



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**CENTRO DE CIÊNCIAS**

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA**

**RAFAEL DE SOUZA MIRANDA**

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE N INORGÂNICO NA REGULAÇÃO  
DA HOMEOSTASE  $K^+/Na^+$  E NAS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE  
SORGO FORRAGEIRO AO ESTRESSE SALINO**

**FORTALEZA – CE**

**2011**

**RAFAEL DE SOUZA MIRANDA**

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE N INORGÂNICO NA REGULAÇÃO  
DA HOMEOSTASE  $K^+/Na^+$  E NAS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE  
SORGO FORRAGEIRO AO ESTRESSE SALINO**

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

Área de concentração: Bioquímica Vegetal

Orientador: *Prof. Dr. Enéas Gomes Filho*

Co-orientador: *Dr. Juan Carlos Alvarez Pizarro*

**FORTALEZA – CE**

**2011**

M645i Miranda, Rafael de Souza  
Influência de diferentes fontes de N inorgânico na regulação da homeostase  $K^+/Na^+$  e nas respostas fisiológicas de plantas de sorgo forrageiro ao estresse salino / Rafael de Souza Miranda. – 2011.  
128 f. : il. color., enc.

Orientador: Prof. Dr. Enéas Gomes Filho  
Coorientador: Prof. Dr. Juan Carlos Alvarez Pizarro  
Área de concentração: Bioquímica Vegetal  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências. Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular, Fortaleza, 2011.

1. Estresse salino 2. Salinidade 3. Plantas – Efeito do nitrogênio 4. Homeostase 5. *Sorghum bicolor* I. Gomes Filho, Enéas (Orient.) II. Alvarez-Pizarro, Juan Carlos (Coorient.) III. Universidade Federal do Ceará – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica IV. Título

CDD 574.192

**RAFAEL DE SOUZA MIRANDA**

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE N INORGÂNICO NA REGULAÇÃO  
DA HOMEOSTASE  $K^+/Na^+$  E NAS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE  
SORGO FORRAGEIRO AO ESTRESSE SALINO**

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

**Aprovada em:** 14 de julho de 2011

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Enéas Gomes Filho (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC



---

Dr. Juan Carlos Alvarez Pizarro (Co-orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC



---

Prof. Dr. Marlos Alves Bezerra (Conselheiro)  
EMBRAPA - CNPAT

**FORTALEZA – CE**

**2011**

*Ao meu pai, **Juarez**, à minha  
mãe, **Francisca**, e à minha  
querida filha, **Sarha Rayla**.*

*Dedico*

*“A genialidade, esse poder que  
deslumbra os olhos humanos,  
não é outra coisa senão a  
perseverança bem disfarçada”.*

**Johann Goethe**

## AGRADECIMENTOS

A *Deus*, por durante toda minha vida possibilitar a realização de diversas conquistas;

Aos meus pais, aos meus irmãos e à minha filha, pelo imenso esforço, apoio e compreensão a mim oferecidos, um agradecimento todo especial;

Ao professor *Enéas Gomes Filho* a quem tenho grande admiração, pela confiança depositada, orientação, incentivo, apoio e por tornar possível realizar a conclusão dessa etapa em minha vida;

Ao professor *Juan Carlos Alvarez Pizarro*, pela amizade e inestimável contribuição para a realização dessa dissertação, desde a sugestão do tema, acompanhamento da parte experimental e pelas valiosas idéias para a concretização;

Ao professor *Marlos Alvez Bezerra*, pela sua disponibilidade e interesse em contribuir para a revisão deste trabalho;

Aos graduandos *Celso Marinones, Jones Vidal, Thiago Augusto e Victor Freitas*, pela imensa ajuda durante a montagem e condução dos experimentos;

À amiga e colega *Michella Albuquerque*, um agradecimento especial por ter tornado os árduos dias de trabalho mais harmoniosos, principalmente nos fins de semana;

Aos demais amigos e colegas do grupo de Fisiologia Vegetal: Prof. *Joaquim Enéas*, Prof. *Claudivan Lacerda*, *Aiala Amorim*, *Alexcyane Feijão*, *Bruno Lobo*, *Carlos Eduardo*, *Cibelle Gadelha*, *Elaine Angelim*, *Elton Marques*, *Emanuelle Sampaio*, *Franklin Aragão*, *Gyedre Araújo*, *Manoel Amaro*, *Nara Lídia*, *Nathan Pinheiro*, *Paulo André*, *Thalita Montoril*, *Valdinéia Soares*, *Viviane Pinho* e *Viviane Ruppenthal*, pela convivência, amizade, ajuda e pelos momentos de descontração;

Aos colegas do curso de Pós-Graduação em Bioquímica pela amizade e auxílio no estudo de cada disciplina ao longo do curso, especialmente, à *Andresiane*, pelos diversos incentivos a mim concedidos;

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Bioquímica, especialmente àqueles de quem tive a oportunidade de ser aluno, pelas experiências e ensinamentos compartilhados comigo, bem como aos demais membros do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (funcionários);

À minha namorada *Aline* e demais amigos e familiares, que sempre torceram para que eu alcançasse meus objetivos;

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de realização deste curso;

À CAPES, pela bolsa concedida durante o curso de mestrado;

A todas as pessoas que de qualquer forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e que não foram supracitadas, o meu sincero agradecimento.

