona radicular que pode ser tolerado por uma planta, sem afetar negativamente o seu desenvolvimento. As plantas cultivadas, de uma maneira geral, apresentam diferentes respostas à salinidade, variando desde sensíveis até tolerantes.

**Saponificação** – A reação de um triacilglicerol com uma base, produzindo glicerol e três sais de um ácido graxo.

**Solução de Hoagland** – Uma solução nutritiva para crescimento vegetal, formulada originalmente pelo norte-americano Dennis Robert Hoagland.

**Triacilgliceróis** – Também chamados de triglicerídios, gorduras ou óleos são formados por três ácidos graxos esterificando cada hidroxila do glicerol.

**AF** – Área foliar

**DGDG** - Digalactosildiácilglicerol

**DM** – Dano de membrana

**E** – Transpiração

**MDA** – Malondialdeído

**MF** – Matéria fresca

**MGDG** - Monogalactosildiácilglicerol

**MS** – Matéria seca

**MSPA** – Massa seca da parte aérea

**MSR** – Massa seca da raiz

**MST** – Massa seca total

**P<sub>n</sub>** – Fotossíntese líquida

**SL** – Salinidade limiar

**Ψ<sub>s</sub>** – Potencial osmótico

**Ψ<sub>sf</sub>** – Potencial osmótico foliar

**Ψ<sub>sr</sub>** – Potencial osmótico da raiz

**Ψ<sub>wf</sub>** – Potencial hídrico foliar



## 1. INTRODUÇÃO

Os solos salinos são definidos como aqueles que têm sido física e quimicamente alterados a ponto de afetarem negativamente o crescimento da maioria das plantas. Em geral, as plantas são sensíveis à presença de elevadas concentrações de sais solúveis, de sódio trocável, ou de ambos, na zona radicular (CURI, 1993). A salinidade tem-se constituído em um dos principais fatores limitantes ao crescimento e produção das plantas, tanto nas áreas irrigadas como nas não irrigadas do mundo e ocorre, notadamente, nas regiões áridas e semi-áridas onde predominam baixas precipitações pluviométricas e elevadas taxas de evaporação (FAO, 2000).

A salinidade é um problema que atinge todos os continentes (SZABOLCS, 1994) e, de acordo com Ribeiro *et al.* (2003), o aumento da população mundial e a pressão econômica têm resultado na expansão alarmante de áreas com solos degradados por salinidade e sodicidade, principalmente em consequência do uso de terras marginais e do manejo inadequado da irrigação. GHEYI (2000) aponta três possíveis alternativas para solucionar os problemas de salinidade: a aplicação de técnicas de manejo adequadas (prevenção); a correção do solo (recuperação) e a utilização de espécies adaptadas à salinidade (convivência).

Dentre as várias técnicas de manejo, cita-se o emprego de plantas forrageiras em períodos de entressafras agrícolas para manter o solo coberto, evitando as elevadas taxas de evaporação de água de sua superfície, a utilização de lâminas adequadas de irrigação e o monitoramento do lençol freático (OLIVEIRA, 1997; GHEYI, 2000). A recuperação dos solos salinizados envolve o uso de corretivos químicos e/ou lavagem, porém é um processo dispendioso e, em muitos casos, é economicamente inviável (PRISCO, 1987).

Uma alternativa viável e promissora para a redução do problema da salinidade é a

utilização de espécies halotolerantes, produzidas por meio de técnicas de melhoramento ou de engenharia genética (OLIVEIRA, 1997). No entanto, apesar da existência de variabilidade genética entre espécies ou entre cultivares de uma mesma espécie, são poucos os exemplos de obtenção de cultivares tolerantes à salinidade (ZHANG & BLUMWALD, 2001; APSE & BLUMWALD, 2002), o que se deve, em parte, à falta de conhecimentos sobre os mecanismos bioquímicos e fisiológicos que controlam a tolerância, bem como sobre o modo de como essa tolerância é modificada pelas condições ambientais (FLOWERS & YEO, 1995; FAGERIA & GHEYI, 1997).

As respostas das plantas à salinidade são complexas e de difícil entendimento por envolverem vários genes e vários mecanismos (HASEGAWA *et al.*, 2000). A salinidade reduz o potencial osmótico do solo e, dessa forma, pode ocasionar um déficit hídrico (GHEYI, 2000). Em adição a isso, a absorção de íons tóxicos, tais como o  $\text{Na}^+$  e o  $\text{Cl}^-$ , conduzem a planta a distúrbios nutricionais e metabólicos. Esses íons, quando em altas concentrações no solo, reduzem a absorção de nutrientes minerais, especialmente os íons  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  (LARCHER, 2000).

O cálcio é um elemento fundamental para a manutenção da integridade das membranas e, sob condições salinas com predominância de sais de sódio, pode ocorrer seu deslocamento pelo íon  $\text{Na}^+$ . Em função disso, a integridade da membrana plasmática é alterada e se dá o vazamento de solutos intracelulares (CRAMER *et al.*, 1985). Segundo Epstein (1998), a adição de  $\text{Ca}^{2+}$  no meio de crescimento pode minorar os efeitos negativos da salinidade provocada pelo excesso de sais de sódio, favorecendo os mecanismos de proteção e reduzindo os efeitos deletérios da salinidade na fisiologia das plantas. Acredita-se que o  $\text{Ca}^{2+}$  diminua a absorção de íons desnecessários, como por exemplo, o  $\text{Na}^+$ , e favoreça a absorção de íons essenciais como o  $\text{K}^+$  (COLMER *et al.*, 1996) ou o próprio  $\text{Ca}^{2+}$  (MAAS & GRIEVE, 1987). Além disso, o cálcio parece alterar a composição

lipídica das raízes (CACHORRO *et al.*, 1993), modificando o sistema de defesa da planta, e promovendo o acúmulo de solutos orgânicos, como a prolina (LÄUCHLI *et al.*, 1994; COLMER *et al.*, 1996; FRANCO *et al.*, 1999) e a glicinabetaína (GIRIJA *et al.*, 2002).

É importante enfatizar, que não há um consenso sobre os efeitos benéficos da suplementação do meio salino com  $\text{Ca}^{2+}$  sobre o crescimento das plantas. Embora esse íon cause uma redução nos teores de  $\text{Na}^+$  nas folhas de plantas sob condições de estresse salino (RENGEL, 1992), isto nem sempre parece estar relacionado com uma melhoria no crescimento vegetativo, conforme foi observado em feijão-de-corda (LACERDA, 1995; SILVA, 1998). De acordo com Reid & Smith (2000), o aumento na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  não afeta igualmente o crescimento e a absorção de  $\text{Na}^+$ , havendo uma concentração de cálcio limite acima da qual nenhum efeito benéfico é observado no crescimento de plantas estressadas com NaCl. Esses autores observaram que o efeito benéfico do cálcio na redução da toxicidade pelo  $\text{Na}^+$  era contrabalançado não apenas pelo abaixamento do potencial osmótico no ambiente radicular, em consequência do aumento na concentração total de sais, mas também pelo acúmulo excessivo de  $\text{Cl}^-$  nos tecidos. Tendo em vista que Reid & Smith (2000) trabalharam com trigo e usaram  $\text{CaCl}_2$ , é possível supor-se que os limites da interação cálcio/salinidade dependam da espécie vegetal, da fonte de cálcio utilizada (ZEKRI & PARSONS, 1990) e das condições ambientais (LACERDA, 1995; YEO, 1999).

O presente trabalho teve por objetivo estudar os efeitos da aplicação de diferentes doses de cálcio, na forma dos sais  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$ , sobre as respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], cv Pitiúba, submetidas à salinidade. Foram analisados os efeitos da interação do cálcio com a salinidade no crescimento vegetativo, nas trocas gasosas, nas relações hídricas, na nutrição mineral, no acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos, na integridade das membranas,

nos lipídios totais e na composição de ácidos graxos, investigando a possível capacidade dos sais de cálcio em minorar ou neutralizar os efeitos dos íons potencialmente tóxicos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. O Feijão-de-Corda

#### 2.1.1. Aspectos gerais

O feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é uma planta herbácea, anual, pertencente à divisão Magnophyta, classe Magnoliopsida, ordem Rosales, família Fabaceae, subfamília Papilionoidea, gênero *Vigna* (CRONQUIST, 1988). A espécie é caracterizada por possuir ampla variabilidade genética, excelente potencial de produção e adaptação. É uma planta de região tropical e subtropical, originária da parte Oeste e Central da África e relativamente adaptada às condições de temperaturas elevadas e de seca ambiental (EHLERS & HALL, 1997). O feijão-de-corda constitui-se em um produto básico da alimentação humana em diversos países, graças, sobretudo, à riqueza de proteínas com um custo relativamente baixo (FREIRE-FILHO *et al.*, 1999).

O feijão-de-corda apresenta vários nomes vulgares, sendo conhecido como feijão-macassar ou feijão-caupi na região Nordeste; feijão-da colônia e feijão-de-praia na região Norte; e feijão-miúdo na região Sul. É também conhecido por feijão-catador e feijão-gurutuba em algumas regiões da Bahia e norte de Minas Gerais e de feijão-fradinho nos estados da Bahia e Rio de Janeiro (FREIRE-FILHO *et al.*, 2005). No Brasil, a área cultivada com feijão-de-corda é de 1.451.578 ha (EMBRAPA, 2003). Os estados do Ceará, da Bahia, do Piauí e de Pernambuco são os maiores produtores da região Nordeste. Dentre as trinta e três microrregiões do estado do Ceará, as do Sertão de Quixeramobim, do Baixo e Médio Jaguaribe, Sertão de Crateús, Sertão de Senador Pompeu, Canindé e Sertão dos Inhamuns, foram as que mais produziram feijão-de-corda, sendo que os municípios de Boa Viagem, Canindé, Crateús, Morada Nova, Parambu, Jaguaratama, Santa Quitéria, Quixadá, Icó e Pedra Branca foram os dez maiores produtores (IBGE, 2003). De acordo com a

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2004), a área efetivamente plantada no ano de 2003 com feijão-de-corda no estado do Ceará, correspondeu a 589.251 ha, com uma produção de grãos da ordem de 205.021 toneladas, com produtividade de 348 kg/ha.

### **2.1.2. Características agronômicas, importância econômica e respostas à salinidade**

O feijão-de-corda apresenta ampla variação quanto ao hábito de crescimento, produtividade, tamanho e cor da vagem e das sementes, resistência à pragas e doenças, composição química e adaptação às diferentes condições ambientais (PRATA, 1977). Em geral, a planta apresenta sistema radicular pivotante, bem ramificado, desenvolvendo-se de acordo com a profundidade e constituição do solo. Nas raízes, são comumente encontrados nódulos provocados pela colonização do tecido radicular por bactérias simbióticas (*Rhizobium*) fixadoras de nitrogênio atmosférico.

No Brasil, o agronegócio do feijão-de-corda gira recursos superiores a US\$ 800 milhões por ano, sendo plantado, no Nordeste, em grande escala e em consórcio com o milho, o algodão e a mandioca (NEVES, 1999). É considerado produto de expressão econômica, devido, sobretudo, à sua área de dispersão e à riqueza protéica de seus grãos, constituindo-se para o rurícola, em produto básico de sua alimentação. No estado do Ceará, ocupa o segundo lugar em importância econômica entre os produtos do setor primário (CONAB, 2004).

A despeito da importância que o feijão-de-corda apresenta para a região Nordeste, o rendimento dessa cultura ainda é baixo, podendo-se atribuir este fato ao uso de áreas impróprias e aos plantios predominantemente de subsistência, com níveis mínimos de utilização de tecnologia adequada (TEIXEIRA *et al.*, 1988). Além disso, outros fatores como: uso de cultivares com baixo potencial genético; manejos inadequados da cultura; incidências de pragas e doenças e as deficiências no armazenamento e comercialização

limitam sua produção.

De acordo com Maas & Hoffman (1977) o feijão-de-corda é uma espécie considerada moderadamente sensível à salinidade. No entanto, a literatura tem mostrado que essa espécie tolera água salina com condutividade elétrica de até  $3,3 \text{ dS.m}^{-1}$  (AYERS & WESTCOT, 1999). Assim sendo, o feijão-de-corda, vem sendo classificado como moderadamente tolerante à salinidade, indicando que essa cultura pode se constituir em alternativa para cultivos que utilizem recursos (água e solo) salinos. Os estudos com as cultivares regionais de feijão-de-corda, em condições de salinidade, têm sido realizados em sua quase totalidade, em condições de laboratório ou em cultivos hidropônicos, buscando-se entender os efeitos da salinidade durante as etapas de germinação, estabelecimento da plântula e crescimento vegetativo (PRISCO, 1987; SUDÉRIO, 2001; SILVA *et al.*, 2003). Esses estudos têm contribuído para esclarecer parcialmente os mecanismos fisiológicos de tolerância ao estresse nessa espécie e na identificação de cultivares com tolerância diferencial à salinidade (COSTA *et al.*, 2003).

## **2.2. O Problema da Salinidade**

A salinidade constitui-se um dos principais estresses abióticos sofrido pelas plantas cultivadas. O excesso de sais dos solos é um problema grave para a agricultura das regiões áridas e semi-áridas do mundo, limitando o crescimento e a produtividade das culturas e ocasionando enormes prejuízos sócio-econômicos (GHEYI, 2000; MUNNS, 2002).

A salinidade é um problema que atinge cerca de 45 milhões (19,5%) dos 230 milhões de hectares da área irrigada do globo terrestre. O excesso de sais limita severamente a produção agrícola, principalmente nas regiões áridas e semi-áridas, onde cerca de 25% da área irrigada encontra-se salinizada (FAO, 2000). Conforme estimativas de Gupta & Abrol (1990), com base no “Mapa de Solos do Mundo”, da FAO/UNESCO, os

solos afetados por sais ocupam uma superfície estimada de 9.500.000 km<sup>2</sup>, distribuídos, principalmente, na Austrália, Ásia, América do Sul e África. Por outro lado, Gheyi (2000), assevera que a salinização dos solos ocorre em todos os continentes, especialmente, em regiões onde os sistemas de irrigação estão associados à presença de grandes rios, tais como: o Nilo, no Egito; o Eufrates e o Tigre, que irrigam a Síria e o Iraque, na Ásia; o Gange, na Índia; o Indus, no Paquistão; o Mekong, na Tailândia e o Huang, na China. Nos Estados Unidos, os maiores problemas de salinidade advêm da irrigação mal conduzida (drenagem ineficiente) e localizam-se, principalmente, na bacia do *Great Salt Lake*, nos vales da Califórnia (São Joaquim, Sacramento, Caochella, Imperial), na bacia de drenagem do Colorado e Rio Grande, além das bacias do Colúmbia e do Missouri (OLIVEIRA, 1997). Na Europa, extensas áreas de solos afetados por sais ocorrem, principalmente, na Escócia, Inglaterra, Romênia, Hungria e Espanha. É importante ressaltar as grandes extensões de terras salinizadas na África, principalmente, na Etiópia, Egito, Chade e Nigéria. Na América do Sul, países como a Argentina, Paraguai, Chile, Bolívia, e Brasil, têm grandes áreas de solos afetados por sais (CHAPMANN, 1975).

No Brasil, os solos salinos e sódicos ocorrem no Rio Grande do Sul, na região do Pantanal do Mato-Grosso e, predominantemente, na região semi-árida do Nordeste. Áreas salinizadas são encontradas, principalmente, nos perímetros irrigados da região Nordeste, onde o acúmulo de sais é resultado do manejo inadequado dos recursos hídricos, da qualidade da água, do uso incorreto dos sistemas de irrigação e drenagem e da aplicação indiscriminada de insumos (FAGÉRIA & GHEYI, 1997; AYERS & WESTCOT, 1999).

No Nordeste Brasileiro, dos 1.600.000 km<sup>2</sup> de terra, cerca de 1.500.000 km<sup>2</sup> são caracterizados como insuficientes em água, constituindo o chamado “polígono das secas” (DANTAS *et al.*, 2002). Nesta região, a irrigação assume papel fundamental no progresso da agricultura. No entanto, a prática de irrigar aumenta as concentrações de sais



na superfície do solo.

No semi-árido nordestino, a salinização é comum nos perímetros irrigados, reduzindo a produtividade de hortaliças e frutíferas, abalando a economia regional e trazendo problemas sociais como falência, abandono das terras e migração para os centros urbanos (OLIVEIRA, 1997). Em um levantamento realizado nas áreas irrigadas dos 26 perímetros administrados pelo Departamento Nacional de Obras contra as Secas (DNOCS), somente três não apresentavam problemas de salinidade, sendo que 12% da superfície agrícola dessas áreas haviam sido desativadas devido a problemas de salinização. Por outro lado, esse levantamento constatou que nos perímetros de Sumé (PB), São Gonçalo (PB) Vaza Barris (Canudos-BA) e Jacurici (Itiúba-BA), a percentagem de área salinizada era superior a 20% (BUKOVINSZKY *et al.*, 1992; GHEYI, 2000), sendo que, no estado do Ceará, os perímetros irrigados de Forquilha (Forquilha) e de Várzea do Boi (Tauá), eram os mais afetados pela salinidade.

### **2.3. A Salinidade no Solo**

Os solos são substratos de onde as plantas terrestres absorvem água e os nutrientes minerais na forma de íons inorgânicos (TAIZ & ZEIGER, 2004). O material de origem, o clima, o relevo ou a topografia, os organismos e o tempo são os fatores de formação do solo. O solo é composto por um sistema de três fases: sólida, líquida e gasosa. A fase sólida é constituída por matéria orgânica em decomposição e matéria mineral derivada das rochas; a fase líquida é formada pela solução do solo ou água do solo e compõe-se de água, sais em dissolução e matéria coloidal em suspensão e, por fim, a fase gasosa é constituída pelo ar do solo (PRADO, 2005).

O excesso de sais nos solos causa sério comprometimento à homeostase iônica e resulta em estresse osmótico pela indução de deficiência hídrica nas plantas. Os sais que

contribuem efetivamente para a salinidade são constituídos, principalmente, pelos cátions cálcio, magnésio e sódio e pelos ânions cloreto, sulfato, bicarbonato e algumas vezes carbonatos (FAGÉRIA & GHEYI, 1997; OLIVEIRA, 2001, MEURER & ANGHINONI, 2004). A natureza dos sais, o regime de umidade do solo, o nível de nutrientes, a textura do solo, as espécies vegetais, envolvendo o hábito do sistema radicular e a idade da planta influenciam na salinidade dos solos (RIBEIRO *et al.*, 2003). Além de reduzir a disponibilidade de água para as plantas, a salinidade pode trazer problemas como o efeito de íons tóxicos específicos sobre a fisiologia vegetal, a tal ponto de afetar seu rendimento e a qualidade de sua produção (DIAS *et al.*, 2003).

Inúmeros são os exemplos de processos de salinização em virtude de irrigação inadequada e água de má qualidade. A salinização decorrente da irrigação tem sido observada em regiões com precipitação pluviométrica anual de até 1.000 mm, particularmente em solos rasos e de má drenagem (BATISTA *et al.*, 1998). Além da reduzida precipitação, concorre para o processo de acúmulo de sais, o balanço hídrico negativo, resultante das altas taxas de evaporação. A ocorrência de déficit hídrico impede que as precipitações promovam lavagens completas e freqüentes dos perfis dos solos irrigados. Por outro lado, os íons  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  e  $\text{HCO}_3^-$ , presentes na solução do solo, tendem a se concentrar no ambiente radicular (RIBEIRO *et al.*, 2003).

A salinização dos solos é comum não apenas nas regiões áridas ou semi-áridas, onde a precipitação não é suficientemente expressiva para manter uma lavagem efetiva dos sais que se acumulam no solo, mas também ocorre nas zonas costeiras, ainda que bastante úmidas, e deve-se à influência das marés, como acontece, por exemplo, nas áreas de mangues.

Os solos afetados por sais podem ser classificados como salinos (apresentam altas concentrações de sais solúveis), sódicos (com altas concentrações de sódio trocável) e

salino-sódicos (apresentam altas concentrações de sais e de sódio trocável). Estima-se que os solos afetados por sais compreendam cerca de 10% do total da área de solos cultiváveis no mundo (BISSANI, *et al.*, 2004). De acordo com Richards (1954), os solos são considerados salinos, quando a condutividade elétrica (CE) do extrato de saturação é  $\geq 4 \text{ dS.m}^{-1}$  e a percentagem de sódio trocável (PST) é  $< 15\%$ , sendo que, normalmente o pH desse solos é  $< 8,5$ .

A ocorrência de solos salinos está associada a causas naturais (salinização primária) e à atividade humana (salinização secundária ou antrópica). As principais fontes da salinização primária são o intemperismo químico, especialmente sobre os minerais primários, a precipitação atmosférica e os sais fósseis remanescentes de ambientes marinhos e lacustres (AYERS & WESTCOT, 1999). A salinização secundária está diretamente relacionada à qualidade da água, ao manejo da irrigação e à eficiência do sistema de drenagem (GHEYI, 2000). Esse tipo de salinização acarreta maior impacto econômico, pois ocorre em áreas onde se realizou investimento de capital (TANJI, 1990). A salinização secundária também pode ser decorrente de irrigação com volume excessivo de água, provocando elevação do lençol freático, e/ou uso de água com grande concentração de sais. Em alguns casos, a salinização secundária é responsável, por perdas irreparáveis na capacidade produtiva dos solos, tornando estéreis grandes extensões de terras cultivadas (OLIVEIRA, 1997).

Considerando-se que a água utilizada para a irrigação sempre contém sais solúveis, o aparecimento do problema de salinidade é apenas uma questão de tempo, a menos que sejam tomadas medidas preventivas (MEDEIROS & GHEYI, 1993). Por outro lado, o cultivo em solos salinos ou propensos à salinização deve ser criteriosamente avaliado, principalmente quanto ao manejo do sistema solo-água-plantas a ser adotado, particularmente em regiões áridas e semi-áridas, cujo sucesso da atividade agrícola

depende do planejamento adequado das técnicas desse manejo.

#### **2.4. Respostas das Plantas à Salinidade**

Uma das primeiras respostas das plantas, associada ao estresse salino é a limitação do crescimento foliar, em decorrência da redução da taxa de crescimento, acarretando diminuição da área foliar disponível para a fotossíntese (CHARTZOULAKIS & LOUPASSAKI, 1997; SILVA *et al.*, 2003). O acúmulo de sais na zona radicular causa o desenvolvimento de estresse osmótico e vazamento de íons pela membrana celular, afetando a homeostase iônica e a absorção de nutrientes essenciais como os íons  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  e  $NO_3^-$ , além de provocar acúmulo de íons tóxicos como o  $Na^+$  e  $Cl^-$  (PARANYCHIANAKIS & CHARTZOULAKIS, 2005). Por outro lado, o estresse salino pode levar ao aparecimento de espécies oxidativas de oxigênio (ROS), causar mudanças hormonais (MUNNS, 2002), alterar o metabolismo dos carboidratos (GAO *et al.*, 1998), reduzir a atividade de certas enzimas (MUNNS, 1993), e provocar danos ao sistema fotossintético (LORETO *et al.*, 2003). Como consequência dessas disfunções no metabolismo, ocorre o declínio e/ou a inibição na divisão e alongação celular, favorecendo o desencadeamento dos processos de senescência e morte (PARANYCHIANAKIS & CHARTZOULAKIS, 2005). Por outro lado, plantas afetadas pela salinidade apresentam um lento desenvolvimento e as folhas são menores, apesar de serem mais espessas, que as de plantas normais (BRESLER *et al.*, 1982). Assim sendo, o estresse salino, além de tornar as folhas com coloração verde mais escura provoca redução no desenvolvimento dos frutos (LARCHER, 2000).

A salinidade reduz o crescimento das plantas em consequência dos efeitos osmóticos dos íons, provocando o déficit hídrico, e/ou dos efeitos específicos dos íons, acarretando toxidez ou distúrbios nutricionais (MARSCHNER, 1995; MENGEL &

KIRKBY, 2001, TESTER & DAVENPORT, 2003). Em estresse de curta duração, acredita-se que predominem os efeitos osmóticos dos sais, que favorecem a diminuição do potencial hídrico do ambiente radicular, restringindo a absorção de água, o que pode resultar no aparecimento de déficit hídrico na planta inteira (ROMERO-ARANDA *et al.*, 2001; TAIZ & ZEIGER, 2004). Grande parte da redução na produtividade das culturas está diretamente relacionada ao fechamento estomático, que limita a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e que é consequência dos efeitos osmóticos dos sais. Em estresse de longa duração, todavia, os íons acumulam-se e provocam toxidez, induzindo distúrbios nutricionais e metabólicos (MUNNS, 2002). Acúmulo excessivo de íons tóxicos, distúrbios na nutrição mineral e/ou redução na turgescência favorecem a inibição da expansão foliar, afetando o processo fotossintético e reduzindo a produção de fotoassimilados (MUNNS, 2002; LACERDA *et al.*, 2003b; PARANYCHIANAKIS, *et al.*, 2004). Como citado por vários autores, além da redução na fotossíntese, os principais efeitos da salinidade nas plantas são as modificações no balanço hormonal e na expressão gênica, redução na absorção de água, alterações nas concentrações de solutos inorgânicos e orgânicos, e alterações físicas na estrutura das membranas e paredes celulares (ZHU *et al.*, 1997). Além disso, como resposta à salinidade, observa-se um aumento na suculência foliar (POLJAKOFF-MAYBER, 1975; LONGSTRETH *et al.* 1984; SILVA, 2003).

Além dos efeitos osmóticos, o acúmulo de íons potencialmente tóxicos, leva à morte de células e tecidos, notadamente nas folhas maduras (MUNNS, 1993). Nas espécies sensíveis, o acúmulo de sódio e de cloreto pode produzir necrose dos tecidos foliares que se desenvolve inicialmente nas bordas e ápices, reduzindo a área destinada à fotossíntese (LACERDA, 2000; SILVA, 2003). Em espécies extremamente sensíveis ao cloreto, tais como o abacate e os citros, as injúrias podem aparecer mesmo quando a concentração de Cl<sup>-</sup> na solução do solo é relativamente baixa (RUIZ *et al.*, 1997). Em

abacate, a queima da ponta das folhas e as manchas necróticas, distribuídas no limbo foliar, são freqüentemente precedidas por clorose das margens. Nos estágios mais avançados, os tecidos necrosados podem cobrir 50% ou mais da folha, causando assim redução na assimilação de carbono pela planta e eventualmente sua morte (KADMAN, 1963). De qualquer forma, os sintomas dos danos causados pelo  $\text{Cl}^-$ , parecem surgir primeiro do que aqueles causados pelo  $\text{Na}^+$  (McKERSIE & LESHEM, 1994), uma vez que esse íon inorgânico acumula-se rapidamente nas folhas mais jovens nos estágios iniciais de crescimento (COSTA *et al.*, 2003).

## **2.5. Tolerância das Plantas à Salinidade**

As plantas podem ser agrupadas, quanto à tolerância aos sais, em dois grandes grupos: as halófitas e as glicófitas (FAGÉRIA & GHEYI, 1997). Enquanto as halófitas são capazes de crescerem em solos com concentrações de sais de até 20%, a maioria das plantas cultivadas (glicófitas), tem seu crescimento inibido em concentrações da ordem de 0,3 a 0,5% (LEVITT, 1980).

As halófitas apresentam tolerância ao excesso de sais e são constituídas por espécies adaptadas e evoluídas para se desenvolverem em condições de altos níveis de salinidade. Em algumas halófitas, o excesso de sais, dentro de limites, chega a estimular o crescimento (GREENWAY & MUNNS, 1980). As halófitas apresentam características morfo-fisiológicas específicas, que facilitam a exclusão e/ou a compartimentalização dos íons tóxicos. Isso faz com que as mesmas mantenham a absorção de água e suas funções vitais na presença de elevadas concentrações de sais, superando os baixos potenciais osmóticos no ambiente radicular (FLOWERS *et al.*, 1977; KURBAN *et al.*, 1999). As halófitas desenvolveram, basicamente, dois mecanismos adaptativos aos altos níveis de sais de sódio em seu ambiente: em um, os sais são impedidos de entrar na planta ou são

impedidos de ser transportados, via xilema, das raízes para as folhas e no outro, a maioria dos sais que chega às folhas é compartimentalizado no vacúolo (HASEGAWA *et al.*, 2000; MÜHLING & LÄUCHLI, 2002).

As glicófitas, diferentemente das halófitas, não possuem características ou alterações morfo-fisiológicas específicas tão eficientes à tolerância aos sais, de maneira que seus processos metabólicos são afetados negativamente com o aumento das concentrações de sais solúveis na solução do solo (GREENWAY & MUNNS, 1980). Entre as halófitas e glicófitas, existe um gradiente de tolerância em termos de espécies cultivadas e até mesmo dentro de espécies e cultivares, fato que demonstra que as plantas superiores apresentam uma grande variabilidade genética para a tolerância ao estresse salino (WINICOV, 1998).

De acordo com esta classificação, dentre as culturas mais sensíveis aos sais encontram-se, principalmente, as hortaliças e algumas árvores frutíferas, como a laranjeira e o abacateiro, enquanto entre as mais tolerantes, encontram-se o algodão e a cevada. Por outro lado, dentre as principais culturas anuais do Nordeste Brasileiro, o feijão-de-corda, o milho e o arroz foram classificados como moderadamente sensíveis, enquanto o sorgo foi considerado moderadamente tolerante (MAAS & HOFFMAN, 1977).

## **2.6. Ajustamento Osmótico**

O mecanismo de resposta das plantas que leva ao acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos nos tecidos, provocando diminuição no potencial osmótico da célula, é denominado de ajustamento osmótico (TAIZ & ZAIGER 2004). Portanto, o ajustamento osmótico é um processo pelo qual o potencial hídrico pode ser diminuído, sem que haja decréscimo da turgescência ou do volume celular. Os solutos orgânicos também chamados de solutos compatíveis, osmoprotetores ou osmólitos, são substâncias de baixo peso

molecular, que podem se acumular em grandes quantidades nos compartimentos celulares, em diferentes estresses ambientais, favorecendo o influxo de água (LARCHER, 2000) sem prejudicar o metabolismo (SAIRAM & TYAGI, 2004). Existem várias possibilidades para o ajustamento osmótico, dependendo, evidentemente, do tipo de planta e da maneira como o potencial hídrico do meio de crescimento é diminuído (FLOWERS *et al.*, 1977). O ajustamento osmótico é considerado um componente importante, na tolerância à seca e à salinidade em plantas, e pode ocorrer tanto em glicófitas como em halófitas. No caso das halófitas, há uma compartimentalização de íons inorgânicos no vacúolo, acompanhada do acúmulo dos solutos orgânicos no citoplasma (FLOWERS *et al.*, 1977; SERRAJ & SINCLAIR, 2002; STRANGE, 2004). Nas glicófitas, o ajustamento osmótico também ocorre, porém a compartimentalização dos íons, não é tão eficiente como nas halófitas (O'LEARY, 1975).

## **2.7. Solutos Orgânicos**

### **2.7.1. A prolina**

A prolina, indiscutivelmente, é o osmólito mais amplamente distribuído entre os seres vivos e acumula-se em plantas, sob condições de estresse hídrico e salino (TYAGI *et al.*, 1999; PARIDA *et al.*, 2002; ABRAHAM *et al.*, 2003; DEMIRAL & TÜRKAN, 2005). Além de seu papel no processo de osmorregulação, acredita-se que a prolina atue na estabilização de membranas e proteínas (HEUER, 2003; CLAUSSEN, 2005), bem como contra os efeitos adversos dos sais ou de temperaturas extremas (PARVANOVA *et al.*, 2004). Esse soluto orgânico pode ser usado como fonte de energia metabólica (HARE & CRESS, 1997), ou participar de uma cascata de estabilização molecular em resposta ao estresse (WERNER & FINKELSTEIN, 1995). De acordo com alguns pesquisadores, o acúmulo de prolina se dá no citosol (LEIGH *et al.*, 1981; YOSHIBA *et al.*, 1997) e, sob



condições de salinidade, isto ocorre, principalmente, pela rota primária do ácido glutâmico e, em menor grau, pela via da ornitina (ROOSENS *et al.*, 1998). É importante ressaltar que, embora alguns trabalhos evidenciem uma correlação positiva entre o acúmulo de prolina e o aumento da tolerância ao estresse (PETRUSA & WINICOV, 1997; KUMAR *et al.*, 2003; SOUZA LIMA *et al.*, 2004), outros sugerem que o acúmulo de prolina é meramente uma consequência do estresse e não leva, necessariamente, a uma maior resistência à salinidade (LIU & ZHU, 1997; LACERDA *et al.*, 2003b).

### **2.7.2. Os carboidratos solúveis e os polióis**

O acúmulo de carboidratos solúveis em resposta aos estresses hídrico e salino tem sido frequentemente relatado. Kerepesi & Galiba (2000), estudando os efeitos osmóticos dos estresses hídrico e salino sobre o conteúdo de carboidratos solúveis, em quatro genótipos de trigo, observaram que os mais tolerantes foram os que acumularam mais carboidratos solúveis. Alterações nos teores de carboidratos podem ser de grande importância para a adaptação das plantas expostas à salinidade, devido à sua relação direta com alguns processos fisiológicos, como a fotossíntese, a translocação e a respiração (KEREPESI & GALIBA, 2000). Os carboidratos solúveis podem contribuir com mais de 50% para o potencial osmótico das glicófitas (CRAM, 1976), e são considerados os principais osmólitos em muitas plantas submetidas aos estresses hídrico e salino (GREENWAY & MUNNS, 1980; KEREPESI & GALIBA, 2000; PARIDA *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2003). Além disso, os açúcares solúveis têm sido descritos ou mencionados como agentes protetores, durante a desidratação celular (PARIDA & DAS, 2005).

A trealose, um dissacarídeo, é um dos mais efetivos osmoprotetores, cuja presença tem sido relatada em bactérias, fungos e leveduras e é considerada como responsável pela capacidade desses organismos de tolerar altos níveis de desidratação (FILLINGER *et al.*,

2001; ELBEIN *et al.*, 2003). Esse dissacarídeo, também está presente em plantas e acredita-se que seja um dos mais eficientes osmoprotetores, protegendo membranas celulares e vesículas (HOUNSA *et al.*, 1998; EL-BASHITI *et al.*, 2005) e estabilizando enzimas (DATTA, 2002; TEJERA GARCÍA *et al.*, 2005). A sacarose é um outro osmorregulador que contribui para o ajustamento osmótico, controlando a turgescência e o alongamento celular (ZRENNER & STITT, 1991). Esse dissacarídeo, em muitas espécies de plantas durante a dessecação, exerce o mesmo papel da trealose de preservação das membranas celulares (EL-BASHITI *et al.*, 2005).

Em genótipos de sorgo submetidos à salinidade, os níveis de carboidratos solúveis mostraram uma correlação positiva com a tolerância à salinidade, podendo o acúmulo desse soluto contribuir para o ajustamento osmótico (SILVA *et al.*, 2003). O estresse salino altera a incorporação de açúcares, como a glicose, reduzindo a síntese de amido e aumentando a produção de sacarose (GEIGENBERGER *et al.*, 1997). Isso ocorre, provavelmente, devido à inibição de algumas enzimas da via biossintética do amido, estímulo na quebra do amido e ativação de enzimas, como a sintetase da sacarose fosfato, envolvida na síntese da sacarose.

Assim como alguns carboidratos solúveis e a prolina, o acúmulo de polióis, tais como o manitol, o sorbitol, o inositol, o mio-inositol e o pinitol (e seus derivados) também, têm sido correlacionados, por alguns autores, como responsáveis pela maior tolerância à seca e/ou à salinidade (NELSON *et al.*, 1999; ABEBE *et al.*, 2003). Esses polióis, além de exercerem um importante papel na osmorregulação, podem remover radicais de oxigênio (SMIRNOFF & CUMBES, 1989; ZHU, 2001). Em geral, os polióis acumulam-se no citoplasma de muitas halófitas, devido aos distúrbios osmóticos causados pela elevada concentração de íons inorgânicos compartimentalizados nos vacúolos (NELSON *et al.*, 1999). De acordo com Abebe *et al.* (2003), o acúmulo de manitol e pinitol em cultivares de

trigo geneticamente modificado tem evidenciado uma relação positiva de associação com tolerância à salinidade.

### **2.7.3. Os N-aminossolúveis e as proteínas solúveis**

Os compostos contendo nitrogênio aminossolúvel são moléculas de baixo peso molecular que são determinados, quantitativamente, pelo reagente da ninidrina em extratos desproteinizados (PRISCO & VIEIRA, 1976). Tais compostos funcionam como osmorreguladores, acumulando-se em plantas sob condições de estresse hídrico e salino, e englobam diversos compostos, tais como os aminoácidos livres, algumas aminas, os sais de amônio quaternário (as betaínas e seus derivados) e os sais sulfônicos (NOLTE *et al.*, 1997; ZHU, 2001, ASHRAF & HARRIS, 2004).

Acredita-se que os aminoácidos acumulados durante o estresse salino tenham um papel importante no ajustamento osmótico, além de servirem como fontes de carbono e nitrogênio para o metabolismo da planta (MANSOUR, 2000). Explicações têm sido sugeridas para o acúmulo de aminoácidos livres em plantas sob estresse salino, tais como o estímulo na síntese e inibição na degradação de aminoácidos, redução na síntese e/ou aumento na degradação de proteínas (ROY-MACAULEY *et al.*, 1992).

Outros compostos orgânicos que parecem ter importância para a tolerância de glicófitas sob condições de suave e média salinidade são os compostos de amônio quaternário, principalmente, a glicinabetaína (LACERDA, 2000). Em folhas de tabaco submetidas a déficit hídrico (AGBOMA *et al.*, 1997), a aplicação de glicinabetaína exógena provocou aumento na área foliar e nos pesos seco e fresco da parte aérea, fato que sugere um papel importante desse osmólito no ajustamento osmótico das plantas (CHEN & MURATA, 2002; HEUER, 2003). A glicinabetaína, em resposta ao estresse salino, acumula-se em diversas espécies de plantas, tais como em espinafre, cevada, tomate, batata, arroz, cenoura, sorgo (WEINBERG *et al.*, 1984;

YANG *et al.*, 2003) e amendoim (GIRIJA *et al.*, 2002). Esses compostos orgânicos estão localizados principalmente nos cloroplastos e exercem um importante papel na proteção das membranas dos tilacóides, mantendo assim a eficiência fotossintética (GENARD *et al.*, 1991).

As proteínas estão entre as mais abundantes moléculas orgânicas e sua síntese é um dos processos celulares mais sensíveis ao estresse osmótico, especialmente ao estresse salino (LEVITT, 1980). Proteínas podem ser sintetizadas “de novo”, podem estar presentes constitutivamente em baixas concentrações, ou podem aumentar em resposta ao estresse salino (PAREEK *et al.*, 1997; MANSOUR *et al.*, 2003). O acúmulo de proteínas nas plantas submetidas ao estresse salino pode representar uma forma de armazenamento de nitrogênio a ser reutilizada após a redução ou remoção do estresse (SINGH *et al.*, 1987). Adicionalmente, proteínas podem estar envolvidas no ajustamento osmótico (MANSOUR, 2000; ASHRAF & HARRIS, 2004). Quando o estresse salino é prolongado, inibidores de proteinases são sintetizados, fazendo com que aumente o teor de proteínas solúveis no citosol. Esses inibidores, além de evitarem a degradação das proteínas envolvidas no processo de osmorregulação, também funcionam na proteção das membranas contra os ataques e danos ocasionados pelas proteinases (DEMIRAL & TÜRKAN, 2005). De acordo com Niu *et al.* (1997), o ajustamento osmótico promovido a partir da síntese de proteínas, envolve um grande gasto de energia e somente ocorre em casos extremos de estresse. No entanto, sabe-se que a expressão de inúmeros genes é induzida pelo estresse osmótico ou pela combinação de diversos outros tipos de estresses (ZHU *et al.*, 1997; ZHU, 2002). O fato é que, em resposta ao estresse osmótico, as células vegetais aumentam a expressão de alguns genes e diminuem a de outros (ALI *et al.*, 1999; EL-SHINTINAWY & EL-SHOORGAGY, 2001; SOUSA *et al.*, 2003; COSTA, 2004). As proteínas induzidas pelo estresse salino podem funcionar como transportadores de membrana, controlando o fluxo de água (aquaporinas) e de íons ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -ATPase). Também podem ser enzimas relacionadas com a eliminação de ROS,

tais como a catalase, as peroxidases, as proteínas LEA (*late embryogenesis abundant*) que atuam evitando a má formação ou desnaturação de outras proteínas (NIU *et al.*, 1995; FRIDOVICH, 1998; XIONG & ZHU, 2002).

## 2.8. Solutos Inorgânicos

A salinidade pode provocar, em glicófitas, modificações na fisiologia e no metabolismo bioquímico, afetando o seu crescimento pela redução na absorção de macro e micronutrientes. Esses nutrientes exercem diversas funções nas células vegetais e compõem o *pool* osmótico do citosol e das diversas organelas. Dentre esses nutrientes, os íons  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$  contribuem fundamentalmente para o potencial osmótico celular, sendo o  $K^+$  o elemento mais diretamente envolvido com essa função. Além disso, em ambientes salinos o  $Na^+$  passa a ter particular importância, substituindo, parcialmente, o  $K^+$  no abaixamento do potencial osmótico das células vegetais.