## RESUMO

Objetivou-se com o presente trabalho analisar a influência do nitrogênio inorgânico (N) na regulação da homeostase  $K^+/Na^+$  e nas respostas fisiológicas de plantas de sorgo forrageiro [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], genótipo CSF20, submetidas ao estresse salino. Sementes de sorgo forrageiro foram semeadas em vermiculita e após quatro dias, transferidas para soluções nutritivas contendo N a 5,0 mM, nas formas de  $NO_3^-$ ,  $NO_3^-/NH_4^+$  e  $NH_4^+$  e  $K^+$  a 0,75 mM. Após oito dias de cultivo, as plantas foram submetidas a estresse salino com NaCl a 75,0 mM. As coletas foram realizadas aos doze dias (antes da aplicação do estresse), e com um, três, cinco e sete dias de estresse salino. Analisaram-se o crescimento, os teores de íons ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$  e  $NH_4^+$ ) e de compostos orgânicos (carboidratos solúveis, redutores e não redutores, proteínas e N-aminossolúveis), as trocas gasosas e a absorção de água. As plantas de sorgo não estressadas cultivadas nas três fontes de N não apresentaram diferenças significativas em relação ao seu crescimento. No entanto, houve uma forte redução do mesmo quando as plantas foram submetidas à salinidade. Os teores de  $K^+$  foram severamente reduzidos com a salinidade, no entanto, as plantas cultivadas com  $NO_3^-$ , como única fonte de N, apresentaram as maiores reduções. Sob estas condições, os cultivos com  $NH_4^+$  apresentaram maiores taxas de seletividade de absorção e transporte de  $K^+$ . O estresse salino aumentou consideravelmente os teores de  $Na^+$  em todas as partes das plantas de sorgo, independente da fonte de N, no entanto, os maiores incrementos foram observados nas plantas nutridas com  $NO_3^-$ . Em decorrência do menor acúmulo de  $Na^+$ , as plantas cultivadas com  $NH_4^+$  apresentaram maior relação  $K^+/Na^+$ , principalmente na parte aérea. De modo geral, os teores de  $Cl^-$  foram maiores nas plantas cultivadas com  $NH_4^+$ , sendo maiores os acúmulos nas raízes. Os teores de carboidratos solúveis da parte aérea foram aumentados com a salinidade, entretanto, nas raízes, pouco ou nenhum efeito do estresse salino foi observado. O conteúdo de carboidratos redutores, tanto na parte aérea como nas raízes, foi aumentado nos primeiros dias de estresse, entretanto, aos sete dias, o conteúdo desses carboidratos foi reduzido em comparação aos controles, exceto na parte aérea das plantas estressadas e cultivadas com  $NH_4^+$ , que no sétimo dia de estresse, apresentaram mais carboidratos redutores que os respectivos controles. Os teores de carboidratos não redutores foram reduzidos com a salinidade nos primeiros dias de estresse, entretanto, foram observados aumentos nos últimos dias de exposição ao NaCl, independente da fonte de N. Os teores de amido aumentaram nos primeiros dias de estresse salino, porém, aos sete dias, todas as

plantas apresentaram redução no conteúdo desses carboidratos. Sob condições controle, o conteúdo de proteínas solúveis e N-aminossolúveis foram maiores nas plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$ . Já sob estresse salino, os teores de proteínas solúveis não foram influenciados com a fonte de N, contudo, os teores de N-aminossolúveis foram significativamente maiores nas plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$ . Reduções na condutância estomática, na transpiração e na fotossíntese líquida foram observadas em plantas estressadas e cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  ou com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , entretanto, não houve alterações desses parâmetros nas plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$ . Sob condições controle, plantas crescendo com  $\text{NO}_3^-$  ou com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram maiores taxas de absorção de água, entretanto sob condições de salinidade, a absorção de água das plantas crescidas com  $\text{NO}_3^-$  foi reduzida. Por outro lado, o estresse salino promoveu aumentos na taxa de absorção de água das plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$ . A análise em conjunto destes resultados permite concluir que plantas de sorgo cultivadas com o íon  $\text{NH}_4^+$  apresentaram uma maior tolerância à salinidade, em decorrência da regulação mais eficiente da homeostase  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ .

**Palavras-chave:** Homeostase  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ , nitrogênio inorgânico, salinidade, *Sorghum bicolor*.