A restrição da absorção de  $Cl^-$  e  $Na^+$  pelas raízes, caules e folhas durante o estresse salino é um mecanismo importante de tolerância em glicófitas, as quais são sensíveis às altas concentrações de  $Na^+$ , principalmente devido à baixa atividade do antiporte  $Na^+/H^+$  (GRUWEL *et al.*, 2001). Por outro lado, uma característica importante de muitas plantas cultivadas em ambientes salinos, é a manutenção da turgescência pelo acúmulo de solutos inorgânicos em suas células (FLOWERS *et al.*, 1977). Contudo, esse acúmulo de íons pode causar problemas de toxicidades iônicas, deficiências nutricionais ou ambos (MUNNS & TERMAAT, 1986). Diversos trabalhos demonstram que a salinidade promove um aumento nos teores de sódio e cloreto, tanto em halófitas (FLOWERS *et al.*, 1977) quanto em glicófitas (GREENWAY & MUNNS, 1980). Nas halófitas, os íons  $Na^+$  e  $Cl^-$  são acumulados no vacúolo, onde contribuem para o abaixamento do potencial osmótico. Ao mesmo tempo, essas plantas, mantêm uma alta concentração de potássio no

citosol (JACOBY, 1999; CUIN *et al.*, 2003). Em algumas glicófitas relativamente tolerantes à salinidade, os íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , em parte, permanecem retidos nas células das raízes e nos caules e são mantidos em baixas concentrações nos tecidos fotossintetizantes (LACERDA *et al.*, 2003a).

O potássio é um íon monovalente, cuja absorção é altamente seletiva e tem participação em importantes processos metabólicos tais como na ativação de diversas enzimas, no ajustamento osmótico das células e no processo de abertura e fechamento dos estômatos (MENGEL & KIRBY, 2001). Em condições normais, o  $\text{K}^+$  é o íon inorgânico mais abundante no citosol, enquanto o  $\text{Na}^+$  ocorre em baixas concentrações, o que faz com que a relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  citosólica, nesta situação, seja baixa (TAIZ & ZEIGER, 2004). Contudo, em condições de estresse salino, o  $\text{K}^+$  que apresenta elevada mobilidade na planta (FURLANI, 2004), tem sua absorção reduzida, desde que o sódio compete com o mesmo por alguns sítios de absorção (NIU *et al.*, 1995; TESTER & DAVENPORT, 2003, CHINNUNSAMMY *et al.*, 2005). Além disso, o estresse salino pode causar alterações na estrutura das membranas, provocando o efluxo de diversos íons, inclusive o  $\text{K}^+$ , prejudicando o metabolismo e inibindo o crescimento (MELONI *et al.*, 2001; MUNNS, 2002; PARIDA *et al.*, 2004). A manutenção de elevadas taxas de absorção de  $\text{K}^+$  na presença de  $\text{Na}^+$ , parece ser uma característica genética-fisiológica importante na tolerância à salinidade. Acredita-se que o  $\text{Ca}^{2+}$ , exerça efeitos marcantes nesse processo, atuando na estabilização da membrana plasmática e atenuando os efeitos deletérios do  $\text{Na}^+$  (MARSCHNER, 1995; MENGEL & KIRKBY, 2001; WHITE & BROADLEY, 2003; AKINCI *et al.*, 2004).

## **2.9. As Membranas Celulares e suas Interações com o Ambiente**

### **2.9.1. Composição, organização e função das membranas celulares**

Nas plantas, além da membrana plasmática que controla o movimento de substâncias para dentro e para fora da célula, existem as membranas internas, tais como as que envolvem as mitocôndrias, os vacúolos, os peroxissomos, os cloroplastos e o núcleo que, por sua vez, controlam a passagem de substâncias entre os diversos compartimentos intracelulares (MANSOUR & SALAMA, 2004).

As membranas celulares são estruturas dinâmicas, cujos componentes se movimentam e realizam papéis fisiológicos vitais que permitem às células interagirem umas com as outras e com as moléculas do ambiente (PURVES *et al.*, 2002). As membranas biológicas são basicamente formadas por lipídios e proteínas, embora haja também uma pequena quantidade de carboidratos que faz parte das glicoproteínas e glicolipídios presentes nessas estruturas. Esses componentes nas membranas se organizam numa estrutura denominada de mosaico fluido. A fluidez das membranas é afetada pela temperatura, composição de ácidos graxos e conteúdo em esterol. O mosaico da membrana é fluido porque as interações entre os lipídios, e as interações entre os lipídios e as proteínas não são covalentes, permitindo que as moléculas individuais dos lipídios e das proteínas, movam-se lateralmente no plano da membrana (NELSON & COX, 2004). As proteínas de membranas “flutuam nesse mar de lipídios” mantidas apenas por interações hidrofóbicas com as cadeias não polares dos aminoácidos.

As proteínas de membranas exercem numerosas funções, podendo atuar como enzimas ou canais e são responsáveis pelo movimento de íons e compostos através da membrana, bem como pela percepção de sinais químicos do ambiente em que a célula se encontra (LODISH, 2002; MIKAMI & MURATA, 2003). Os carboidratos são cruciais no processo de reconhecimento de moléculas específicas pelas membranas (LODISH, 2002).

O componente lipídico, que consiste de milhões de moléculas arranjadas em duas camadas intimamente sobrepostas, constitui-se numa barreira efetiva à rápida passagem de solutos polares, tais como a água e os íons (SOMERVILLE *et al.*, 2000; PURVES *et al.*, 2002). Os lipídios presentes nos vegetais superiores pertencem essencialmente a duas categorias: os lipídios neutros e os lipídios polares. Os primeiros estão presentes nos órgãos de reservas das plantas e encontram-se, principalmente, sob a forma de triacilglicerol e, em menores proporções, nas formas de diacilglicerol e monoacilglicerol. Os lipídios polares, também denominados de lipídios estruturais, constituem, juntamente com as proteínas e os carboidratos, a estrutura das membranas celulares (TREMOLIÈRES *et al.*, 1982). Nos sistemas vegetais, quase todos os lipídios estruturais são derivados do glicerol e são classificados como glicerofosfolipídios ou simplesmente fosfolipídios. Os esfingolipídios que, em membranas de tecidos animais, se apresentam em grandes quantidades, nos vegetais perfazem apenas 5% dos lipídios totais, embora na plasmalema possam atingir cerca de 26% dos lipídios presentes (SOMERVILLE *et al.*, 2000).

Nos fosfolipídios, que são moléculas que apresentam características hidrofílicas e hidrofóbicas, são comumente encontrados radicais dos ácidos graxos palmítico (16:0), esteárico (18:0), oléico (18:1<sup>Δ9</sup>), linoléico (18:2<sup>Δ9,12</sup>) e α-linolênico (18:3<sup>Δ9,12,15</sup>) esterificando duas das três hidroxilas do glicerol (SOMERVILLE *et al.*, 2000). Esses ácidos graxos são responsáveis pelo caráter hidrofóbico dessas moléculas e formam as chamadas “caudas hidrofóbicas” dos fosfolipídios. Por outro lado, o caráter hidrofílico dos fosfolipídios é conferido por um grupo polar, chamado de cabeça polar, que é esterificado à terceira hidroxila do glicerol através de uma ligação fosfodiéster e que serve de base para a denominação dos fosfolipídios. Fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol e fosfatidilserina são os fosfolipídeos mais importantes das membranas celulares, sendo, portanto, os grandes responsáveis pela permeabilidade seletiva dessas



estruturas biológicas (TREMOLIÈRES *et al.*, 1982).

Quando a cabeça polar dos fosfolipídios é formada por um ou mais grupos glicídicos, como é o caso dos lipídios presentes nas membranas dos cloroplastos, eles são denominados de glicolipídios. Portanto, contrariamente às membranas de células animais ou as de células vegetais de tecidos não clorofilados, as de folhas verdes se caracterizam por possuírem um alto teor de glicolipídios, especificamente os galactolipídios, que são estruturas formadas, principalmente, de galactose, glicerol e ácidos graxos insaturados. De acordo com Somerville *et al.* (2000), os principais galactolipídios são o monogalactosildiacilglicerol (MGDG), o digalactosildiacilglicerol (DGDG) e o sulfoquinovosildiacilglicerol (SQDG), um sulfolipídio derivado do MGDG. Os galactolipídios e o fosfatilglicerol são sintetizados parcial ou inteiramente dentro dos cloroplastos e, dessa forma, são denominados de lipídios plastidiais. O fosfatidilglicerol é considerado como o único fosfolipídio plastidial existente nas células vegetais (BISHOP *et al.*, 1979; HUBAC *et al.*, 1989). Os galactolipídios possuem ácidos graxos com elevados graus de insaturação, predominando os ácidos linoléico e  $\alpha$ -linolênico, sendo que nos cloroplastos de algumas plantas o  $\alpha$ -linolênico representa cerca de 90% de todos os ácidos graxos encontrados nos glicolipídios (SOMERVILLE *et al.*, 2000). Ainda de acordo com esses autores, em algumas plantas como a ervilha, os glicolipídios contêm exclusivamente ácidos graxos poliinsaturados do tipo C<sub>18</sub> e são referidas como plantas “18:3”, enquanto em outras, como o espinafre, os ácidos graxos insaturados são do tipo C<sub>16</sub>, e são referidas como plantas “16:3”. Os galactolipídios, principalmente o MGDG e o DGDG, estão presentes nas folhas dos vegetais superiores em grandes proporções. Em relação ao teor total dos lipídios, em folhas de algodão, os galactolipídios representam cerca de 70% (PHAM THI, 1984) e em folhas de feijão, cerca de 80% (MONTEIRO DE PAULA *et al.*, 1990).

### **2.9.2. Efeitos das injúrias causadas pelo frio às membranas**

Todas as membranas biológicas têm estruturas similares, porém membranas de diferentes células ou organelas podem diferir em sua composição lipídica (PURVES *et al.*, 2002). Além disso, cada classe de lipídio tem uma distinta composição de ácidos graxos, e as células, tanto de animais como de microorganismos (NELSON & COX, 2004), ou de vegetais (SOMERVILLE *et al.*, 2000) regulam, sob várias condições de crescimento, a composição de seus ácidos graxos. Para manter o mesmo nível de fluidez de suas membranas, bactérias quando cultivadas em condições de baixas temperaturas, sintetizam mais ácidos graxos insaturados do que saturados (NELSON & COX, 2004). Em plantas, acredita-se que o evento primário na injúria ao frio seja uma mudança de fase da membrana, passando do estado de cristal líquido para o de gel (SOMERVILLE *et al.*, 2000), fato que reduz sua fluidez. Nas plantas resistentes ao frio, a maior proporção de ácidos graxos insaturados, em relação aos saturados, nos lipídios de membrana, impede essa mudança de fase, fato que torna essas plantas mais resistentes ao estresse ambiental provocado por baixas temperaturas. Portanto, a mobilidade das moléculas na bicamada lipídica é controlada, principalmente, pelo grau de insaturação e comprimento das cadeias hidrocarbonadas dos ácidos graxos que formam os fosfolipídios, sendo que qualquer redução no grau de insaturação significa um aumento na rigidez das membranas celulares (MONTEIRO DE PAULA *et al.*, 1990).

### **2.9.3. Efeito dos estresses hídrico e salino nas membranas**

A composição dos lipídios plastidiais e as propriedades químicas e físicas das membranas celulares são bastante afetadas pelo déficit hídrico. Em cloroplastos de trigo, cevada e amendoim, estudos mostram que o estresse hídrico reduz os teores de MGDG e DGDG dos lipídios plastidiais (CHETAL *et al.*, 1981; LAURIANO *et al.*, 2000). Em

feijão-de-corda, a redução nos teores desses dois glicolipídios foi acompanhada por uma grande redução nos teores de ácido  $\alpha$ -linolênico e aumento nos teores de ácidos graxos saturados (MONTEIRO DE PAULA *et al.*, 1990). Em cajueiro, Oliveira (2001) observou que o déficit hídrico causou uma redução nos teores do ácido graxo 18:3 <sup>$\Delta$ 9,12,15</sup> e um aumento nos teores do ácido graxo 16:0, sendo, em paralelo, observada uma redução nos teores de MGDG e DGDG. Essa alteração na composição lipídica, correlacionou-se com a perda de integridade das membranas celulares, estimada pelo vazamento de eletrólitos, que foi maior nas plantas estressadas.

A salinidade provoca alterações estruturais e funcionais nas membranas que podem comprometer o funcionamento normal da célula. Em plantas, mudanças na composição da bicamada lipídica e, conseqüentemente, na permeabilidade das membranas causadas pelo estresse salino, foram observadas por diversos autores (WU *et al.*, 1998; KERKEB *et al.*, 2001; MANSOUR *et al.*, 2002). Tais alterações na bicamada lipídica, modificam a fluidez da membrana, inibindo a atividade da H<sup>+</sup>-ATPase e aumentando a entrada passiva na célula de íons potencialmente tóxicos, tais como Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (MANSOUR & SALAMA, 2004).

Em diversas espécies vegetais, o grau de saturação dos ácidos graxos componentes das membranas, tem sido associado com a tolerância das plantas ao excesso de sais. Em raízes de plantas de trigo (MANSOUR *et al.*, 1994) e de soja (SURJUS & DURAND, 1996), sob condições de estresse salino, foram observados aumentos no grau de saturação dos ácidos graxos componentes dos fosfolipídios da membrana plasmática. Essa resposta à salinidade pode contribuir para reduzir a fluidez da membrana plasmática, tornando-a mais rígida e menos permeável aos íons, além de poder afetar a atividade das ATPases. Por outro lado, em raízes de plantas de feijão, Cachorro *et al.* (1993), observaram que a salinidade aumentava a proporção de ácidos graxos insaturados em relação aos saturados e,

de acordo com esses autores, esse aumento no grau de insaturação tornaria as membranas menos compactas e mais fluidas, podendo representar uma resposta de aclimação ao estresse salino. Portanto, a permeabilidade da membrana plasmática, que é reflexo da composição dos lipídios de membrana e das interações entre os lipídios e as proteínas (MANSOUR & SALAMA, 2004), exerce um importante papel na tolerância aos sais. É importante destacar, que mudanças nas atividades das bombas de prótons podem afetar a formação de gradientes eletroquímicos sobre as membranas, os quais são essenciais para absorção, exclusão e compartimentalização dos íons. Tais alterações podem ocorrer a nível da expressão gênica e envolve mecanismos de sinalização celular (TESTER & DAVENPORT, 2003; REDDY & REDDY, 2004).

#### **2.9.4. Efeito do estresse oxidativo nas membranas**

O ataque de algumas espécies reativas que retiram um átomo de hidrogênio do grupo metileno das cadeias dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas, inicia um processo denominado de peroxidação lipídica (HALLIWELL & GUITTERIDGE, 2002). O dano nas membranas, causado pela peroxidação dos lipídios, pode ser iniciado por espécies reativas de oxigênio (ROS), radicais de lipídios ou pela ação de lipoxigenases. Os radicais de carbono, formados dessa maneira, podem reagir espontaneamente com o oxigênio, formando radicais peroxila que propagam a cadeia de peroxidação lipídica, retirando outros átomos de hidrogênio, formando os hidroperóxidos e novos radicais de carbono (JIALAL & GRUNDY, 1992). O estresse salino, da mesma forma que outros estresses abióticos, induz um estresse oxidativo secundário, fato que agrava mais ainda o problema do excesso de íons e intensifica as alterações fisiológicas e bioquímicas prejudiciais ao metabolismo vegetal (MANSOUR & SALAMA, 2004).

Os elétrons originários das cadeias transportadoras de elétrons das mitocôndrias e cloroplastos podem reagir com o oxigênio molecular ( $O_2$ ), durante o metabolismo aeróbico normal produzindo ROS, tais como o superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Tais espécies são citotóxicas e em níveis relativamente elevados podem comprometer o metabolismo normal, pela oxidação de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (FRIDOVICH, 1986). Portanto, quando essas ROS não são adequadamente removidas, ocorrem danos fotooxidativos nos cloroplastos, o que provoca danos na molécula de clorofila, peroxidação dos lipídios e, eventualmente, morte da célula.

Durante o processo fotossintético, os cloroplastos, dada às elevadas concentrações internas de  $O_2$ , são especialmente propensos a gerar ROS. O radical  $O_2^{\bullet-}$ , ao ser produzido, é rapidamente convertido em  $H_2O_2$  e  $O_2$ , o que pode ocorrer de forma não enzimática ou enzimática, pela dismutase do superóxido (SOD). Essa primeira linha de defesa, entretanto, não é suficiente para evitar os danos no metabolismo celular, visto que o  $H_2O_2$  é uma molécula extremamente reativa, sendo um poderoso inibidor do ciclo de Calvin, através da oxidação de seus componentes (KAISER, 1976).

A peroxidação lipídica pode ser inibida por sistemas antioxidativos não enzimáticos e enzimáticos, os quais interrompem a cadeia de peroxidação, reagindo com os radicais peroxila ou alcoxila. O sistema antioxidativo não enzimático é formado por moléculas de baixa massa molecular, tais como a glutathiona reduzida, o ácido ascórbico, o  $\alpha$ -tocoferol e os carotenóides (McKERSIE & LESHEM, 1994). Entre as enzimas do sistema antioxidativo, destacam-se as peroxidases (POX), as catalases (CAT), as dismutases do superóxido (SOD) e as enzimas do ciclo ascorbato-glutathiona (SHALATA *et al.*, 2001). A eliminação do peróxido de hidrogênio produzido pela dismutação do  $O_2^{\bullet-}$  pela SOD pode ocorrer pela ação da CAT, mas desde que essa enzima é ausente no cloroplasto, outras peroxidases ligadas ao ciclo ascorbato-glutathiona podem eliminar essa

ROS (SHALATA *et al.*, 2001). Como parte do mecanismo de defesa das plantas contra o estresse oxidativo secundário, gerado pelo estresse salino, foram observados, por diversos autores e em diferentes espécies vegetais, aumento nas atividades das enzimas SOD, CAT e APX (peroxidase ascorbato-específica) (FADZILLA *et al.*, 1997; AZEVEDO NETO *et al.*, 2005a).

### **2.9.5. Estimativa dos danos de membranas e peroxidação dos lipídios**

A avaliação da integridade das membranas por vazamento de eletrólitos tem sido empregada como um valioso critério para a identificação de cultivares resistentes aos estresses, em diversas espécies de plantas (LUTTS *et al.*, 1996a; CAMPOS *et al.*, 2003; FAN & SOKORAI, 2005). O dano de membrana é avaliado por medições da condutividade elétrica da solução contendo discos de tecidos vegetais de interesse, os quais são deixados em água destilada e incubados em duas situações: inicialmente, por 24 h a 25°C e, em seguida, por 1 hora a 70°C, quando se tem o máximo de perda de eletrólitos (BLUM & EBERCOM, 1981; REDMANN *et al.*, 1986). Os danos nas membranas podem ser quantificados e expressos em percentagem, considerando-se como 100% o dano causado pelo tratamento de temperatura a 70°C e levando-se em conta os correspondentes valores das condutividades elétricas nas duas situações. A peroxidação lipídica dos sistemas biológicos e os danos nas membranas celulares podem ser quantificados pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com o malondialdeído (MDA). Esse aldeído de cadeia curta, que é formado pela decomposição dos hidroperóxidos lipídicos, pode ter sua concentração estimada pela formação do complexo TBA-MDA (SELOTE *et al.*, 2004; AZEVEDO NETO *et al.*, 2005b).

## 2.10. O Cálcio e a Salinidade

O cálcio exerce diversas funções nas plantas, localizando-se em altas concentrações na lamela média das paredes celulares e na parte externa da membrana plasmática, formando pectatos e garantindo a estabilidade das membranas (MARCHSNER, 1995; MENGEL & KIRKBY, 2001; HIRSCHI, 2004). Esse íon também exerce importante papel nos processos de expansão e divisão celulares, indispensáveis para o crescimento das plantas (TAIZ & ZEIGER, 2004). Ao contrário do que acontece nas paredes e membranas celulares, a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no citoplasma é baixa, especialmente no citosol (MARSCHNER, 1995; MENGEL & KIRKBY, 2001; TESTER & DAVENPORT, 2003). Pequenas flutuações na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico, alteram drasticamente as atividades de muitas enzimas, fazendo do cálcio um importante mensageiro secundário na transdução de sinais. No citoplasma, o cálcio atua como um transdutor de sinais, agindo como mensageiro secundário estimulando diversas enzimas e proteínas, entre elas as calmodulinas que são necessárias para a atividade enzimática das fosfolipases e ATPases de membranas (WHITE & BROADLEY, 2003).

A baixa concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no citosol, quando comparada com aquelas do vacúolo ou de outras organelas, é garantida pela ação das ATPases transportadoras de cálcio, localizadas na plasmalema, que retiram o  $\text{Ca}^{2+}$  do citosol, do antiporte  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  na membrana do vacúolo e as  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPases nas membranas de outras organelas. Essas enzimas, que são ativadas pelas calmodulinas quando ocorre um aumento na concentração de cálcio no citosol, bombeiam o cálcio de volta aos seus reservatórios, baixando conseqüentemente sua concentração (ANIL & RAO, 2001; WHITE & BROADLEY, 2003). Por outro lado, os canais seletivos de  $\text{Ca}^{2+}$  localizados na membrana plasmática e tonoplasto, e que são ativados por auxina (SANDERS, *et al.*, 1999; TAIZ & ZEIGER, 2004), são também considerados de extrema importância na regulação da concentração de

$\text{Ca}^{2+}$  livre no citosol (FURLANI, 2004). Tais canais, quando ativados por auxina, promovem um aumento temporário na concentração de cálcio, o qual estimula a síntese de precursores da parede celular (BRUMMELL & HALL, 1987).

Em condições de estresse salino, o  $\text{Ca}^{2+}$  é substituído por outros cátions como o  $\text{K}^+$ , o  $\text{Na}^+$  ou o  $\text{H}^+$ , provocando sintomas típicos de deficiência de cálcio, tais como, danos nas membranas e desintegração das paredes celulares, resultando no colapso do tecido afetado (FURLANI, 2004). A substituição do cálcio pelo sódio aumenta o efluxo de  $\text{Ca}^{2+}$  e o influxo de  $\text{Na}^+$ , causando uma despolarização da membrana (RENGEL, 1992, KORDYUM, 2003) e acarretando danos metabólicos e nutricionais.

O emprego do cálcio em áreas onde a salinidade está caracterizada tem sido apontado como minorador dos efeitos deletérios da salinidade sobre o crescimento das glicófitas. Acredita-se que a aplicação de  $\text{Ca}^{2+}$  no ambiente radicular possa minimizar as injúrias induzidas pelo  $\text{Na}^+$  e/ou mesmo corrigir o desbalanceamento nutricional induzido pelo estresse com  $\text{NaCl}$ , eliminando principalmente as deficiências de  $\text{K}^+$  e de  $\text{Ca}^{2+}$  e estabilizando o sistema de membranas (RENGEL, 1992; GRATAN & GRIEVE, 1999; KAYA *et al.*, 2002). O cálcio suplementar ao meio salino, reduz a absorção de sódio e mantém os níveis de potássio e de outros metabólitos fosfatados no tecido radicular, reduzindo as perdas de fósforo (COLMER *et al.*, 1994; SILVA *et al.*, 2003). O cálcio, além de reduzir a absorção de íons potencialmente tóxicos, promove o acúmulo de solutos orgânicos (LÄUCHLI *et al.*, 1994; COLMER *et al.*, 1996; GIRIJA *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2003), os quais podem estabelecer o equilíbrio osmótico do citoplasma.

Apesar dos comprovados efeitos benéficos do cálcio como suplemento ao ambiente radicular, com a finalidade de minorar os efeitos da salinidade, outros pesquisadores não observaram o mesmo, e o cálcio quando aplicado na forma de  $\text{CaCl}_2$  não reverteu os efeitos danosos do  $\text{NaCl}$  sobre o crescimento das plantas (CAINES & SHENNAN, 1999; GIRIJA *et*



*al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2003). A adição de cálcio ao ambiente radicular das plantas de *Vigna unguiculata*, estressadas com NaCl e cultivadas durante a estação úmida, provocou elevações nos teores de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> no limbo foliar, em relação ao tratamento salino, demonstrando que os sais de cálcio não minoram os efeitos da salinidade no crescimento e produção das plantas (LACERDA, 1995). Entretanto, durante a estação seca, em experimento semelhante, o mesmo autor observou que o Ca<sup>2+</sup> reduziu o teor de Na<sup>+</sup> no limbo foliar e minorou os efeitos deletérios da salinidade na produção de frutos. É possível, portanto, que as discrepâncias observadas com relação ao emprego do cálcio suplementado ao meio salino, devam-se não apenas às diferenças entre as espécies e/ou cultivares utilizadas, mas também às condições ambientais nas quais as plantas são cultivadas. Além disso, como observado por Reid & Smith (2000), existe uma concentração de cálcio acima da qual nenhum efeito benéfico é observado no crescimento de plantas estressadas. É oportuno esclarecer que esses autores trabalharam com o cálcio na forma do sal CaCl<sub>2</sub>, o qual em concentrações elevadas, aumenta significativamente a salinidade do meio, provocando o acúmulo de Cl<sup>-</sup> nos tecidos. Outro fator que deve ser considerado é o ânion associado ao Ca<sup>2+</sup>, pois como observado por Zekri & Parsons (1990), os efeitos benéficos do cálcio suplementar foram maiores, quando o mesmo foi aplicado na forma de CaSO<sub>4</sub>, do que como CaCl<sub>2</sub>. Por outro lado, Silva *et al.* (2003), demonstraram que a adição de CaCl<sub>2</sub> (5,0 e 10 mM) ao ambiente radicular de plantas de feijão-de-corda estressadas com NaCl (75 mM), embora tenha provocado redução no teor de Na<sup>+</sup>, especialmente nas raízes, não minorou os efeitos do estresse nas relações hídricas e no crescimento das plantas. Efeitos benéficos do Ca<sup>2+</sup> suplementado ao meio salino, foram verificados em concentrações de CaCl<sub>2</sub> menores do que 5,0 mM (COLMER *et al.*, 1996; KAYA *et al.*, 2002).

## 2.11. Nutrição Mineral e a Salinidade

O estudo da nutrição mineral compreende o conhecimento de todas as etapas envolvidas na aquisição, nos transportes à curta e longa distância e na assimilação dos elementos minerais essenciais, bem como sobre a ação benéfica ou tóxica de outros elementos eventualmente absorvidos pelas plantas. Cerca de 60% dos solos cultivados no mundo apresentam deficiências e toxicidade de nutrientes minerais, com sérios problemas para o crescimento das plantas (CAKMAK, 2002). Em muitos países em desenvolvimento, com elevada demanda por alimentos, os produtores utilizam extensivamente as terras existentes, sem o uso adequado de fertilizantes minerais e sem a aplicação das técnicas apropriadas ao manejo de nutrientes. Isso leva a um declínio da produtividade das plantas, devido à redução dos nutrientes do solo (GRUHN *et al.*, 2000).

A nutrição mineral pode ser afetada pela salinidade por diversas formas. O excesso de sais pode aumentar ou diminuir a disponibilidade dos nutrientes nos solos; pode influenciar nos processos de transporte à curta e longa distâncias, como também, pode diminuir ou mesmo aumentar a absorção e assimilação de nutrientes pelas raízes das plantas (MARSCHNER, 1995; MENGEL & KIRKBY, 2001). É óbvio, portanto, que os efeitos da salinidade na nutrição mineral das plantas, dependem dos tipos de sais predominantes no meio de cultivo e podem levar à deficiência de nutrientes essenciais e ao excesso de nutrientes tóxicos. Essas mudanças sob estresse de sal são acompanhadas por perda de integridade estrutural e funcional das membranas celulares, redução da atividade de várias enzimas vitais e inibição da capacidade de aquisição de nutrientes pelas raízes (ZHU, 2001).

O efeito primário da salinidade sobre a nutrição mineral pode ser observado no processo de absorção iônica. Assim, o excesso dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  no solo e, em algumas vezes do  $\text{SO}_4^{2-}$ , podem acarretar um desequilíbrio nutricional nas plantas (SAIRAM &

TYAGI, 2004). Em geral, o excesso de  $\text{Na}^+$  pode induzir à deficiência de  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  e a absorção de  $\text{NO}_3^-$  pode ser inibida por  $\text{Cl}^-$  (SHANNON, 1992).

As reduções nos teores de  $\text{K}^+$  nas folhas podem ser resultantes, em grande parte, da menor absorção de  $\text{K}^+$  causada pela competição dos íons  $\text{Na}^+$  pelos mesmos sítios no sistema de absorção na membrana plasmática das células radiculares (MARSCHNER, 1995). Como se sabe, o  $\text{K}^+$  exerce importante papel na regulação do potencial osmótico das células das plantas e é também requerido para a ativação de muitas enzimas da respiração e da fotossíntese (BHANDAL & MALIK, 1988). Dessa forma, a redução no crescimento das plantas estressadas com NaCl pode estar associada à redução no teor de  $\text{K}^+$  nas folhas (BERNSTEIN *et al.*, 1995; LACERDA *et al.*, 2004). Em muitos casos, uma elevada razão  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  no tecido é usada como um índice para estimar a toxidez de  $\text{Na}^+$ , devido ao fato de que o  $\text{Na}^+$  inibe a atividade de enzimas dependentes de  $\text{K}^+$  (JESCHKE, 1984) e da síntese protéica (TAIZ & ZEIGER, 2004). A relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  no tecido da planta é um indicador confiável da severidade do estresse por salinidade ou para selecionar genótipos de plantas, para alta tolerância ao  $\text{Na}^+$  (CAKMAK, 2004).

De acordo com Serrano & Rodriguez-Navarro (2001), durante o estresse salino ocorre um decréscimo na absorção de  $\text{K}^+$  e um aumento no influxo de  $\text{Na}^+$ . A absorção de  $\text{Na}^+$ , através da plasmalema, ocorre principalmente por difusão facilitada através dos canais de baixa afinidade, que também permitem a passagem de outras espécies de cátions (FURLANI, 2004). Acredita-se, portanto, que em condições salinas, a reduzida atividade ou expressão de canais não-seletivos poderia aumentar a tolerância, reduzindo o acúmulo de  $\text{Na}^+$ . A maior capacidade de aquisição de  $\text{K}^+$  em condições não salinas também pode ser considerada uma característica favorável para a aclimação de genótipos às condições salinas (OLIVEIRA, 2002; LACERDA *et al.*, 2003b).

A salinidade por excesso de sais de  $\text{Na}^+$  não somente reduz a disponibilidade de  $\text{Ca}^{2+}$ , como também reduz o transporte e a mobilização desse nutriente para as regiões de crescimento, afetando os crescimentos vegetativo e reprodutivo das plantas. A redução no teor de  $\text{Ca}^{2+}$  deve-se, pelo menos em parte, à presença de  $\text{Na}^+$  em altas concentrações, o qual parece deslocar o  $\text{Ca}^{2+}$  dos sítios de absorção na superfície externa da plasmalema das células das raízes (CRAMER *et al.*, 1985), afetando diretamente a sua absorção e o seu transporte para a parte aérea.

A salinidade por NaCl reduziu as concentração de  $\text{Mg}^{2+}$  em folhas de citrus (RUIZ *et al.*, 1997), porém os teores de  $\text{Mg}^{2+}$  em goiabeira, não foram afetados pela salinidade no caule e nas raízes, havendo, entretanto, redução nas folhas (FERREIRA *et al.*, 2001). Em outras espécies, também, não têm sido observadas correlações entre aumentos na salinidade do meio de cultivo com a diminuição dos teores de  $\text{Mg}^{2+}$  em plantas (GRATAN & GRIEVE, 1999). Resultados obtidos com diferentes espécies mostram que a salinidade pode reduzir ou mesmo aumentar, ou simplesmente, não alterar os teores de N e P nos tecidos foliares (PALANIAPPAN & YERRISWAMY, 1997). O tipo de resposta parece depender da espécie, das concentrações desses elementos na solução nutritiva, dos tipos de sais presentes no meio e das fontes utilizadas na adubação (MARSCHNER, 1995). Por outro lado, a redução nos teores de S, parece ser uma resposta mais comum em plantas expostas ao estresse salino (PALANIAPPAN & YERRISWAMY, 1997) e pode ser decorrente da inibição do processo de absorção.

Os micronutrientes são requeridos em quantidades extremamente pequenas pelas plantas. Entre os micronutrientes, o cloro ( $\text{Cl}^-$ ) é o mais discutido nos trabalhos com salinidade, por ser o principal ânion que acompanha o sódio nos solos salinos. A salinidade estimula, como também inibe, a absorção de alguns micronutrientes. A absorção de Fe, Mn, Zn e Cu, geralmente aumentam em plantas sob estresse salino (ALAM, 1994). O

detrimental efeito do estresse salino na nutrição de feijão, decorre das elevadas concentrações de Cl e Mn na raiz; Cl, Fe e Mn nas folhas e Cl e Fe nos frutos (CARBONELL-BARRACHINA *et al.*, 1998). A concentração de Cl<sup>-</sup> em plantas cultivadas em condições de salinidade aumenta bastante, alcançando níveis citotóxicos (YANG *et al.*, 1990, WHITE & BROADLEY, 2001). Elevada concentração de Cl<sup>-</sup>, reduz a absorção de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em plantas (GRATTAN & GRIEVE, 1999), e altos níveis de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> inibem a absorção de fosfato (LAMAZE *et al.*, 1987). A salinidade induz aumentos nas concentrações de Cl<sup>-</sup> e Na<sup>+</sup> e diminuição de Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> e Mg<sup>2+</sup> em plantas (ZEKRI, 1993), por exemplo, em trigo (POUSTINE & SIOSEMARDEH, 2004); feijão (BAYUELO-JIMÉNES *et al.*, 2003), citrus (RUIZ *et al.*, 1997) e soja (LUO *et al.*, 2005).

Os micronutrientes diferem enormemente quanto à sua distribuição nas plantas e na sua capacidade de remobilização dos tecidos fontes para os tecidos drenos (GRUSAK *et al.*, 1999). Por outro lado, em solos salinos a solubilidade de Fe, Cu, Zn e Mn é particularmente baixa, e plantas crescidas nesses solos podem apresentar deficiências nesses elementos (PAGE *et al.*, 1990). Deficiência e toxicidade desses íons inorgânicos dependem, também, do tecido da planta, do nível e composição da salinidade, da concentração desses íons, e do tempo de exposição ao estresse (GRATTAN & GRIEVE, 1999). Foi observada deficiência de Mn induzida por salinidade em cevada (CRAMER & NOWAK, 1992), feijão (DOERING *et al.*, 1984) e milho (RAHMAN *et al.*, 1993). O zinco quando acumulado em excesso nos tecidos das plantas, causa alterações na fotossíntese, na biossíntese de clorofila e na integridade de membranas (DE VOS *et al.*, 1991). O excesso de Zn acarreta efeitos negativos na nutrição mineral de plantas (CHAOUI *et al.*, 1997). Pesquisas demonstram que a salinidade aumentou a concentração de Zn em tecidos de feijão (DOERING *et al.*, 1984), citrus (RUIZ *et al.*, 1997), milho (RAHMAN *et al.*, 1993) e tomate (KNIGHT *et al.*, 1992) e diminuiu em folhas de

pepino (AL-HARBI, 1995). A salinidade também aumentou a concentração de Fe em ervilha (DAHIYA & SINGH, 1976) e sorgo (MAAS *et al.*, 1972), diminuindo em cevada (HASSAN *et al.*, 1970), enquanto que o acúmulo de Cu decresceu em folhas de milho (RAHMAN *et al.*, 1993).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local do Experimento, Material Vegetal e Tratamentos

Como material vegetal, foi utilizado o feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp], cultivar Pitiúba, sendo o experimento conduzido em casa de vegetação do setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizada no *Campus* do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil, no período de maio a junho de 2003. A temperatura média no interior da casa de vegetação foi de  $32,5 \pm 4,5^{\circ}\text{C}$ , durante o dia, e de  $25,5 \pm 4,5^{\circ}\text{C}$ , durante a noite, registrando-se variações na umidade relativa do ar entre 40 e 80%. As análises químicas e bioquímicas foram realizadas nos laboratórios dos Departamentos de Bioquímica e Biologia Molecular, de Ciência do Solo e do Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da UFC.

Antes da instalação do experimento, as sementes foram selecionadas quanto ao tamanho e forma, sendo esterilizadas superficialmente com uma solução de hipoclorito de sódio a 2%, durante 10 min. Em seguida, foram lavadas com água destilada e colocadas para germinar em copos de plástico de 250 mL, contendo vermiculita de textura média. As sementes foram irrigadas diariamente com solução nutritiva de Hoagland diluída  $\frac{1}{4}$ . No 5º dia após a semeadura, as plântulas foram selecionadas quanto à uniformidade de tamanho e vigor e transplantadas para bandejas de plásticos em meio hidropônico, contendo 10 litros de solução nutritiva de Hoagland  $\frac{1}{2}$ . As plântulas permaneceram nessas bandejas por três dias para uma pré-aclimatação, quando então efetuou-se o transplante definitivo (9º dia após a semeadura) para vasos (uma plântula/vaso) contendo três litros de solução nutritiva de Hoagland  $\frac{1}{2}$ .

No mesmo dia do transplântio, foram iniciados os tratamentos pela adição a um grupo de plantas de  $\text{CaCl}_2$  à solução nutritiva e de  $\text{CaSO}_4$ , a um outro grupo, sendo ambos os sais de cálcio empregados nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM. Decorridos 24 h da adição dos sais de cálcio, iniciou-se a adição de NaCl de modo a resultar na concentração final de 75 mM (tratamentos salinos suplementados com cálcio), na base de 25 mM a cada 48 h. Nas soluções nutritivas dos tratamentos salinos suplementados com sais de cálcio, utilizou-se o  $\text{NaNO}_3$  como fonte de nitrato em substituição ao  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ . Como controle do experimento, um grupo de plantas permaneceu durante todo o experimento apenas em solução de Hoagland  $\frac{1}{2}$ . As soluções de cultivo foram aeradas constantemente e seus níveis mantidos pela adição diária de água destilada, sendo efetuadas trocas a cada cinco dias. O pH foi monitorado diariamente e, rigorosamente ajustado para 5,5, quando necessário, utilizando-se para isso soluções de HCl ou NaOH a 0,1 N. Tal controle do pH se fez necessário, principalmente, para garantir a solubilização do  $\text{CaSO}_4$  empregado no meio de cultivo das plantas, evitando sua precipitação quando em concentrações acima de 5,0 mM.

### **3.2. Delineamento Experimental**

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, obedecendo a um arranjo fatorial ( $2 \times 6 + 1$ ), correspondendo a seis tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaCl}_2$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM, seis tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaSO}_4$  nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM e mais um tratamento controle (cultivo em solução nutritiva de Hoagland  $\frac{1}{2}$ ). O experimento foi conduzido com cinco repetições, perfazendo um total de treze tratamentos e sessenta e cinco parcelas. Os efeitos dos tratamentos foram analisados pelas mdias  $\pm$  o desvio padrão.



### 3.3. Coleta das Plantas e Análise de Crescimento

As plantas foram coletadas vinte e quatro dias após o início da adição de NaCl, sendo as mesmas separadas em folhas, caules + pecíolos e raízes. A área foliar foi determinada utilizando-se um medidor de superfície (*LI – 3100, Area Meter, Li-Cor., Inc., Lincoln, Nebraska, USA*). O material para as determinações de danos nas membranas e análises bioquímicas (3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup>, 5<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> folhas trifolioladas, a partir da base, e extremidades de raízes de, aproximadamente, 1 cm), após pesagem para obtenção da massa fresca (MF), foi utilizado logo após a coleta ou então congelado em nitrogênio líquido, liofilizado e pesado. O restante do material vegetal foi pesado separadamente e depois colocado para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60°C, por 72 h, para obtenção da matéria seca (MS), sendo esse material utilizado nas determinações dos elementos minerais. A massa específica foliar ( $\text{mg H}_2\text{O.cm}^{-2}$ ) e a suculência foliar ( $\text{mg MS.cm}^{-2}$ ) foram calculadas conforme Mantovani (1999).

### 3.4. Relações Hídricas, Trocas Gasosas e Teores Relativos de Clorofila

No mesmo dia da coleta (antemanhã), utilizando-se uma bomba de pressão (*Soilmoisture Equipment Corp., Santa Bárbara, CA, USA*), mediu-se o potencial hídrico foliar ( $\Psi_{\text{wf}}$ ) no folíolo central da 4<sup>a</sup> folha trifoliolada de cada planta. Em seguida, esse mesmo folíolo foi congelado em nitrogênio líquido e armazenado a - 25°C para a determinação do potencial osmótico.

O material para determinação do potencial osmótico (folíolo central da 4<sup>a</sup> folha trifoliolada e extremidades de raízes) foi degelado, macerado separadamente em almofariz e, em seguida, envolvido numa tela de náilon e prensado com o auxílio de uma seringa descartável para obtenção do suco celular. O líquido obtido foi centrifugado a 12.000 x g e 10  $\mu\text{L}$  de cada sobrenadante foram utilizados para a determinação dos

potenciais osmóticos foliar ( $\Psi_{sf}$ ) e radicular ( $\Psi_{sr}$ ), o que foi feito com o uso de um microosmômetro (*VAPRO, 5520, Logan Utah, USA*). Os potenciais hídrico e osmótico foram expressos em MPa.

Na primeira folha mais jovem completamente expandida de cada planta, aos 20 dias após o início da adição de NaCl, foram medidos a fotossíntese líquida ( $P_n$ ) e a taxa de transpiração ( $E$ ), usando-se um analisador de gás no infravermelho (IRGA) (*LCA-2, ADC, Hoddesdon, UK*), em sistema aberto, com fluxo de ar de 200 mL.min<sup>-1</sup>. As medições ocorreram sempre entre 10:00 e 12:00 h, em condições de umidade relativa do ar, temperatura e radiação ambientais.