## ABSTRACT

The aim of this work was to analyze the influence of inorganic nitrogen (N) on the regulation of homeostasis  $K^+/Na^+$  in sorghum plants [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], genotype CSF20, submitted to salt stress. Sorghum seeds were sown in moistened vermiculite and after four days, transferred to a nutrient solution containing N at 5.0 mM as  $NO_3^-$ ,  $NO_3^-/NH_4^+$  and  $NH_4^+$  and  $K^+$  at 0.75 mM. After eight days of cultivation, the plants were treated with NaCl at 75.0 mM. Plants were harvested at twelve days (before application of stress), and thereafter at one, three, five and seven days after salt stress exposition. It was determined the growth, the concentration of ions ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$  and  $NH_4^+$ ) and organic compounds (soluble carbohydrates, reducing and non-reducing sugars, soluble protein and soluble amino acids), gas exchange and water absorption rate. Non-stressed sorghum plants grown in three N sources showed no significant differences in relation to its growth. However, there was a sharp reduction in growth when plants were subjected to salinity. The  $K^+$  contents were severely reduced by salinity, however,  $NO_3^-$ -grown plants as sole N source, showed the greatest reductions. Under these conditions,  $NH_4^+$ -grown plants had higher rates of absorption and selective  $K^+$  transport. The salt stress increased significantly the  $Na^+$  levels in all tissues of the sorghum plants, regardless of N source, however, the highest increases were observed in plants growing in  $NO_3^-$ . As a result of  $Na^+$  accumulation reduction,  $NH_4^+$ -grown plants had a higher  $K^+/Na^+$  ratio, particularly in shoot. In general, the  $Cl^-$  levels were higher in  $NH_4^+$ -grown plants, with the greatest accumulations in the roots. The shoot soluble carbohydrates were increased with salinity, however in roots, little or no effect of salt stress was observed. The reducing sugar contents in shoot and roots was increased one day after stress, however, on seventh day, the content of these sugars was reduced when compared to control, except in  $NH_4^+$ -grown stressed plants, which seven day after stress exposure, had higher amount of reducing sugars than the control. The levels of reducing sugars were not reduced by salinity in the early days, however, increases were observed in the last days of NaCl exposure, regardless of source N. The starch content increased in the early days of salt stress, however, plants at seven days after stress showed less content of these sugars. Under control conditions, the soluble proteins and soluble amino acids contents were higher in  $NH_4^+$ -grown plants. Already under salt stress, the soluble protein content were not affected due to the N source, however, the levels of soluble amino acids were significantly higher in  $NH_4^+$ -grown plants. Reductions in stomatal conductance, transpiration and net photosynthesis were observed in  $NO_3^-$  and  $NO_3^-/NH_4^+$ -grown stressed plants, however, there were no changes in these parameters in

$\text{NH}_4^+$ -grown plants. Under control conditions,  $\text{NO}_3^-$  or  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ -grown plants showed higher water absorption, however, under salinity conditions, water uptake of  $\text{NO}_3^-$ -grown plants was severely reduced. On the other hand, salt stress promoted increases in water uptake of  $\text{NH}_4^+$ -grown plants. These results suggested that sorghum  $\text{NH}_4^+$ -grown plants showed a greater tolerance to salinity, due to more efficient regulation of homeostasis  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ .

**Keywords:**  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  Homeostasis, inorganic nitrogen, salinity, *Sorghum bicolor*.

## SUMÁRIO

Lista de Figuras e Tabelas

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>1.1. Justificativa</b> .....	18
<b>1.2. Objetivos</b> .....	19
<b>1.2.1. Objetivo geral</b> .....	19
<b>1.2.2. Objetivos específicos</b> .....	19
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	21
<b>2.1. A importância do K<sup>+</sup> na planta</b> .....	21
2.1.1. Papel do K <sup>+</sup> no metabolismo vegetal.....	21
2.1.2. Propriedades do K <sup>+</sup> nas relações hídricas e nas propriedades elétricas da célula.....	24
<b>2.2. Homeostase de K<sup>+</sup> na planta</b> .....	26
2.2.1. Absorção e exclusão de K <sup>+</sup> .....	27
2.2.2. Absorção e exclusão de Na <sup>+</sup> .....	30
2.2.3. Absorção de K <sup>+</sup> e Na <sup>+</sup> sob condições de salinidade.....	32
2.2.4. Mecanismos de controle da homeostase K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup> .....	33
<b>2.3. Influência da fonte de nitrogênio na absorção e homeostase de K<sup>+</sup> sob condições normais e de estresse salino</b> .....	35
<b>2.4. O Sorgo</b> .....	39
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	41
<b>3.1. Condições gerais de experimento</b> .....	41
<b>3.2. Experimento I: Análises de crescimento e de solutos orgânicos e inorgânicos de plantas de sorgo forrageiro cultivadas em diferentes fontes de nitrogênio inorgânico sob condições de estresse salino</b> .....	44
3.2.1. Coleta do material vegetal e análise de crescimento.....	44
3.2.2. Determinação de compostos orgânicos.....	46
3.2.2.1. Preparação dos extratos para determinação de carboidratos solúveis, redutores e não redutores, N-aminossolúveis e amido.....	46
3.2.2.2. Carboidratos solúveis, redutores e não redutores.....	47
3.2.2.3. Amido.....	48
3.2.2.4. N-aminossolúveis.....	49
3.2.2.5. Proteínas solúveis.....	50

3.2.3. Determinações de solutos inorgânicos.....	51
3.2.3.1. Preparação do extrato.....	51
3.2.3.2. Teores de $K^+$ e $Na^+$ .....	51
3.2.3.3. Teores de $Cl^-$ .....	52
3.2.3.4. Teores de $NO_3^-$ .....	52
3.2.3.5. Teores de $NH_4^+$ .....	53
<b>3.3. Experimento II: Trocas gasosas e absorção de água de plantas de sorgo forrageiro cultivadas em diferentes fontes de nitrogênio inorgânico sob condições de estresse salino.....</b>	<b>53</b>
3.3.1. Condições ambientais e cultivo de plantas.....	54
3.3.2. Trocas gasosas.....	54
3.3.3. Taxa de absorção de água.....	54
<b>3.4. Delineamento experimental e análise de dados.....</b>	<b>55</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>56</b>
<b>4.1. Análise de crescimento.....</b>	<b>56</b>
<b>4.2. Solutos inorgânicos.....</b>	<b>63</b>
4.2.1. Teores de potássio e sódio e relação $K^+/Na^+$ .....	63
4.2.2. Eficiência de absorção e de transporte de $K^+$ .....	67
4.2.3. Índice de seletividade e seletividade de transporte de $K^+$ ao invés do $Na^+$ .....	69
4.2.4. Teores de cloreto.....	71
4.2.5. Teores de nitrato.....	73
4.2.6. Teores de amônio.....	75
<b>4.3. Solutos orgânicos.....</b>	<b>77</b>
4.3.1. Carboidratos solúveis.....	77
4.3.2. Carboidratos redutores.....	79
4.3.3. Carboidratos não redutores.....	81
4.3.4. Amido.....	84
4.3.5. Proteínas solúveis.....	86
4.3.6. N-aminossolúveis.....	88
<b>4.4. Trocas gasosas.....</b>	<b>91</b>
<b>4.5. Taxa de absorção de água.....</b>	<b>93</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>96</b>
<b>5.1. A fonte de N tem influência no acúmulo de <math>Na^+</math> e na relação <math>K^+/Na^+</math>.....</b>	<b>96</b>