Aos 23 dias após o início da adição de NaCl foram feitas medidas de clorofila na 5<sup>a</sup> folha trifoliolada, a partir da base, sendo as leituras realizadas entre 10:00 e 12:00 h. Para isso foi utilizado um medidor de clorofila portátil (*SPAD-502, Minota Co., Ltd. Osaka, Japan*), sendo as medidas feitas por método não destrutivo. Para cada planta foi feita uma leitura e os resultados foram expressos em unidades arbitrárias dadas pelo próprio aparelho.

### **3.5. Determinação dos Elementos Minerais na Planta**

Os elementos minerais Na, K, Ca, Mg, P, S, Fe, Cu, Zn e Mn foram determinados pela digestão nítrico-perclórica (MALAVOLTA *et al.*, 1997). O extrato foi preparado a partir de amostras de 0,5 g de tecido vegetal (folhas, caules + pecíolos e raízes) seco na estufa, as quais foram colocadas em tubos de digestão. Em seguida, foram adicionados 6,0 mL da mistura de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) + ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) na proporção de 2:1 (v/v) deixando-se o material em repouso durante uma noite. Decorrido esse repouso, os tubos foram colocados no bloco digestor e aquecidos gradativamente até 120°C permanecendo nessa temperatura até o total desprendimento de vapores castanhos.

Observados esses vapores, aumentou-se a temperatura para 250°C, mantendo-a constante até a obtenção de vapores brancos e o extrato apresentar-se incolor. Após atingir a temperatura ambiente (25°C), o homogenato foi transferido para balão volumétrico, sendo o volume completado para 50 mL com água destilada. Os extratos foram usados para a determinação dos elementos minerais.

Os teores de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. No caso das determinações de Ca e Mg, ao extrato nítrico perclórico, foi adicionado estrôncio, que segundo Miyazawa *et al.* (1992) é necessário para minimizar as possíveis interferências de fosfato, ferro e alumínio. Os teores de Na e K foram determinados por fotometria de chama, o de P por colorimetria e o S por turbidimetria, por meio de leituras de absorbâncias em 420 nm (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

O nitrogênio total foi determinado pela metodologia descrita por Malavolta *et al.* (1997). Para isso, 100 mg do material seco em estufa, foram adicionados a tubos de microdestilação contendo 1,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 1,1 g de uma mistura catalisadora composta por sulfato de potássio, sulfato de cobre e selênio, na proporção em massa, de 100/10/1, respectivamente. Procedeu-se à digestão, elevando-se gradualmente a temperatura da placa até 350°C. Ao final do processo de mineralização, o conteúdo de cada tubo foi ressuspensão em, aproximadamente, 20 mL de água destilada, sendo adicionados 0,3 mL de fenolftaleína a 3% e 10 mL de NaOH a 30%. Nessa etapa, os tubos foram submetidos à microdestilação, sendo a fase líquida recuperada em *erlenmeyer* contendo 6,0 mL de uma solução de ácido bórico a 0,02 N. O conteúdo de cada *erlenmeyer* foi titulado com uma solução de HCl a 0,02 M, sendo o percentual de nitrogênio total calculado mediante a multiplicação do volume gasto na titulação (menos a prova em branco) pela normalidade do HCl.

Os teores de cloro foram determinados quantitativamente, em extratos aquosos, a partir da titulação do cloreto (Cl<sup>-</sup>) com nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>), segundo Malavolta *et al.* (1997). Para preparação do extrato, 100 mg do material foram homogeneizados, em *erlenmeyer*, com 20 mL de água desionizada, sendo a mistura deixada sob agitação constante por 10 min. Em seguida, o homogenato foi filtrado em papel de filtro e a 10 mL do filtrado adicionou-se 1,0 mL do indicador cromato de potássio a 5% (m/v), procedendo-se então à titulação com AgNO<sub>3</sub>. O ponto final da titulação foi determinado pelo surgimento de uma coloração marrom pálida. Os teores de todos os elementos minerais foram expressos em  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  de matéria seca (MS), sendo que, para cada extrato, as determinações foram feitas em duplicatas.

### **3.6. Determinação de Solutos Orgânicos e Inorgânicos**

Para determinação dos solutos orgânicos e inorgânicos, foram utilizadas amostras formadas por um dos folíolos das 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup>, 5<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> folhas trifolioladas, contadas a partir da base. Esse material, bem como aqueles de extremidades de raízes, foram utilizados na forma liofilizada.

#### **3.6.1. Solutos orgânicos**

Para a determinação dos solutos orgânicos (carboidratos solúveis, proteínas solúveis, N-aminossolúveis e prolina), foi preparado um extrato base a partir do pó liofilizado dos tecidos foliares e de raízes. Na preparação desse extrato, 50 mg do material foram macerados em almofariz com 5,0 mL de tampão Na-K-fosfato a 0,01 M, pH 7,6, contendo NaCl a 0,1 M, sendo a mistura mantida sob agitação constante por 1 h, à temperatura de 25°C. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 3.000 x g por 5 min, sendo o precipitado descartado e o sobrenadante congelado a - 30°C.

### **3.6.1.1. Carboidratos solúveis**

Para a determinação de carboidratos solúveis, utilizou-se o método desenvolvido por Dubois *et al.* (1956), sendo adicionados a cada tubo de ensaio 500 µL de extrato, 500 µL de fenol a 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, seguido de agitação vigorosa da mistura de reação. Após resfriamento, os carboidratos solúveis foram quantificados em espectrofotômetro a 490 nm, sendo usado como branco a mistura formada de 500 µL de água, com 500 µL de fenol a 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os teores de carboidratos solúveis foram determinados por meio de uma curva padrão, utilizando-se D(+) glicose anidra.

### **3.6.1.2. Proteínas solúveis**

As proteínas solúveis foram determinadas segundo o método desenvolvido por Bradford (1976), que utiliza o princípio da fixação do corante *Coomassie Brilliant Blue* G-250 às proteínas. O reagente do Coomassie foi preparado dissolvendo-se 100 mg de *Coomassie Brilliant Blue* G-250 (Sigma Chemical Company) em 50 mL de álcool etílico a 95%, seguindo-se da adição de 100 mL de ácido fosfórico a 85%. A solução, após agitação, foi filtrada em papel de filtro e o volume final completado para 1000 mL com água destilada. Para a determinação dos teores de proteínas solúveis, foram adicionados, em tubos de ensaio, alíquotas de 0,1 mL do extrato base e 1,0 mL do reagente do Coomassie. As proteínas solúveis foram estimadas pelas leituras de absorvância em 595 nm, realizadas entre 10 e 20 min após a adição do reagente. O branco da reação foi preparado pela mistura de 0,1 mL do tampão de extração com 1,0 mL do reagente do Coomassie. A albumina sérica bovina (BSA) foi usada como padrão.

### 3.6.1.3. N-aminossolúveis

A concentração de N-aminossolúveis foi determinada pelo método de Yemm & Cocking (1955), o qual tem como base a reação dos grupos aminos livres com a ninhidrina. Em tubos de ensaio com tampas rosqueadas, foram adicionados 100 µL do extrato, 1250 µL do tampão citrato de sódio (pH 5,0) a 0,2 M, 500 µL de KCN a 0,1 M e 100 µL de ninhidrina a 5% em metilcelosolve a 100%. Após homogeneização, os tubos fechados foram deixados em banho-maria a 100°C, por um período de 15 min. A reação foi interrompida por meio de resfriamento dos tubos de ensaio em banho de gelo. Em seguida, foram adicionados 650 µL de etanol a 60% para fixar a cor desenvolvida (violeta), a qual permanece estável por até três horas. As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 570 nm, sendo o branco preparado com 600 µL da mistura reveladora (500 µL de KCN a 0,1 M + 100 µL de ninhidrina a 5%) e 1350 µL do tampão citrato a 0,2 M, pH 5,0. Os teores de N-aminossolúveis, foram determinados com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de L-glicina.

### 3.6.1.4. Prolina

Para a determinação de prolina livre, foi utilizada a metodologia descrita por Bates *et al.* (1973), que tem como base a reação com a solução de ninhidrina ácida (1,25 g de ninhidrina, em 30 mL de ácido acético glacial, e 20 mL de ácido fosfórico a 6,0 M). Em tubos de ensaio com tampas rosqueadas, foram adicionados 1,0 mL do extrato, 1,0 mL de ninhidrina ácida e 1,0 mL de ácido acético glacial, sendo a mistura aquecida a 100°C, por 1 h, para o desenvolvimento da cor. Em seguida, os tubos foram colocados em banho de gelo por 10 min para cessar a reação. Após o resfriamento, 2,0 mL de tolueno foram adicionados aos tubos, sendo os mesmos submetidos à agitação vigorosa em vórtex. Os tubos foram deixados em repouso, sendo observada a formação de uma fase superior

(cromóforo + tolueno) e outra inferior. Com o uso de uma pipeta *Pasteur*, a fase superior (avermelhada) foi aspirada e colocada numa cubeta de quartzo para as leituras de absorvância em 520 nm, sendo o tolueno usado como branco. A concentração de prolina foi determinada a partir de uma curva padrão feita com a L-prolina.

Para cada um dos solutos orgânicos determinados, o extrato foi dosado em duplicatas, sendo os teores expressos em  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  MS, exceto para a proteína solúvel que foi expresso em  $\text{mg.g}^{-1}$  MS.

### 3.6.2. Solutos inorgânicos

Para a determinação dos solutos inorgânicos ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{Cl}^-$ ), foi preparado um extrato a partir das mesmas amostras de tecidos liofilizadas utilizadas nas determinações dos solutos orgânicos. O extrato foi obtido pela homogeneização de 100 mg do pó liofilizado com 20 mL de água desionizada, sendo a mistura mantida em agitação constante por 1 h, quando então procedeu-se à filtração, sendo o filtrado utilizado nas determinações. Os teores de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{SO}_4^{2-}$  no extrato aquoso foram determinados segundo Malavolta *et al.* (1997), conforme descrito no item 3.5. Para determinação de  $\text{Cl}^-$ , em tubos de ensaio contendo 0,2 mL do extrato aquoso adicionaram-se 2,8 mL de água desionizada e 0,5 mL da mistura reativa feita com  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$  a 13,2 mM, em metanol absoluto, e  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  a 20,2%, na proporção de 4:1. A mistura foi agitada vigorosamente e, após repouso por 15 min, foram efetuadas as leituras de absorvância em 460 nm (GAINES *et al.*, 1984). A curva de calibração foi preparada utilizando-se  $\text{NaCl}$  como padrão, sendo o extrato dosado em duplicatas. Para cada um dos solutos inorgânicos determinados, o extrato foi dosado em duplicatas, sendo os teores expressos em  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  MS.

### 3.7. Contribuição dos Solutos Orgânicos e Inorgânicos para o Potencial Osmótico

Os potenciais osmóticos ( $\Psi_s$ ), advindos de cada um dos solutos orgânicos e inorgânicos, a 25°C, foram calculados com base na equação de van't Hoff (TAIZ & ZEIGER, 2004):

$$\Psi_s = -mRT$$

onde,

$m$  = concentração do soluto ( $\text{mol m}^{-3}$ );

$R$  = constante universal dos gases ( $8,314 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ MPa mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ );

$T$  = temperatura absoluta (298 K).

Os valores de  $m$ , para cada um dos solutos, foram calculados dividindo-se seus teores (em  $\text{mol.g}^{-1}$  MS) pela quantidade de água por grama de matéria seca do tecido (em  $\text{m}^3.\text{g}^{-1}$  MS). A contribuição de cada soluto para o potencial osmótico foi expressa como percentagem da soma dos potenciais osmóticos calculados (*pool* osmótico).

### 3.8. Determinação de Lipídios Totais

Amostras formadas por um dos folíolos das 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup>, 5<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> folhas trifolioladas, contadas a partir da base e extremidades de raízes, mantidas em freezer a -25°C foram utilizadas para a extração e determinação dos teores de lipídios totais (BLIG & DYER, 1959). Para a extração, 2,0 g de matéria fresca foram fixadas em 20 mL de água destilada fervente, durante 2 min, para inativar as enzimas lipofílicas. O material fixado foi macerado em almofariz com 40 mL de metanol/clorofórmio (1:1 v/v), sendo, em seguida, adicionado ao homogenato os 20 mL da água utilizada na fixação do material, contendo NaCl a 0,88%. Essa mistura foi fortemente agitada em vórtex, sendo transferida para um tubo de centrífuga, o qual permaneceu em repouso por 5 min, quando então foi centrifugado a 500 x g por 10 min, sendo o precipitado descartado. O sobrenadante



resultante, por sua vez, foi centrifugado a 3.000 x g por 15 min, observando-se a formação de uma mistura bifásica: uma fase superior, contendo solutos hidrossolúveis em água/metanol e uma fase inferior, contendo solutos lipossolúveis em clorofórmio. A fração lipídica foi aspirada com uma pipeta Pasteur e colocada em frascos de vidro, sendo adicionados à fase superior restante 20 mL de clorofórmio para a extração de lipídios remanescentes. Os tubos foram novamente agitados em vórtex e centrifugados a 3.000 x g e os solutos lipossolúveis coletados como descrito acima. O clorofórmio da fração lipídica (das duas coletas) foi evaporado com nitrogênio gasoso, sendo os lipídios totais determinados por pesagem, após completa secagem do material. Em seguida, os lipídios obtidos foram redissolvidos em 2,0 mL de clorofórmio e armazenados a - 30°C. Os teores de lipídios totais foram expressos em mg.g<sup>-1</sup> MS.

### **3.9. Determinação de Ácidos Graxos**

Para obtenção dos ácidos graxos na forma livre, os extratos contendo os lipídios totais foram saponificados e metilados segundo metodologia descrita por Metcalfe *et al.* (1966). Para isso, 0,2 mL dos extratos de lipídios totais, em tubos rosqueados, foram evaporados com nitrogênio gasoso e o precipitado redissolvido em 4,0 mL de NaOH a 0,5 N dissolvido em metanol a 95%, para promover a hidrólise alcalina. Em seguida, para evitar a evaporação do metanol bem como a oxidação dos lipídios pelo oxigênio, os tubos de ensaio foram fechados e deixados em banho-maria a 65°C por 15 min, com agitações ocasionais. Ao término do procedimento de saponificação, os tubos contendo os sais sódicos dos ácidos graxos foram resfriados à temperatura ambiente, dando-se início ao processo para obtenção dos ésteres metílicos voláteis. Para isso, foram adicionados aos tubos de ensaio 2 mL de HCl a 0,6 N dissolvido em metanol a 95%, o qual deixa o ácido graxo na forma protonada. Em seguida, os tubos de ensaio (fechados) foram deixados em

banho-maria à 65°C por 15 min, sendo posteriormente resfriados em banho de gelo. Após resfriamento, foram adicionados às amostras acidificadas 10 mL de hexano e 2,0 mL de água destilada para a extração dos ésteres metílicos dos ácidos graxos. Os tubos foram agitados em vórtex e deixados em repouso por 30 min. Após a formação de uma solução bifásica, transferiu-se a fase superior (orgânica) para frascos de vidro. O processo de extração com hexano foi repetido por mais uma vez, na fase inferior restante, seguindo o mesmo procedimento da primeira extração, ressaltando-se que, nos frascos de vidro que armazenavam os ácidos graxos removidos da primeira extração, foram juntados os ácidos graxos remanescentes da segunda extração. O hexano presente nos frascos de vidro foi evaporado em nitrogênio gasoso e os ésteres metílicos foram ressuspensos em 1,0 mL de clorofórmio e armazenados a - 30°C.

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram separados e identificados pelo sistema CG/EM (Cromatografia Gasosa e Espectrofotometria de Massa), em cromatógrafo Shimadzu GC 17-A, com detector seletivo de massas, modelo QP-5050 (Shimadzu). Para isso, amostras de 5,0 µL desses ésteres metílicos foram injetados em coluna capilar empacotada com fenil-polymethylsiloxane a 5%. A coluna tinha as seguintes dimensões: 25 m de comprimento, 0,25 cm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme. O tempo médio de separação dos diferentes ésteres metílicos contidos na mistura foi de aproximadamente 40 minutos. As condições de operação da análise cromatográfica foram as seguintes: temperatura programada da coluna: 70 a 180°C, com velocidade de aquecimento a 4°C por minuto e de 180 a 280°C, a 20°C por minuto. Temperatura do injetor, 250°C; corte de solvente, em 2,5 min; gás de arraste: hélio, com fluxo de 1 mL.min<sup>-1</sup>.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada conforme procedimento descrito por Matos *et al.* (1992), utilizando-se os valores relativos de tempo de retenção e dados do

espectro de massa dos respectivos ésteres metílicos. Cada extrato foi dosado em triplicatas sendo os teores dos ácidos graxos expressos como percentagem do total dos ácidos graxos detectados.

### **3.10. Determinação de Glicolipídios**

Os glicolipídios foram quantitativamente determinados nos extratos de lipídios totais, a partir da dosagem de carboidratos, segundo metodologia descrita por Dubois *et al.* (1956). Para isso, uma alíquota de 0,5 mL do extrato lipídico total foi evaporada com nitrogênio gasoso, e ao resíduo foram adicionados 2,0 mL de água destilada, 1,0 mL de fenol a 5% e 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Os tubos foram agitados em vórtex e deixados em repouso por 30 min, até o desenvolvimento da cor (laranja). Em seguida, foram feitas as leituras em espectrofotômetro a 490 nm. A concentração de carboidratos e daí a de glicolipídios, foi obtida através de uma curva padrão utilizando-se a D-glicose, sendo os resultados expressos em mg.g<sup>-1</sup> MS. Cada extrato foi dosado em duplicatas.

### **3.11. Danos nas Membranas e Peroxidação de Lipídios**

Os danos nas membranas foram determinados em amostras frescas formadas por um dos folíolos das 3<sup>a</sup>, 5<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> folhas trifolioladas, a partir da base, e extremidades de raízes, o que foi feito através de medidas de condutividades elétricas, provocadas pelo vazamento de eletrólitos, conforme procedimentos descritos por Blum & Ebercom (1981) e Redmann *et al.* (1986). O tecido foliar foi limpo com um pano tipo perflex e, posteriormente, enxuto em papel toalha, enquanto os segmentos de raízes foram lavados em água desionizada, por três vezes a cada 15 min, a fim de se eliminar os eletrólitos adsorvidos, sendo em seguida secados em papel toalha. Foram utilizadas amostras de vinte discos de folhas de 1,0 cm de diâmetro e 200 mg de segmentos de raízes. Essas amostras

foram transferidas separadamente para frascos contendo 10 mL de água desionizada e deixadas em banho-maria durante 24 h, a 25°C, sob agitação ocasional, quando então foram realizadas leituras de condutividade elétrica ( $C_1$ ). Em seguida, essas amostras retornaram aos mesmos frascos contendo o material vegetal, sendo, então, aquecidas a 70°C por 1 h. Após resfriamento até 25°C, realizou-se a segunda leitura de condutividade elétrica ( $C_2$ ). Os danos de membrana (DM) foram expressos em percentagem, e obtidos através da seguinte expressão:  $DM = (C_1/C_2) \times 100$

Os danos nas membranas, também, foram estimados pela formação de malondialdeído (MDA), um aldeído de cadeia curta que é produzido pela peroxidação dos lipídios e que forma um complexo com o ácido tiobarbitúrico (TBA). O complexo MDA-TBA foi quantificado pelo método de Cakmak & Horst (1991). Uma alíquota de 0,5 mL do extrato lipídico total teve o clorofórmio evaporado com nitrogênio gasoso, sendo adicionado ao precipitado formado 3,0 mL de TBA a 0,5% (p/v), em ácido tricloroacético a 20% (p/v). Em seguida, a mistura de reação foi deixada em banho-maria a 100°C por 30 min, sob agitação ocasional, resfriada em banho de gelo, agitada vigorosamente e centrifugada a 3.000 x g por 10 min. No sobrenadante foram efetuadas leituras de absorvâncias em 532 e 660 nm. A absorvância do sobrenadante a 532 nm foi subtraída do valor obtido a 660 nm, relativo à absorção não específica. A quantidade do MDA foi estimada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de  $155 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  (HEATH & PACKER, 1968). Cada extrato foi dosado em duplicata e os teores de MDA foram expressos em  $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MS}$ .

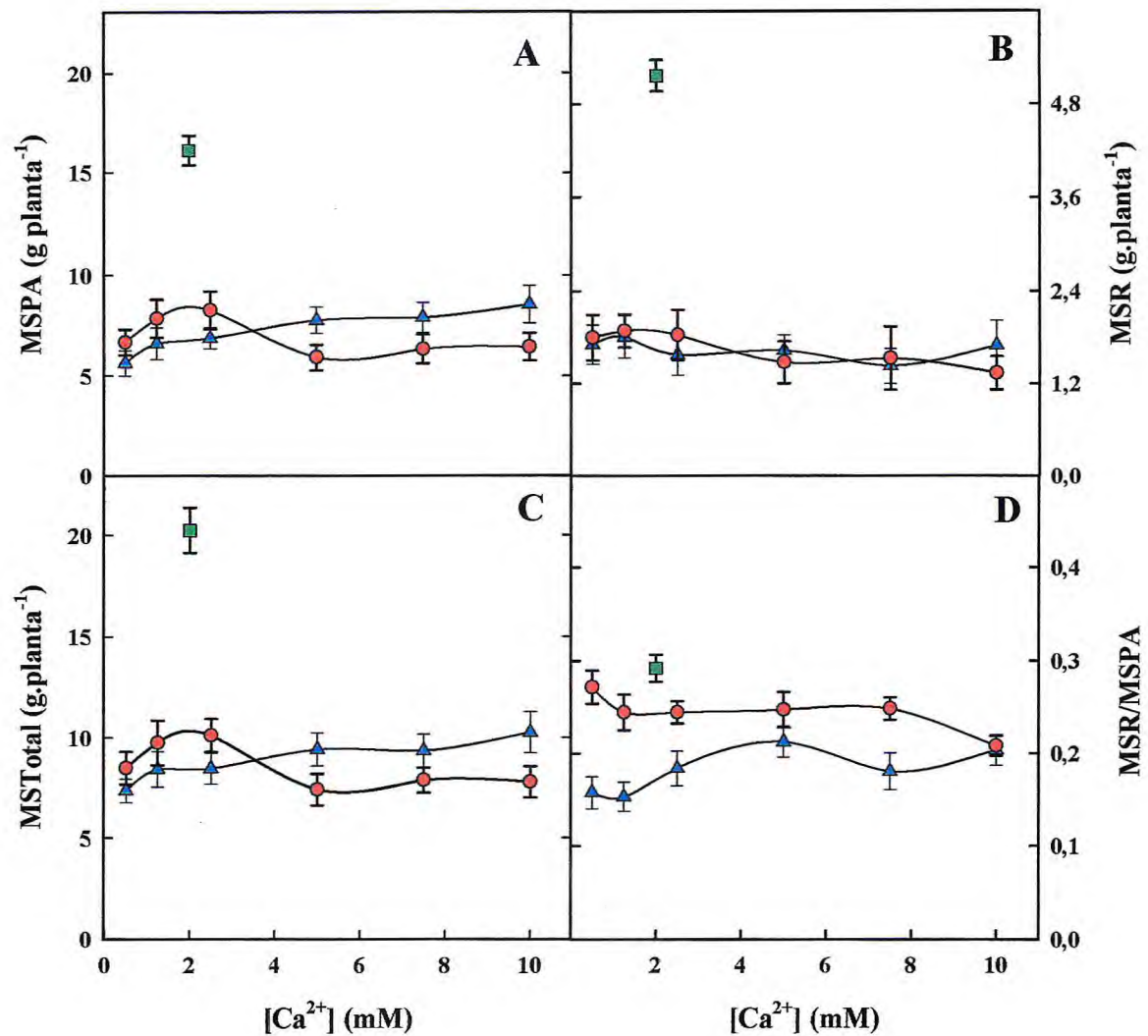
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Crescimento das Plantas

No presente estudo, analisou-se o efeito do cálcio, nas formas de  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$  sobre o crescimento das plantas de feijão-de-corda cv. Pitiúba cultivadas sob estresse salino. Como pode ser visto na Figura 1, o crescimento vegetativo das plantas foi acentuadamente reduzido pelo estresse salino ( $\text{NaCl}$  a 75 mM), independentemente da dose de cálcio empregada. Os resultados mostram que a salinidade provocou uma redução média de 56,9% na matéria seca total da planta (MST) em comparação com o controle.

As reduções médias nas matérias secas da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) em relação aos seus controles foram de 56% e 68,1%, respectivamente. Observou-se, ainda, em relação ao controle, uma redução média de 27,6% na relação de matéria seca entre a raiz e a parte aérea (MSR/MSPA) (Figura 1D). A relação MSR/MSPA é uma correlação de desenvolvimento, expressando o fato de que o crescimento radicular pode influenciar o da parte aérea e vice-versa (GOSS, 1973).

Os resultados do presente estudo mostram um decréscimo na relação MSR/MSPA, evidenciando um maior efeito da salinidade sobre o sistema radicular do que sobre a parte aérea. Estudos com glicófitas têm evidenciado que a salinidade aumenta a relação raiz/parte aérea (EBERT *et al.*, 2002; COSTA *et al.*, 2003). Alguns trabalhos mostram que isso decorre do fato do crescimento da raiz ser menos afetado pela salinidade que o crescimento da parte aérea (GREENWAY & MUNNS, 1980; LACERDA, 1995; SILVA, 1998). Esses resultados são explicados pelo fato de que a salinidade, além de reduzir a produção de biomassa, pode alterar a partição de fotoassimilados entre as diferentes partes das plantas (GREENWAY & MUNNS, 1980; GRATTAN & GRIEVE, 1999; SILVA *et al.*, 2003).



**Figura 1.** Matéria seca da parte aérea → MSPA (A), matéria seca das raízes → MSR (B), matéria seca total → MST (C) e relação raiz/parte aérea → MSR/MSPA (D) de plantas de feijão-de-corda cultivadas, sob condições-controle [solução nutritiva com  $Ca^{2+}$  a 2 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $CaCl_2$  (●) ou  $CaSO_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

As explicações para essas possíveis contradições foram justificadas por Moya *et al.* (1999), quando afirmaram que a redução da biomassa do sistema radicular pode representar um dos mecanismos de tolerância ao estresse salino e contribuir de maneira significativa para uma menor absorção e acúmulo de íons tóxicos na parte aérea, principalmente  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . Segundo Lacerda (2000), sob condições salinas, o aumento no tamanho do sistema radicular pode resultar em uma elevação nas quantidades de íons absorvidos, inclusive de íons potencialmente tóxicos, os quais podem se acumular rapidamente na parte aérea, afetando o crescimento da planta. É importante ressaltar que o efeito inibitório da salinidade sobre o crescimento vegetativo e, principalmente, sobre o sistema radicular, pode estar relacionado com diversos fatores, tais como a espécie ou a cultivar utilizada, o estágio de desenvolvimento da planta em que o estresse foi aplicado, os níveis e a forma de aplicação de sais no ambiente radicular, o tempo e a intensidade do estresse (LACERDA, 1995; MUNNS, 2002), bem como, as condições ambientais nas quais as plantas são cultivadas (YEO, 1999). A interação desses fatores afeta diretamente o crescimento radicular, podendo o mesmo ser estimulado (WAISEL, 1985), inibido (YANG *et al.*, 1990) ou mesmo não ser afetado, como ocorre em algumas halófitas (MAAS & HOFFMANN, 1977).

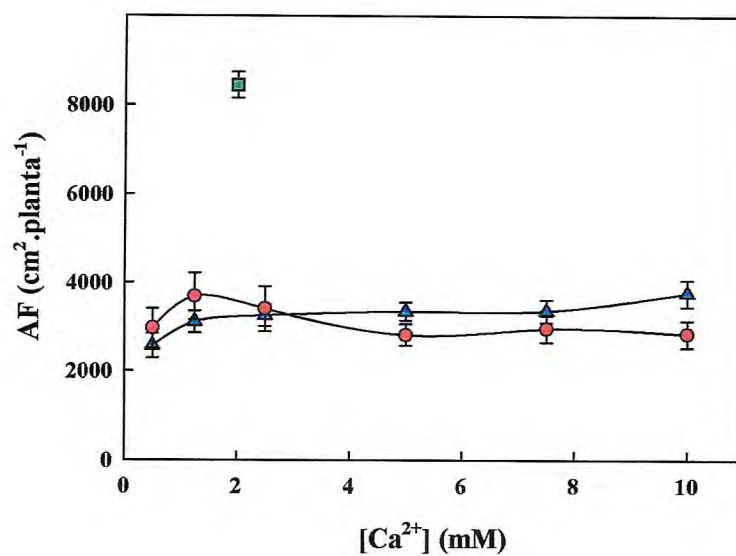
O aumento na concentração de cálcio do meio salino promoveu pequena melhoria no crescimento vegetativo das plantas estressadas, porém esse efeito foi dependente do órgão da planta, bem como das doses e fontes de cálcio (Figura 1). A adição de  $\text{CaCl}_2$  até 2,5 mM, não mostrou nenhum efeito significativo sobre o crescimento da parte aérea, porém em doses maiores (5 a 10 mM), esse efeito foi negativo. Por outro lado, a aplicação de  $\text{CaSO}_4$  promoveu um aumento gradual no crescimento da parte aérea, atingindo na dose de 10 mM um incremento de 53,6% na MSPA das plantas estressadas, em relação às plantas em que se aplicou apenas 0,5 mM desse sal. Tal fato sugere que o sulfato de cálcio

minorou, em parte, os efeitos da salinidade, devendo-se, no entanto reconhecer a pequena magnitude desse efeito benéfico em relação às plantas-controle.

Em relação ao crescimento radicular, a suplementação do meio salino com cloreto de cálcio ou sulfato de cálcio não reverteu o processo inibitório causado pelos sais, tendo pouco efeito sobre o crescimento desse órgão, sendo que a adição de  $\text{CaCl}_2$  na dose de 10 mM, acentuou os efeitos negativos da salinidade (Figura 1B). O efeito dos dois sais de cálcio sobre o crescimento das plantas, expresso pelas medidas de MST, foi idêntico ao observado para a MSPA (Figura 1C), quando o sulfato de cálcio, ao contrário do cloreto de cálcio, a 10 mM, incrementou o crescimento das plantas, minimizando parte dos efeitos deletérios da salinidade. É possível, portanto, que a redução na MST a partir da concentração de  $\text{CaCl}_2$  de 5,0 mM seja devida ao aumento na concentração de íons cloreto no meio salino ( $\text{NaCl}$  a 75 mM), causando toxidez. Os valores da relação MSR/MSPA foram maiores nas plantas estressadas suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  do que com  $\text{CaSO}_4$ , exceto na dose de 10 mM, quando os valores dessa relação foram iguais (Figura 1D). Todavia, diferentemente do tratamento com  $\text{CaCl}_2$ , cuja elevação das doses, resultou em diminuição nessa relação, o tratamento com  $\text{CaSO}_4$  resultou em aumento. Comparando-se os valores dessa relação nas plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  e com  $\text{CaSO}_4$ , observa-se que em média foram menores que as dos controles em 17,2% e 37,9%, respectivamente.

A área foliar (AF) das plantas estressadas aumentou progressivamente com a elevação da concentração de  $\text{CaSO}_4$  no meio de crescimento, atingindo na dose mais elevada (10 mM), um valor 46,5 % maior, que o das plantas suplementadas somente com 0,5 mM desse sal (Figura 2). Quando a suplementação do meio foi feita com o  $\text{CaCl}_2$ , observou-se uma tendência de incremento na AF na dose de 1,25 mM, seguindo-se de uma redução significativa nessa variável nas doses acima de 2,5mM. Em relação ao





**Figura 2.** Área foliar (AF) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

tratamento controle, a área foliar das plantas estressadas e suplementadas com os sais  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$  foram, em média, 63,2% e 61,8% menores (Figura 2), fato que demonstra que o estresse salino imposto foi relativamente severo. Essa redução na área foliar e, conseqüentemente na área disponível para a fotossíntese, é um reflexo da inibição na divisão e expansão celular causada pela salinidade (PARIDA & DAS, 2005).

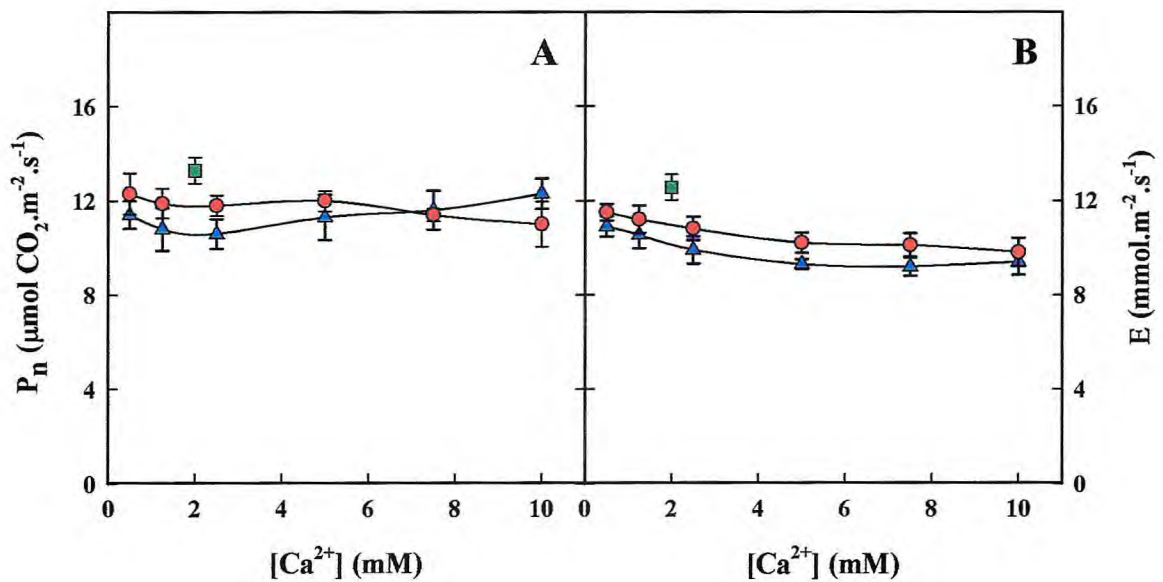
Os resultados sobre as medidas de AF foram semelhantes aos observados para a MSPA (Figura 1) e demonstram que os efeitos benéficos do cálcio, principalmente na forma de  $\text{CaCl}_2$ , foram pouco significativos sobre o crescimento das plantas de feijão-de-corda, quando comparadas com outras culturas (RENGEL, 1992; KINRAIDE, 1998; KAYA *et al.*, 2002). Por outro lado, os resultados do presente estudo são semelhantes aos encontrados por Silva (1998), trabalhando com feijão-de-corda cultivado em solução nutritiva contendo  $\text{NaCl}$  a 75 mM e suplementada com doses de  $\text{CaCl}_2$  nas concentrações de 5 e 10 mM.

Os resultados do presente estudo estão, em parte, de acordo com os de Reid & Smith (2000), que afirmaram existir uma concentração limite de cálcio, acima da qual nenhum efeito benéfico desse elemento é observado no crescimento das plantas estressadas com  $\text{NaCl}$ . Esses autores, trabalhando com trigo, observaram que 2,34 mM foi a concentração limite para o cálcio na forma de  $\text{CaCl}_2$ , concentração muito próxima da encontrada no presente estudo para esse mesmo sal, sendo que se observou efeitos negativos acima de 2,5 mM. Contudo, para o caso do  $\text{CaSO}_4$ , o efeito benéfico do cálcio intensificou-se com o aumento na concentração desse sal até a dose máxima empregada de 10 mM, não sendo possível, dessa forma, estabelecer uma dose limite para os efeitos benéficos dos dois sais de cálcio testados. Diante destes resultados, é provável que o limite da interação cálcio/salinidade dependa da espécie vegetal, da fonte de cálcio (ZEKRI & PARSONS, 1990; REID & SMITH, 2000) e das condições ambientais (YEO, 1999).

#### 4.2. Fotossíntese e Transpiração

A salinidade reduziu a taxa fotossintética líquida ( $P_n$ ) em relação às plantas-controle (Figura 3A), sendo essa redução muito menor que aquela no crescimento (Figuras 1 e 2), evidenciando que a redução no crescimento devido à salinidade precede os efeitos deletérios na fotossíntese, fato também evidenciado por outros autores (AMZALLAG, 1997; SILVA, 2003; BEZERRA *et al.*, 2003). As reduções nos valores de  $P_n$  pela salinidade podem estar associadas às causas estomáticas e não estomáticas devidas aos efeitos osmóticos e tóxicos decorrentes do acúmulo dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nos cloroplastos (ZEKRI & PARSONS, 1990; RUIZ *et al.*, 1997; SILVA, 2003; PARIDA & DAS, 2005). De acordo com Kurban *et al.* (1999), as reduções nas taxas fotossintéticas pelo estresse salino podem estar mais relacionadas com danos no aparelho fotossintético e/ou no sistema enzimático de fixação do  $\text{CO}_2$ , do que propriamente com as limitações estomáticas.

O efeito da aplicação de cálcio sobre a taxa fotossintética dependeu da fonte de cálcio utilizada (Figura 3A). O aumento na concentração de  $\text{CaSO}_4$  até 2,5 mM resultou em pequena queda nos valores de  $P_n$ , porém a partir dessa dose ocorreu um discreto aumento até a concentração de 10,0 mM, quando se observou um aumento de 7,9% em relação à dose mais baixa de cálcio (0,5 mM). Os efeitos benéficos do aumento na concentração de  $\text{CaSO}_4$  para o processo fotossintético foram semelhantes aos observados para o crescimento vegetativo (Figuras 1 e 2), minorando em parte os efeitos deletérios da salinidade e favorecendo a  $P_n$ , de tal modo que, na dose mais elevada de cálcio (10 mM), foram pequenas as diferenças nos valores de fotossíntese com relação ao controle. Por outro lado, analisando-se os tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaCl}_2$ , observaram-se que os valores de  $P_n$  permaneceram praticamente inalterados até a dose de 5,0 mM, a partir da qual, observou-se um pequeno decréscimo nos valores de  $P_n$ , sendo que na dose de 10,0 mM o valor foi 10,6% menor que aquele encontrado com a menor dose de cálcio.



**Figura 3.** Fotossíntese líquida ( $P_n$ ) e taxa de transpiração ( $E$ ) em folhas de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

De forma semelhante ao comportamento da taxa fotossintética, a taxa de transpiração ( $E$ ) decresceu nos tratamentos salinos em relação às plantas-controle (Figura 3B), sugerindo que os efeitos provocados pelo estresse sobre a fotossíntese podem estar associados, pelo menos em parte, aos efeitos estomáticos. No entanto, diferentemente do observado para  $P_n$ , o aumento na concentração  $\text{CaSO}_4$  não reverteu a redução na taxa de transpiração provocada pela salinidade. Como pode ser observado, as curvas em presença de  $\text{CaSO}_4$  e  $\text{CaCl}_2$  apresentaram padrões muito similares com tendência de queda na transpiração e não diferiram significativamente entre si, embora tenha sido observada uma tendência dos valores de  $E$  serem maiores no tratamento com cloreto de cálcio. Considerando-se a média de todos os tratamentos salinos, na dose de 10 mM de cálcio, os valores de  $E$  foram 14,3% menores que aqueles na dose mais baixa e 23,6% menores que aqueles do controle. Portanto, o cálcio em doses mais elevadas, acentuou a redução nos valores de  $E$ , resultado semelhante ao observado para o de  $P_n$ , quando o meio salino foi suplementado com  $\text{CaCl}_2$ .

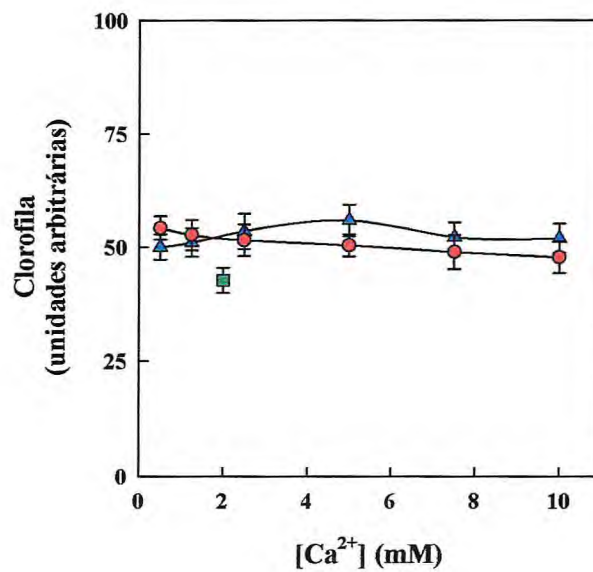
As reduções nos valores de  $E$  pela salinidade concordam com os observados por outros autores (SILVA *et al.*, 2003; AZEVEDO NETO *et al.*, 2004) e podem ter ocorrido em função da redução na condutividade hidráulica do sistema radicular provocada pelo estresse salino (PEYRANO *et al.*, 1997; SILVA, 1998). A diminuição do fluxo de água pelo estresse salino pode causar um abaixamento do potencial hídrico foliar, e pode induzir a um fechamento dos estômatos (ROBINSON *et al.*, 1997; PARIDA *et al.*, 2004; PARANYCHIANAKIS & CHARTZOULAKIS, 2005). Por outro lado, o fechamento parcial dos estômatos decorrente da redução da condutividade hidráulica do sistema radicular pode levar a um aumento da suberização e lignificação dos tecidos vasculares das raízes (CACHORRO *et al.*, 1993; PEYRANO *et al.*, 1997).

As discrepâncias entre as respostas das taxas de fotossíntese e de transpiração, com o aumento na dose de  $\text{CaSO}_4$ , sugerem que a tendência de aumento na taxa fotossintética não pode ser justificada pelo aumento na abertura dos estômatos. É provável que os efeitos benéficos da aplicação de  $\text{CaSO}_4$  para a fotossíntese e crescimento das plantas devam-se à redução no acúmulo de íons potencialmente tóxicos, reduzindo seus efeitos deletérios sobre as células foliares.

### 4.3. Teor de Clorofila

Em média, os tratamentos salinos contendo sulfato de cálcio e cloreto de cálcio apresentaram, respectivamente, teores de clorofila cerca de 22,7% e 19,2% maiores que aqueles observados nas plantas-controle (Figura 4). Os teores de clorofila nas folhas das plantas de feijão-de-corda submetidas aos tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaSO}_4$ , apresentaram um discreto aumento até a dose de 5,0 mM de cálcio, quando a partir daí decresceram, chegando na dose de 10,0 mM a um valor aproximadamente igual àquele observado na dose mais baixa (Figura 4). Enquanto isso, nos tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaCl}_2$ , constatou-se uma diminuição gradativa no teor de clorofila desde a dose mais baixa de cálcio (0,5 mM) até a mais elevada (10 mM), quando o teor de clorofila foi 12,1% menor que aquele na dose mais baixa.

O aumento nos teores de clorofila das plantas do presente experimento sob estresse salino, em relação ao controle, estão de acordo com os resultados encontrados em feijão-de-corda (SILVA, 1998) e arroz (CHA-UM *et al.*, 2004) e discordam dos de outros pesquisadores que observaram reduções nos conteúdos desse pigmento em tomate (KHAVARI-NEJAD & MOSTOFI, 1998), *Phaseolus vulgaris* (SEEMAN & CHRITCHLEY, 1985) e sorgo (LACERDA *et al.*, 2003b).



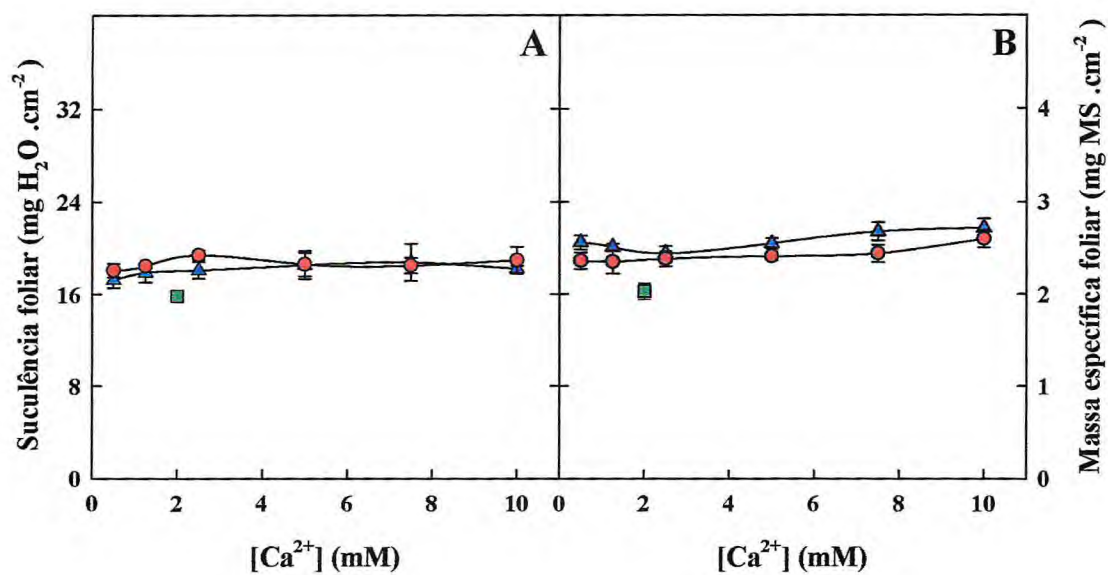
**Figura 4.** Teor relativo de clorofila nas folhas de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

De acordo com Lutts *et al.* (1996a) e Munns (2002), além da injúria física às folhas, causada pela salinidade, pode ocorrer inibição do crescimento das folhas jovens e, paralelamente, aceleração da senescência das folhas maduras em decorrência da degradação das clorofilas. Vale salientar, que os resultados obtidos no presente estudo refletem o teor de clorofila por unidade de área foliar, podendo-se obter resultados discrepantes quando os teores são expressos na base de matéria fresca e seca. Além disso, é possível sugerir que as variações nos teores de clorofila em plantas sob estresse salino podem estar relacionadas com os diferentes mecanismos de aclimatação das espécies ao estresse salino.

#### **4.4. Suculência Foliar e Massa Específica Foliar**

A suculência foliar das plantas estressadas foi, em média, 16,5% maior que aquela do controle e apresentou valor praticamente constante para todas as concentrações de cálcio testadas (Figura 5A). A suculência foliar, de acordo com alguns autores, representa uma das respostas adaptativas das glicófitas às condições de estresse salino (GREENWAY & MUNNS, 1980). Os resultados do presente estudo foram concordantes com os observados por Silva *et al.* (2003) em plantas de feijão-de-corda. Esses autores, além de observarem aumento na suculência foliar com o estresse salino, também observaram que a suplementação do meio salino com  $\text{CaCl}_2$ , nas doses de 5 ou 10 mM, não alterou esta resposta. Costa *et al.* (2003), trabalhando com sete cultivares de feijão-de-corda sob estresse salino, observou que nos mais tolerantes, houve aumento na suculência foliar, enquanto que nos demais não foram observadas diferenças significativas nessa variável, em relação ao controle. Aumento na suculência foliar com o estresse salino, também, foi observado em milho (AZEVEDO NETO, 1997) e em feijão-de-corda (TRINDADE, 2002; SILVA *et al.*, 2003). De acordo com Poljakoff-Mayber (1975), dentre as respostas





**Figura 5.** Suculência foliar (A) e massa específica foliar (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

induzidas pela salinidade, o aumento na suculência foliar é uma das mais facilmente visualizadas e torna-se mais evidente quando o estresse é induzido por NaCl.

A massa específica foliar das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$  diminuiu com o aumento da concentração de cálcio até 2,5 mM, porém a partir dessa dose, observou-se um discreto aumento até 10,0 mM, quando a massa foliar específica apresentou valor igual àquele observado na dose mais baixa de cálcio, 0,5 mM (Figura 5B). Em média, a massa específica foliar das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$  foi 29,1% maior que aquele das plantas-controle. Nos tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaCl}_2$ , essa variável permaneceu com valor praticamente constante, desde a dose de 0,5 a 10 mM, sendo, em média, 19,2% maior que o controle. É importante destacar, que a massa específica foliar tem sido empregada na avaliação de respostas de plantas submetidas à salinidade e os dados do presente estudo estão em conformidade com os encontrados por Trindade, (2002), Costa *et al.* (2003), Silva *et al.* (2003) que, também, encontraram aumento da massa específica foliar em cultivares de feijão-de-corda. O aumento na massa específica foliar tem sido considerado por alguns autores, como consequência de um maior espessamento da parede celular (SHANNON *et al.*, 1994) o qual ocorre em função de uma maior síntese da parede celular (FRICKE & PETERS, 2002). No entanto, como sugerido por Costa *et al.* (2003), os simultâneos aumentos na suculência foliar e massa específica foliar, induzido pela salinidade, como foi aqui observado (Figura 5), indicam um possível incremento no volume das células do mesófilo esponjoso, em detrimento do volume das células do parênquima paliçádico. Também, no presente trabalho, os resultados demonstram que a suplementação do meio salino com qualquer um dos sais de cálcio utilizados, independentemente da dose, mostrou pouco, ou nenhum, efeito nas respostas das plantas de feijão-de-corda à salinidade. É possível que o maior teor de clorofila das plantas estressadas em relação ao controle (Figura 4),

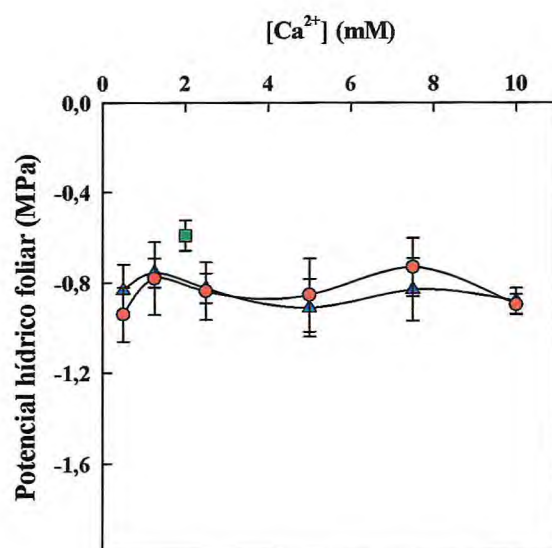
tenha ocorrido em função do aumento na massa específica foliar causada pela salinidade (Figura 5B).

#### **4.5. Potenciais Hídrico e Osmótico**

##### **4.5.1. Potencial hídrico foliar**

A salinidade provocou alterações nas relações hídricas das plantas. Os resultados apresentados na Figura 6 mostram que, independentemente da dose aplicada de cálcio, o potencial hídrico foliar ( $\Psi_{wf}$ ) das plantas estressadas com NaCl foi, em média 42,4% menor que aquele observado nas plantas-controle. Também, como pode ser notado, o  $\Psi_{wf}$  praticamente não sofreu alterações em função do aumento nas concentrações dos sais de cálcio presentes no meio salino, tendo-se mantido aproximadamente com o mesmo valor desde a dose mais baixa (0,5 mM) até a mais alta (10 mM). Possivelmente, isto se deveu ao fato de que as concentrações de cálcio empregadas terem sido relativamente pequenas e insuficientes para alterar o  $\Psi_{wf}$  das plantas, visto que esse correlaciona-se de forma inversamente proporcional ao aumento da concentração de sais no ambiente radicular (HUANG & REDMANN, 1995; SILVA *et al.*, 2003).

O  $\Psi_{wf}$  reflete as condições da dinâmica do processo de transporte do sistema solo-planta-atmosfera, constituindo-se no principal componente responsável pelo fluxo de água na planta. Em condições salinas, as plantas para manterem a absorção de água reduzem o  $\Psi_{wf}$ , tornando-os mais negativos com o aumento da salinidade (HERNANDEZ *et al.*, 1999; ROMERO-ARANDA *et al.*, 2001). A redução no potencial hídrico foliar e, presumivelmente, na quantidade de água consumida, provocadas pela salinidade, são conseqüências dos efeitos osmóticos dos sais, que reduzem a transpiração e a condutividade hidráulica do sistema radicular (CERDÁ *et al.*, 1995; SILVA *et al.*, 2003; PARIDA & DAS, 2005).

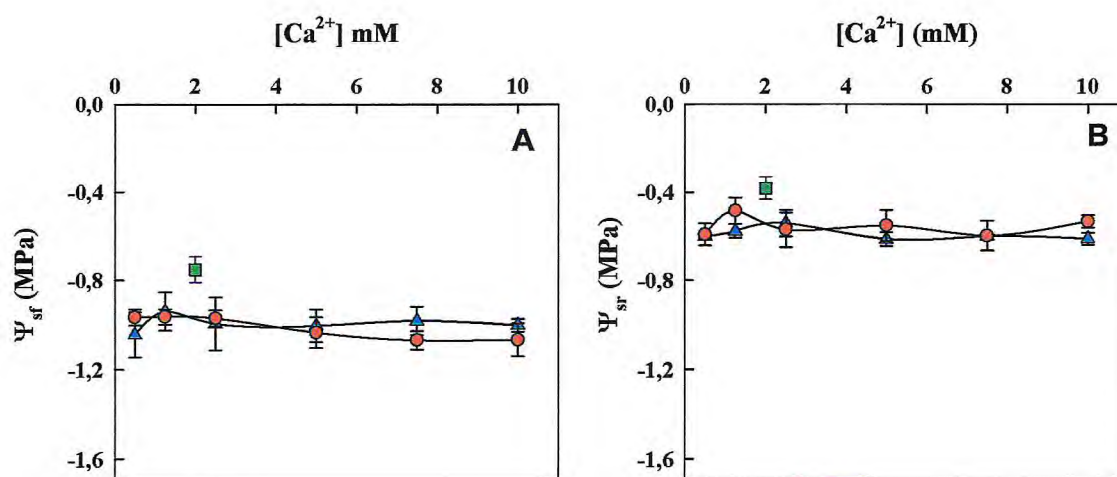


**Figura 6.** Potencial hídrico foliar de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

#### 4.5.2. Potenciais osmóticos

Os potenciais osmóticos foliares ( $\Psi_{sf}$ ) das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$  não diferiram entre si e se mostraram praticamente constantes com o aumento da concentração do cálcio no meio de crescimento (Figura 7A). Contudo, tais valores nas plantas estressadas foram, em média, 32,4% menores que aqueles das plantas-controle. Da mesma forma que o  $\Psi_{sf}$ , o potencial osmótico das raízes ( $\Psi_{sr}$ ) das plantas estressadas não variou significativamente com a fonte de cálcio e nem com a dose empregada, mantendo-se praticamente com os mesmos valores desde a dose de 0,5 até a de 10,0 mM (Figura 7B). No entanto, os valores de  $\Psi_{sr}$  apresentaram-se, de modo geral, maiores que aqueles de  $\Psi_{sf}$ , porém, em média, foram 50,1% menores que aquele do controle.

A redução nos valores de  $\Psi_{sf}$  e de  $\Psi_{sr}$  deve contribuir para o ajustamento osmótico e é uma resposta freqüentemente observada em várias espécies vegetais (KHAN *et al.*, 2000; ROMERO-ARANDA *et al.*, 2001; LACERDA, 2003a), sendo importante para a manutenção do gradiente de potencial hídrico entre o solo e a planta (GREENWAY & MUNNS, 1980). O abaixamento no potencial osmótico pode ocorrer em função do acúmulo de solutos inorgânicos e orgânicos nas células vegetais de plantas sob condições de estresses salino e hídrico (SERRAJ & SINCLAIR, 2002; ABREU, 2004). Portanto, os dados obtidos de potencial osmótico sugerem que o estresse salino influenciou as relações hídricas e as concentrações de solutos nos tecidos das plantas de feijão-de-corda, sendo responsável, em parte, pelo abaixamento do  $\Psi_{wf}$  (Figura 6) e, provavelmente, pelo do potencial hídrico radicular (não determinado) com a finalidade de manter o gradiente de absorção de água e a turgescência celular, indispensáveis para o crescimento (MUNNS, 2002).



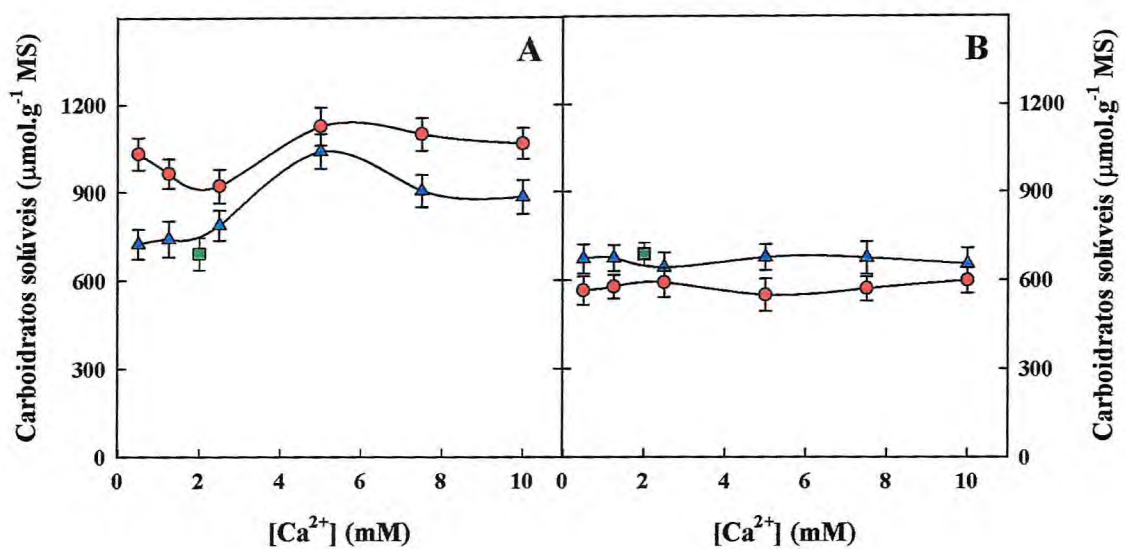
**Figura 7.** Potencial osmótico das folhas ( $\Psi_{sf}$ ) (A) e raízes ( $\Psi_{sr}$ ) (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

## 4.6. Solutos Orgânicos

### 4.6.1. Carboidratos solúveis

Estudou-se o efeito das concentrações crescentes de cálcio, na forma de  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$ , sobre os níveis de carboidratos em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda sob estresse salino (Figura 8). Os teores de carboidratos solúveis nas folhas das plantas estressadas com  $\text{NaCl}$  e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  pouco diferiram na faixa de concentração de 0,5 a 2,5 mM de cálcio, sendo, no entanto, os valores sempre mais elevados que aquele do controle (Figura 8A). Por outro lado, a partir da concentração de 2,5 mM de cálcio, observou-se um aumento nos teores dos carboidratos até a dose de 5,0 mM, onde constatou-se um incremento de 62,6% em relação ao controle, daí permanecendo praticamente com esse mesmo teor até a dose mais elevada (10,0 mM). Apesar desse aumento, no entanto, os teores de carboidratos nas doses mais elevadas de  $\text{CaCl}_2$  não foram diferentes do observado na menor dose, 0,5 mM. Nas plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ , observou-se um aumento gradativo nos teores de carboidratos solúveis de 0,5 até 5,0 mM desse sal, sendo a partir daí observada uma ligeira queda no teor desse soluto até a dose final de 10,0 mM, quando atingiu um valor 27,5% maior que o do controle e ainda superior àquela na menor dose de  $\text{CaSO}_4$ , 0,5 mM.

Confrontando-se os tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaCl}_2$  com aqueles suplementados com  $\text{CaSO}_4$ , observa-se que o teor de carboidrato foi, em média, 22,2% maior, quando o ânion acompanhante do cálcio foi o cloreto. Em adição, comparando-se os teores de carboidratos das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$ , ambos, na dose de 10 mM, com os correspondentes na dose de 5,0 mM, observaram-se que os mesmos foram 5,7% e 17,9%, menores, respectivamente (Figura 8A). Nas raízes, os teores de carboidratos solúveis das plantas estressadas com  $\text{NaCl}$  e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$  permaneceram praticamente inalterados em relação ao controle (Figura 8B),



**Figura 8.** Teores de carboidratos solúveis em folhas (A) e raízes (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.



enquanto que nas plantas suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ , esses teores foram em média 16,5% menores.

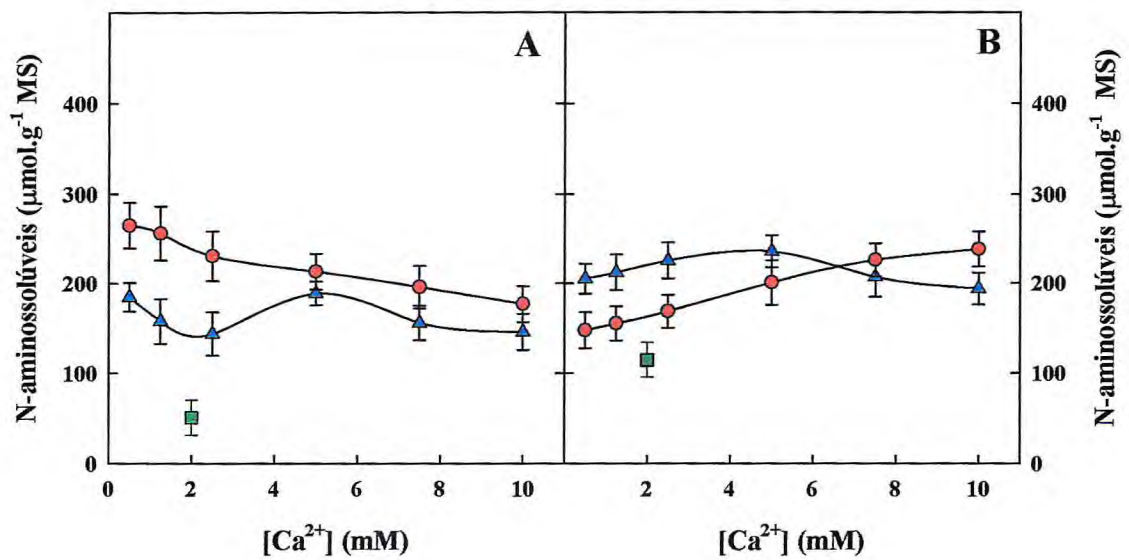
Ressalte-se que os aumentos nos teores de carboidratos solúveis induzidos pela presença do cálcio nas folhas das plantas estressadas, os quais presumivelmente poderiam contribuir para o ajustamento osmótico celular, não se refletiram num grande abaixamento nos valores de  $\Psi_{\text{wf}}$  e  $\Psi_{\text{sf}}$  (Figuras 6 e 7A). Acúmulo nos teores de carboidratos solúveis em plantas em resposta aos estresses hídrico e salino tem sido freqüentemente relatado. Por exemplo, Kerepesi & Galiba (2000), estudando os efeitos da salinidade sobre o conteúdo de carboidratos solúveis em quatro genótipos de trigo, observaram que os mais tolerantes foram os que mais acumularam carboidratos solúveis. Por outro lado, em resposta à salinidade, observou-se aumento nos níveis de carboidratos em folhas de espinafre (ZRENNER & STITT, 1991), trigo (KAMELI & LÖSEL, 1993) sorgo (LACERDA, 2000) e feijão-de-corda (SILVA, 2003), e redução em raízes de feijão-de-corda (COSTA *et al.*, 2003). Aumentos nos carboidratos solúveis em resposta ao estresse salino têm sido interpretados como resultante da inibição da síntese de amido, bem como pelo aumento em sua degradação produzindo açúcares solúveis (GEIGENBERGER *et al.*, 1997). As mudanças nos teores de carboidratos podem ser de grande importância para a adaptação das plantas à salinidade, devido à sua relação direta com alguns processos fisiológicos como a fotossíntese, a translocação e a respiração (KEREPESI & GALIBA, 2000). Também não pode ser descartada a possibilidade do acúmulo de carboidratos nas folhas está associado à redução no consumo pela planta (SERRAJ & SINCLAIR, 2002).

#### **4.6.2. N-aminossolúveis**

Nas folhas, os teores de N-aminossolúveis das plantas do tratamento salino, apresentaram-se maiores que aqueles do controle, independentemente da dose e do sal de

cálcio adicionado ao meio de crescimento das plantas (Figura 9A). No tratamento salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$ , o teor de N-aminossolúvel, decresceu progressivamente com o aumento na concentração desse sal, alcançando na dose de 10,0 mM um valor 42,2% menor que aquele observado na dose mais baixa (0,5 mM). Nas plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ , o comportamento foi um pouco diferente, não sendo observadas variações significativas em função da concentração de cálcio. Em relação ao controle, as plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  e com  $\text{CaSO}_4$ , apresentaram em média aumentos nos teores de N-aminossolúveis, respectivamente, iguais a 338% e 220% (Figura 9A). Por outro lado, esses mesmos teores em plantas do tratamento salino suplementados com  $\text{CaCl}_2$  foram, em média, 37,1% maiores que aqueles no tratamento salino suplementado com  $\text{CaSO}_4$ . É importante destacar que os teores de N-aminossolúveis nas faixas de 0,5 a 2,5 mM foram maiores nos tratamentos contendo  $\text{CaCl}_2$ , porém nas doses mais elevadas os teores não diferiram significativamente daquele do tratamento contendo  $\text{CaSO}_4$ .

Nas raízes, os teores de N-aminossolúveis das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ , elevaram-se, com o aumento na concentração deste sal, sendo sempre superiores àqueles do controle (Figura 9B). Na dose de 10 mM, observou-se um incremento de cerca de 61,4% no teor de N-aminossolúveis em relação àquela na dose de 0,5 mM. Em média, o tratamento salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$  apresentou teor em N-aminossolúvel 64,9% maior em relação ao controle. Nas raízes das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ , não se observou nenhuma tendência de aumento nos valores de N-aminossolúveis (Figura 9B). No entanto, a suplementação do meio salino com  $\text{CaSO}_4$  resultou em um aumento médio de 85,7% nos teores de N-aminossolúveis em relação ao controle. Os N-aminossolúveis são importantes para o ajustamento osmótico, proteção de macromoléculas, eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), manutenção do



**Figura 9.** Teores de N-aminossolúveis em folhas (A) e raízes (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

pH da célula, além de servirem como reservas de N (MANSOUR, 2000). Em folhas de plantas superiores submetidas a estresse salino, tem sido constatado aumento no conteúdo de aminoácidos livres, tanto em espécies tolerantes, quanto em espécies sensíveis (ASHARF & HARRIS, 2004). Acúmulo de N-aminossolúveis em resposta à salinidade foi observado em folhas de plantas de milho (ABD-EL BAKI *et al.*, 2000; AZEVEDO NETO *et al.*, 2004), trigo (MATTIONI *et al.*, 1997), girassol (ASHRAF & TUFAIL, 1995).

De acordo com Silva (2003), que trabalhou com folhas maduras de dois genótipos de sorgo com tolerância diferenciada à salinidade, o estresse salino induziu a um aumento da ordem de 10,0% no teor de N-aminossolúvel no genótipo tolerante, mas não alterou seu conteúdo no sensível. Esse mesmo autor também observou que neste mesmo genótipo a suplementação do meio salino com doses crescentes de cálcio, na forma de  $\text{CaCl}_2$ , causou reduções nos teores deste osmólito, sendo observada uma redução de 33,5% na dose de 8,0 mM. Azevedo Neto *et al.* (2004), estudando oito genótipos de milho com relação a tolerância à salinidade, observaram maior aumento nos teores de N-aminossólúveis no genótipo mais tolerante, o BR5033, fato que sugere a importância desses osmólitos no ajustamento osmótico das plantas. Costa *et al.* (2003), trabalhando com extremidades de raízes de plantas de feijão-de-corda submetidas à salinidade, não observou aumento significativo, em relação ao controle, nos teores de N-aminossolúveis determinados nas sete cultivares estudadas, independentemente dos diferentes graus de tolerância ao estresse entre elas. Todavia, Silva *et al.* (2003), observou um incremento nos níveis de N-aminossolúveis nas raízes de plantas de feijão-de-corda submetidas à salinidade e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  nas concentrações de 5,0 e 10,0 mM.

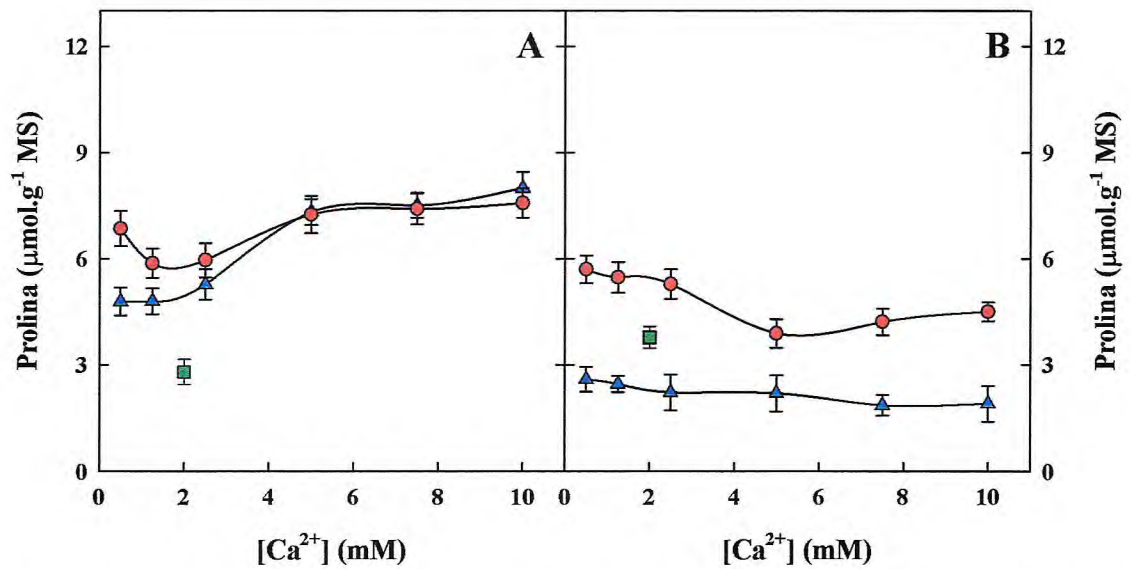
As reduções nos níveis de N-aminossolúveis observadas nas folhas (Figura 9A), em decorrência do aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no meio salino, estão de acordo com os resultados obtidos por ZHU *et al.* (1997) e Silva *et al.* (2003). Um outro fato a ser

considerado, é que o  $\text{Ca}^{2+}$  além de contribuir para a restauração do balanço iônico nas células da folhas, atua como mensageiro secundário, regulando a expressão de genes ligados à síntese de enzimas (LIU & ZHU, 1998; WHITE & BROADLEY, 2003; TAIZ & ZAIGER, 2004). Em termos de ajustamento osmótico, as reduções de N-aminossolúveis nas folhas podem ser compensadas por aumento nos níveis de proteínas solúveis e prolina livre, uma vez que grande parte do N-aminossolúveis encontrado na célula é composto de aminoácidos livres (KARAMANOS, 1995) e seus derivados (NOLTE *et al.*, 1997). Por outro lado, na faixa de concentração entre 0,5 e 5,0 mM, a adição de cálcio suplementar ao meio salino aumentou, em relação ao controle, os níveis destes osmólitos nas raízes das plantas de feijão-de-corda, sendo este efeito mais evidente para o caso do sal  $\text{CaCl}_2$ .

#### 4.6.3. Prolina

Os teores de prolina em resposta à salinidade foram determinados em folhas e raízes de plantas de feijão-de-corda (Figura 10). Os teores de prolina nas folhas das plantas estressadas com NaCl e suplementadas com cálcio, na forma de  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$ , foram superiores àqueles das plantas-controle (Figura 10A). Nas doses de 0,5 e 1,25 mM os teores de prolina foram maiores quando a suplementação do meio salino foi feita com  $\text{CaCl}_2$ . A partir de 2,5 mM, contudo, os teores desse osmólito foram praticamente iguais nas plantas estressadas, independentemente do sal suplementar utilizado no meio de crescimento das plantas. Em média, os teores de prolina nas folhas das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  e com  $\text{CaSO}_4$  foram 142,8% e 124,5%, respectivamente maiores que aqueles do controle (Figura 10A).

Nas raízes os teores de prolina, em média, foram mais baixos que aqueles observados nas folhas e as respostas ao estresse salino nos níveis desse osmólito dependeram do tipo do sal de cálcio empregado (Figura 10B). Diferentemente do



**Figura 10.** Teores de prolina em folhas (A) e raízes (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

observado nas folhas, o aumento na dose de cálcio não resultou em incremento nos teores de prolina, ao contrário, provocou pequena redução nos níveis desse soluto. Em média, os teores de prolina no tratamento estressado suplementado com  $\text{CaCl}_2$  foram 28,3% superiores àqueles do controle e nas plantas suplementadas com  $\text{CaSO}_4$  esses teores foram 41,5% inferiores. É possível, que as reduções observadas nos teores desse soluto nas raízes (Figura 10B) das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ , tenha sido consequência de um desvio metabólico da síntese de glutamato, um precursor da prolina, para a síntese de aminoácidos sulfurados, como a metionina e a cisteína (CORUZZI & LAST, 2000).

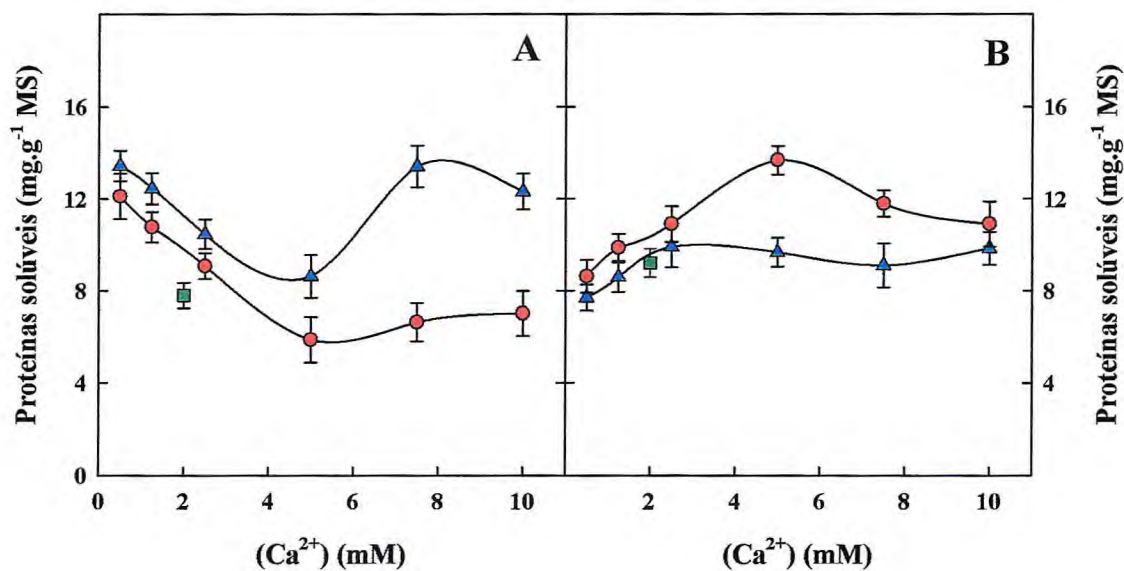
Os teores de prolina em termos absolutos foram relativamente mais baixos que aqueles observados em folhas de outras espécies de plantas, como por exemplo, trigo (ZHU *et al.*, 2005) e arroz (DEMIRAL & TÜRKAN, 2005) e muito inferiores aos de carboidratos (Figura 8) ou de N-aminossolúvel (Figura 9) aqui determinados. Esse último resultado sugere que, embora o teor desse soluto tenha aumentado muito com o estresse, principalmente quando o meio foi suplementado com cálcio em concentrações acima de 5,0 mM, ele provavelmente contribuiu pouco para o ajustamento osmótico nas folhas de feijão-de-corda. Os efeitos resultantes da suplementação do meio salino com  $\text{CaCl}_2$  sobre os teores de prolina nas raízes concordam com os observados em ápices radiculares de feijão-de-corda (SILVA *et al.*, 2003) e em raízes de sorgo (LACERDA, 2000), que não observaram diferenças significativas com relação ao controle em dose superiores a 2,5 mM. Contudo, divergem de outros que acreditam que um dos principais papéis do cálcio é promover o acúmulo desse soluto nas raízes (COLMER, *et al.*, 1996; FRANCO *et al.* 1999). É oportuno ressaltar que existem autores que consideram que a variação nos níveis de prolina não represente uma resposta adaptativa ao estresse, sendo, possivelmente, uma reação ao dano ou ao processo de desidratação desencadeado pelo estresse salino (LUTTS *et al.*, 1996b; LACERDA *et al.*, 2003b).

#### 4.6.4. Proteínas solúveis

Os efeitos das doses crescentes de cálcio adicionadas ao meio salino sobre os teores de proteínas solúveis em folhas e raízes das plantas de feijão-de-corda estão apresentados na Figura 11. Nas folhas, as proteínas solúveis das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  decresceram com o aumento na concentração de cálcio até 5,0 mM, quando a partir daí permaneceram praticamente inalterados, atingindo na concentração de 10,0 mM um valor 42,1% menor que aquele na menor concentração de cálcio (0,5 mM) e 10,3% menor que aquele do controle (Figura 11A). Comportamento semelhante foi observado quando o meio salino foi suplementado com  $\text{CaSO}_4$ , contudo, os valores foram sempre superiores àqueles das plantas suplementadas com cloreto de cálcio. Na concentração de 10 mM, o teor de proteína das plantas estressadas suplementadas com sulfato de cálcio foi 75,7% maior que aquele das plantas suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  no meio salino e 57,9% maior que aquele das plantas-controle.

Nas raízes, os teores de proteínas das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ , contrariamente do que ocorreu nas folhas, cresceram até a dose de 5,0 mM, quando a partir daí começaram a decrescer, atingindo na dose de 10 mM um valor 27,1% maior que aquele na dose mais baixa de cálcio e 19,0% maior que aquele do controle (Figura 11B). No tratamento salino com  $\text{CaSO}_4$ , os teores de proteína cresceram até a dose de 2,50 mM quando a partir daí permaneceram com valor praticamente constante até a concentração mais elevada deste sal (10,0 mM), quando o teor de proteína não diferiu significativamente daquele do controle. É importante ressaltar que, ao contrário do que ocorreu nas folhas (Figura 11A), os teores de proteína nas raízes das plantas estressadas e suplementadas com cloreto de cálcio foram mais elevados do que naquelas suplementadas com sulfato de cálcio (Figura 11B).





**Figura 11.** Teores de proteínas solúveis em folhas (A) e raízes (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

Os resultados evidenciaram que os teores de proteínas das plantas de feijão-de-corda sob estresse salino variaram não apenas com a dose de cálcio, mas também, com o ânion acompanhante. Alguns trabalhos mostram que os efeitos da salinidade nos teores de proteínas solúveis nas folhas são conflitantes. Enquanto alguns autores observaram aumentos no conteúdo de proteínas solúveis (PAREEK *et al.*, 1997; ASHRAF & O'LEARY, 1999; MANSOUR *et al.*, 2003), outros observaram diminuições (MUTHUKUMARASAMY *et al.*, 2000; PARIDA *et al.*, 2002). Por outro lado, tendo em vista o alto custo energético envolvido com a síntese protéica (NELSON & COX, 2004), bem como o fato da síntese protéica envolver a utilização de um grande número de moléculas osmoticamente ativas, no caso os aminoácidos, é improvável que essas macromoléculas sejam utilizadas no ajustamento osmótico celular.

#### **4.7. Contribuição dos Solutos Orgânicos e Inorgânicos para o *Pool* Osmótico**

As contribuições percentuais para o *pool* osmótico foliar dos solutos orgânicos e inorgânicos, calculados pela equação de van't Hoff, são apresentadas na Tabela 1. Sob condições controle, os carboidratos solúveis e o íon potássio foram os solutos que mais contribuíram para o *pool* osmótico foliar, com valores correspondentes, respectivamente, a 33,4 e 27,1% do *pool* osmótico total. Por outro lado, nessas mesmas condições, a prolina e o íon sódio foram os solutos que menos contribuíram para o *pool* osmótico, com valores correspondentes a 0,1 e 1,9% do total, respectivamente. Os outros solutos estudados contribuíram com percentuais que variaram de 6,4 a 10,0%.

Em condições de estresse, enquanto os carboidratos solúveis diminuíram sua contribuição para o *pool* osmótico foliar total em relação ao controle, os N-aminossolúveis e a prolina aumentaram. Ressalte-se, no entanto, que a contribuição da prolina para o *pool* osmótico pode ser considerada inexpressiva quando comparada àquelas

**Tabela 1** – Contribuição percentual dos potenciais osmóticos dos solutos orgânicos e inorgânicos calculados pela equação de van't Hoff, em relação ao total (*pool* osmótico), em folhas de plantas de feijão-de-corda sob condições controle e estressadas com NaCl a 75 mM e suplementada com doses crescentes dos sais de cálcio (CaCl<sub>2</sub> ou CaSO<sub>4</sub>).

Tratamentos	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Carboidratos solúveis	N-amino solúveis	Prolina
<b>Controle</b>	<b>10,0</b>	<b>9,4</b>	<b>1,9</b>	<b>27,1</b>	<b>9,3</b>	<b>6,4</b>	<b>33,4</b>	<b>2,5</b>	<b>0,1</b>
<b>CaCl<sub>2</sub> (mM)</b>									
0,50	3,4	5,4	12,0	18,9	14,8	3,9	33,6	7,8	0,2
1,25	6,6	6,5	11,2	19,6	18,6	3,6	27,6	6,1	0,2
2,50	8,0	4,3	10,3	19,1	19,7	5,7	25,3	7,4	0,2
5,00	7,3	4,4	8,4	18,8	22,5	6,2	26,4	5,8	0,2
7,50	7,6	4,2	9,2	18,2	25,7	5,9	24,0	5,0	0,2
10,00	7,6	3,2	8,1	17,2	27,7	5,1	26,5	4,4	0,2
<b>Médias</b>	<b>6,8</b>	<b>4,7</b>	<b>9,9</b>	<b>18,6</b>	<b>21,5</b>	<b>5,1</b>	<b>27,2</b>	<b>6,1</b>	<b>0,2</b>
<b>CaSO<sub>4</sub> (mM)</b>									
0,50	3,5	5,7	12,8	20,9	19,7	8,2	23,2	5,8	0,2
1,25	6,3	5,9	12,4	20,5	20,5	8,0	22,4	3,9	0,1
2,50	6,3	4,5	9,8	20,0	26,6	7,3	21,2	4,2	0,1
5,00	9,2	6,0	9,5	19,4	20,4	9,1	19,8	6,4	0,2
7,50	11,4	6,8	9,1	18,5	18,1	8,8	23,1	4,0	0,2
10,00	12,1	5,5	9,3	17,7	18,4	7,9	23,8	5,1	0,2
<b>Médias</b>	<b>8,1</b>	<b>5,7</b>	<b>10,5</b>	<b>19,5</b>	<b>20,6</b>	<b>8,2</b>	<b>22,3</b>	<b>4,9</b>	<b>0,2</b>

dos outros solutos e sugere um papel secundário desse aminoácido para o ajustamento osmótico foliar das plantas de feijão-de-corda sob estresse salino. Tais resultados, com relação à prolina, foram semelhantes aos reportados para outras espécies cultivadas (LUTTS *et al.*, 1996b; MELONI *et al.*, 2003; LACERDA *et al.*, 2003b).