<b>5.2. Os efeitos tóxicos da salinidade no metabolismo e na fisiologia podem ser reduzidos pela fonte de N.....</b>	<b>101</b>
<b>5.3. A influência da salinidade nos teores de <math>\text{Cl}^-</math>, <math>\text{NO}_3^-</math> e <math>\text{NH}_4^+</math> .....</b>	<b>107</b>
<b>5.4. A produção de biomassa na salinidade não é influenciada pela fonte de N.....</b>	<b>109</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>112</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>113</b>

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1.</b>	Imagens do experimento com plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF 20, conduzido em casa de vegetação.....	42
<b>Figura 2.</b>	Esquema do desenho experimental do cultivo de sorgo forrageiro, genótipo CSF20.....	45
<b>Figura 3.</b>	Massas frescas da parte aérea e raízes e massas secas da parte aérea e raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas controle contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM.....	57
<b>Figura 4.</b>	Relação entre massa fresca da parte aérea e das raízes e entre massa seca da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM. ....	60
<b>Figura 5.</b>	Comprimento das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM.....	62
<b>Figura 6.</b>	Teores dos íons $\text{K}^+$ e $\text{Na}^+$ e relação entre $\text{K}^+$ e $\text{Na}^+$ na parte aérea e nas raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM.....	64
<b>Figura 7.</b>	Eficiência de absorção e de transporte de $\text{K}^+$ de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM.....	68
<b>Figura 8.</b>	Índice de seletividade e seletividade de transporte de $\text{K}^+$ ao invés do $\text{Na}^+$ de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de	

	nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM.....	70
<b>Figura 9.</b>	Teores de cloreto da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	72
<b>Figura 10.</b>	Teores de nitrato da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	74
<b>Figura 11.</b>	Teores de amônio da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	76
<b>Figura 12.</b>	Teores de carboidratos solúveis da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	78
<b>Figura 13.</b>	Teores de carboidratos de redutores da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	80
<b>Figura 14.</b>	Teores de carboidratos não redutores da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	83
<b>Figura 15.</b>	Teores de amido da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	85
<b>Figura 16.</b>	Teores de proteínas solúveis da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas	

	contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	87
<b>Figura 17.</b>	Teores de N-aminossolúveis da parte aérea e das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	89
<b>Figura 18.</b>	Condutância estomática, transpiração, fotossíntese líquida e eficiência do uso da água instantânea de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	92
<b>Figura 19.</b>	Taxa de absorção de água de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ , como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM.....	94
<b>Tabela 1.</b>	Composição e concentração dos nutrientes utilizados para a preparação das soluções nutritivas contendo três diferentes fontes de nitrogênio inorgânico ( $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ e $\text{NH}_4^+$ ).....	43

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Justificativa

A salinidade é um problema amplamente difundido no mundo, sendo um dos estresses abióticos que mais limita a produtividade agrícola. Com isso, o cultivo de uma vasta gama de espécies de interesse econômico em diversas regiões está se tornando impraticável devido à incapacidade dessas sobreviverem à ambientes salinizados. Nas plantas, os efeitos do estresse salino podem ser de natureza iônica, osmótica ou ambas, acarretando rompimento da homeostase celular, alterando as funções fisiológicas e bioquímicas das células e promovendo reduções no crescimento e desenvolvimento (YOKOI; BRESSAN; HASEGAWA, 2002; PARIDA; DAS; MITTRA, 2004; MUNNS; TESTER, 2008).

Características como as observadas em plantas halófitas, as quais crescem em ambientes com altos níveis de sais, são cruciais para o entendimento dos mecanismos de tolerância exibidos pelas plantas à salinidade. Por outro lado, apesar das glicófitas serem sensíveis aos sais, e não tolerarem longa ou mesmo breve exposição a ambientes salinizados, algumas espécies exibem mecanismos que possibilitam a sobrevivência dessas espécies nesse tipo de ambiente (LACERDA *et al.*, 2003; BAVEI; SHIRAN; ARZANI, 2011).

Diversas estratégias têm sido utilizadas para verificar a tolerância das plantas ao estresse salino, dentre elas, a regulação da homeostase  $K^+/Na^+$  tem sido citada como um importante mecanismo (NIU *et al.*, 1995; MAATHIUS; AMTMANN, 1999; BLUMWALD, 2000; TESTER; DAVENPORT, 2003; CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005; MUNNS; TESTER, 2008). Além disso, uma melhor compreensão do mecanismo envolvido na interação N - K pode ser um guia útil para o manejo nutricional das práticas agrícolas em ambientes salinos, de modo que se alcancem altas produtividades nessas condições. Em tal sentido, várias pesquisas têm sido voltadas ao estudo dos transportadores que estão

envolvidos no controle do fluxo de  $K^+$  e  $Na^+$  e dos mecanismos reguladores em condições de estresse salino (MAATHIUS; AMTMANN, 1999; BLUMWALD, 2000; TESTER; DAVENPORT, 2003). Em adição, trabalhos recentes mostraram que a capacidade de absorção de  $K^+$  pode ser aumentada em presença do íon  $NH_4^+$  (NIEVES CORDONES *et al.*, 2008; ALVAREZ-PIZARRO *et al.*, 2011). Nesse aspecto, a seleção de espécies ou cultivares com potencial de manter altos teores de  $K^+$  sob condições de salinidade é uma abordagem chave para a utilização na agricultura.

Apesar da existência de inúmeras pesquisas a respeito da homeostase dos íons  $K^+$  e  $Na^+$ , grande parte está voltada principalmente a espécies como *Arabidopsis thaliana*, *Hordeum vulgare*, *Solanum lycopersicum* e *Triticum ssp.* (CHEN *et al.*, 2007; CUIN *et al.*, 2008; GHARS *et al.*, 2008; OLÍAS *et al.*, 2009;). Visto que o sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma importante cultura sócio-econômica no Brasil, com um intensivo aumento de seu cultivo, principalmente na Região Nordeste (IBGE, 2011), se torna relevante estudos voltados à compreensão dos mecanismos de respostas dessa espécie a salinidade, haja vista, que algumas cultivares são consideradas tolerantes a esse estresse (LACERDA *et al.*, 2003; BAVEI; SHIRAN; ARZANI, 2011).

## 1.2. Objetivos

### 1.2.1. Objetivo geral

Objetivou-se com o presente trabalho analisar a influência do nitrogênio inorgânico (N) na regulação da homeostase  $K^+/Na^+$  em plantas de sorgo forrageiro [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] genótipo CSF20, sob condições de estresse salino.

### 1.2.2. Objetivos específicos

1. Avaliar a influência da fonte de nitrogênio no crescimento e desenvolvimento das plantas sob condições de estresse salino;

2. Investigar os efeitos da fonte de N no acúmulo e distribuição de íons ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$  e  $NH_4^+$ ), bem como no controle da homeostase  $K^+/Na^+$  na parte aérea e nas raízes das plantas submetidas à salinidade;
3. Estudar a influência da fonte de N nos teores de carboidratos (solúveis totais, redutores, não redutores e amido), N-aminossolúveis e proteínas solúveis das plantas sob condições de estresse salino;
4. Analisar os efeitos da fonte de N nas trocas gasosas e na taxa de absorção de água das plantas crescendo na salinidade.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. A importância do $K^+$ na planta

O potássio ( $K^+$ ) é um macronutriente essencial às plantas, sendo o cátion inorgânico que mais se acumula nos tecidos vegetais (SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009). Provavelmente, a necessidade das plantas de manter concentrações elevadas de  $K^+$  para sua fisiologia e desenvolvimento normais tenha sido o fator que promoveu a evolução de sistemas altamente especializados de absorção (de alta e baixa afinidade), os quais garantem sua aquisição a partir de solos com baixos níveis desse nutriente e, até mesmo, na presença de outros cátions alcalinos tóxicos como o íon  $Na^+$  (BRITTO; KRONZUCKER, 2008). Após sua absorção pelas raízes, o  $K^+$  permanece na forma livre nas células e tecidos da planta, isto é, sem participar covalentemente da composição de moléculas orgânicas, como proteínas ou carboidratos (LEIGH; WYN JONES, 1984). Essa característica permite que o  $K^+$  seja um elemento altamente móvel, o que favorece seu rápido deslocamento entre tecidos maduros e de rápido crescimento e desenvolvimento. Walker, Leigh e Miller (1996) classificaram como funções do  $K^+$  a regulação dos gradientes de potencial hídrico da planta e do potencial elétrico de membrana (função física), bem como a de ativação de reações bioquímicas do metabolismo celular (papel bioquímico).

#### 2.1.1. Papel do $K^+$ no metabolismo vegetal

De acordo com Leigh e Wyn Jones (1984), as concentrações de  $K^+$  citosólica consideradas ótimas para o crescimento das plantas se encontram na faixa de 100 a 150 mM, e declínios nesses níveis podem promover um rápido decréscimo na velocidade dos processos

metabólicos dependentes deste íon, principalmente a síntese de proteínas (ARMENGAUD *et al.*, 2009). Nenhum outro cátion é capaz de substituir as funções bioquímicas do  $K^+$  nas células, mesmo aqueles pertencentes ao grupo dos cátions alcalinos, como  $Na^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Rb^+$  e  $Li^+$ , os quais compartilham com o  $K^+$  muitas propriedades físicas e químicas (PAGE; DICERA, 2006).