A contribuição dos carboidratos para o *pool* osmótico, sob condições de estresse, decresceu com o aumento na concentração de  $\text{CaCl}_2$  no meio, apresentando uma redução média de 18,6% em relação ao controle. Em presença de  $\text{CaSO}_4$  suplementar ao meio salino essa contribuição para o *pool* osmótico não variou com a concentração de cálcio e, em média, foi 33,2% menor que aquela do controle. É importante destacar que, embora a contribuição percentual dos carboidratos para o *pool* osmótico foliar tenha diminuído, seus teores aumentaram com o estresse salino (Figura 8). Esse fato indica que tal redução ocorreu em função de um predomínio de aumento na contribuição de outros solutos para o *pool* osmótico foliar, causado pela salinidade. Como observado, foi muito grande o aumento na contribuição do íon cloreto que, em média, sob estresse, atingiu um valor próximo àquele dos carboidratos, diferentemente da situação controle, em que a contribuição dos carboidratos solúveis foi cerca de 259% maior que a do cloreto (Tabela 1). Convém ressaltar que, embora os íons cloreto e sódio possam contribuir para o ajustamento osmótico, eles quando em excesso tornam-se tóxicos, acumulando-se no apoplasto, acelerando a desidratação dos tecidos e promovendo distúrbios metabólicos (MUNNS, 2002). Os N-aminossolúveis, considerando a média de todos os tratamentos salinos, aumentaram sua contribuição para o *pool* osmótico em 120%, em relação ao controle. Esse resultado foi concordante com aquele da Figura 9, mostrando que os teores de N-aminossolúveis nas folhas foram bastante aumentados pela salinidade, sugerindo um papel importante desses solutos orgânicos no ajustamento osmótico celular (MANSOUR, 2000; PARIDA & DAS, 2005).

Em condições de estresse, a contribuição do  $K^+$  para o *pool* osmótico foliar foi reduzida em relação ao controle e o cálcio suplementar ao meio salino, quer na forma de  $CaCl_2$  ou de  $CaSO_4$ , teve pouco efeito nessa resposta (Tabela 1). Considerando a média dos tratamentos salinos, a redução na contribuição do potássio para o *pool* osmótico foliar foi de 29,7% em relação ao controle. É importante ressaltar que, apesar da salinidade ter provocado grandes aumentos nas contribuições dos íons  $Na^+$  e  $Cl^-$  para o *pool* osmótico foliar, a queda na contribuição do potássio foi relativamente pequena, fato que ressalta a importância desse íon para os processos metabólicos e/ou para o ajustamento osmótico celular.

Levando em conta todos os tratamentos salinos, as contribuições dos íons  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$  para o *pool* osmótico foliar apresentaram reduções médias, em relação ao controle, de 25,5 e 44,7%, respectivamente (Tabela 1). Analisando-se a contribuição do  $Ca^{2+}$  para o *pool* osmótico foliar, em função das doses crescentes de  $CaCl_2$  suplementar ao meio salino, observa-se um aumento nesta contribuição somente até a dose de 2,5 mM. Por outro lado, quando a suplementação do meio salino foi feita com  $CaSO_4$ , houve um crescente aumento na contribuição do cálcio para o *pool* osmótico foliar, de tal forma que na dose mais elevada deste sal (10 mM) a contribuição do  $Ca^{2+}$  foi superior àquela apresentada sob condições controle em cerca de 21,0%.

No caso do  $Mg^{2+}$  a aplicação de doses crescentes de  $CaCl_2$  ao meio salino resultou, em média, numa diminuição da contribuição de  $Mg^{2+}$  em cerca de 50% em relação ao controle. Com relação às plantas suplementadas com  $CaSO_4$ , houve contribuição do magnésio para o *pool* osmótico foliar, porém, a contribuição desse soluto diminuiu em média 39,4% em relação às plantas-controle. Em média, a contribuição do  $SO_4^{2-}$  para o *pool* osmótico foliar das plantas sob estresse e suplementadas com  $CaCl_2$  foi 20,3% menor que aquela do controle, enquanto que com  $CaSO_4$  a contribuição deste ânion aumentou

28,1%, em relação ao controle (Tabela 1). Esse aumento na contribuição do  $\text{SO}_4^{2-}$  para o *pool* osmótico deveu-se, provavelmente, a uma maior absorção desse ânion em função do aumento na concentração de  $\text{CaSO}_4$  no meio salino.

Nas raízes, os solutos que mais contribuíram, sob condições controle, para o *pool* osmótico foram o potássio, os carboidratos solúveis e o cloreto, com valores, respectivamente, de 27,7, 27,0 e 22,2% (Tabela 2). Por outro lado, prolina,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  contribuíram apenas com 0,1, 1,2, 1,8 e 2,0%, respectivamente, para o *pool* osmótico das raízes, enquanto os N-aminossolúveis e o  $\text{SO}_4^{2-}$  contribuíram com 6,0 e 12,0%, respectivamente. Portanto, em condições controle as contribuições dos íons  $\text{Cl}^-$  e  $\text{SO}_4^{2-}$  para o *pool* osmótico nas raízes foram bem maiores que aquelas nas folhas, enquanto que as contribuições dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  foram, por outro lado, bem menores (Tabelas 1 e 2).

Em condições de estresse e considerando a média de todos os tratamentos salinos, enquanto o cloreto aumentou sua contribuição para o *pool* osmótico nas raízes em relação ao controle em cerca de 33,3%, o sódio apresentou um aumento de cerca de 1.155%. Esse grande aumento na contribuição do  $\text{Na}^+$  foi, provavelmente, responsável pela queda significativa na contribuição do  $\text{K}^+$  para o *pool* osmótico radicular, tanto em meio salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$  (redução média de 48,4%) como aquele suplementado com  $\text{CaSO}_4$  (redução média de 27,1%) (Tabela 2). Além disso, possivelmente, o grande aumento na contribuição do sódio para o *pool* osmótico das raízes, sob condições de estresse, também foi responsável pelas quedas nas contribuições dos carboidratos solúveis,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , que apresentaram contribuições para o *pool* osmótico inferiores àquelas das folhas das plantas estressadas.

**Tabela 2** – Contribuição percentual dos potenciais osmóticos dos solutos orgânicos e inorgânicos calculados pela equação de van't Hoff, em relação ao total (*pool* osmótico), em raízes de plantas de feijão-de-corda sob condições controle e estressadas com NaCl a 75 mM e suplementada com doses crescentes dos sais de cálcio (CaCl<sub>2</sub> ou CaSO<sub>4</sub>).

Tratamentos	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Carboidratos solúveis	N-amino solúveis	Prolina
<b>Controle</b>	<b>2,0</b>	<b>1,2</b>	<b>1,8</b>	<b>27,7</b>	<b>22,2</b>	<b>12,0</b>	<b>27,0</b>	<b>6,0</b>	<b>0,1</b>
<b>CaCl<sub>2</sub> (mM)</b>									
0,50	0,4	0,5	27,7	12,4	24,4	5,1	22,2	7,2	0,1
1,25	0,4	0,5	26,5	14,2	25,6	6,7	19,5	6,5	0,1
2,50	0,5	0,4	27,1	12,6	20,2	8,1	22,6	8,4	0,1
5,00	0,6	1,1	22,1	15,5	32,7	6,4	16,0	5,5	0,1
7,50	0,7	0,8	24,1	16,2	26,4	7,0	19,2	5,5	0,1
10,00	0,6	0,5	24,1	14,9	28,9	6,7	18,0	6,2	0,1
<b>Médias</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>25,3</b>	<b>14,3</b>	<b>26,4</b>	<b>6,7</b>	<b>19,6</b>	<b>6,6</b>	<b>0,1</b>
<b>CaSO<sub>4</sub> (mM)</b>									
0,50	1,2	0,5	17,7	21,1	35,1	6,7	14,3	3,3	0,1
1,25	1,1	0,8	19,9	22,3	29,3	7,0	15,1	4,3	0,2
2,50	1,1	0,7	19,1	19,6	34,1	6,3	15,1	3,9	0,1
5,00	1,2	0,8	17,6	19,9	35,2	6,6	13,8	4,8	0,1
7,50	0,8	0,4	24,4	19,3	28,6	6,1	15,1	5,2	0,1
10,00	0,8	0,4	20,8	18,9	34,2	5,7	14,8	4,3	0,1
<b>Médias</b>	<b>1,0</b>	<b>0,6</b>	<b>19,9</b>	<b>20,2</b>	<b>32,8</b>	<b>6,4</b>	<b>14,7</b>	<b>4,3</b>	<b>0,1</b>

## 4.8. Elementos Minerais e Relações Iônicas sob Condições de Salinidade

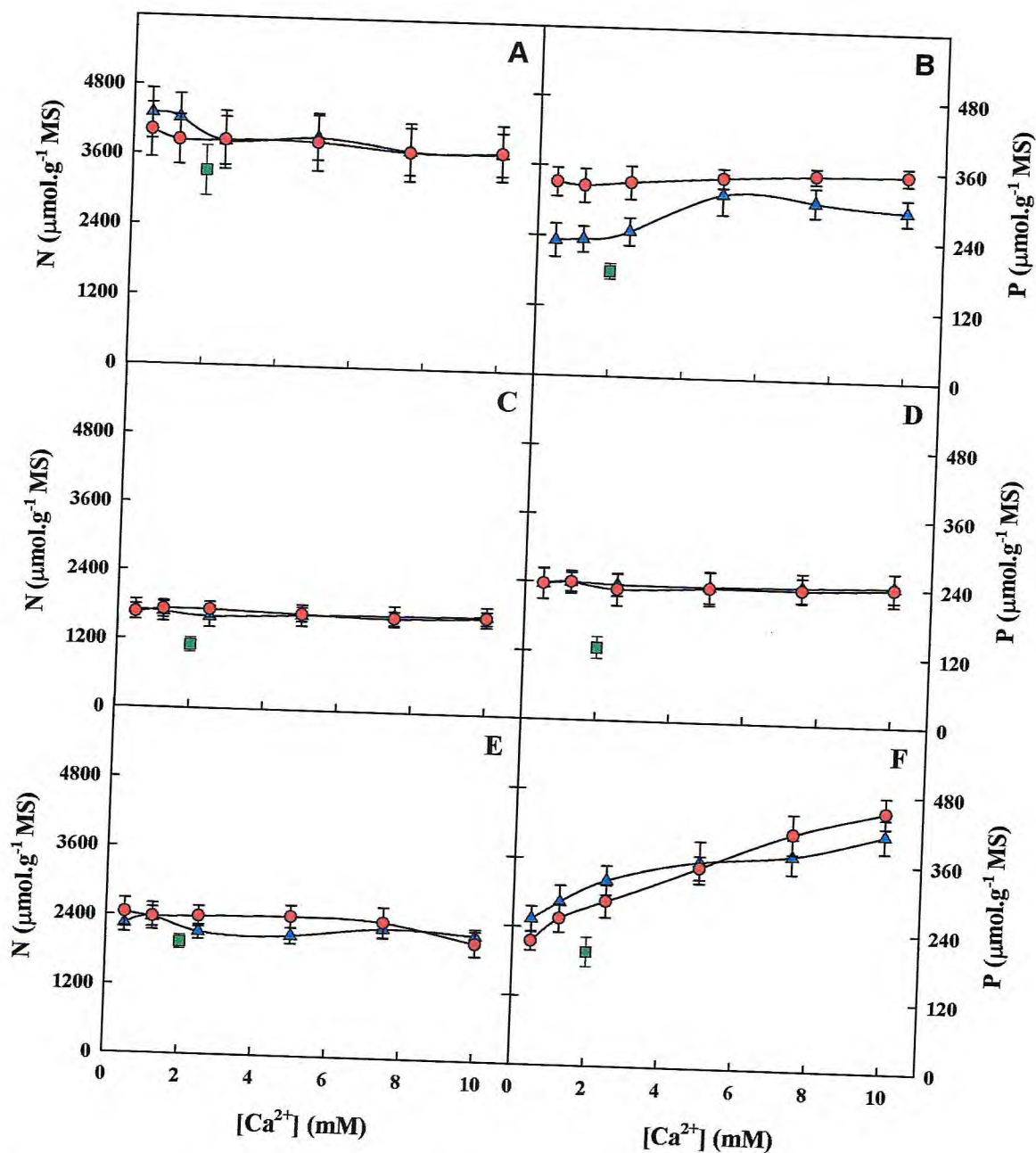
### 4.8.1. Nitrogênio, fósforo e enxofre

Os teores de nitrogênio (N), nas diferentes partes das plantas sob estresse salino, aumentaram em relação àqueles das plantas-controle, sendo que os maiores incrementos relativos em resposta à salinidade ocorreram nos caules + pecíolos (Figura 12A, C, E). Esses aumentos nos teores de N em resposta à salinidade têm sido observados por outros autores (RAHMAN *et al.*, 1993; FERNANDES *et al.*, 2002), embora em algumas espécies tenha sido verificada redução (MONTE, 2003; RAMOLIYA *et al.*, 2004).

Em relação ao controle, verificaram-se aumentos médios em N de 15,3% nas folhas, 51,8% nos caules + pecíolos e 20,1% nas raízes das plantas estressadas que receberam suplementação com cloreto de cálcio. Por outro lado, nas plantas suplementadas com  $\text{CaSO}_4$  constatou-se um aumento médio no N, em relação às plantas controle, de 19,0% nas folhas, 50,6% nos caules + pecíolos e 13,3% nas raízes. Esses resultados mostraram, também, que não foram observadas alterações importantes nos teores desse nutriente pela suplementação do meio salino com diferentes doses de sais de cálcio que pudessem ser consideradas como uma tendência de melhoria pelo cálcio aplicado. É possível que o aumento nos teores de N, sob condições de salinidade, seja simplesmente consequência da redução no crescimento (Figura 1), gerando um efeito de concentração, desde que tais teores foram expressos com base na matéria seca (PALLANIAPPAN & YERRISWAMY, 1997).

Os teores de fósforo (P) aumentaram nas diferentes partes das plantas estressadas quando comparados àqueles das plantas-controle, sendo o aumento nas folhas, em média, maior nas plantas suplementadas com cloreto de cálcio (Figura 12B, D, F). Em relação ao controle, nas plantas que receberam cloreto de cálcio, foram observados aumentos

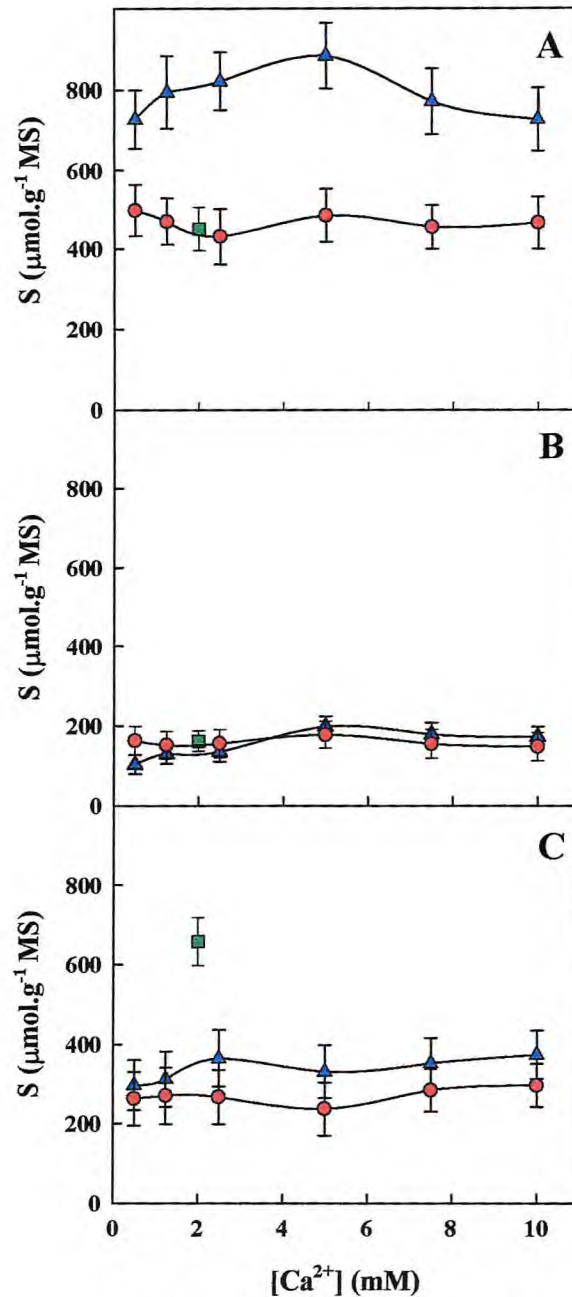




**Figura 12.** Teores de nitrogênio (N) e fósforo (P) em folhas (A e B), caules + pecíolos (C e D) e raízes (E e F) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

médios de 88,1% nas folhas, 85,7% nos caules + pecíolos, 65,2% nas raízes, enquanto que nas plantas estressadas com sulfato de cálcio esses aumentos foram de 50,3% nas folhas, 88,2% nos caules + pecíolos e 68,2% nas raízes (Figura 12B,D,F). Embora o estresse salino tenha provocado aumento nos teores de P nas diversas partes da planta, nos caules + pecíolos, esse aumento foi independente da concentração e tipo do sal de cálcio utilizado no meio. Também, nas folhas do tratamento salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$ , o aumento nos teores de P independeram da dose de cálcio. Contudo, nas raízes constatou-se um aumento gradativo no teor desse nutriente com o aumento na concentração do cálcio independentemente do tipo de sal empregado. Diversos pesquisadores reportam ausência de efeito, diminuição ou acréscimo nos teores de P em plantas de diferentes espécies sob condições de salinidade (GRATTAN & GRIEVE, 1992; MONTE *et al.*, 2004). Os aumentos aqui observados nos teores de P em resposta ao estresse, confirmam os resultados obtidos em folhas de feijão-de-corda (SILVA *et al.*, 2003), e parecem indicar que a salinidade favorece a absorção de fosfato (MARSCHNER, 1995). Esse resultado sugere que as plantas estressadas podem crescer com níveis mais baixos de P no meio nutritivo e que níveis supra-ótimos desse nutriente podem ser alcançados mais rapidamente em plantas submetidas a estresse salino do que em plantas cultivadas em meio não salino (MARSCHNER, 1995). Isso também ressalta a necessidade de cautela no caso de adubação fosfatada em meio salino, pois o nível ótimo do nutriente para a produção vegetal na ausência de sais pode ser tóxico para algumas plantas cultivadas em meio salino (GRATTAN & MAAS, 1984).

As variações nos teores de enxofre (S) foram influenciadas pela salinidade, pelo tipo de sal de cálcio suplementar ao meio, bem como pelas partes da planta analisadas (Figura 13). Os teores de S nas plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ , em relação às plantas controle, diminuíram 59,1% nas raízes, porém não foram alterados

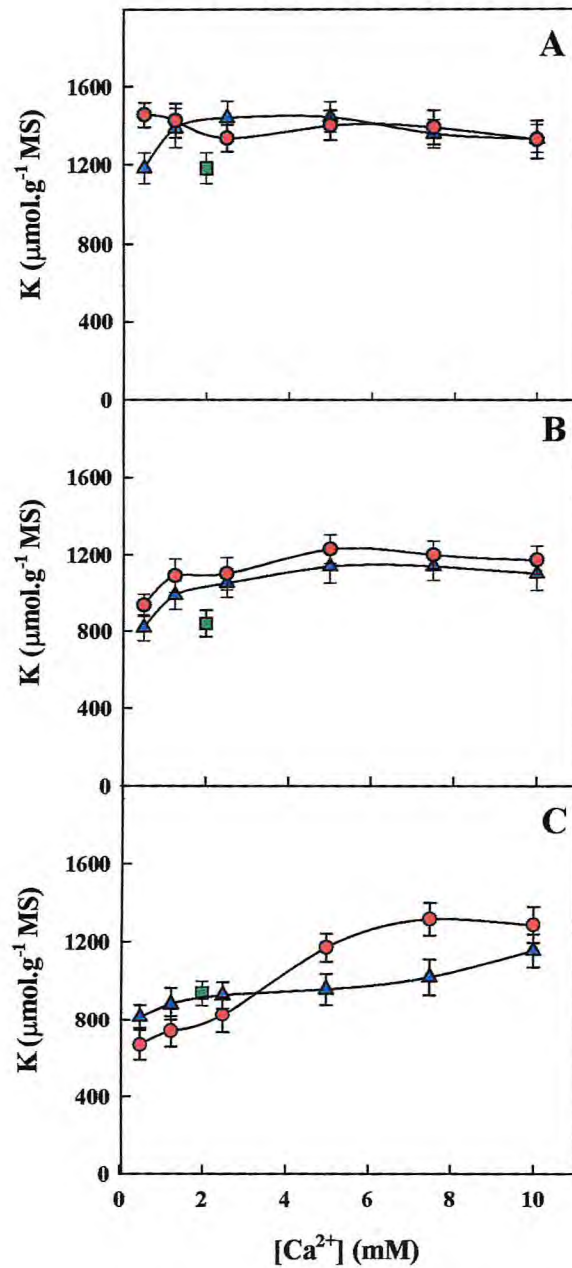


**Figura 13.** Teores de enxofre (S) em folhas (A), caules + pecíolos (B) e raízes (C) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

significativamente nas folhas e caules + pecíolos. Por outro lado, nas plantas que receberam  $\text{CaSO}_4$  o teor de enxofre, em média, não variou significativamente nos caules + pecíolos, porém aumentou 74,6% nas folhas e diminuiu 48,6% nas raízes, com relação aos respectivos controles (Figura 13). É importante destacar que tanto nas raízes como nos caules + pecíolos, as diferenças entre os tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$ , em geral, não foram significativas. Nas folhas os teores de enxofre das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$  foram, em média, cerca de 68,2% maior que aqueles das plantas suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ . Este acúmulo de enxofre nas folhas deve ser consequência do emprego de sulfato de cálcio na solução salina. Apesar de parecer benéfico para a planta o acúmulo desse nutriente na parte aérea pode proporcionar perdas de enxofre (na forma de  $\text{SO}_2$ ) através dos estômatos (MARSCHNER, 1995). O enxofre é constituinte de proteínas (incluindo diversas enzimas) e coenzimas, sendo na forma do grupo sulfidril ( $\text{SH}$ ), um ativador enzimático. Além disto, o enxofre faz parte da molécula de clorofila (TEIXEIRA, 2004).

#### **4.8.2. Potássio, cálcio e magnésio**

A distribuição do potássio (K) nas diferentes partes das plantas submetidas à salinidade, quando comparada ao tratamento controle, sofreu alterações significativas (Figura 14). Em média, nas folhas e nos caules + pecíolos, os teores de K aumentaram com a salinidade, embora não tenham sido observadas diferenças significativas entre os tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$ . Além disso, nestes dois órgãos, os teores deste elemento mineral variaram pouco com as doses de cálcio empregadas. Considerando-se a média de todos os tratamentos salinos, nas folhas, o aumento no teor de K foi de 24,9%, enquanto no caule o aumento foi de 28,6%, em relação ao controle (Figura 14A).



**Figura 14.** Teores de potássio (K) em folhas (A), caules + pecíolos (B) e raízes (C) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲)] nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

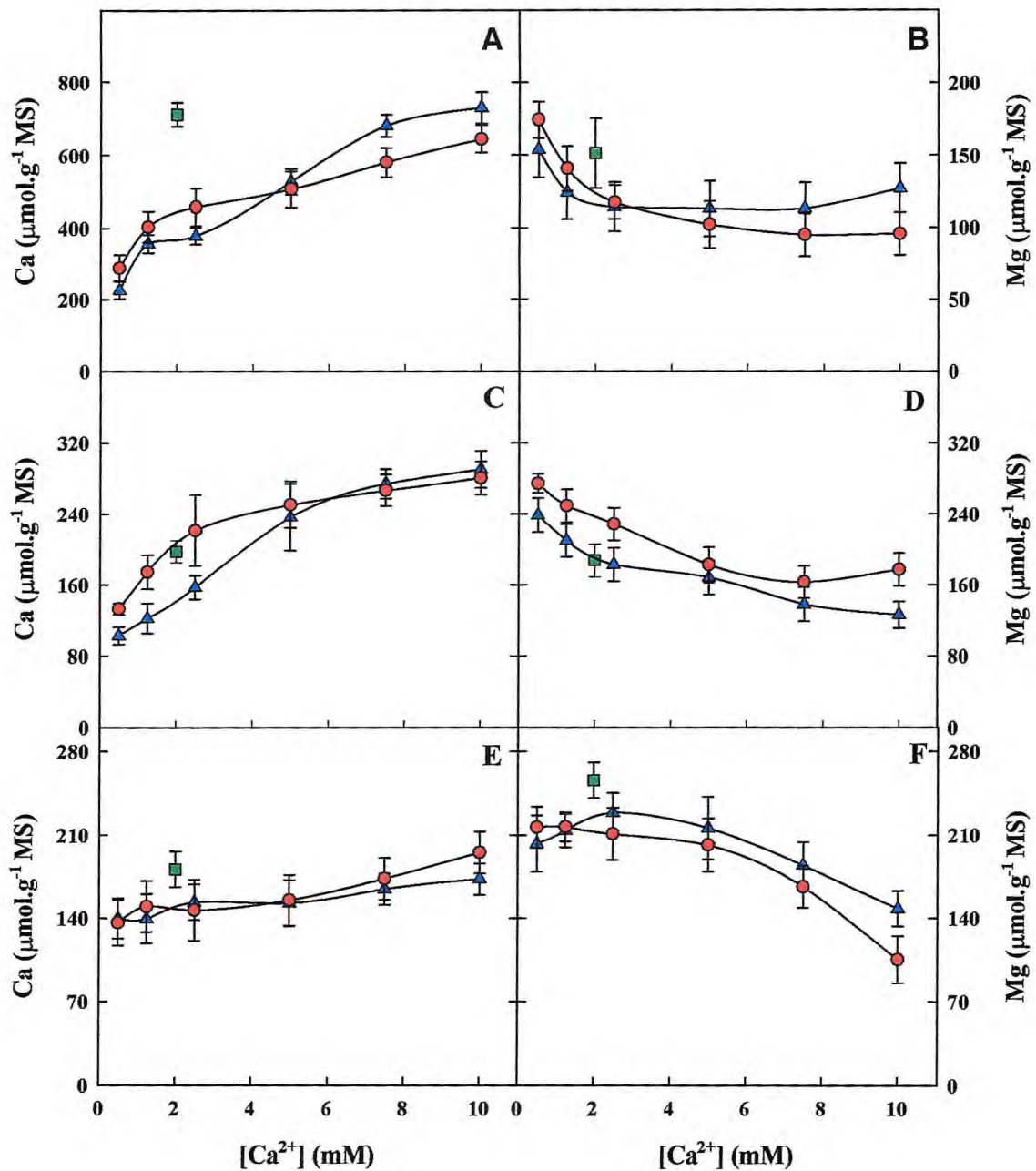
Nas raízes, entretanto, os teores de potássio variam não só com o tipo de sal de cálcio suplementar ao meio, mas também com a dose empregada (Figura 14C). Na presença de  $\text{CaCl}_2$  ao meio salino houve um aumento significativo em relação ao controle, nos teores de potássio somente a partir da dose de 5,0 mM de cálcio, enquanto que na presença de  $\text{CaSO}_4$  este aumento só foi significativo na dose mais elevada (10,0 mM). Nessa dose, em relação aos seus respectivos controles, o tratamento salino com  $\text{CaSO}_4$ , aumentou em cerca de 23,4%, enquanto que com  $\text{CaCl}_2$  esse aumento foi de 37,5% (Figura 14C). O aumento nos teores de K nas raízes das plantas estressadas pode estar associado à diminuição nos teores de sódio nos tecidos celulares, pelo emprego das doses crescentes dos sais de cálcio ao meio. Como se sabe, a elevação da concentração de Ca no ambiente radicular além de reduzir a absorção de íons potencialmente tóxicos, como o  $\text{Na}^+$ , favorece a absorção de íons essenciais, como o  $\text{K}^+$  (COLMER *et al.*, 1996).

Em condições de estresse salino, os teores de K aumentaram em folhas de milho (ERDEI & TALEISNIK, 1993), feijão-de-corda (COSTA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2003) e cajueiro (ABREU, 2004). Todavia, outros pesquisadores observaram que o estresse salino reduziu o teor de K, em folhas de milho (AZEVEDO NETO *et al.*, 2004) e sorgo (LACERDA, 2000, NETONDO *et al.*, 2004), e em raízes de milho (AZEVEDO NETO, 1997) e citrus (RUIZ *et al.*, 1997). Essa redução na absorção de  $\text{K}^+$  e o concomitante aumento da absorção de  $\text{Na}^+$  pelas plantas estressadas, é um processo competitivo e ocorre quando a solução é dominada por excesso de sais de sódio (GRATTAN & GRIEVE, 1999). Esses resultados conflitantes podem estar relacionados com diversos fatores, incluindo manejo da cultura, variedade, idade das plantas, intensidade e duração do estresse, tipo de salinidade, além da temperatura e umidade relativa do ar (FLOWERS, 2004).

Os teores de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foram afetados pela salinidade e o cálcio suplementar ao meio nutritivo provocou respostas diferentes e dependentes da dose (Figura 15). A salinidade reduziu os teores de cálcio nas diversas partes da planta, especialmente nas folhas, efeito que foi revertido pelo aumento das doses de  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  no meio nutritivo. Nos caules + pecíolos e raízes as reduções nos teores de Ca somente foram evidentes em doses muito baixas de cálcio no meio, porém em doses acima de 5 mM de  $\text{CaCl}_2$  ou de  $\text{CaSO}_4$  os teores deste cátion foram maiores que os dos respectivos controles. As reduções nos teores de Ca nas raízes e folhas podem ser explicadas pela inibição do influxo e translocação deste cátion para a parte aérea, bem como por seu efluxo nas células das raízes (RENGEL, 1992). Em adição a isto, o sódio presente no meio salino desloca e substitui o cálcio presente nas membranas (CRAMER *et al.*, 1985; LAÜCHLI, 1990).

Os teores de Mg nas folhas e, especialmente, nas raízes das plantas estressadas apresentaram, de modo geral, reduções devido à salinidade, em relação ao controle (Figura 15B, D e F). Contudo, de forma contrária ao observado para o Ca nestas partes da planta, as doses crescentes de  $\text{CaCl}_2$  ou de  $\text{CaSO}_4$  no meio salino acentuaram esta redução. Também, da mesma forma que para o Ca, os teores de Mg sofreram pouca variação com o tipo de sal de cálcio suplementar ao meio. Nos caules + pecíolos, os teores de Mg foram maiores nas plantas estressadas e suplementadas com pequenas doses de cálcio, enquanto que em doses mais elevadas deste cátion, a partir de 5,0 mM, os valores praticamente não diferiram em relação ao controle.

Nas raízes, as grandes reduções nos teores de magnésio em doses elevadas de  $\text{CaCl}_2$  ou de  $\text{CaSO}_4$  no meio salino, devem-se, provavelmente, a um processo de inibição competitiva do cálcio em relação ao magnésio (MARSCHNER, 1995; MENGEL & KIRKBY, 2001; FURLANI, 2004). A presença de elevadas concentrações de Na ou Ca no meio de cultivo, provoca efeitos antagônicos na absorção de  $\text{Mg}^{2+}$ , reduzindo seus



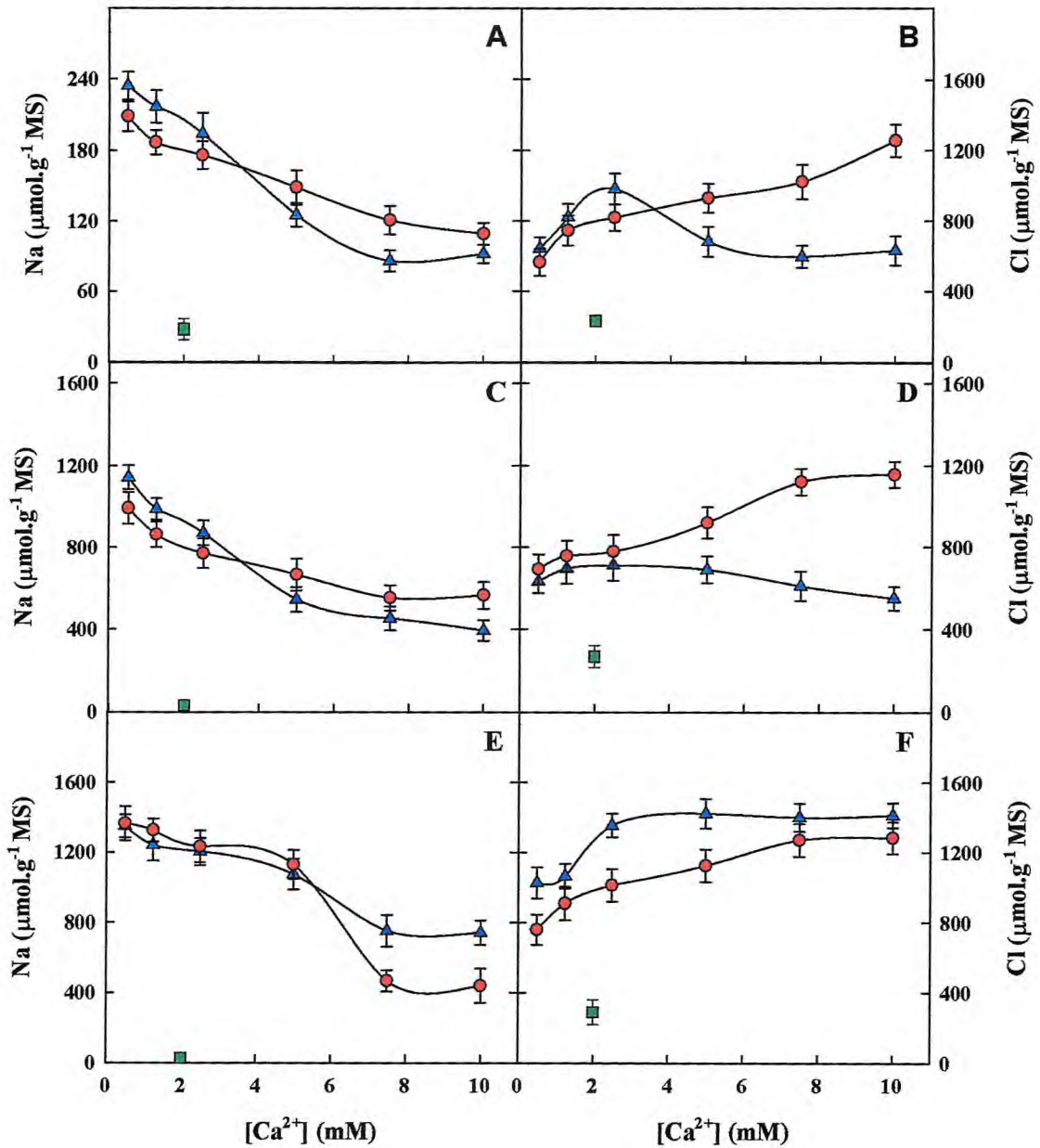
**Figura 15.** Teores de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em folhas (A e B), caules + pecíolos (C e D) e raízes (E e F) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.



teores nas plantas (CRAMER *et al.*, 1985; MENGEL & KIRKBY, 2001). Esses resultados concordam com os encontrados em plantas de trigo (DEVITT *et al.*, 1984) e milho (AZEVEDO NETO, 1997), onde a salinidade provocou reduções nos teores de Mg nas folhas e raízes. Por outro lado, plantas de feijão respondem aos efeitos da salinidade elevando os teores de magnésio na parte aérea (BHIVARE & NIMBALKAR, 1984) e reduzindo-os nas raízes (ARAÚJO, 1994). Essa variabilidade na resposta das plantas estressadas por sais ressalta a necessidade de estudos mais aprofundados sobre a influência da salinidade na absorção e no acúmulo de macronutrientes nos diferentes órgãos e tecidos das plantas. No presente estudo, as maiores reduções nos teores de Mg provocadas pela salinidade ocorreram nas raízes, evidenciando um maior efeito da salinidade na absorção e/ou uma maior translocação deste íon absorvido para a parte aérea em detrimento do seu acúmulo nas raízes.

#### **4.8.3. Sódio e cloreto**

A salinidade alterou o acúmulo e distribuição dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nas diversas partes das plantas de feijão-de-corda (Figura 16), o que também tem sido observado por outros autores (LACERDA, 1995; SILVA *et al.*, 2003; COSTA *et al.*, 2003). Mesmo tendo havido aumento nos teores de sódio e de cloreto nas folhas, caules + pecíolos e raízes das plantas estressadas, em relação aos respectivos controles, esses valores, todavia, foram inferiores àqueles encontrados por Lacerda (1995), utilizando a mesma cultivar de feijão-de-corda aqui empregada. Essa discrepância pode ser interpretada como resultante do tempo de exposição das plantas aos sais, uma vez que neste trabalho as plantas foram expostas à salinidade por apenas 24 dias, enquanto que os resultados observados por Lacerda (1995) foram obtidos com plantas expostas à salinidade por 45 dias. Levando-se em consideração os valores absolutos dos teores de sódio nas diferentes partes



**Figura 16.** Teores de sódio (Na) e cloro (Cl) em folhas (A e B), caules + pecíolos (C e D) e raízes (E e F) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $Ca^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $CaCl_2$  (●) ou  $CaSO_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

da planta, observou-se que o acúmulo desse íon nos caules + pecíolos foi da mesma ordem de grandeza que aquele das raízes, e ambos, por sua vez, foram bem maiores que o observado nas folhas (Figura 16A, C e E). Um grande acúmulo de  $\text{Na}^+$ , bem como de  $\text{Cl}^-$  nas raízes, também foi uma resposta observada em plantas de pimenteira (CHARTZOULAKIS & KLAPAKI, 2000), enquanto que na halófita *Suaeda fruticosa*, esses íons acumularam-se principalmente na parte aérea (KHAN *et al.*, 2000).

O menor acúmulo de sódio nas folhas está, geralmente, associado à relativa habilidade das glicófitas em limitar a absorção e/ou o transporte de íons tóxicos (principalmente  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) da zona radicular para a parte aérea, evitando seu acúmulo, em níveis que excedam a habilidade das células em compartimentalizá-los no vacúolo (GREENWAY & MUNNS, 1980; MUNNS, 2002). No caso das glicófitas, o menor teor de  $\text{Na}^+$  observado nas folhas, pode estar relacionado à seletividade em sua absorção radicular, a uma maior taxa de retranslocação desse íon para as raízes, via floema, ou à maior retenção do mesmo nos caules. Essa capacidade de excluir o sódio e, conseqüentemente, evitar seu acúmulo excessivo nas folhas é uma indicação de que a planta apresenta característica de adaptação à salinidade e pode explicar, pelo menos em parte, porque o *Vigna unguiculata* é mais tolerante do que o *Phaseolus vulgaris* (LAHAYE & EPSTEIN, 1969; LACERDA, 1995).

A redução no teor de sódio tem sido apontada como o principal efeito benéfico do  $\text{Ca}^{2+}$  em plantas sob condições de estresse salino (RENGEL, 1992, KAYA *et al.*, 2002, GIRIJA *et al.*, 2002). No entanto, embora a adição dos sais de cálcio ao ambiente radicular das plantas de feijão-de-corda estressadas tenha provocado grandes reduções nos teores de  $\text{Na}^+$ , especialmente nas raízes, ela não minorou na mesma proporção os efeitos do estresse nas relações hídricas (Figuras 6 e 7) e no crescimento das plantas (Figuras 1 e 2). Os resultados obtidos, portanto, não dão suporte à hipótese de que o cálcio suplementar

neutraliza os efeitos inibitórios do estresse induzido pela salinidade e confirmam as informações de Reid & Smith (2000) de que o aumento na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no meio de nutrição não afeta igualmente o crescimento vegetativo e a absorção de  $\text{Na}^+$ . Segundo esses autores, a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  requerida para afetar o crescimento é menor do que a necessária para o controle da absorção de  $\text{Na}^+$ , em plantas sob estresse salino. Aparentemente, os efeitos benéficos do  $\text{Ca}^{2+}$  na redução da toxicidade do  $\text{Na}^+$  podem ser sobrepujados pelos efeitos osmóticos associados com o aumento da concentração total de sais (SILVA *et al.*, 2003; LACERDA *et al.*, 2004).

Os teores de cloreto nas diversas partes estudadas das plantas aumentaram com a salinidade e variaram com o tipo e dose do sal de cálcio aplicado ao meio nutritivo (Figura 16B, D e F). É importante destacar que, independentemente do órgão, nas plantas estressadas que foram suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ , ocorreram aumentos gradativos nos teores de  $\text{Cl}^-$  com a elevação das doses desse sal, sendo que nas plantas que receberam  $\text{CaSO}_4$  ocorreu uma discreta diminuição nas folhas e caules + pecíolos e um aumento nas raízes (Figura 16B, D e F). Em concentrações de cálcio no meio salino acima de 8,0 mM, os teores de cloreto nas plantas estressadas suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  foram mais elevados que os de sódio, independentemente do órgão da planta analisado. Contudo, as maiores diferenças ocorreram nas folhas, especialmente na dose mais elevada de  $\text{CaCl}_2$  (10 mM), quando o teor de cloreto foi cerca de 10 vezes maior que aquele do sódio (Figura 16A e B).