Alterações no *pool* de  $K^+$  citosólico nas células vegetais acarretam modificações metabólicas, que causam diminuição no crescimento e alterações na morfologia do vegetal. A deficiência de  $K^+$  em *Arabidopsis* provocou alterações nas concentrações de muitos metabólitos primários (ARMENGAUD *et al.*, 2009). Nas raízes, a deficiência de  $K^+$  causa diminuição nos teores de nitrato, de intermediários da via glicolítica (por exemplo, o piruvato), de ácidos orgânicos (malato e  $\alpha$ -cetoglutarato) e de aminoácidos ácidos (glutamato e aspartato) ou com baixa relação nitrogênio/carbono (N/C) (ARMENGAUD *et al.*, 2009). Em contraste, há aumento nos teores de carboidratos solúveis (glicose e frutose) e de muitos aminoácidos, preferencialmente aqueles com alta relação N/C e/ou aqueles com carga positiva (glutamina, glicina e arginina) (ARMENGAUD *et al.*, 2009; MAATHIUS, 2009). Na parte aérea, a ausência de  $K^+$  promove aumento nos teores de carboidratos, incluindo sacarose, açúcares redutores, e, em menor proporção, amido; aumento nos teores de aminoácidos ricos em N (glutamina e asparagina) e aminoácidos básicos (arginina, histidina e lisina). Em contrapartida, há diminuição nos teores de nitrato e aminoácidos carregados negativamente (HERMANS *et al.*, 2006; ARMENGAUD *et al.*, 2009). O acúmulo de carboidratos solúveis nas folhas ocorre porque a deficiência de  $K^+$  reduz a velocidade de translocação pelo floema dos carboidratos, haja vista que a uma exigência de  $K^+$  para o carregamento de sacarose no floema (HERMANS *et al.*, 2006; SHABALA; CUIN, 2007).

O  $K^+$  atua como cofator para várias enzimas, tendo papel importante na energia de ativação, no reconhecimento e catálise do substrato e nas transições conformacionais das

enzimas durante seu ciclo catalítico (PAGE; DI CERA, 2006; ARMENGAUD *et al.*, 2009). Na deficiência de  $K^+$ , são observadas alterações na atividade de várias enzimas. Algumas delas, relacionadas ao metabolismo dos carboidratos, como a glicoquinase e a frutoquinase têm suas atividades aumentadas em raízes e parte aérea de *Arabidopsis* (SHABALA; CUIN, 2007; ARMENGAUD *et al.*, 2009). Nessa espécie, com a deficiência de  $K^+$ , as enzimas envolvidas na via glicolítica e no metabolismo de ácidos orgânicos, como a desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato, a quinase do piruvato (PK), a enzima málica-NADP (ME) e a fumarase tiveram suas atividades máximas aumentadas (ARMENGAUD *et al.*, 2009).

A ausência de  $K^+$  promove também alterações na atividade de diversas enzimas envolvidas na assimilação do N. Nessa situação, a atividade máxima da redutase do nitrato é diminuída nas raízes, enquanto que na parte aérea é aumentada (PAGE; DI CERA, 2006; ARMENGAUD *et al.*, 2009). A atividade das enzimas que catalisam reações relacionadas à síntese de aminoácidos é aumentada em baixas concentrações de  $K^+$ . Da mesma forma, várias enzimas envolvidas na assimilação e reassimilação do íon amônio, como a sintetase da glutamina (GS), a aminotransferase da ferredoxina-glutamina-2-oxoglutarato (Fd-GOGAT) e a desidrogenase do glutamato (GDH) têm suas atividades aumentadas nas raízes das plantas quando estas crescem na ausência de  $K^+$  (ARMENGAUD *et al.*, 2009). No entanto, outras enzimas, requerem este elemento, tais como a frutose 1-6 bifosfatase, a S-adenosil metionina sintase, as fosfotransferases e as enzimas envolvidas no metabolismo dos ácidos nucleicos, dentre outras (PAGE; DI CERA, 2006; AMTMANN; TROUFFLARD; ARMENGAUD, 2008; MAATHIUS, 2009).

Desde que a deficiência de  $K^+$  altera os níveis dos metabólitos nas plantas, isto pode gerar consequências negativas tanto na qualidade nutricional como na estabilidade mecânica para resistência a patógenos e pragas (AMTMANN; TROUFFLARD; ARMENGAUD, 2008; ARMENGAUD *et al.*, 2009).

Em espécies vegetais crescendo em ambientes com deficiência ou baixa disponibilidade de  $K^+$  foram observadas reduções no crescimento e alongamento foliar, na translocação de fotoassimilados da parte aérea para a raiz e a na proliferação de raízes laterais (DREW, 1975; ARMENGAUD; BREITLING; AMTMANN, 2004; HERMANS *et al.*, 2006; JORDAN-MEILLE; PELLERIN, 2008; PETTIGREW, 2008). Segundo Véry e Sentenac (2003), o aumento da relação entre as massas secas da parte aérea e das raízes pode ser resultado da redução dos teores de  $K^+$  na parte aérea, o que limita a velocidade de translocação dos fotoassimilados para as raízes.

É importante ressaltar que a resposta das plantas à deficiência de  $K^+$  depende, em grande parte, do estágio de desenvolvimento, bem como varia com a espécie vegetal. Benech Arnold, Fenner e Edwards (1995) observaram que plantas de *Sorghum bicolor* sob deficiência de  $K^+$  não apresentaram alterações no peso das sementes, porém, foi observada redução no número de sementes por panícula. No entanto, outros estudos demonstram que espécies como o milho e o trigo têm o conteúdo de proteínas e o peso seco dos grãos bastante afetados quando crescem em deficiência desse elemento (PETTIGREW, 2008).

### **2.1.2. Propriedades do $K^+$ nas relações hídricas e nas propriedades elétricas da célula**

O  $K^+$  acumula-se principalmente em tecidos com altas taxas de crescimento e nos órgãos reprodutivos, distribuindo-se, a nível celular, no citosol e no vacúolo (KARLEY; WHITE, 2009). No vacúolo, o conteúdo desse elemento está relacionado com o abaixamento no potencial osmótico da solução vacuolar e, conseqüentemente com a absorção de água do meio, gerando assim, a turgescência necessária para o crescimento da célula. No citosol, o  $K^+$  participa principalmente de várias reações metabólicas e do balanço osmótico celular (MAATHUIS; SANDERS, 1996; WALKER; LEIGH; MILLER, 1996; MAATHUIS;

AMTMANN, 1999; SHABALA; CUIN, 2007; GIERTH; MÄSER, 2007; PETTIGREW, 2008; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009; MAATHIUS, 2009).

O  $K^+$  têm papel dominante na pressão de turgor e na homeostase hídrica das células, sendo fundamental nos processos de formação do potencial de pressão para o transporte de solutos no xilema e floema, na acumulação de altos níveis de  $K^+$  vacuolar e nos grandes fluxos de  $K^+$  que medeiam o movimento da planta (FOURNIER *et al.*, 2005). Um exemplo, é a abertura estomática pela captação e liberação de  $K^+$ . De modo geral, alterações nas relações hídricas promovidas por deficiência de  $K^+$  resultam dos efeitos desse nutriente sobre características envolvidas na regulação do transporte de água através da planta, tais como, a condutividade hidráulica da raiz e a condutância estomática (FOURNIER *et al.*, 2005). Portanto, alterações no conteúdo do  $K^+$  afetam grandemente a homeostase da planta (BHANDAL; MALIK, 1988; PAGE; DI CERA, 2006; MAATHIUS, 2009). Jordan-Meille e Pellerin (2008) observaram que a deficiência de  $K^+$  em plantas de milho reduziu significativamente o conteúdo de água, sendo esse efeito mais pronunciado na parte aérea do que nas raízes.

A permeabilidade relativamente alta do  $K^+$  nas células da planta confere a esse íon a capacidade de promover modificações a curto ou longo prazo na diferença de potencial elétrico da membrana plasmática (BRITTO; KRONZUCKER, 2008). Esse potencial é principalmente estabelecido e mantido pelas bombas de  $H^+$ , as  $H^+$ -ATPases de membrana plasmática, que mantêm o interior celular negativo. Quando no solo existem níveis reduzidos de  $K^+$ , há uma maior atividade da bomba de prótons, podendo ocasionar aumento na carga negativa no interior da membrana plasmática, o que pode resultar em hiperpolarização. Entretanto, quando existem altos níveis de  $K^+$  na solução externa, as membranas podem apresentar transitoriamente alta permeabilidade para ânions ou para o  $Ca^{2+}$ , e isto pode levar a um desbalanceamento transitório de cargas ou despolarização do potencial elétrico da

membrana (MAATHUIS; SANDERS, 1996; SANDERS; BETHKE, 2000; RODRÍGUEZ-NAVARRO, 2000; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009).

O influxo de  $K^+$  na célula vegetal, que pode ser realizado de forma passiva ou ativa, acarreta uma mudança na carga elétrica da membrana, haja vista que se dá a entrada de cargas positivas no citosol. Portanto, em ambos os processos é necessário a remoção ativa de prótons para manter a neutralidade elétrica (LEBAUDY; VÉRY; SENTENAC, 2007; GIERTH; MÄSER, 2007; BRITTO, KRONZUCKER, 2008; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009).

Com a deficiência de  $K^+$  no solo, há uma rápida redução de sua concentração nos tecidos da planta. Dessa forma, para manter o balanço de cargas as plantas absorvem em maiores quantidades outros cátions, tais como  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$  (JORDAN-MEILLE; PELLERIN, 2008; WANG; WU, 2010). Da mesma forma que o balanço de cargas elétricas na célula é modificado com a deficiência de  $K^+$ , a redução nos níveis de nitrato, ácidos orgânicos e aminoácidos decorrente da deficiência de  $K^+$  também resulta em uma diminuição da carga negativa total da célula (ARMENGAUD *et al.*, 2009).

## 2.2. Homeostase de $K^+$ na planta

A manutenção das concentrações intracelulares de  $K^+$  em células e tecidos vegetais e a partição desse nutriente entre diferentes tecidos e órgãos da planta é um processo finamente regulado que envolve a atividade de diversas proteínas de transporte (GIERTH; MÄSER, 2007; SHABALA; CUIN, 2007). A nível celular, uma série de transportadores presentes na membrana plasmática e na membrana vacuolar atua em conjunto realizando a manutenção e/ou a compartimentalização do *pool* de  $K^+$  existente entre o citosol e o vacúolo (GIERTH; MÄSER, 2007; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009).

### 2.2.1. Absorção e exclusão de $K^+$

O  $K^+$  é absorvido preferencialmente nas raízes e acumulado em maior proporção em caules e folhas (KARLEY; WHITTE, 2009). Na célula vegetal, a absorção de  $K^+$  é controlada por proteínas presentes na membrana plasmática que compõem dois sistemas de absorção, os quais diferem na afinidade, velocidade de transporte e na sensibilidade a íons competidores (EPSTEIN; RAINS; ELZAM, 1963). Esses sistemas de absorção de  $K^+$  são classificados como de alta afinidade, que operam em concentrações de  $K^+$  na solução do solo menores que 1 mM, e de baixa afinidade, que operam em concentrações de  $K^+$  maiores que 1 mM. Tais sistemas possibilitam às plantas se adaptarem às variações ambientais de  $K^+$ , permitindo a manutenção de níveis adequados desse íon para as funções fisiológicas e bioquímicas das plantas (RODRÍGUEZ-NAVARRO; RUBIO, 2006; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009).