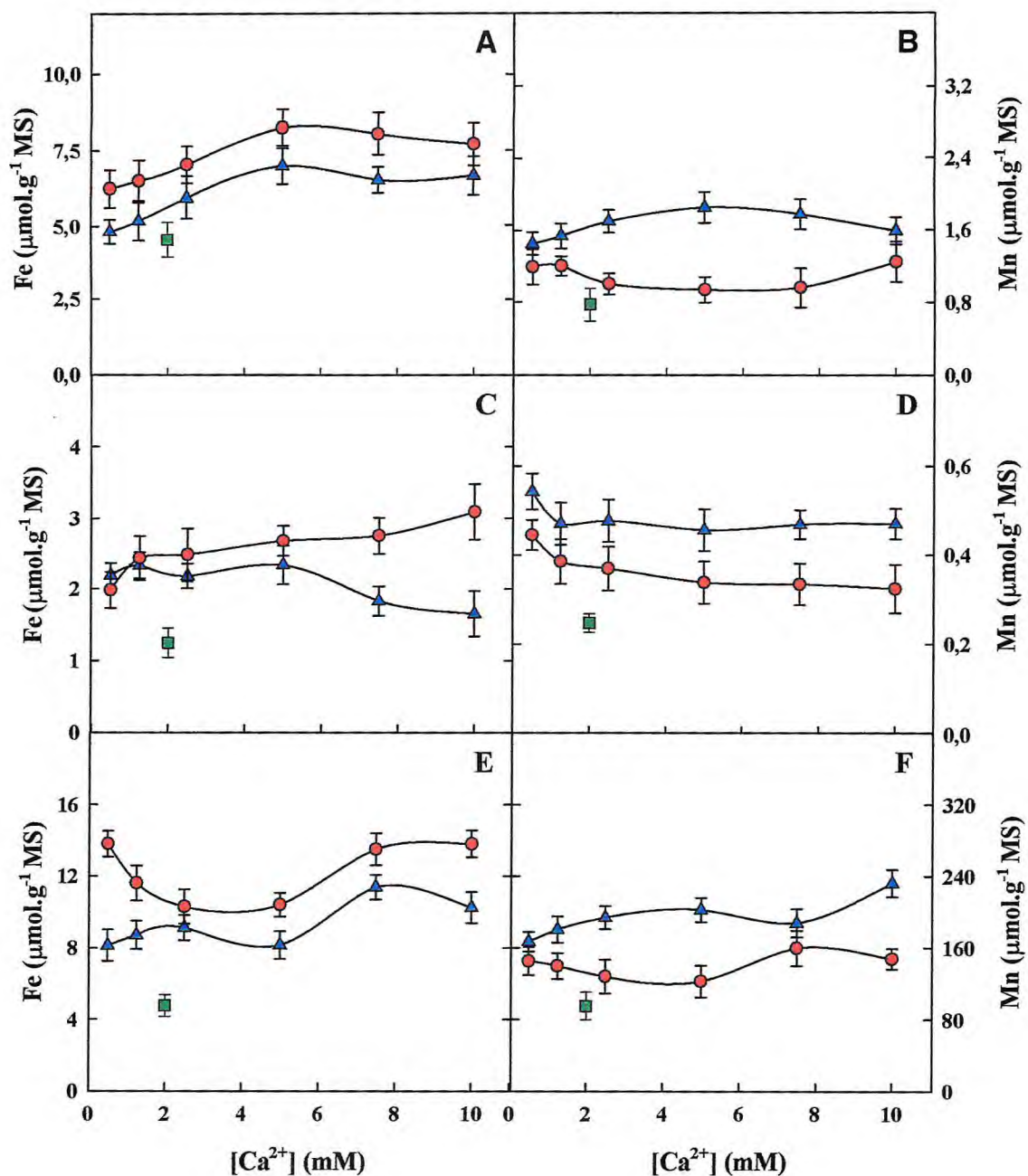
A capacidade das plantas de feijão-de-corda de acumular mais cloreto que sódio em seus tecidos, também foi comprovada analisando-se os teores desses íons sob condições controle, sendo observado que, para qualquer órgão analisado, o teor de cloreto foi sempre maior que o de sódio. No entanto, o aumento relativo, provocado pelo estresse salino, foi maior para o sódio, principalmente nas doses mais baixas de cálcio (Figura 16). Os elevados teores de cloreto nas plantas-controle, deveu-se, provavelmente, ao emprego

de KCl como fonte de K na solução nutritiva. Além disso, os elevados teores de cloreto nas folhas, em níveis mais elevados que os de sódio evidenciam a participação desse ânion no incremento na suculência foliar de plantas sob estresse salino (ZEKRI, 1991).

#### **4.8.4. Ferro, manganês, cobre e zinco**

Os teores de ferro (Fe) e manganês (Mn) aumentaram nas diferentes partes das plantas em resposta a adição de NaCl na solução nutritiva. No entanto, a resposta das plantas ao estresse salino variou em função do sal de cálcio aplicado ao meio (Figura 17). Em relação aos respectivos controles, nas plantas estressadas que receberam  $\text{CaCl}_2$  os teores de Fe e Mn aumentaram, em média, respectivamente, 60,6 e 41,6%, nas folhas; 105,6 e 48,1%, nos caules + pecíolos e 156,4 e 47,6%, nas raízes. No caso das plantas suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ , em relação aos respectivos controles, os teores de Fe e Mn apresentaram aumentos médios, respectivamente, de 32,6 e 114,3%, nas folhas; de 67,2 e 92,1%, nos caules + pecíolos e de 94,8 e 103,7%, nas raízes (Figura 17).

É interessante notar, ainda, que nas diferentes partes das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ , os teores de ferro foram sempre mais elevados que aqueles nas plantas suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ . Entretanto, situação inversa ocorreu com os teores de manganês que, nas plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ , foram em geral mais elevados que aqueles nas plantas suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ . Portanto, tais resultados sugerem que o íon acompanhante do cálcio suplementar ao meio atua diferentemente na alocação de nutrientes nos tecidos das plantas. De acordo com alguns autores, a absorção de ferro e manganês é incrementada em plantas cultivadas em meio salino, entretanto, a salinidade pode também diminuir ou não ter nenhum efeito sobre a concentração desses nutrientes nos diferentes órgãos das plantas (GRATTAN & GRIEVE, 1999). Segundo



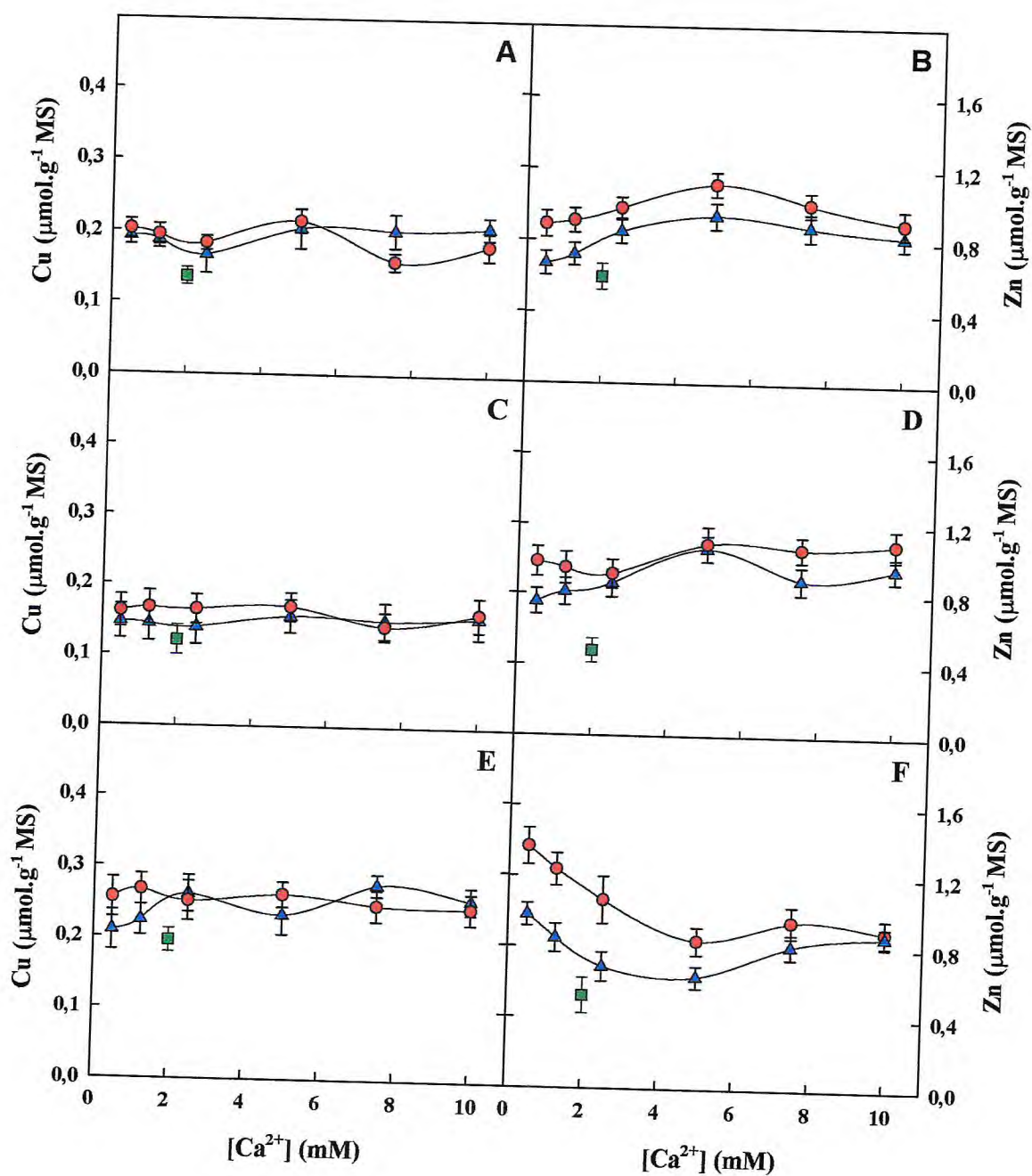
**Figura 17.** Teores de ferro (Fe) e manganês (Mn) em folhas (A e B), caules + pecíolos (C e D) e raízes (E e F) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50; 1,25; 2,50; 5,00; 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

Carbonell-Barrachina *et al.* (1998) o efeito prejudicial do estresse salino na nutrição do feijão decorre, principalmente, das elevadas concentrações de  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Mn}^{2+}$  nas raízes, de  $\text{Cl}^-$  nas folhas e de  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Fe}^{3+}$  nos frutos.

Os teores de cobre (Cu) e zinco (Zn), da mesma forma que os dos íons Fe e Mn, também aumentaram nas diferentes partes das plantas em resposta a adição do NaCl na solução nutritiva (Figura 18). Contudo, diferentemente dos teores de ferro (Figura 17A, C e E), os de cobre (Figura 18A, C e E) foram pouco influenciados pela concentração e tipo de sal de cálcio aplicado ao meio nutritivo. Em relação aos respectivos controles, nas plantas estressadas que receberam  $\text{CaCl}_2$ , os teores de Cu e Zn aumentaram, em média, respectivamente, 35,7 e 61,7%, nas folhas; 33,3 e 112,5%, nos caules + pecíolos e 27,6 e 52,8%, nas raízes. Por outro lado, nas plantas suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ , em relação aos controles, os teores de Cu e Zn apresentaram aumentos médios, respectivamente, de 35,8 e 36,7%, nas folhas; de 25,1 e 85,4%, nos caules + pecíolos e de 22,4 e 100,2%, nas raízes (Figura 18). Tais resultados estão de acordo com os observados por outros autores, que observaram que a salinidade aumenta os teores de cobre e zinco (GRATTAN & GRIEVE, 1999). Os resultados do presente estudo estão de acordo com dados encontrados para micronutrientes em outras espécies de plantas. Um exemplo disto é descrito no trabalho de Monte (2003), que constatou aumentos nos teores de ferro, manganês e cobre em folhas de bananeira cultivada sob condições de salinidade. Acúmulo de zinco foi constatado na parte aérea de citrus (RUIZ *et al.*, 1997), milho (RAHMAN *et al.*, 1993) e tomate (KNIGHT *et al.*, 1992).

#### **4.8.5. Relações Na/K e Na/Ca**

A relação Na/K nas diferentes partes das plantas aumentou em resposta ao estresse salino, sendo o maior aumento observado nas raízes, seguido dos caules + pecíolos e das



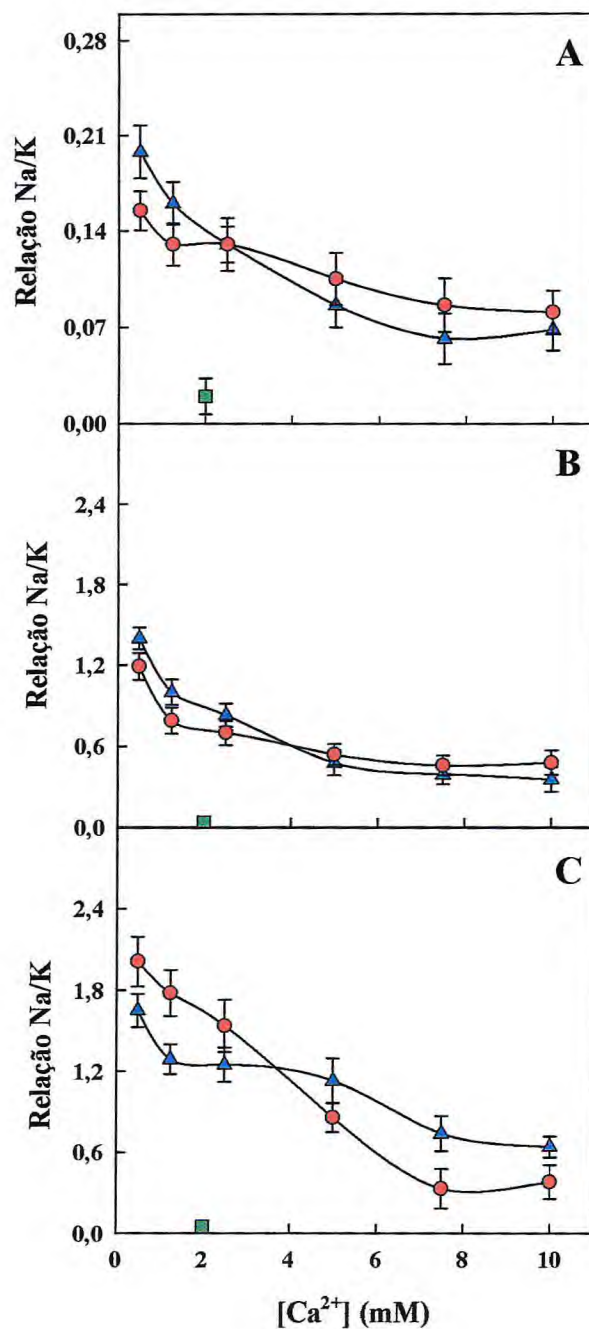
**Figura 18.** Teores de cobre (Cu) e zinco (Zn) em folhas (A e B), caules + pecíolos (C e D) e raízes (E e F) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.



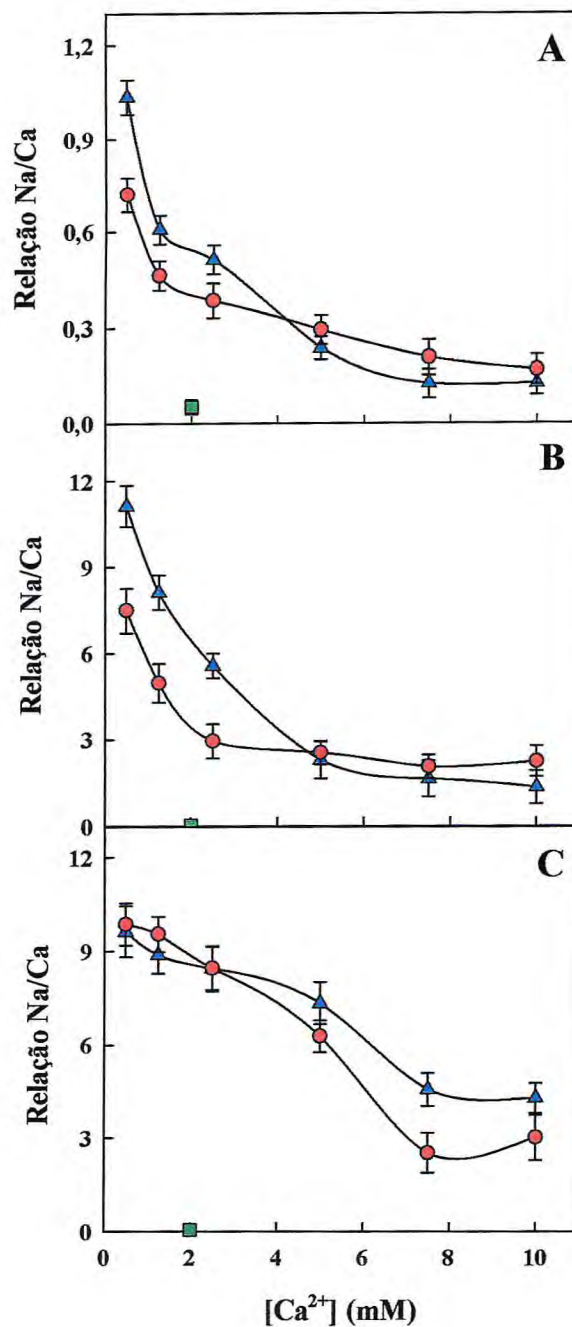
folhas (Figura 19). Por outro lado, constatou-se que esta relação diminuiu fortemente em função de aumentos na concentração de cálcio, quer na forma de  $\text{CaCl}_2$  ou de  $\text{CaSO}_4$ . Tais resultados podem ser explicados, tendo em vista que, enquanto os teores de K aumentaram ou permaneceram praticamente constante nas plantas estressadas e suplementadas com doses crescentes dos sais de cálcio (Figura 14), os teores de Na diminuíram fortemente (Figura 16), o que pode ter ocorrido em função de um mecanismo de substituição desencadeado pela suplementação do meio com o cálcio (RENGEL, 1992; KAYA *et al.*, 2002, TESTER & DAVENPORT, 2003). Como o cálcio desempenha um importante papel na manutenção da integridade das membranas, o elevado teor desse nutriente, contribuiu para um menor deslocamento do  $\text{K}^+$  pelo  $\text{Na}^+$ .

Da mesma forma que a relação Na/K (Figura 19), a relação Na/Ca, nas diferentes partes das plantas estressadas, aumentou fortemente em relação às plantas controle (Figura 20). Também, essa relação nas raízes e caules + pecíolos, da mesma forma que a relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , apresentou-se com maior valor que aquela nas folhas. Um fator que deve ser considerado diz respeito ao ânion (sulfato ou cloreto) associado ao  $\text{Ca}^{2+}$ , pois como observado por Zekri & Parsons (1990), os efeitos benéficos do cálcio suplementar foram maiores quando o mesmo foi aplicado na forma de  $\text{CaSO}_4$  do que com  $\text{CaCl}_2$ .

Embora o estudo da relação Na/Ca pareça ser uma melhor abordagem do que a análise absoluta dos íons, no presente estudo, as diferenças nessa relação, bem como na relação Na/K, devidas ao  $\text{CaCl}_2$  ou ao  $\text{CaSO}_4$ , não foram suficientes para explicar a pequena melhora no crescimento das plantas quando em presença de  $\text{CaSO}_4$  no meio salino (Figuras 1 e 2). Entretanto, os resultados aqui apresentados, com relação ao cálcio adicionado ao meio salino foram concordantes com os observados por diversos pesquisadores (LAÜCHLI, 1990; RENGEL, 1992; GRATTAN & GRIEVE, 1999; KAYA *et al.*, 2002; TESTER & DAVENPORT, 2003), que afirmaram que a adição desse íon ao



**Figura 19.** Relação Na/K nas folhas (A), caules + pecíolos (B) e raízes (C) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.



**Figura 20.** Relação Na/Ca nas folhas (A), caules + pecíolos (B) e raízes (C) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

ambiente radicular, minimiza possíveis injúrias induzidas pelo  $\text{Na}^+$ , favorecendo o equilíbrio iônico entre o  $\text{Na}^+$  e o  $\text{K}^+$  e corrigindo possíveis distúrbios nutricionais provocados pelo estresse salino. Contudo, os efeitos benéficos do cálcio suplementar ao meio salino sobre o crescimento das plantas de feijão-de-corda variaram com a dose e o tipo de sal de cálcio empregado.

Paradoxalmente, o efeito negativo do emprego do  $\text{CaCl}_2$  sobre o crescimento das plantas (Figuras 1 e 2), foi obtido com esse sal em concentrações elevadas, acima de 5,0 mM, justamente quando as relações Na/K e Na/Ca foram mais baixas (Figuras 19 e 20). Por outro lado, o efeito benéfico observado com o emprego do  $\text{CaSO}_4$  se mostrou melhor na dose mais elevada deste sal (10,0 mM), justamente quando essas relações iônicas citadas anteriormente eram menores e mais favoráveis a um balanceamento iônico.

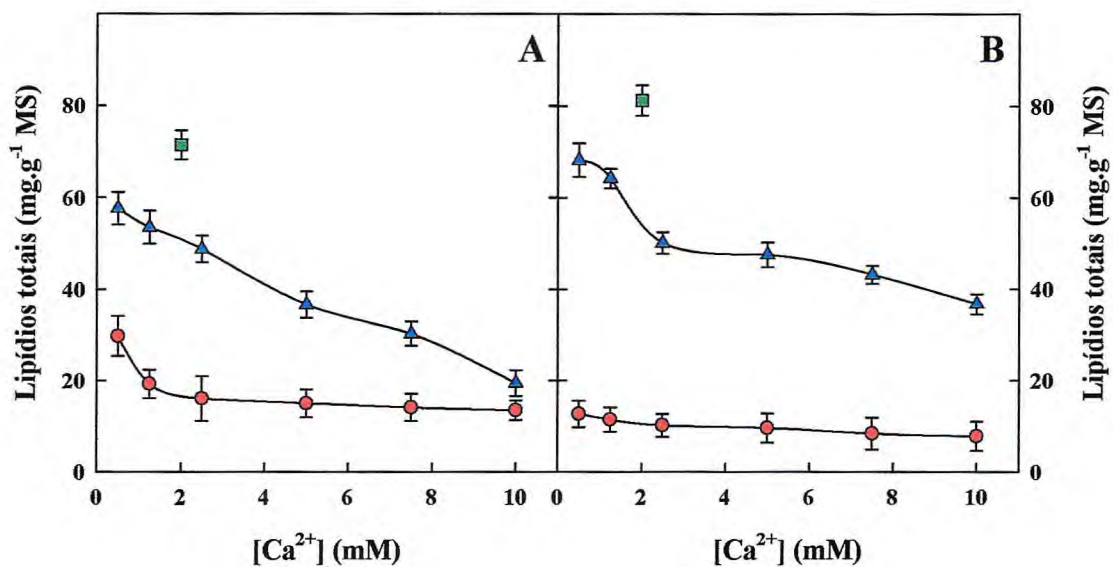
A manutenção de baixas relações Na/K e Na/Ca é considerada por alguns autores como um importante critério na caracterização da tolerância das plantas à salinidade (SAUR *et al.*, 1995). Uma adequada relação Na/K nos tecidos faz-se necessária para o funcionamento normal das células sob condições salinas (GREENWAY & MUNS, 1980), enquanto que uma relação Na/Ca elevada na solução externa faz com que o  $\text{Na}^+$ , desloque o  $\text{Ca}^{2+}$  da membrana celular, induzindo a um aumento da permeabilidade e, por conseguinte, no teor intracelular de  $\text{Na}^+$  (MARSCHNER, 1995). Por outro lado, a salinidade ao influenciar diferencialmente a absorção de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{K}^+$ , provavelmente, também influenciou a translocação desses íons para a parte aérea, controlando as diferentes relações Na/K entre os órgãos das plantas. Esses resultados evidenciam que um dos principais papéis do  $\text{Ca}^{2+}$  nas plantas cultivadas em ambientes salino, pode ser o controle da absorção radicular de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{K}^+$ , atuando na membrana celular e favorecendo a manutenção de teores mais adequados desses íons nos tecidos fotossintetizantes. O  $\text{Ca}^{2+}$ , portanto, tem influência decisiva na manutenção da seletividade Na/K (COLMER *et al.*,

1996), devendo-se, contudo, definir claramente suas concentrações no meio de cultivo, quando a relação Na/K for utilizada como indicador da tolerância das plantas à salinidade.

Quando o meio externo apresenta baixas concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$ , o influxo de  $\text{Na}^+$  pode aumentar a níveis tóxicos (REID & SMITH, 2000). Nesse caso, a suplementação com níveis elevados de cálcio ao meio externo é essencial para a manutenção da integridade das membranas e, conseqüentemente, na regulação da seletividade de Na/K (MAAS & GRIEVE, 1987; DAVENPORT & TESTER, 2000; HASEGAWA *et al.*, 2000; DEMIDCHIK & TESTER, 2002).

#### **4.9. Lipídios totais**

Os teores de lipídios totais em folhas e raízes das plantas de feijão-de-corda foram alterados em função da concentração e do tipo de sal de cálcio adicionado ao meio salino (Figura 21). Nas folhas das plantas do tratamento salino suplementado com  $\text{CaSO}_4$ , os teores de lipídios totais decresceram progressivamente com o aumento da concentração desse sal, atingindo na dose mais elevada (10,0 mM) um valor 58,3% menor que aquele na dose mais baixa (0,5 mM) e 72,9% menor que aquele do controle (Figura 21A). Por outro lado, no tratamento salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$  os teores de lipídios totais nas folhas mostraram-se decrescentes até a dose de 2,5 mM de cálcio quando então permaneceram com valores praticamente constantes até a dose mais elevada, quando o teor de lipídios foi 54,7% menor que aquele observado na dose mais baixa e 81,3% menor que aquele do controle. Em média, em relação ao controle, o tratamento salino suplementado com cloreto de cálcio apresentou uma redução nos teores de lipídios de 75,1% enquanto que o suplementado com sulfato de cálcio foi 41,3% menor (Figura 21A). As grandes reduções nos teores de lipídios foliares pela salinidade apresentaram estreita correlação com as elevadas reduções observadas nas medidas de MSPA (Figura 1A) e de área



**Figura 21.** Lipídios totais em folhas (A) e raízes (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva, com Ca<sup>2+</sup> a 2 mM, (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

foliar (Figura 2) das plantas estressadas. Tendo em vista que os lipídios presentes nas folhas são, principalmente, lipídios de membranas, tais como o monogalactosildiacilglicerol (MGDG) e o digalactosildiacilglicerol (DGDG) (HÄRTEL *et al.*, 2001; KELLY & DÖRMANN, 2004), tais resultados sugerem que o estresse salino imposto às plantas de feijão-de-corda provocou fortes danos na estrutura das membranas foliares, e o cálcio, ao invés de minorar tais efeitos, intensificou-os, principalmente, nas doses mais elevadas.

Da mesma forma que nas folhas, os teores de lipídios totais nas raízes foram fortemente afetados pela salinidade, sendo isto mais evidente quando o meio salino foi suplementado com  $\text{CaCl}_2$  (Figura 21B). Em presença desse sal de cálcio, a redução nos teores de lipídios foi praticamente a mesma em todas as doses testadas e, em média, apresentou um valor 87,8% menor que aquele do controle. Quando a suplementação do meio foi feita com o  $\text{CaSO}_4$  observou-se uma acentuada redução nos teores de lipídios totais nas raízes das plantas estressadas até a dose de 2,5 mM, quando a partir daí os teores de lipídios sofreram progressiva, porém, pequena redução, chegando na dose de 10,0 mM, a um valor 46,2% menor aquele na dose mais baixa e 54,8% menor que aquele do controle. Em média, o teor em lipídios totais do tratamento suplementado com  $\text{CaSO}_4$  foi 419,8% maior que aquele do tratamento no qual o meio salino foi suplementado com  $\text{CaCl}_2$  (Figura 21B). Também, da mesma forma que nas folhas, a grande redução nos teores de lipídios nas raízes, induzida pela salinidade, foram concordantes com a redução ocorrida nos valores de MSR (Figura 1B), e sugerem que o estresse imposto causou fortes danos na estrutura das membranas. Vale ressaltar que apesar do tratamento salino suplementado com cloreto de cálcio ter sido mais drástico, reduzindo mais fortemente os teores de lipídios do que o suplementado como sulfato de cálcio (Figura 21B), o crescimento das raízes foi igualmente inibido em ambos os tratamentos.

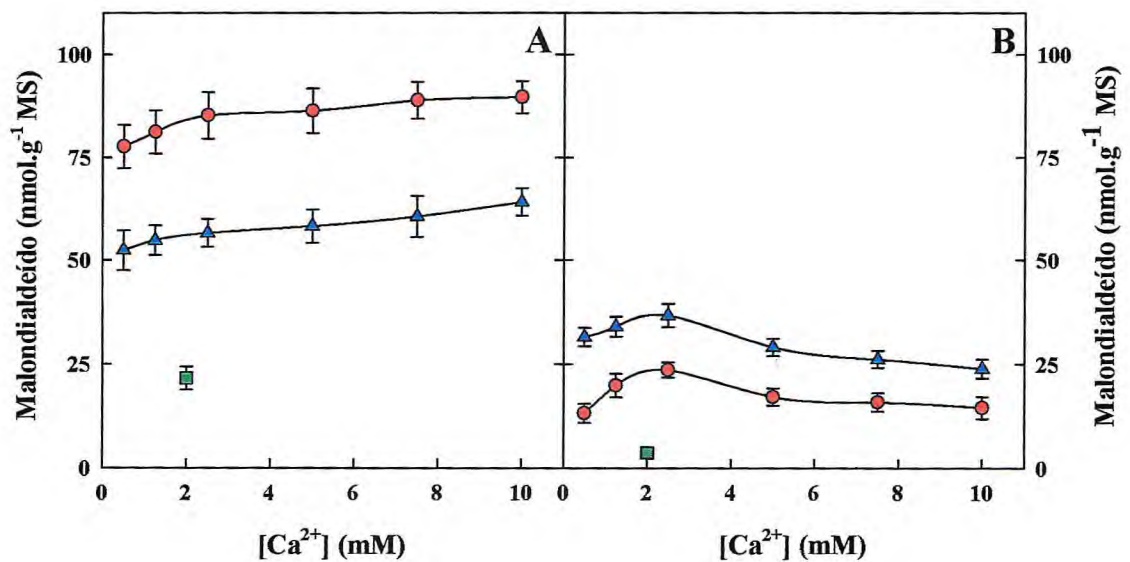
#### 4.10. Peroxidação de Lipídios e Danos de Membranas

Concordando com as grandes reduções nos teores de lipídios totais em folhas e raízes das plantas de feijão-de-corda estressadas (Figura 21), observou-se um significativo aumento nos teores de malondialdeído (MDA) (Figura 22). Este aldeído é um dos produtos resultantes da peroxidação dos lipídios de membrana (FU & HUANG, 2001; LATA *et al.*, 2004) e, como pode ser observado, seu teor nas plantas estressadas foi maior que aquele no controle e variou com a concentração e o tipo de sal cálcio suplementado ao meio salino.

Nas folhas, os teores de MDA apresentaram pequena tendência de aumento em função da concentração de cálcio suplementar, independentemente do sal de cálcio empregado no meio salino. Contudo, em média, os teores de MDA nas folhas das plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$  foram mais elevados que aqueles do controle e das plantas suplementadas com  $\text{CaSO}_4$ , respectivamente em 292,7% e 46,8%. Tais resultados foram concordantes com o fato dos lipídios totais terem apresentado maiores reduções no tratamento salino suplementado com cloreto de cálcio (Figura 22A) e sugerem que na presença desse sal, maior foi a peroxidação dos lipídios. O MDA é um dos produtos da decomposição dos ácidos graxos poliinsaturados e seu acúmulo tem sido observado em plantas sob condições de estresse salino, como por exemplo, em folhas de algodão (GOSSETT *et al.*, 1994; MELONI, 2001), beterraba (BOR *et al.*, 2003), feijão-de-corda (CAVALCANTI *et al.*, 2004) e milho (AZEVEDO NETO *et al.*, 2005a).

Nas raízes, os teores de MDA das plantas estressadas se apresentaram com valores crescentes até a dose de 2,5 mM, quando a partir daí, foram observadas pequenas reduções até a concentração final testada de 10 mM (Figura 22B). Nessa concentração de cálcio, os teores de MDA das plantas estressadas foram 378,9% maiores que o controle, quando a suplementação do meio foi feita com cloreto de cálcio, e 736,3% maiores, quando a suplementação do meio foi feita com sulfato de cálcio.





**Figura 22.** Teores de malondialdeído em folhas (A) e raízes (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

Aumentos nos teores de MDA pela salinidade foram observados em raízes de arroz (DEMIRAL & TÜRKAN, 2005), embora em raízes de milho os teores desse aldeído praticamente não tenham sido alterados pela salinidade (AZEVEDO NETO *et al.*, 2005b).

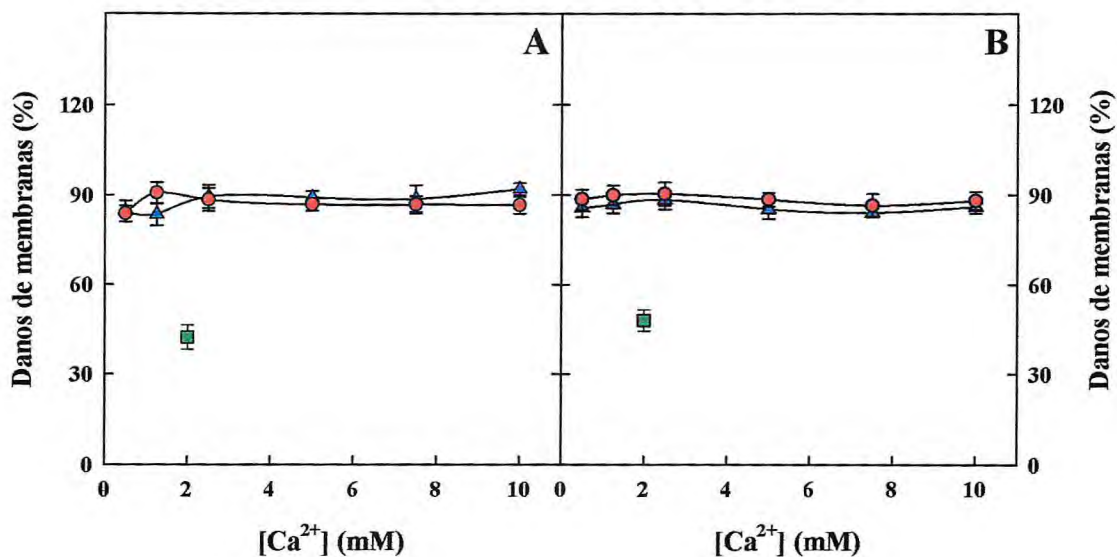
É interessante notar que, diferentemente do observado nas folhas, a maior redução nos teores de lipídios totais nas raízes do tratamento salino, suplementado com cloreto de cálcio (Figura 21B), não foi acompanhada também de uma maior produção de MDA nesse tratamento (Figura 22B). Esse resultado pode ser interpretado supondo-se que nem toda a degradação dos lipídios observada nas raízes das plantas estressadas deveu-se à sua peroxidação. Também é possível se supor que na presença de sulfato de cálcio suplementar ao meio salino, o sistema antioxidativo presente nas raízes tenha funcionado de forma menos eficiente que aquele presente nas plantas suplementadas com cloreto de cálcio e, conseqüentemente, tenha produzido mais MDA. Diversos autores correlacionam o aumento na peroxidação dos lipídios ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (CAKMAK & HOST, 1991; BOR *et al.*, 2003; VAIDYANATHAN *et al.*, 2003), as quais, por sua vez, são produzidas em função do estresse oxidativo secundário gerado pela salinidade (AZEVEDO NETO, 2005). Os resultados aqui apresentados demonstraram, portanto, que a suplementação do meio salino com cálcio, quer seja na forma de  $\text{CaCl}_2$  ou na forma de  $\text{CaSO}_4$ , não foi capaz de minimizar os efeitos deletérios da salinidade na estrutura das membranas celulares de folhas e raízes das plantas de feijão-de-corda.

Tendo em vista que a salinidade causou grande redução nos teores de lipídios, a qual foi acompanhada de forte aumento na peroxidação dos mesmos, avaliou-se seu efeito na estrutura das membranas. Isso foi feito, medindo-se os danos nas membranas através de vazamentos de eletrólitos. Os danos percentuais nas membranas dos discos foliares e segmentos de extremidades de raízes dos tratamentos salinos foram praticamente os

mesmos, independentemente do sal de cálcio suplementar ao meio, e não variaram com a dose de cálcio (Figura 23). Em média, a salinidade provocou um vazamento de eletrólitos nos discos foliares 106,5% maior que aquele das plantas controle, sendo que nos segmentos radiculares esse aumento foi de 82,1%. Tais resultados foram concordantes com os grandes aumentos observados nos teores de MDA das plantas estressadas (Figura 22) e corroboram com o fato de que o aumento na permeabilidade das membranas se deveu à destruição dos seus lipídios estruturais (Figura 21).

É importante ressaltar que embora os dois sais de cálcio suplementares ao meio salino tenham provocado respostas com intensidades variadas, tanto em relação aos lipídios totais como em relação à peroxidação dos lipídios (MDA), o vazamento de eletrólitos nas raízes ou nas folhas foi igual para ambos os sais de cálcio empregados. Os resultados sugerem, portanto, que os mais baixos níveis de peroxidação dos lipídios nas raízes, envolvendo o tratamento com  $\text{CaCl}_2$ , ou aquele nas folhas envolvendo o  $\text{CaSO}_4$ , sejam suficientes para provocar o máximo de vazamento de eletrólitos e conseqüentemente o máximo de danos nas membranas.

Cavalcanti *et al.* (2004), trabalhando com folhas de plântulas de *Vigna unguiculata* em estresse de curta duração com NaCl a 200 mM, observaram decréscimo na integridade das membranas (vazamento de eletrólitos) em cerca de 50% e acentuada peroxidação dos lipídios devido à salinidade. Borsani *et al.* (2001), observaram que o excesso de sal, além de afetar a integridade estrutural e funcional das membranas celulares, reduz a atividade de várias enzimas e inibe a capacidade de aquisição de nutrientes pelas raízes. Esses autores observaram que os lipídios polares presentes nas membranas celulares e principais responsáveis pelo processo de permeabilidade seletiva são facilmente degradados em resposta à salinidade. De acordo com Bor *et al.* (2003), quanto maior o grau de insaturação dos ácidos graxos dos lipídios polares, maior serão os danos causados

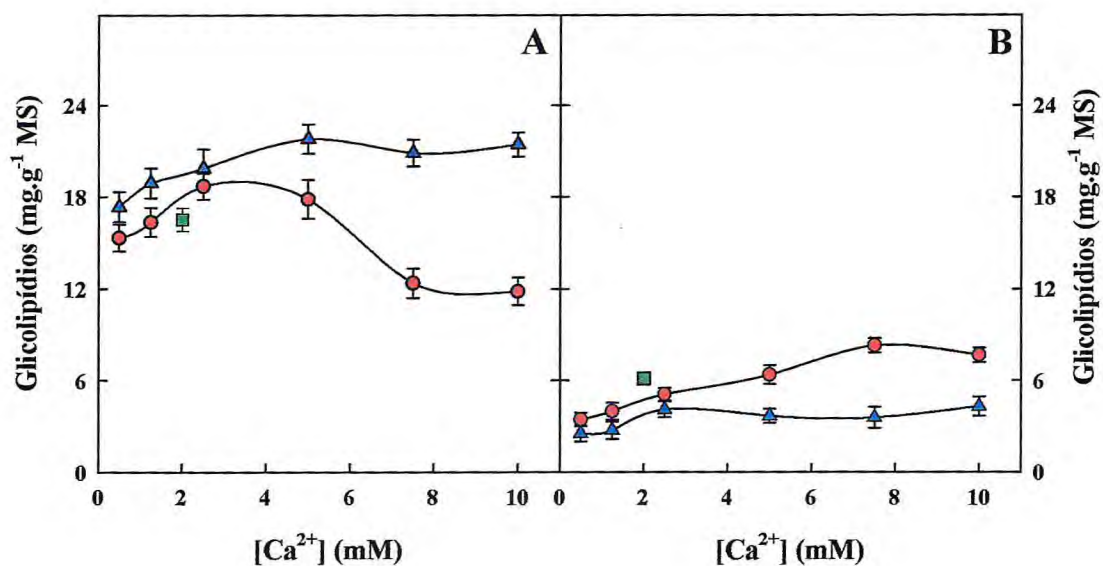


**Figura 23.** Danos de membranas em discos de folhas (A) e segmentos de raízes (B) de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva, com Ca<sup>2+</sup> a 2 mM, (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

às membranas celulares sob a ação do estresse salino.

#### 4.11. Glicolipídios

Nas folhas, os teores dos glicolipídios das plantas estressadas e suplementadas com sulfato de cálcio cresceram com o aumento na dose de cálcio até 5,0 mM, quando a partir daí permaneceram com valores praticamente constantes até a dose de 10,0 mM (Figura 24A). Nessa dose, o teor de glicolipídios foi cerca de 29,7% maior que aquele do tratamento controle. No caso do tratamento salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$ , os teores de glicolipídios nas folhas aumentaram até a dose de 2,5 mM, sendo que a partir dessa dose decresceram até a máxima concentração de cálcio testada (10,0 mM). Nessa dose, o teor de glicolipídio foi 22,8% menor que aquele na dose mais baixa de cálcio e 28,4% menor em relação ao controle (Figura 24A). Como se vê, em doses mais elevadas enquanto o cloreto mostrou-se um íon tóxico, causando diminuição nos teores de glicolipídios, o sulfato provocou um estímulo em sua síntese. É interessante notar que as variações nos teores de glicolipídios nas folhas foram concordantes às observadas para o crescimento da parte aérea (Figuras 1A e 2), nas quais o sulfato de cálcio suplementar ao meio salino mostrou um efeito benéfico, principalmente a partir da concentração de 5 mM. É possível se pensar que esse aumento nos teores de glicolipídios tenha tido papel importante na fluidez das membranas foliares, especialmente para as membranas dos tecidos fotossintéticos, onde predominam os galactolipídios (SOMERVILLE *et al.* 2000). Em suporte a isso, os resultados apresentados na Figura 22A mostram que no tratamento salino suplementado com  $\text{CaSO}_4$ , a peroxidação dos lipídios, que é utilizada como um indicativo de danos nas membranas foliares (QIU & LIANG, 1995), foi menor que aquela quando se usou o  $\text{CaCl}_2$ . Contudo, vale salientar que os danos nas membranas foliares foram, praticamente, os mesmos para ambos os sais de cálcio empregados no meio (Figura 23A).



**Figura 24.** Teores de glicolipídios em folhas (A) e raízes (B) de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva com Ca<sup>2+</sup> a 2,0 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo CaCl<sub>2</sub> (●) ou CaSO<sub>4</sub> (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

Nas raízes do tratamento salino suplementado com  $\text{CaSO}_4$  observou-se um aumento nos teores de glicolipídios até a dose de 2,5 mM, quando a partir daí os valores foram praticamente os mesmos até a dose de 10 mM, quando atingiu um valor 29,6% menor que aquele do controle (Figura 24B). Os teores de glicolipídios em todos os tratamentos salinos suplementados com sulfato de cálcio foram sempre menores que aquele do controle (em média, 42,8%). Já nos tratamentos salinos que receberam  $\text{CaCl}_2$ , os teores dos glicolipídios se mostraram com valores crescentes até a dose de 7,5 mM, permaneceram com este valor até a dose de 10,0 mM, quando o valor foi 121,7% maior que aquele na dose mais baixa e 25,3% maior que aquele do controle (Figura 24B). Ressalte-se que até a dose de 2,5 mM não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$ . Porém, a partir daí os resultados foram diferenciados: enquanto os teores de glicolipídios no tratamento com sulfato de cálcio não foram alterados, aqueles com cloreto de cálcio apresentaram-se crescentes. Tais resultados, portanto, foram contrários aos observados nas folhas (Figura 24A), onde os teores dos glicolipídios foram maiores no tratamento salino suplementado com  $\text{CaSO}_4$  do que com  $\text{CaCl}_2$ , especialmente a partir da dose de 5,0 mM.

É interessante notar que os teores de glicolipídios nas folhas foram superiores àqueles das raízes, tanto em condições controle (em média, 169,8%), como em condições salinas (em média, 280,6%), fato que mostra a importância dessa classe lipídica nas membranas dos tecidos fotossintetizantes (DÖRMANN & BENNING, 2002; KELLY & DÖRMANN, 2004). Enquanto nas folhas, os mais elevados teores de glicolipídios no tratamento salino suplementado com  $\text{CaSO}_4$  correlacionaram-se com os menores níveis de peroxidação dos lipídios, nas raízes situação idêntica foi observada, porém, com relação ao  $\text{CaCl}_2$  como sal suplementar ao meio salino. Contudo, diferentemente do que ocorreu com as folhas, onde os maiores níveis de glicolipídios nos tratamentos salinos envolvendo o

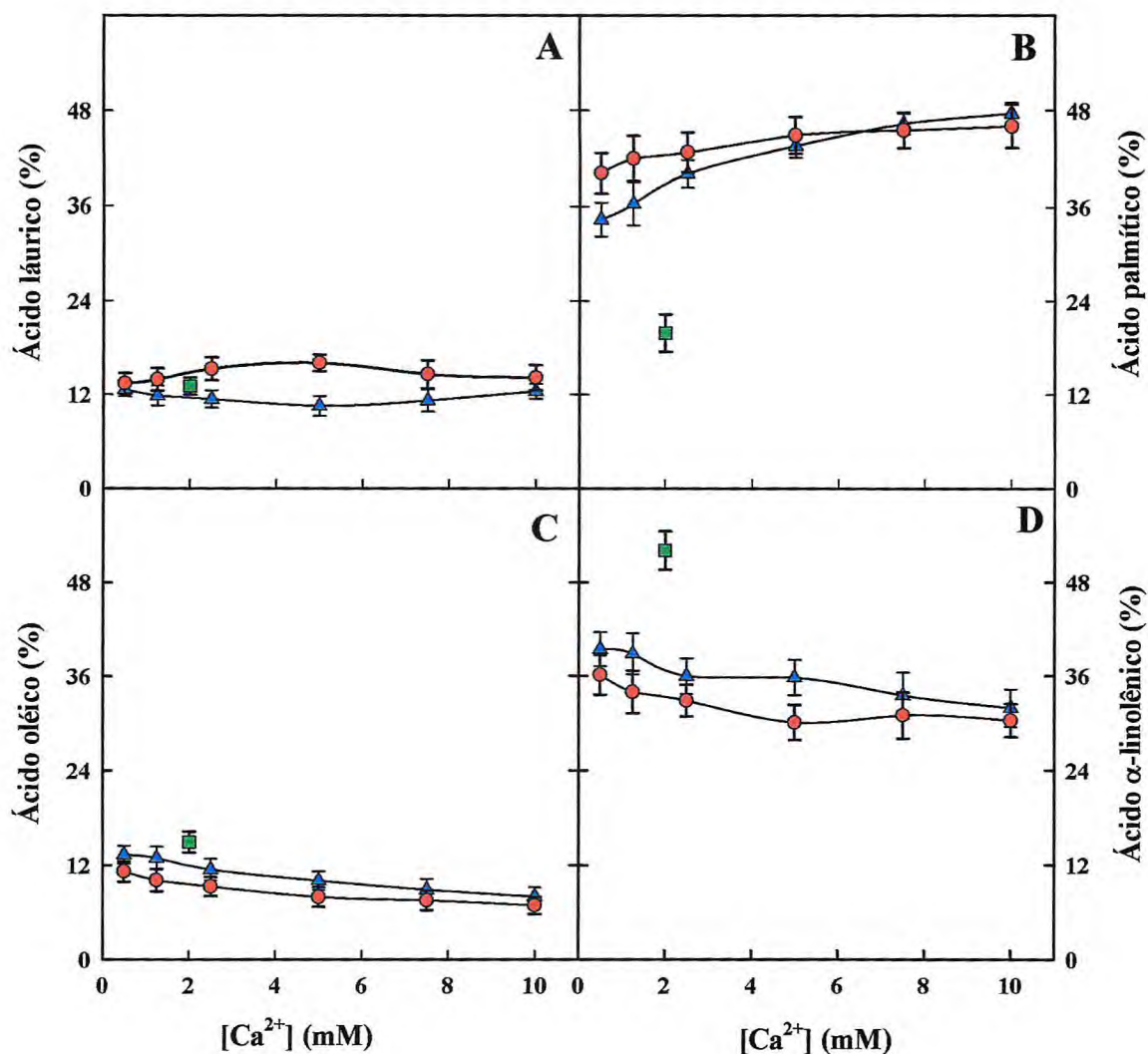
sulfato de cálcio se correlacionaram com um melhor crescimento da parte aérea, nas raízes os maiores teores desses lipídios no tratamento com  $\text{CaCl}_2$  não se refletiram num melhor crescimento deste órgão em condições salinas (Figura 1B).

Em resposta à salinidade, reduções nos teores de glicolipídios, especialmente de galactolipídios, têm sido observadas em folhas de trigo e cevada (CHETAL *et al.*, 1982), em membranas foliares de cajueiro anão precoce (OLIVEIRA, 2001) e em folhas de plântulas de feijão-de-corda (MONTEIRO DE PAULA *et al.*, 1990; LIMA, 2004). Os galactolipídios MGDG e DGDG são os principais lipídios polares dos compartimentos das membranas plastidiais, sendo ricos em ácidos graxos insaturados, principalmente, linoléico e  $\alpha$ -linolênico (SOMERVILLE *et al.*, 2000; OLIVEIRA, 2001; FAUCONNIER, 2003). Portanto, uma redução no teor desses ácidos graxos insaturados e nos teores de MGDG e DGDG, provocam efeitos negativos sobre a estrutura e função das membranas celulares, afetando importantes processos nas células vegetais, como as reações fotoquímicas da fotossíntese.

#### 4.12. Ácidos graxos

O fracionamento por cromatografia gasosa da fração lipídica total das folhas de plantas de feijão-de-corda, sob condições controle e de estresse salino, revelou a presença, em quantidades significativas de apenas quatro ácidos graxos: láurico (12:0), palmítico (16:0), oléico (18:1) e  $\alpha$ -linolênico (18:3) (Figura 25). Nas plantas sob condições controle, estes ácidos graxos, em relação ao total, se apresentaram com as seguintes percentagens:  $\alpha$ -linolênico, 52,1%, oléico, 15,0%, palmítico, 19,8% e láurico, 13,1%. Portanto, os ácidos graxos insaturados representaram 67,1% de todo o ácido graxo presente na fração lipídica total das folhas, perfil característico de lipídios de tecidos clorofilados, os quais possuem elevados teores de ácidos graxos insaturados, principalmente ácido  $\alpha$ -linolênico. Esse





**Figura 25.** Ácidos láurico (A) palmítico (B), oléico (C) e  $\alpha$ -linolênico (D) em folhas de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva, com  $Ca^{2+}$  a 2 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $CaCl_2$  (●) ou  $CaSO_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

ácido graxo, segundo diversos autores é o principal responsável pela fluidez das membranas (NORBERG *et al.*, 1990; SOMERVILLE *et al.*, 2000; PARIDA *et al.*, 2004).

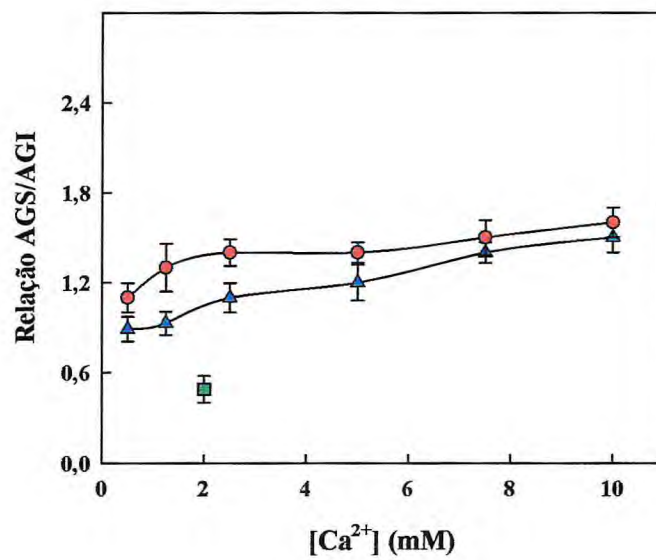
O elevado percentual de ácido  $\alpha$ -linolênico aqui observado está de acordo com Somerville *et al.* (2000), os quais afirmam que nos tecidos fotossintetizantes de algumas plantas, tais como a ervilha, o teor em ácido  $\alpha$ -linolênico se constitui mais que 90% de todo o ácido graxo presente nos glicolipídios. Ressalte-se, também, que a ausência de ácido linoléico na fração lipídica foliar representa um resultado, pelo menos, parcialmente concordante com o observado por Oliveira (2001) em folhas de algodão, onde este ácido graxo se apresentou numa proporção de apenas 5% do total de ácidos graxos.

Em condições de estresse, os ácidos graxos detectados tiveram seus percentuais alterados em função da dose e do tipo de sal suplementar ao meio de crescimento. Nas plantas estressadas e suplementadas com  $\text{CaCl}_2$ , os valores percentuais de ácido láurico praticamente não variaram em função da dose desse sal, não diferindo do controle, porém, foram 24,8% maiores que aqueles das plantas suplementadas com  $\text{CaSO}_4$  (Figura 25A). Por outro lado, em presença de  $\text{CaSO}_4$  no meio salino, o comportamento foi diferente e os teores percentuais de ácido láurico mostraram-se decrescente até a dose de 5,0 mM (19,3% do controle), embora a partir daí tenha-se observado uma tendência de aumento nos teores desse ácido, chegando na dose mais elevada de cálcio a um valor praticamente igual ao do controle. Em média, o tratamento salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$  foi 10,9% superior ao controle, enquanto aquele com  $\text{CaSO}_4$  foi 11,5% inferior. Com relação ao ácido palmítico (Figura 25B), seus valores percentuais aumentaram em função da aplicação do estresse salino. Além disso, os teores desse ácido aumentaram em função da aplicação de cálcio ao meio salino, especialmente quando na forma de  $\text{CaSO}_4$ . Na dose mais elevada de cálcio o aumento no teor deste ácido foi 136% em relação ao controle. Levando-se em conta a média de todos os tratamentos salinos este aumento foi de 114%

em relação ao controle.

As percentagens, em relação ao total, dos ácidos graxos insaturados, oléico e  $\alpha$ -linolênico, diminuíram em função do estresse salino e do aumento da concentração de cálcio (Figura 25C, D). Os valores percentuais de ácido oléico no tratamento salino suplementado com sulfato de cálcio foram ligeiramente superiores àqueles desse mesmo tratamento suplementado com  $\text{CaCl}_2$ , pelo menos até a dose 5,0 mM, quando a partir daí não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos salinos. Em média, os teores de ácido oléico nas plantas dos tratamentos salinos suplementados com  $\text{CaSO}_4$  e  $\text{CaCl}_2$  foram, respectivamente 27,9 e 40,8% menores que aquele do controle. Da mesma forma que o ácido oléico, o  $\alpha$ -linolênico teve, também, seus valores percentuais reduzidos pela salinidade. Todavia, esse efeito parece ter sido provocado unicamente pela salinidade, pois não foram observadas, de modo geral, diferenças significativas entre os tratamentos salinos, quer seja ele suplementado com  $\text{CaSO}_4$ , quer seja com  $\text{CaCl}_2$ . Considerando-se a média de todos os tratamentos salinos, a redução nos teores de ácido  $\alpha$ -linolênico foi de 34,4% em relação ao controle.

De modo geral, a salinidade reduziu as percentagens dos ácidos graxos insaturados (oléico e  $\alpha$ -linolênico) foliares e concomitantemente aumentou as percentagens dos ácidos graxos saturados (palmítico, principalmente, e láurico, apenas no caso do tratamento salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$ ). Como mostrado na Figura 26, a relação ácido graxo saturado/ácido graxo insaturado (AGS/AGI) aumentou em função da concentração de cálcio suplementar ao meio salino, independentemente do sal de cálcio empregado. Na dose mais elevada de cálcio (10 mM), essa relação foi maior que aquela na dose mais baixa (0,5 mM) em 68,5 e 45,5%, respectivamente, para os tratamentos suplementados com  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$ . Ressalte-se, que em relação ao tratamento controle o aumento médio nessa relação foi mais acentuado no tratamento envolvendo o cloreto de



**Figura 26.** Relação de ácidos graxos saturados (AGS)/ácidos graxos insaturados (AGI) em folhas de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva, com  $\text{Ca}^{2+}$  a 2 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $\text{CaCl}_2$  (●) ou  $\text{CaSO}_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

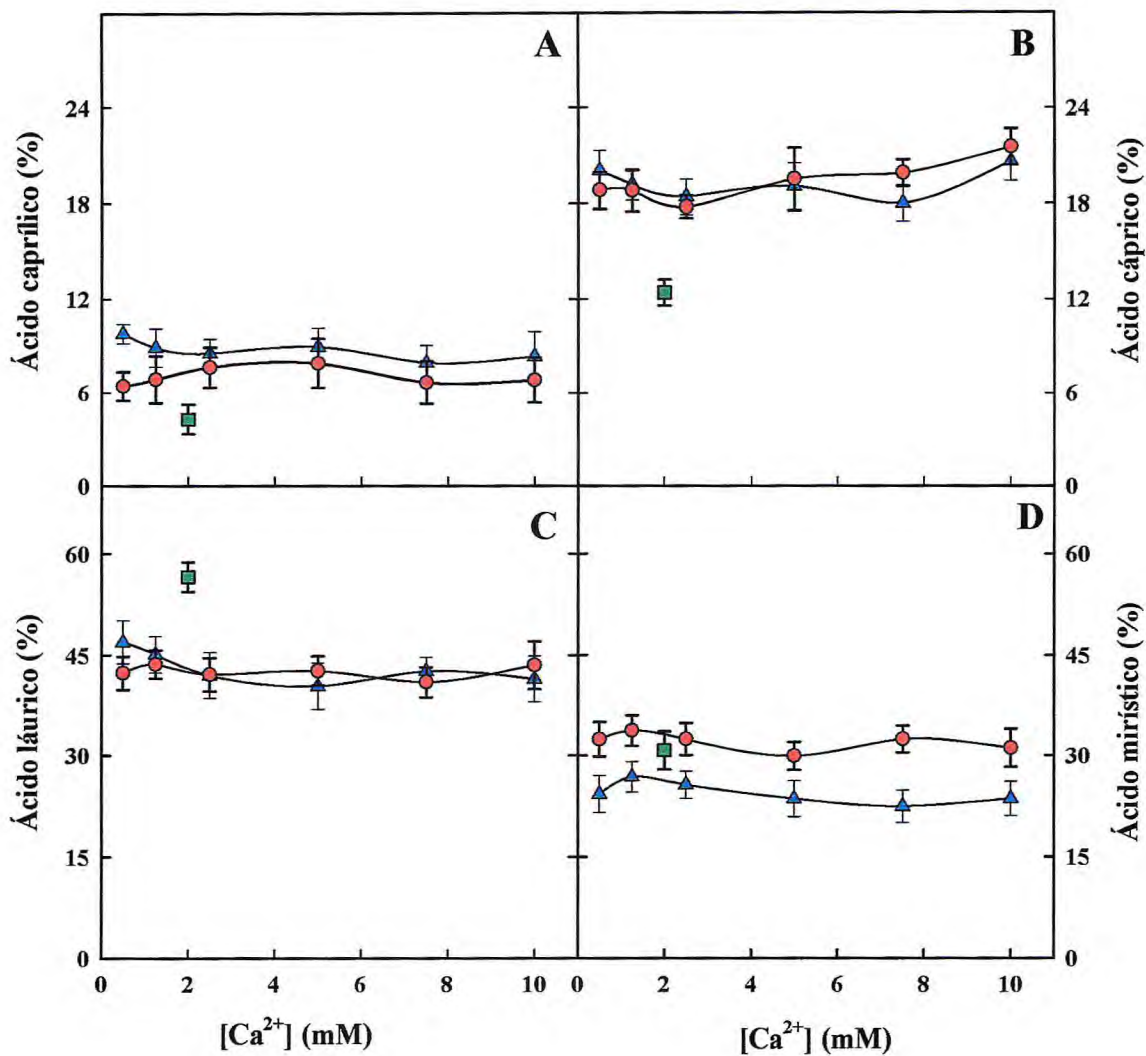
cálcio (182% de aumento) do que aquele envolvendo o sulfato de cálcio (139% de aumento). Esse maior aumento no grau de saturação dos lipídios foliares dos tratamentos salinos suplementados com o  $\text{CaCl}_2$  foi concordante com as maiores reduções observadas no crescimento das plantas (Figuras 1B, C e 2), bem como os mais elevados níveis de peroxidação dos lipídios (Figura 22A), quando comparados ao tratamento suplementado com  $\text{CaSO}_4$ . De acordo com Somerville (1995) e Malkit *et al.* (2002), os ácidos graxos insaturados linoléico e  $\alpha$ -linolênico presentes nos lipídios de membranas são importantes para a tolerância ao estresse salino em plantas e microorganismos. Tais resultados foram concordantes com aqueles observados por LIMA (2004) em folhas de plântulas de feijão-de-corda, sendo evidenciada uma tendência de redução no teor de ácido  $\alpha$ -linolênico e aumento nos teores de ácido palmítico pela salinidade. Por outro lado, em resposta ao estresse hídrico, foram observadas modificações estruturais nos lipídios de membranas, com alterações na composição de ácidos graxos em folhas de feijão-de-corda (ARAÚJO FILHO, 2004), algodão (WILSON *et al.*, 1987) e trigo (CHETAL *et al.*, 1981).

Em resposta à diferentes condições de temperatura de crescimento tanto células de microorganismos como de animais ou de vegetais regulam a composição em ácidos graxos de seus componentes lipídicos. Células de *E. coli*, para assegurar o mesmo nível de fluidez de suas membranas quando cultivadas em condições de elevadas temperaturas (40°C), aumentam, em relação àquelas cultivadas a baixa temperatura (10°C), em cerca de 7,4 vezes a razão AGS/AGI (NELSON & COX, 2004). Em plantas que são resistentes ao frio, estudos mostram que a maior proporção de ácidos graxos insaturados em relação aos saturados é o principal fator responsável pela manutenção da fluidez de suas membranas (SOMERVILLE *et al.*, 2000). Tais estudos reforçam, portanto, a idéia de que os resultados aqui observados de aumentos nos teores dos ácidos graxos saturados em relação aos insaturados dos lipídios foliares, possivelmente, acarretaram um aumento

no grau de rigidez das membranas celulares (HUBAC *et al.*, 1989; MONTEIRO DE PAULA *et al.*, 1990).

Nas raízes, diferentemente do observado nas folhas, não foram detectados ácidos graxos insaturados (Figura 27). Na fração lipídica total, foram detectados em níveis significativos apenas os ácidos graxos caprílico (8:0), cáprico (10:0), láurico (12:0) e mirístico (14:0), os quais, sob condições controle, se apresentaram, respectivamente, com valores iguais a 4,0, 12,4, 56,1 e 27,5%, em relação ao total de ácidos graxos. Em condições de estresse, os valores percentuais de ácido cáprico e caprílico, nas raízes, aumentaram em relação ao controle e apresentaram somente pequenas variações em função das doses e tipo de sal de cálcio suplementar ao meio (Figura 27A e B). Levando em conta a média de todos os tratamentos salinos, os ácidos caprílico e cáprico aumentaram seus teores em 84,5 e 55,9%, em relação aos respectivos controles. Os teores de ácido láurico não apresentaram variações significativas em função da dose ou tipo de sal de cálcio suplementar e diminuíram com a salinidade, em média, 24,7% em relação ao controle (Figura 27C). No caso do ácido mirístico, enquanto no tratamento salino suplementado com  $\text{CaCl}_2$  não foram observadas diferenças significativas com relação ao controle, nesse mesmo tratamento suplementado com  $\text{CaSO}_4$ , em média, observou-se uma diminuição em relação ao controle de 20,6% (Figura 27D).

É possível que as alterações nas proporções dos ácidos graxos saturados nas raízes, tenham aumentado a rigidez da membrana celular de modo a impedir a entrada de íons tóxicos presentes na rizosfera e represente um mecanismo de aclimação à salinidade. Em apoio a essa idéia, Zhang *et al.* (2002) observaram que a fluidez da membrana de tonoplasto decresceu com a diminuição nos teores de ácidos graxos insaturados em raiz de cevada sob estresse salino. Também, recentemente, foi demonstrado um efeito protetor dos ácidos graxos insaturados em tonoplastos de raízes de plântulas de cevada sob estresse



**Figura 27.** Ácidos caprílico(A) cáprico (B), láurico (C) e mirístico (D) em raízes de plantas de feijão-de-corda, cultivadas sob condições-controle [solução nutritiva, com  $Ca^{2+}$  a 2 mM (■)] e de estresse salino [solução nutritiva com NaCl a 75 mM, contendo  $CaCl_2$  (●) ou  $CaSO_4$  (▲) nas concentrações de 0,50, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50 e 10,00 mM]. As barras representam o desvio padrão.

salino (ZHAO & QIN, 2004).

Comparando-se a composição em ácidos graxos dos tecidos foliares com aquela de raízes nota-se uma grande diferença: enquanto nas folhas foram observados elevados níveis de ácidos graxos insaturados (oléico e  $\alpha$ -linolênico), nas raízes não foram detectadas quantidades significativas desses ácidos graxos. Também, de forma surpreendente não foi detectada a presença de ácido palmítico nas frações lipídicas de raízes, desde que a presença deste ácido é comum às membranas celulares (MANSOUR, 1994).



## 5. CONCLUSÕES

- O crescimento das plantas de feijão-de-corda, cultivar Pitiúba, em meio salino (NaCl) foi afetado pelo cálcio adicionado ao meio. O  $\text{CaCl}_2$  causou um efeito negativo em doses acima de 2,5 mM e o  $\text{CaSO}_4$  um efeito positivo até a maior concentração utilizada;
- Nas folhas, sob condições de salinidade, os solutos que mais contribuíram para o *pool* osmótico foram os carboidratos solúveis, o cloreto e o potássio, independentemente do sal de cálcio suplementar ao meio. Nas raízes, a contribuição dos solutos para o *pool* osmótico variou com o tipo de sal de cálcio;
- Em geral, os teores de N e P totais aumentaram com a salinidade e o cálcio adicionado ao meio favoreceu o aumento de P. Os teores de S total foram reduzidos pela salinidade nas raízes, e estimulado pelo  $\text{CaSO}_4$ , nas folhas.  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  tiveram seus teores aumentados pela salinidade e essa resposta foi pouco influenciada pelo cálcio;
- Na parte aérea, a salinidade aumentou os teores de  $\text{Cl}^-$ , sendo esta resposta intensificada pelo  $\text{CaCl}_2$ . Nas raízes, a salinidade reduziu os teores de  $\text{Mg}^{2+}$  e o cálcio atuou de forma antagônica, reduzindo sua absorção;
- As relações Na/K e Na/Ca, nas diversas partes da planta, foram fortemente aumentadas pela salinidade e o cálcio no meio reverteu em grande parte tais aumentos;
- A salinidade reduziu fortemente os teores dos lípidios totais tanto nas folhas quanto nas raízes, provocando fortes danos nas estruturas das membranas;
- Nas folhas, os teores de glicolipídios foram influenciados pelo tipo de sal de cálcio no meio salino e se correlacionaram com os efeitos dos sais de cálcio na aérea foliar;
- Nas folhas, a salinidade aumentou a relação ácido graxo saturado/ácido graxo insaturado, tendo o cálcio no meio estimulado essa resposta. Nas raízes, detectaram-se apenas ácidos graxos saturados, cujas percentagens foram alteradas pela salinidade, sendo tais respostas pouco influenciadas pelo cálcio.

## 6. LITERATURA CITADA

ABD-EL BAKI, G. K.; SIEFRITZ, F.; MAN, H. M.; WELNER, H.; KALDENHOFF, R.; KAISER, W. M. Nitrate reductase in *Zea mays* L. under salinity. **Plant and Cell Environment**, v. 23, p. 15-521, 2000.

ABEBE, T.; GUENZI, A. C.; MARTIN, B.; CUSHMAN, J. C. Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity. **Plant Physiology**, v. 131, p. 1748-1755, 2003.

ABRAHAM, E.; RIGO, G.; SZEKELY, G.; NAGY, R.; KONCZ, C.; SZABADOS, L. Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*. **Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 363-372, 2003.

ABREU, C. E. B. **Crescimento, osmorregulação e mobilização de reservas em plântulas de cajueiro anão-precoce submetidas à salinidade**. 2004. 60 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

AGBOMA, P. C.; PELTONEM-SAINIO, P.; HINKKANEN, R.; PEHU, E. Effect of foliar application of glycinebetaine on yield components of drought-stressed tobacco plants. **Experimental Agriculture**, v. 33, p. 345-352, 1997.

AKINCI, I. E.; SIMSEK, M. Ameliorative effects of potassium and calcium on the salinity stress in embryo culture of cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Journal of Biological Sciences**, v. 4, p. 361-365, 2004.

ALAM, S. M. Nutrient by plants under stress conditions. In: Pessaraki, M. (ed.). **Handbook of Plant and Crop Stress**. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 227-246, 1994.

AL-HARBI, A. R. Growth and nutrient composition of tomato and cucumber seedlings as affected by sodium chloride salinity and supplemental calcium. **Journal of Plant Nutrition**, v. 18, p. 1403-1416, 1995.

ALI, G.; SRIVASTAVA, P. S.; IQBAL, M. Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in regenerants grown under NaCl stress. **Biologia Plantarum**, v. 42, p. 89-95, 1999.

AMZALLAG, G. N. Tolerance to salinity in plants: New concepts for old problems. In: Jaiwal, P. K.; Singh, R. P.; Gulati, A. (eds.). **Strategies for Improving Salt Tolerance on Higher Plants**. New Delhi: Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., p. 1-24, 1997.

ANIL, V. S.; RAO, K. S. Calcium-mediated signal transduction in plants: A perspective on the role of Ca<sup>2+</sup> and CDPKs during early plant development. **Journal Plant of Physiology**, v. 158, p. 1237-1256, 2001.

APSE, M. P.; BLUMWALD, E. Engineering salt tolerance in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 146-150, 2002.

ARAÚJO, C. A. S. **Avaliação de feijoeiros quanto à tolerância à salinidade em solução nutritiva**. 1994. 87 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ARAÚJO FILHO, R. **Ação de enzimas antioxidantes em resposta a processos degradativos de lipídeos polares em folhas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp submetidas à deficiência hídrica**. 2004. 153 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

ASHRAF, M.; TUFAIL, M. Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Journal Agronomy Soil Science**, v. 174, p. 351-362, 1995.

ASHRAF, M.; O'LEARY, J. W. Changes in soluble proteins in spring wheat stressed with sodium chloride. **Biologia Plantarum**, v. 42, p. 113-117, 1999.

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

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. Tradução: Gheyi, H. R.; Medeiros, J. F.; Damasceno, F. A. V. 2a ed. Campina Grande: UFPB, 1999. 153 p.

AZEVEDO NETO, A. D. **Estudo do crescimento e distribuição de nutrientes em plântulas de milho submetidas ao estresse salino**. 1997. 133 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco.

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

AZEVEDO NETO, A. D. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos do estresse salino em plantas de milho**. 2005. 149 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; MEDEIROS, J. V. R. GOMES-FILHO, E. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.1114-1122, 2005a.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J. ABREU, C. E. B. de. GOMES-FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipids peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, *in press*, 2005b.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BATISTA, M. J.; NOVAES, F.; SANTOS, D. G. **Drenagem como instrumento de dessalinização e prevenção da salinização dos solos**. Brasília: SRH. 1998. 203 p.

BAYUELO-JIMÉNES, J. S.; DEBOUCK, D. G.; LYNCH, J. P. Growth, gas exchange, water relations, and ion composition of Phaseolus species grown under saline conditions. **Field Crops Research**, v. 80, p. 207-222, 2003.

BERNSTEIN, N.; SILK, W. K.; LÄUCHLI, A. Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress: possible role of some mineral elements in growth inhibition. **Planta**, v. 196, p. 699-705, 1995.

BEZERRA, M. A.; OLIVEIRA, R. A.; LACERDA, C. F.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Fotossíntese de plantas de cajueiro-anão precoce submetidas ao estresse salino. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v. 47, p. 149-152. 2003.

BHANDAL, I. S.; MALIK, C. P. Potassium estimation, uptake, and its role in the physiology and metabolism of flowering plants. **International Review of Cytology**, v. 110, p. 205-254, 1988.

BHIVARE, V. N.; NIMBALKAR, J. D. Salt stress on growth and mineral nutrition of french beans. **Plant and Soil**, v. 80, p. 91-98, 1984.

BISHOP, D. G.; KENRICK, J. R.; BAYSTON, J. H.; MACPHERSON, A. S.; JOHNS, S. R.; WILLING, R. I. The influence of fatty acid unsaturation on fluidity and molecular packing of chloroplast membrane lipids. In: Lyons, J. M.; Graham, D.; Raison, J. K. (eds.). **Low Temperature Stress in Crop Plants: The Role of the Membrane**. New York: Academic Press, p. 375-390, 1979.

BISSANI, C. A.; MEURER, E. J.; BOHNEN, H. Solos ácidos e solos afetados por sais. In: Meurer, E. J. (ed.). **Fundamentos de Química do Solo**. 2ª ed. Porto Alegre: Gênese, p. 181-205, 2004.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, p. 43-47, 1981.

BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, 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.

BORSANI, O.; CUARTERO, J.; FERNANDEZ, J. A.; VALPUESTA, V.; BOTELLA, M. A. Identification of two loci in tomato reveals distinct mechanisms for salt tolerance. **The Plant Cell**, v. 13, p. 873-887, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 246-254, 1976.

- BRESLER, E.; McNEAL, B. L.; CARTER, D. L. **Saline and sodic soil: principles, dynamics and modeling**. Berlin: Springer-Verlag, 1982. 249 p.
- BRUMMELL, D. A.; HALL, J. L. Rapid cellular responses to auxin and the regulation of growth. **Plant, Cell and Environment**, v. 10, p. 523-543, 1987.
- BUKOVINSZKY, L.; FROTA, D. Q.; SOUZA, W. **Métodos de cadastramento da infraestrutura de uso comum e levantamento das exigências de recuperação de drenos e áreas salinizadas nos perímetros irrigados**. Fortaleza, Convênio DNOCS/AGROINVEST, 1992. 35p. (mimeo.).
- CACHORRO, P.; ORTIZ, A.; CERDÁ, A. Growth, water relations and solute composition of *Phaseolus vulgaris* under saline conditions. **Plant Science**, v. 95, p. 23-29, 1993.
- CAINES, A. M.; SHENNAN, C. Interactive effects of  $\text{Ca}^{2+}$  and NaCl salinity on the growth of two tomato genotypes differing in  $\text{Ca}^{2+}$  use efficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 37, p. 569-576, 1999.
- CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, p. 463-468, 1991.
- CAKMAK, I. Plant nutrition research: priorities to meet human needs for food in sustainable ways. **Plant and Soil**, v. 247, p. 3-24, 2002.
- CAKMAK, I. O papel da nutrição mineral no alívio dos efeitos deletérios dos estresses ambientais sobre a produção das culturas. 2004. Disponível em: [http://www.ppi-ppic.org/ppiweb/pbrazil.nsf/926048f0196c9d4285256983005c64de/b35d8fd63015459f83256df0006a4874/\\$FILE/Anais%20Ismail%20Cakmak.pdf](http://www.ppi-ppic.org/ppiweb/pbrazil.nsf/926048f0196c9d4285256983005c64de/b35d8fd63015459f83256df0006a4874/$FILE/Anais%20Ismail%20Cakmak.pdf) Acesso em 21 de abril de 2005.
- CAMPOS, P. S.; QUARTIN, V.; RAMALHO, J. C.; NUNES, M. A. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, p. 283-292, 2003.
- CARBONELL-BARRACHINA, A. A.; BURLO, F.; MATAIX, I. Response of bean micronutrient to arsenic and salinity. **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, p. 1287-1299, 1998.
- CAVALCANTI, F. R.; OLIVEIRA, J. T. A.; MIRANDA, A. S. M.; VIÉGAS, 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.
- CERDÁ, A.; PARDINES, J.; BOTELLA, M. A.; MARTINEZ, V. Effect of potassium on growth, water relations and the inorganic and organic solute contents for two maize cultivars grown under saline conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v. 18, p. 839-845, 1995.

CHAOUÏ, A.; MAZHOUDI, S.; GHORBAL, M. H.; EL FERJANI, E. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzymes activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Science**, v. 127, p. 139-147, 1997.

CHAPMAN, V. J. The salinity problem in general, its importance and distribution with special reference to natural halophytes. In: Poljakoff-Mayber, A.; Gale, J. (eds.). **Plants in Saline Environments**. New York: Springer-Verlag, p. 7-24, 1975.

CHARTZOULAKIS, K. S.; LOUPASSAKI, M. H. Effects of NaCl salinity on germination, growth, gas exchange and yield of greenhouse eggplant. **Agricultural Water Management**, v. 32, p. 215-225, 1997.

CHARTZOULAKIS, K. S.; KLAPAKI, G. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. **Scientia Horticulturae**, v. 86, p. 247-260, 2000.

CHA-UM, S.; CHALERMPOL, K.; KANYARATT, S. Biochemical and physiological responses of thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica* cv. KDML105) to salt stress. **ScienceAsia**, v. 30, p. 247-253, 2004.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, p. 250-257, 2002.

CHEVAL, S.; WAGLE, D. S.; NAINAWATEE, H. S. Glycolipid changes in wheat and barley chloroplast under water stress. **Plant Science Letters**, v. 20, p. 225-230, 1981.

CHEVAL, S.; WAGLE, D. S.; NAINAWATEE, H. S. Alterations in glycolipids of wheat and barley leaves under water stress. **Phytochemistry**, v. 21, p. 51-53, 1982.

CHINNUSAMY, V.; JAGENDORF, A.; ZHU, J. K. Understanding and improving salt tolerance in plants. **Crop Science**, v. 45, p. 437-448, 2005.

CLAUSSEN, W. Proline as a measure of stress in tomato plants. **Plant Science**, v. 168, p. 241-248, 2005.

COLMER, T. D.; FAN, T. W. M.; HIGASHI, R. H.; LÄUCHLI, A. Interaction of Ca<sup>2+</sup> and NaCl stress on the ion relations and intracellular pH of *Sorghum bicolor* root tips: an in vivo 31 P-NMR study. **Journal Experimental of Botany**, v. 45, p. 1037-1044, 1994.

COLMER, T. D., FAN, T. W. M.; HIGASHI, R. M.; LÄUCHLI, A. Interactive effects of Ca<sup>2+</sup> and NaCl salinity on the ionic relations and proline accumulation in the primary root tip of *Sorghum bicolor*. **Physiologia Plantarum**, v. 97, p. 421-424, 1996.

CONAB. Comportamento da safra-junho/2004 do Estado do Ceará. 2004. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/download/sureg/ce/comportamentodassafraescarajunho2004.pdf>. Acesso em 21 de abril de 2005.

CORUZZI, G.; LAST, R. Amino acids. In: Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. (eds.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, p. 358-410, 2000.

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, p. 289-297, 2003.

COSTA, P. H. A. **Efeitos da salinidade nos padrões eletroforéticos bidimensionais e no sistema enzimático antioxidante de sorgo forrageiro**. 2004. 95f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

CRAM, W. J. Negative feedback regulation of transport in cells. The maintenance of turgor, volume and nutrient supply. In: Luttge, U.; Pitman, M. G. (eds.). **Encyclopaedia of Plant Physiology**. Berlin: Springer-Verlag, v. 2, p. 284-316, 1976.

CRAMER, G. R.; LÄUCHLI, A.; POLITO, V. S. Displacement of  $\text{Ca}^{2+}$  by  $\text{Na}^+$  from the plasmalemma of root cells. A primary response to salt stress? **Plant Physiology**, v. 79, p. 207-211, 1985.

CRAMER, G. R.; NOWAK, R. S. Supplemental manganese improves the relative growth, net assimilation and photosynthetic rates of salt-stressed barley. **Physiologia Plantarum**, v. 84, p. 600-605, 1992.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: The New York Botanical Garden, 1988. 555 p.

CUIN, T. A.; MILLER, A. J.; LAURIE, S. A.; LEIGH, R. A. Potassium activities in cell compartments of salt-grown barley leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 657-661, 2003.

CURI, N. **Vocabulário de ciência do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1993. 90 p.

DAHIYA, S. S.; SINGH, M. Effect of salinity, alkalinity and iron application on the availability of iron, manganese, phosphorus and sodium in pea (*Pisum sativum* L.) crop. **Plant Soil**, v. 44, p. 697-702, 1976.

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

DATTA, S. K. Recent developments in transgenics for abiotic stress tolerance in rice. **JIRCAS Working Report**, p. 43-53, 2002.

DAVENPORT, R. J.; TESTER, M. A weakly voltage-dependent, nonselective cation channel mediates toxic sodium influx in wheat. **Plant Physiology**, v. 122, p. 823-834, 2000.

DE VOS, C. H. R.; SCHAT, H.; DE WAAL, M. A. M.; VOOIJS, R.; ERNST, W. H. O. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. **Physiologia Plantarum**, v. 82, p. 523-528, 1991.

DEMIDCHIK, V.; TESTER, M. Sodium fluxes through non-selective cation channels in the plasma membrane of protoplasts from *Arabidopsis thaliana* roots. **Plant Physiology**, v. 128, p. 379-387, 2002.

DEMIRAL, T.; TÜRKAN, I. Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. **Environmental and Experimental Botany**, *in press*, 2005.

DEVITT, D.; STOLZY, L. H.; JARRELL, W. M. Response of sorghum and wheat to different  $K^+/Na^+$  ratios at varying osmotic potentials. **Agronomy Journal**, v. 76, p. 681-688, 1984.

DIAS, N. S.; GHEYI, H. R.; DUARTE, S. N. **Prevenção, manejo e recuperação dos solos afetados por sais**. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Engenharia Rural, Série didática 13, 2003. 118 p.

DOERING, H. W.; SCHULZE, G.; ROSCHER, P. Salinity effects on the micronutrient supply of plants differing in salt resistance. **Proceedings 6th International Colloquium for the Optimization of Plant Nutrition**, v. 1, p. 165-172, 1984.

DÖRMANN, P.; BENNING, C. Galactolipids rule in seed plants. **Trends Plant Science**, v. 7, p. 112-118, 2002.

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.

EBERT, G.; EBERLE, J.; ALI-DINAR, H.; LUDDERS, P. Ameliorating effects of  $Ca(NO_3)_2$  on growth, mineral uptake and photosynthesis of NaCl-stressed guava seedlings (*Psidium guajava* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 93, p. 125-135, 2002.

EHLERS, J. D.; HALL, A. E. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Field Crops Research**, v. 53, p. 187-204, 1997.

EL-BASHITI T.; HAMAMCÝ, H.; HUSEYIN, A. OKTEM, H. A.; MERAL, Y. Biochemical analysis of trehalose and its metabolizing enzymes in wheat under abiotic stress. **Plant Science**, v. 169, p. 47-54, 2005.

ELBEIN, A. D.; PAN, Y. T.; PASTUSZAK, I.; CARROLL, D. New insight on trehalose: a multifunctional molecule. **Glycobiology**, v. 13, p. 17-27, 2003.

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



EMBRAPA. Cultivo de Feijão-Caupi. 2003. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/>. Acesso em 21 de abril de 2005.

EPSTEIN, E. How calcium enhances plant salt tolerance. **Science**, v. 40, p. 1906-1907, 1998.

ERDEI, L.; TALEISNIK, E. Changes in water relation parameters under osmotic and salt stresses in maize and sorghum. **Physiologia Plantarum**, v. 89, p. 381-387, 1993.

FADZILLA, N. M.; FINCH, R. P.; BURDON, R. H. Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. **Journal Experimental of Botany**, v. 48, p. 325-331, 1997.

FAGÉRIA, N. K.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético das culturas e seleção de cultivares. In: Gheyi, H. R.; Queiróz, J. E., Medeiros, J. F. (eds.). **Manejo e Controle da Salinidade na Agricultura Irrigada**, Campina Grande: UFPB/SBEA, p. 363-383, 1997.

FAN, X.; SOKORAI, K. J. B. Assessment of radiation sensitivity of fresh-cut vegetables using electrolyte leakage measurement. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, p. 191-197, 2005.

FAO. Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. 2000. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/AGL/agll/spush/intro.htm>. Acesso em 10 de maio de 2004.

FAUCONNIER, M. L.; WELTI, R.; BLÉE, E.; MARLIER, M. Lipid and oxylipin profiles during aging and sprout development in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1633, p. 118-126, 2003.

FERNANDES, A. R.; CARVALHO, J. G.; CURI, N.; PINTO, J. E. B.; GUIMARÃES, P. T. G. Nutrição mineral de mudas de pupunheira sob diferentes níveis de salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 1613-1619, 2002.

FERREIRA, R. G.; TÁVORA, F. J. A.; HERNANDEZ, F. F. F. Distribuição da matéria seca e composição química das raízes, caule e folhas de goiabeira submetida a estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 79-88, 2001.

FILLINGER, S.; CHAVEROCHE, M. K.; VAN DIJCK, P.; DE VRIES, R.; RUIJTER, G.; THEVELEIN, J.; D'ENFERT, C. Trehalose is required for the acquisition of tolerance to a variety of stresses in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. **Microbiology**, v. 147, p. 1851-1862, 2001.

FLOWERS, T. J.; TROKE, P. F.; YEO, A. R. The mechanism of salt tolerance in halophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 28, p. 89-121, 1977.

FLOWERS, T. J.; YEO, A. R. Breeding for salinity resistance in crop plants: Where next? **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p. 875-884, 1995.

- FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 307-319, 2004.
- FRANCO, O. L.; ENÉAS-FILHO, J.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Effects of CaCl<sub>2</sub> on growth and osmoregulator accumulation in NaCl stressed cowpea seedlings. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, p. 145-151, 1999.
- FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, C. A. F. Melhoramento genético de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) na região Nordeste. In: Queiroz; M. A.; Goedert; C. O.; Ramos, S.R.R. (Orgs.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa, v. 1, p. 297-326, 1999.
- FREIRE-FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. Melhoramento genético. In: Freire-Filho, Lima, J. A. A.; Ribeiro, V. Q. (eds.). **Feijão-Caupi: Avanços Tecnológicos**. Brasília: Embrapa, p. 29-92, 2005.
- FRICKE, W; PETERS, W. S. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. **Plant Physiology**, v. 129, p. 374-388, 2002.
- FRIDOVICH, I. Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 245, p. 4053-4057, 1986.
- FRIDOVICH, I. Oxygen toxicity: a radical explanation. **The journal of Experimental Biology**, v. 201, p. 1203-1209, 1998.
- FU, J.; HUANG, B. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 45, p. 105-114, 2001.
- FURLANI, A. M. C. Nutrição mineral. In: Kerbauy, G. B. (Org.). **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 40-75, 2004.
- GAINES, T. P.; PARKER, M. B.; GASCHO, G. J. Automated determination of chlorides in soil and plant tissue by sodium nitrate. **Agronomy Journal**, v. 76, p. 371-374, 1984.
- GAO, Z. M.; SAGI, M.; LIPS, S. H. Carbohydrate metabolism in leaves and assimilate partitioning in fruits of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) as affected by salinity. **Plant Science**, v. 135, p. 149-159, 1998.
- GEIGENBERGER, P.; REINHOLZ, R.; GEIGER, M.; MERLO, L.; CANALE, V.; STITT, M. Regulation of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short term water-deficit. **Planta**, v. 201, p. 502-518, 1997.
- GENARD, H.; LE SAOS, J.; HILLARD, J.; TREMOLIERES, A.; BOUCAUD, J. Effect of salinity on lipid composition, glycinebetaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of *Suaeda maritima*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 29, p. 421-427, 1991.

- GHEYI, H. R. Problemas de salinidade na agricultura irrigada. In: Oliveira, T.; Assis-Junior, R.N.; Romero, R.E.; Silva, J. R. C. (eds.). **Agricultura, Sustentabilidade e o Semi-Árido**. Fortaleza: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 329-345, 2000.
- GIRIJA, C.; SMITH, B. N.; SWAMY, P. M. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, p. 1-10, 2002.
- GOSS, J. A. **Physiology of plants and their cells**. New York: Pergamon, 1973. 457 p.
- GOSSETT, D. R.; MILLHOLLON, E. P.; LUCAS, M. C. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. **Crop Science**, v. 34, p. 706-714, 1994.
- GRATTAN, S. R.; MAAS, E. V. Interactive effects of salinity and substrate phosphate on soybean. **Agronomy Journal**, v. 76, p. 668-676, 1984.
- GRATTAN, S. R.; GRIEVE, C. M. Mineral element acquisition and growth response of plants grown in saline environments. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 38, p. 275-300, 1992.
- GRATTAN, S. R.; GRIEVE, C. M. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 78, p. 127-157, 1999.
- GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 31, p. 149-190, 1980.
- GRUHN, P.; GOLETTI, F.; YUDELMAN, M. Integrated nutrient management, soil fertility, and sustainable agriculture: current issues and future challenges. **Food, Agriculture and Environment Discussion Paper 32**. Washington, International Food Policy Research Institute, p. 1-38, 2000.
- GRUSAK, M. A.; PEARSON, J. N.; MARENTES, E. The physiology of micronutrient homeostasis in field crops. **Field Crops Research**, v. 60, p. 41-56, 1999.
- GRUWEL, M. L. H.; RAUW, V. L.; LOEWEN, M.; ABRAMS, S. R. Effects of sodium chloride on plant cells; a P-31 and Na-23 NMR system to study salt tolerance. **Plant Science**, v. 160, p. 785-794, 2001.
- GUPTA, R. K.; ABROL, I. P. Reclamation and management of alkali soils. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 60, p. 1-16, 1990.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free radicals in biology and medicine**. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Oxford University Press, 2002. 980 p.
- HARE, P. D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 21, p. 79-102, 1997.

- HÄRTEL, H.; DÖRMANN, P.; BENNING, C. A galactolipid pool not associated with the photosynthetic apparatus in phosphate-deprived plants. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 61 p. 46-51, 2001.
- HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, R. A. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v. 51, p. 463-499, 2000.
- HASSAN, N. A. K.; DREW, J. V.; KNUDSEN, D.; OLSON, R. A. Influence of soil salinity on production of dry matter and uptake and distribution of nutrients in barley and corn: II. Corn (*Zea mays*). **Agronomy Journal**, v. 62, p. 46-48, 1970.
- HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, p. 189-98, 1968.
- HERNANDEZ, J. A.; CAMPILLO, A.; JIMENEZ, A.; ALACON, J. J.; SEVILLA, F. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. **New Phytologist**, v. 141, p. 241-251, 1999.
- HEUER, B. Influence of exogenous application of proline and glycinebetaine on growth of salt-stressed tomato plants. **Plant Science**, v. 165, p. 693-699, 2003.
- HIRSCHI, K. D. The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. **Plant Physiology**, v. 136, p. 2438-2442, 2004.
- HOUNSA, C. G.; BRANDT, E. V.; THEVELEIN, J.; HOHMANN, S.; PRIOR, B. A. Role of trehalose in survival of *Saccharomyces cerevisiae* under osmotic stress. **Microbiology**, v. 144, p. 671-680, 1998.
- HUANG, J.; REDMANN, R. E. Solute adjustment to salinity and calcium supply in cultivated and wild barley. **Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 1371-1389, 1995.
- HUBAC, C.; GUERRIER, D.; FERRAN, J.; TREMOLIÈRES A. Change of leaf lipid composition during water stress in two genotypes of *Lupinus albus* resistant or susceptible to drought. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 27, p. 737-744, 1989.
- IBGE. Quantidade produzida, valor da produção, área plantada e área colhida da lavoura temporária - Feijão em grão. 2003. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo4.asp?e=c&g=1598|1632&z=t&o=3> Acesso em 21 de abril de 2005.
- JACOBY, B. Mechanisms involved in salt tolerance of plants, In: Pessaraki, M. (ed.). **Handbook of Plant and Crop Stress**, 2<sup>nd</sup> ed. revised and expanded. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 97-123, 1999.
- JESCHKE, W. D.  $K^+$ - $Na^+$  exchange at cellular membranes, intracellular compartmentation of cations and salt tolerance. In: Staples, R. C.; Toenniessen, G. H. (eds.). **Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement**. New York: John Wiley and Sons, p. 37- 66, 1984.

- JIALAL, I.; GRUNDY, S. M. Effect of dietary supplementation with alpha-tocopherol on the oxidative modification of low density lipoprotein. **Journal of Lipid Research**, v. 33, p. 899-906, 1992.
- KADMAN, A. The uptake and accumulation of chloride in avocado leaves and the tolerance of avocado seedlings under saline conditions. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, v. 83, p. 280-286, 1963.
- KAISER, W. The effect of hydrogen peroxide on CO<sub>2</sub> fixation of isolated intact chloroplast. **Biochimica and Biophysica Acta**, v. 440, p. 475-482, 1976.
- KAMELI, A.; LÖSEL, D. M. Carbohydrates and water status in wheat plants under water stress. **New Phytologist**, v. 125, p. 609-614, 1993.
- KARAMANOS, A. J. The involvement of proline and some metabolites in water stress and their importance as drought resistance indicator. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v. 21, p. 98-100, 1995.
- KAYA, C.; KIRNAK, H.; HIGGS, D.; SALTALI, K. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. **Scientia Horticulturae**, v. 93, p. 65-74, 2002.
- KELLY, A. A.; DÖRMANN, K. Green light for galactolipid trafficking. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 7, p. 262-269, 2004.
- KEREPESI, I., GALIBA, G. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. **Crop Science**, v. 40, p. 482-487, 2000.
- KERKEB, L.; DONAIRE, J. P.; VENEMA, K.; RODRIGUEZ-ROSALES, M. P. Tolerance to NaCl induces changes in plasma membrane lipid composition, fluidity and H<sup>+</sup>-ATPase activity of tomato calli. **Physiologia Plantarum**, v. 113, p. 217-224, 2001.
- KHAN, M. A.; UNGAR, I. A.; SHOWALTER, A. M. The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. **Journal of Arid Environments**, v. 45, p. 73-84, 2000.
- KHAVARI-NEJAD, R. A.; MOSTOFI, Y. Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. **Photosynthetica**, v. 35, p. 151-154, 1998.
- KINRAIDE, T. B. Three mechanisms for the calcium alleviation of mineral toxicities. **Plant Physiology**, v. 118, p. 513-520, 1998.
- KNIGHT, S. L.; ROGERS, R. B.; SMITH, M. A. L.; SPOMER, L. A. Effects of salinity on miniature dwarf tomato: I. Growth and development and nutrient composition. **Journal of Plant Nutrition**, v. 15, p. 2315-2327, 1992.
- KORDYUM, E. L. Calcium signaling in plant cells in altered gravity. **Advances in Space Research**, v. 32, p. 1621-1630, 2003.

- KUMAR, G. S.; REDDY, A. M.; SUDHAKAR, C. NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) with contrasting salt tolerance. **Plant Science**, v. 165, p. 1245-1251, 2003.
- KURBAN, H.; SANEOKA, H.; NEHIRA, K.; ADILLA, R.; PREMACHANDRA, G. S.; FUJITA, K. Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* (Bieb.). **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 45, p. 851-862. 1999.
- LACERDA, C. F. **Efeitos da salinidade no desenvolvimento e composição mineral do feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e utilização do Ca<sup>2+</sup> como meio para minorar tais efeitos**. 1995. 87 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- LACERDA, C. F. **Crescimento e acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos em dois genótipos de sorgo forrageiro submetidos a estresse salino**. 2000. 163 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M. A.; RUIZ, H. A. Osmotic adjustment in roots and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15, p. 113-118, 2003a.
- LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; RUIZ, H. A.; PRISCO, J. T. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 49, p. 107-120, 2003b.
- LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M. A.; RUIZ, H. A. Influência do cálcio sobre o crescimento e solutos em plântulas de sorgo estressadas com cloreto de sódio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 289-295, 2004.
- LAHAYE, P. A.; EPSTEIN, E. Salt toleration by plants: enhancement with calcium. **Science**, v. 165, p. 395-396, 1969.
- LAMAZE, T.; SENTENAC, H.; GRIGNON, C. Orthophosphate relations of root: NO<sub>3</sub><sup>-</sup> effects on orthophosphate influx, accumulation and secretion into the xylem. **Journal Experimental of Botany**, v. 38, p. 923-934, 1987.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA, 2000. 531p.
- LATA, H.; AHUJA, G. K.; NARANG, A. P. S.; WALIA, L. Effect of immobilisation stress on lipid peroxidation and lipid profile in rabbits. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 19, p. 1-4, 2004.
- LÄUCHLI, A. Calcium, salinity and the plasma membrane. In: Leonard, R. T.; Hepler, P. K. (eds.). **Calcium in Plant Growth and Development**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, p. 26-35, 1990.

- LÄUCHLI, A.; COLMER, T. D.; FAN, T. W.; HIGASHI, R. M. Solute regulation by calcium in salt-stressed plants. In: Cherry, J. H., (ed.). **Biochemical and Cellular Mechanisms of Stress Tolerance in Plants**. Berlin: Springer-Verlag, p. 443-461, 1994.
- LAURIANO, J. A.; LIDON, F. C.; CARVALHO, C. A.; CAMPOS, P. S.; MATOS, M. C. Drought effects on membrane lipids and photosynthetic activity in different peanut cultivars. **Photosynthetica**, v. 38, p. 7-12, 2000.
- LEIGH, R. A.; AHMAD, N.; WYN JONES, R. G. Assessment of glycinebetaine and proline compartmentation by analysis of isolated beet vacuoles. **Planta**, v. 153, p. 34-41, 1981.
- LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stresses. Water, radiation, salt, and other stresses**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Academic Press, v. 2, 1980. 607 p.
- LIMA, E. A. **Atividade das enzimas SOD, CAT e APX e metabolismo dos lipídeos de membranas em dois cultivares de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] em condições de estresse salino**. 2004. 117 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- LIU, J.; ZHU, J. K. Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt hypersensitive mutant of Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 114, p. 591-596, 1997.
- LIU, J.; ZHU, J. K. A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. **Science**, v. 280, p. 1943-1945, 1998.
- LODISH, H.; BERK, A.; ZIPURSKY, S. L.; MATSUDAIRA, P.; BALTIMORE, D.; DARNELL, J. **Biologia Celular e Molecular**. 4<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter Ltda, 2002. 1084 p.
- LONGSTRETH, D. J.; BOLAÑOS, J. A.; SMITH, J. E. Salinity effects on photosynthesis and growth in *Alternanthera philoxenoides* (Mart.) Griseb. **Plant Physiology**, v. 75, p. 1044-1047, 1984.
- LORETO, F.; CENTRITTO, M.; CHARTZOULAKIS, K. Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 595-601, 2003.
- LUO, Q.; YU, B.; LIU, Y. Differential sensitivity to chloride and sodium ions in seedlings of *Glycine max* and *G. soja* under NaCl stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 1003-1012, 2005.
- LUTTS, S.; KINET, J. M.; BOUHARMONT, J. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. **Annals of Botany**, v. 78, p. 389-398, 1996a.
- LUTTS, S.; KINET, J. M.; BOUHARMONT, J. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. **Plant Growth Regulation**, v. 19, p. 207-218, 1996b.

MAAS, E. V.; OGATA, G.; GARBER, M. J. Influence of salinity on Fe, Mn, and Zn uptake by plants. **Agronomy Journal**, v. 64, p. 793-795, 1972.

MAAS, E. V.; HOFFMAN, G. H. Crop salt tolerance - Current assessment. **Journal of the Irrigation and Drainage Division, American Society of Civil Engineers**, Reston, v. 103, p. 115-134, 1977.

MAAS, E. V.; GRIEVE, C. M. Sodium-induced calcium deficiency in salt stressed corn. **Plant and Cell Environment**, v. 10, p. 559-564, 1987.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2<sup>a</sup> ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MALKIT, A.; SADKA, A.; FISHER, M.; GOLDSHLAG, P.; GOKHMAN, I.; ZAMIR, A. Salt induction of fatty acid elongase and membrane lipid modifications in the extreme halotolerant Alga *Dunaliella salina*. **Plant Physiology**, v. 129, p. 1320-1329, 2002.

MANSOUR, M. M. F. Changes in growth, solute potential and cell permeability of wheat cultivars under NaCl. **Biologia Plantarum**, v. 36, p. 429-434, 1994.

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

MANSOUR, M. M. F.; SALAMA, K. H. A.; AL-MUTAWA, M. M.; ABOU HADID, A. F. Effect of NaCl and polyamines on plasma membrane lipids of wheat roots. **Biologia Plantarum**, v. 45, p. 235-239, 2002.

MANSOUR, M. M. F.; SALAMA, K. H. A.; AL-MUTAWA, M. M. Transport proteins and salt tolerance in plants. **Plant Science**, v. 164, p. 891-900, 2003.

MANSOUR, M. M. F.; SALAMA, K. H. A. Cellular basis of salinity tolerance in plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 52, p. 113-122, 2004.

MANTOVANI, A. A method to improve leaf succulence quantification. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 42, p. 9-14, 1999.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1995. 889 p.

MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. **Ácidos Graxos de Algumas Oleaginosas Tropicais em Ocorrência no Nordeste do Brasil**. São Paulo: Química Nova, v. 15, p. 181-185, 1992.

MATTIONI, C.; LACERENZA, N. G.; TROCCOLI, A.; DE LEONARDIS, A. M.; DI FONZO, N. Water and salt stress-induced alterations in proline metabolism of *Triticum durum* seedlings. **Physiologia Plantarum**, v. 101, p. 787-792, 1997.

McKERSIE, B. B.; LESHEM, Y. Y. **Stress and stress copin in cultivated plants**. London: Kluwer Academic Publisher, 1994. 256 p.



MEDEIROS, J. F.; GHEYI, H. R. Evolução da salinidade em pequenas áreas irrigadas na zona semi-árida do Nordeste. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA. 1993. Ilhéus. **Anais...** v.5, p. 2943-2955, 1993.

MELONI, D. A.; OLIVA, M. A.; RUIZ, H. A.; MARTINEZ, C. A. Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, p. 599-612, 2001.

MELONI, D. A.; OLIVA, M. A.; MARTINEZ, C. A.; CAMBRAIA, J. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 49, p. 69-76, 2003.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5<sup>th</sup> ed. London: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849 p.

METCALFE, L. D.; SCHMITZ, A. A.; PELKA, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. **Analytical Chemistry**, v. 38, p. 514-515, 1966.

MEURER, E. J.; ANGHINONI, I. A solução do solo. In: Meurer, J. E. (ed.). **Fundamentos de Química do Solo**. Porto Alegre: Gênese, p. 101-129, 2004.

MIKAMI, K.; MURATA, N. Membrane fluidity and the perception of environmental signals in cyanobacteria and plants. **Progress in Lipid Research**, v. 42, p. 527-543, 2003.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; BLOCH, M. F. M. **Análise química de tecido vegetal**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, circular 74, 1992. 17 p.

MONTE, W. B. **Efeitos da salinidade no desenvolvimento e concentração de nutrientes em dois cultivares de bananeira (Pacovan e Maçã)**. 2003. 66 f. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MONTE, W. B.; HERNANDEZ, F. F. F.; LACERDA, C. F.; NESS, R. L. L. Crescimento e teores de minerais em plantas jovens de duas cultivares de bananeira submetidas a estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v. 35, Número Especial, p. 157-164, 2004.

MONTEIRO DE PAULA, F.; PHAM THI, A. T.; VIEIRA DA SILVA, J.; JUSTIN, A. M., DEMANDRE, C.; MAZLIAK, P. Effects of water stress on the molecular species composition of polar lipids from *Vigna unguiculata* leaves. **Plant Science**, v. 66, p. 185-193, 1990.

MOYA, J. L.; PRIMO-MILLO, E.; TALON, M. Morphological factors determining salt tolerance in *Citrus* seedlings: The shoot to root ratio modulates passive root uptake of chloride ions and their accumulation in leaves. **Plant, Cell and Environmental**, v. 22, p. 1425-1433. 1999.

- MÜHLING, K. H.; LÄUCHLI, A. Effect of salt stress on growth and cation compartmentation in leaves of two plant species differing in salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 159, p. 137-146, 2002.
- MUNNS, R.; TERMAAT, A. Whole plant responses to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 13, p. 143-160, 1986.
- MUNNS, R. Physiological processes limiting plant growth on saline soils: some dogmas and hypothesis. **Plant and Cell Environment**, v. 16, p. 15-24, 1993.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant and Cell Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002.
- 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.
- NELSON, D. E.; KOUKOUMANOS, M.; BOHNERT, H. J. Myo-inositol-dependent sodium uptake in ice plant, **Plant Physiology**, v. 119, p. 165-172, 1999.
- NELSON, D. L.; COX, M. **Principles of biochemistry**. 4<sup>nd</sup> ed. New York: Worth Publishers, 2004. 1100 p.
- NETONDO, 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.
- NEVES, M. C. P. Conheça as leguminosas. **A Lavoura**, v. 102, p. 44-45, 1999.
- NIU, D. K.; WANG, M. G.; WANG, Y. F. Plant cellular osmotica. **Acta Biotheoretica**, v. 45, p. 161-169, 1997.
- NIU, X.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M.; PARDO, J. M. Ion homeostasis in NaCl stress environments. **Plant Physiology**, v. 109, p. 735-742, 1995.
- NOLTE, K. D.; HANSON, A. D.; GAGE, D. A. Proline accumulation and methylation to proline-betaine in *Citrus*: implications for genetic engineering of stress resistance. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 122, p. 8-13, 1997.
- NORBERG, P.; ENGSTROM, L.; NILSSON, R.; LILJENBERG, C. Phase behavior and molecular species composition of oat root plasma membranes lipids. Influence of induced dehydration tolerance. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1112, p. 52-56, 1992.
- O'LEARY, J. W. High humidity overcomes lethal levels of salinity in hydroponically grown salt-sensitive plants. **Plant and Soil**, v. 42, p. 717-721, 1975.
- OLIVEIRA, H. P. M. **Efeitos de concentrações iso-osmóticas de sais (NaCl +KCl) sobre o crescimento e o acúmulo de íons em plantas de sorgo forrageiro**. 2002. 31 f. Monografia (Curso de Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

OLIVEIRA, M. Gênese, classificação e extensão de solos afetados por sais. In: Gheyi, H. R.; Queiróz, J. E., Medeiros, J. F. (eds.). **Manejo e Controle da Salinidade na Agricultura Irrigada**, Campina Grande: UFPB/SBEA, p. 1-35, 1997.

OLIVEIRA, M. S. C. **Estudo da composição lipídica e efeito do estresse hídrico em membranas foliares de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale L.*)**. 2001. 104 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

PAGE, A. L.; CHANG, A. C.; ADRIANO, D. C. Deficiencies and toxicities of trace elements. In: Tanji, K. K. (ed.). **Agricultural Salinity Assessment and Management Manual**. New York: American Society of Civil Engineers, p. 138-160, 1990.

PALANIAPPAN, R.; YERRISWAMY, R. M. Evaluation of monthan banana under saline water irrigation conditions. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 31, p. 71-76, 1997.

PARANYCHIANAKIS, N. V.; CHARTZOULAKIS, K. S.; ANGELAKIS, A. N. Influence of rootstock, irrigation level and recycled water on water relations and gas exchange of Soultanina grapevines. **Environmental and Experimental Botany**, v. 52, p. 185-198. 2004.

PARANYCHIANAKIS, N. V.; CHARTZOULAKIS, K. S. Irrigation of Mediterranean crops with saline water: from physiology to management practices. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 106, p. 171-187, 2005.

PAREEK, A.; SINGLA, S. L.; GROVER, A. Salt responsive proteins/genes in crop plants. In: Jaiwal, P. K.; Singh, R. B.; Gulati, A. (eds.). **Strategies for Improving Stress Tolerance in Higher Plants**. New Delhi: Oxford and IBH Publication Co., p. 365-391, 1997.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B.; DAS, P. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. **Journal of Plant Biology**, v. 45, p. 28-36, 2002.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B.; MITTRA, B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. **Trees**, v. 18, p. 167-174, 2004.

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.

PARVANOVA, D.; IVANOV, S.; KONSTANTINOVA, T.; KARANOV, E. ATANASSOV, A.; TSVETKOV, T.; ALEXIEVA, V.; DJILIANOV, D. Transgenic tobacco plants accumulating osmolytes show reduced oxidative damage under freezing stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 57-63, 2004.

PETRUSA, L. M.; WINICOV, I. Proline status in salt-tolerante and salt-sensitive alfafa cell lines and plants in response to NaCl. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 35, p. 303-310, 1997.

- PEYRANO, G.; TALEISNIK, E.; QUIROGA, M.; FORCHETTI, S. M.; TIGIER, H. Salinity effects on hydraulic conductance, lignin content and peroxidase activity in tomato roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 35, p. 387-393, 1997.
- PHAM THI, A. T. Action de la sécheresse sur les lipides polaires des feuilles de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.). **Bulletin de la Société Botanique de France**, v. 131, p. 89-97, 1984.
- POLJAKOFF-MAYBER, A. Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. In: Poljakoff-Mayber, A.; Gale, J. (eds.). **Plants in Saline Environments**. New York: Springer-Verlag, p. 97-117, 1975.
- POUSTINI, K.; SIOSEMARDEH, A. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. **Field Crops Research**, v. 85, p. 125-133, 2004.
- PRADO, H. **Solos do Brasil: gênese, morfologia, classificação, levantamento e manejo de solos**. 4ª ed. Piracicaba: Edição do autor, 2005. 281 p.
- PRATA, F. C. **Principais culturas do nordeste**. Fortaleza, Imprensa Universitária, 1977. 220 p.
- PRISCO, J. T.; VIEIRA, G. H. F. Effects of NaCl salinity on nitrogenous compounds and proteases during germination of *Vigna sinensis* seeds. **Physiologia Plantarum**, v. 36, p. 317-320, 1976.
- PRISCO, J. T. **Contribuição ao estudo da fisiologia do estresse salino durante a germinação e estabelecimento da plântula de uma glicófita [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]**. 1987. 65 f. Tese (Professor Titular de Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- PURVES, W. K.; SADAVA, D.; ORIAN, G.H.; HELLER, H. C. **Vida: a ciência da biologia**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 986 p.
- QIU, Q. S.; LIANG, H. G. Lipid peroxidation caused by redox system of plasma membranes from wheat roots. **Journal of Plant Physiology**, v. 145, p. 261-265. 1995.
- RAHMAN, S.; VANCE, G. F., MUNN, L. C. Salinity induced effects on the nutrient status of soil, corn leaves and kernels. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 24, p. 2251-2269, 1993.
- RAMOLIYA, P.; PATEL, H.; PANDEY, A. N. Effect of salinization of soil on growth and macro- and micro-nutrient accumulation in seedlings of *Salvadora persica* (Salvadoraceae). **Forest Ecology and Management**, v. 202, p. 181-193, 2004.
- REDDY, V. S.; REDDY, A. S. N. Proteomics of calcium-signaling components in plants. **Phytochemistry**, v. 65, p. 1745-1776, 2004.
- REDMANN, R. E.; HERALDSON, J.; GUSTA, L. V. Leakage of UV-absorbing substances as a measure of salt injury in leaf tissue of woody species. **Physiologia Plantarum**, v. 67, p. 87-91, 1986.

REID, R. J.; SMITH, A. The limits of sodium/calcium interactions in plant growth. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 27, p. 709-715, 2000.

RENGEL, Z. The role of calcium in salt toxicity. **Plant and Cell Environment**, v. 15, p. 625-632, 1992.

RIBEIRO, M. R.; FREIRE, F. J.; MONTENEGRO, A. A. A. Solos halomórficos no Brasil: ocorrência, gênese, classificação, uso e manejo sustentável. In: Curi, N.; Marques, J. J.; Guilherme, L. R. G.; Lima, J. M.; Lopes, A. S.; Álvares, V. H. (eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 3, p. 165-208, 2003.

RICHARDS, L. A. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. Washington: United States Salinity Laboratory Staff, 1954. 160 p.

ROBINSON, M. F.; VÉRY, A. A.; SANDERS, D.; MANSFIELD, T. A. How can stomata contribute to salt tolerance? **Annals of Botany**, v. 80, p. 387-393, 1997.

ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. **Plant Science**, v. 160, p.265-272, 2001.

ROOSENS, N. H. C. J.; THU, T.T.; ISKANDER, H. M.; JACOBS, M. Isolation of the ornithine- $\delta$ -aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, v. 117, p. 263- 271, 1998.

ROY-MACAULEY, H.; ZUILY-FODIL, Y.; KIDRIC, M.; PHAM Solos halomórficos no Brasil: ocorrência, gênese, classificação, uso e manejo sustentável THI, A. T.; VIEIRA DA SILVA, J. Effect of drought stress on proteolytic activities in *Phaseolus* and *Vigna* leaves from sensitive and resistant plants. **Physiologia Plantarum**, v. 85, p. 90-96, 1992.

RUIZ, D.; MARTINEZ, V.; CERDÁ, A. Citrus response to salinity: growth and nutrient uptake. **Tree Physiology**, v. 17, p. 141-150, 1997.

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

SANDERS, D.; BROWNLEE, C.; HARPER, J. F. Communicating with calcium. **The Plant Cell**, v.11, p. 691-706, 1999.

SAUR, E.; LAMBROT, C.; LOUSTAU, D.; ROTIVAL, N.; TRICHET, P. Growth and uptake of mineral elements in response to sodium chloride of three provenances of maritime pine. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 18, p. 243-256, 1995.

SEEMANN, J. R.; CHRITCHLEY, C. Effect of salt stress on the growth, ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of salt sensitive species *Phaseolus vulgaris* L. **Planta**, v. 164, p. 151-162, 1985.

SELOTE, D.S.; BHARTI, S.; KHANNA-CHOPRA, R. Drought acclimation reduces O<sub>2</sub> - accumulation and lipid peroxidation in wheat seedlings Devarshi S. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 314, p. 724-729, 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.

SERRANO, R.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. Ion homeostasis during salt stress in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 13, p. 399-404, 2001.

SHALATA, A.; MITTOVA, V.; VOLOKITA, M.; GUY, M.; TAL, M. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system. **Physiologia Plantarum**, v. 112, p. 487-494, 2001.

SHANNON, M. C. The effects of salinity on cellular and biochemical processes associated with salt tolerance in tropical plants. In: Davenport, T. L.; Harrington, H. M. (eds.). **Proceedings in Plant Stress in the Tropical Environment**. Kailu-Kona: University of Florida, p. 56-63, 1992.

SHANNON, M. C.; GRIEVE, C. M.; FRANCOIS, L. E. Whole plant response to salinity. In: Wilkinson, R. E. (ed.). **Plant Environment Interactions**. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 199-244, 1994.

SILVA, J. V. **Efeitos do CaCl<sub>2</sub> no crescimento e acumulação de osmorreguladores em plantas de feijão-de-corda cv. Pitiúba estressadas com NaCl**. 1998. 103 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SILVA, J. V. **Respostas fisiológicas de dois genótipos de sorgo-forrageiro submetidos à salinidade**. 2003. 103 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SILVA, J. V.; LACERDA, C. F.; COSTA, P. H. A.; ENÉAS FILHO, J.; GOMES FILHO, E.; PRISCO, J. T. Physiological responses of NaCl stressed cowpea plants grown in nutrient solution supplemented with CaCl<sub>2</sub>. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.15, p. 99-105, 2003.

SINGH, N. K.; BRACKEN, C. A.; HASEGAWA, P. M.; HANDA, A. K.; BUCKEL, S.; HERMODSON, M. A.; PFANKOCH, F.; REGNIER, F. E.; BRESSAN, R. A. Characterization of osmotin. A thaumatin-like protein associated with osmotic adjustment in plant cells. **Plant Physiology**, v. 85, p. 529-536, 1987.

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

SOMERVILLE, C. Direct tests of the role of membrane lipid composition in low-temperature-induced photoinhibition and chilling sensitivity in plants and cyanobacteria. **Proceedings of the National Academy of Science of USA**, v. 92, p. 6215-6218, 1995.

SOMERVILLE, C.; BROWSE, J.; JAWORSKI, J. G.; OHLROGGE, J. B. Lipids. In: Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. (eds.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, p. 456-527, 2000.

SOUSA, M. F.; CAMPOS, F. A. P.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; GOMES-FILHO, E. Growth and protein pattern in cowpea seedlings subjected to salinity. **Biologia Plantarum**, v. 47, p. 341-346, 2003.

SOUZA LIMA, M. G. ; 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.

STRANGE, K. Cellular volume homeostasis. **Advances in Physiology Education**, v. 28, p. 155-159, 2004.

SUDÉRIO, F. B. Efeito do NaCl na atividade galactosidásica de caules de plântulas de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] cv. Pitiúba. 2001. 66 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SURJUS, A.; DURAND, M. Lipid changes in soybean root membranes in response to salt treatment. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, p. 17-23, 1996.

SZABOLCS, I. The state and perspective of soil salinity: a world-wide perspective of soil salinization: POSTGRADUATE COURSE ON SOIL SALINITY. Valencia, 1994. 18 p.

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

TANJI, K. K. The nature of extent of agricultural salinity problems. In: Tanji, K. K. (ed.). **Agricultural Salinity Assessment and Management Manual**. New York: American Society of Civil Engineers, p. 1-17, 1990.

TEIXEIRA, G. M. **Recuperação do enxofre <sup>34</sup>S aplicado ao solo em cultivos sucessivos com milho ou soja e alfafa**. 2004. 77 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

TEIXEIRA, S. M.; MAY, P. H.; SANTANA, A. C. Produção e importância econômica do caupi no Brasil. In: Araujo, J. P. P.; Watt, E. E. (coord.). **O Caupi no Brasil**. Brasília: IITA/EMBRAPA, p. 101-136, 1988.

TEJERA GARCÍA, N. A.; IRIBARNE, C.; MIGUEL LÓPEZ, J. A.; HERRERA-CERVERA, C. L. Physiological implications of trehalase from *Phaseolus vulgaris* root nodules: partial purification and characterization. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 43, p. 355-361, 2005.

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.

TREMOLIÈRES, P. A.; DUBACQ, J. P.; DUVAL, J. C.; LEMOINE, Y.; REMY, R. Role of phosphatidylglycerol containing trans-hexadecenoic acid in oligomeric organization of the high harvesting chlorophyll protein (LHCP). In: Wintermans, J. F.

G. M. Kuiper, P. J. C. (eds.). **Biochemistry and Metabolism of Plant Lipids**. Amsterdam: Elsevier, p. 369-372, 1982.

TRINDADE, A. R. **Influência do acúmulo e distribuição de íons na parte aérea sobre as respostas de plantas de sorgo e de feijão-de-corda ao estresse salino**. 2002. 31 f. Monografia (Curso de Graduação em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

TYAGI, A.; SANTHA, I. M.; MEHTA, S. L., Effect of water stress on proline content and transcript levels in *Lathyrus sativus*. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, v. 36, p. 207-210, 1999.

VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARTY, R.; GEORGE THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) - differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, v. 165, p. 1411-1418, 2003.

WAISEL, Y. The stimulating effects of NaCl on root growth of Rhodes grass (*Chloris gayana*). **Physiologia Plantarum**, v. 64, p. 519-522, 1985.

WEIMBERG, R.; LERNER, H. R.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Changes in growth and water soluble solute concentrations in *Sorghum bicolor* stressed with sodium and potassium, **Physiologia Plantarum**, v. 62, p. 472-480, 1984.

WERNER, J. E.; FINKELSTEIN, R. R. *Arabidopsis* mutants with reduced response to NaCl and osmotic stress. **Physiologia Plantarum**, v. 93, p. 659-666, 1995.

WHITE, P. J.; BROADLEY M. R. Chloride in soils and its uptake and movement within the plant. **Annals of Botany**, v. 88, p. 967-988, 2001.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, v. 92, p. 487-511, 2003.

WILSON, R. F.; BURKE, J. J.; QUISENBERRY, J. E. Plant morphological and biochemical responses to field water deficits. II. Responses of leaf glycerolipid composition in cotton. **Plant Physiology**, v. 84, p. 251-254, 1987.

WINICOV, I. New molecular approaches to improving salt tolerance in crop plants. **Annals of Botany**, v. 82, p. 703-710, 1998.

WU, J.; SELISKAR, D. M.; GALLAGHER, J. L. Stress tolerance in the marsh plant *Spartina patens*: impact of NaCl on growth and root plasma membrane lipid composition. **Physiologia Plantarum**, v. 102, p. 307- 317, 1998.

XIONG, L.; ZHU, J. K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 131-139, 2002.

YANG, W. J.; RICH, P. J.; AXTELL, J. D.; WOOD, K. V.; BONHAM, C. C.; EJETA, G.; MICKELBART, M. V.; RHODES, D. Genotypic variation for glycinebetaine in sorghum, **Crop Science**, v. 43, p. 162-169, 2003.



- YANG, Y. W.; NEWTON, R. J.; MILLER, F. R. Salinity tolerance in *Sorghum*. I. Whole plant response to sodium chloride in *S. bicolor* and *S. halepense*. **Crop Science**, v. 30, p. 775-781, 1990.
- YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.
- YEO, A. Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. **Scientia Horticulturae**, v. 78, p. 159-174, 1999.
- YOSHIBA, Y.; KYIOSUE, T.; NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants water stress. **Plant and Cell Physiology**, v. 38, p. 1095-1102, 1997.
- ZEKRI, M.; PARSONS, L. R. Calcium influences growth and leaf mineral concentration of citrus under saline conditions. **Horticultural Science**, v. 25, p. 784-786, 1990.
- ZEKRI, M. Effects of NaCl on growth and physiology of sour orange and Cleopatra mandarin seedlings. **Scientia Horticulturae**, v. 47, p. 305-315, 1991.
- ZEKRI, M. Salinity and calcium effects on emergence, growth and mineral composition of seedlings of eight citrus rootstocks. **Journal of Horticultural Science**, v. 68, p. 53-62, 1993.
- ZHANG H. X.; BLUMWALD, E. Transgenic salt tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. **Nature Biotechnology**, v. 19, p. 765-768, 2001.
- ZHANG, W.; CHEN, Q., LIU, Y. Relationship between H<sup>+</sup>-ATPase activity and fluidity of tonoplast in barley roots under NaCl stress. **Acta Botanica Sinica**, v. 44, p. 292-296, 2002.
- ZHAO, F. G.; QIN, P. Protective effects of exogenous fatty acids on root tonoplast function against salt stress in barley seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, v. 53, p. 215-223, 2005.
- ZHU, J. K.; HASEGAWA, B.; BRESSAN, R. A. Molecular aspects of osmotic stress in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 16, p. 253-277, 1997.
- ZHU, J. K. Plant salt tolerance. **Trends Plant Science**, v. 6, p. 66-71, 2001.
- ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 53, p. 247-273, 2002.
- ZHU, X.; GONG, H.; CHEN, G.; WANG, S.; ZHANG, C. Different solute levels in two spring wheat cultivars induced by progressive field water stress at different developmental stages. **Journal of Arid Environments**, v. 62, p. 1-14, 2005.
- ZRENNER, R.; STITT, M. Comparison of the effect of rapidly and gradually developing water-stress on carbohydrate metabolism in spinach leaves. **Plant and Cell Environment**, v. 14, p. 939-946, 1991.