O sistema de absorção de  $K^+$  de baixa afinidade não apresenta sensibilidade ao íon  $NH_4^+$  (SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009). Entretanto, o íon  $Na^+$  inibe drasticamente o influxo de  $K^+$  nas escalas de alta e de baixa afinidade. Dentre as razões propostas para esta inibição, é citada a utilização do mesmo sistema de transporte de  $K^+$  para o acesso do  $Na^+$  à planta (WANG; ZHANG; FLOWERS, 2007; SHABALA; CUIN, 2007; MUNNS; TESTER, 2008; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009).

Quando na célula existem baixas concentrações de  $K^+$  e no ambiente externo altas concentrações de  $K^+$ , o principal sistema de transporte utilizado para a absorção é o de baixa afinidade. A aquisição desse nutriente pelo sistema de absorção de baixa afinidade é mediada por canais, e é termodinamicamente passiva, sendo o potencial elétrico de membrana o fator responsável pela entrada do íon através do canal (EPSTEIN; RAINS; ELZAM, 1963; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009). No entanto, quando as concentrações de  $K^+$

no ambiente externo são baixas, a absorção de  $K^+$  mediada pelo sistema de absorção de alta afinidade prevalece. Contudo, quando as concentrações de  $K^+$  se elevam no citosol da célula, outros transportadores são ativados e a velocidade de efluxo torna-se mais pronunciada, podendo ocorrer na mesma velocidade de influxo (GIERTH; MÄSER, 2007; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009).

A rota mais importante para a absorção de  $K^+$  na célula vegetal é constituída pelo sistema de absorção de alta afinidade, o qual controla o influxo de  $K^+$  contra seu gradiente eletroquímico (transporte ativo). Esse sistema é capaz de manter o nível citosólico de  $K^+$  relativamente constante mesmo em ambientes com conteúdos relativamente baixos desse nutriente (GIERTH; MÄSER, 2007; LEBAUDY; VÉRY; SENTENAC, 2007; SHABALA; CUIN, 2007). Tal processo é acoplado ao influxo passivo de prótons ( $H^+$ ), controlado por transportadores do tipo simporte  $K^+/H^+$  e canais do tipo *Shaker* (SHABALA; CUIN, 2007). A atividade dos transportadores que compõem o sistema de absorção de alta afinidade depende diretamente da energia acumulada na formação do gradiente de  $H^+$  através da membrana plasmática, o qual é gerado pela enzima de membrana plasmática, a  $H^+$ -ATPase. Uma estreita correlação entre o influxo de  $K^+$  de alta afinidade e a atividade da  $H^+$ -ATPase de membrana plasmática tem sido observada em espécies mono e dicotiledôneas (MAATHIUS; SANDERS, 1994; SANTA-MARIA; DANNA; CZIBENER, 2000; MARTINEZ-CORDERO; MARTINEZ; RUBIO, 2005).

Dentre os principais transportadores que compõem o sistema de absorção de alta afinidade estão os canais da família AKT (*Arabidopsis K<sup>+</sup> Transporter*), estudados inicialmente em *Arabidopsis thaliana* e identificados em numerosas espécies de plantas (SENTENAC *et al.*, 1992; GIERTH; MÄSER, 2007; LEBAUDY; VÉRY; SENTENAC, 2007); os simporters das famílias KT/HAK/KUP (*K<sup>+</sup> Transporter/High-affinity K<sup>+</sup> Transporter/K<sup>+</sup> Uptake Protein*), que realizam o co-transporte  $K^+/H^+$ ; e, os transportadores

HKT (*High-affinity K<sup>+</sup> Transporter*) que podem mediar tanto o cotransporte K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> como o cotransporte K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> (MAATHIUS; AMTMANN, 1999; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009). Além destes transportadores, os antiporters K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> da família CPA (*Cation Proton Antiporter*) presentes na membrana vacuolar desempenham uma importante função na regulação da homeostase iônica celular (MAATHIUS; AMTMANN, 1999; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009). Por outro lado, os canais SKOR (*Stellar K<sup>+</sup> Outward Rectifying*) são os principais canais de membrana plasmática que medeiam o efluxo passivo de K<sup>+</sup> para o apoplasto celular (MAATHIUS; AMTMANN, 1999; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009).

A absorção de K<sup>+</sup> mediada pelo sistema de alta afinidade pode ser afetada pela presença de outros cátions no meio de crescimento. Por exemplo, em presença de altas concentrações de Na<sup>+</sup>, uma redução significativa das taxas de influxo de K<sup>+</sup> têm sido descritas (KANT *et al.*, 2007; GHARS *et al.*, 2008). Porém, em *Puccinellia tenuiflora* a sensibilidade do influxo de K<sup>+</sup> ao íon Na<sup>+</sup> não se tem mostrado significativa (VOLKOV; AMTMANN, 2006; WANG *et al.*, 2009; ARDIE; LIU; TAKANO, 2010). De forma similar, o aumento da oferta de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> provoca uma redução da taxa de influxo de K<sup>+</sup> e, em consequência, uma redução significativa dos teores de K<sup>+</sup> nos diferentes tecidos da planta (SANTA-MARIA; DANNA, CZIBENER, 2000; BRITTO, KRONZUCKER, 2008). O mecanismo de tal inibição não está completamente entendido, mas sugere-se que pode ser devido à ligação do íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a sítios específicos dos transportadores de K<sup>+</sup> ou à despolarização do potencial elétrico de membrana (SANTA-MARIA; DANNA, CZIBENER, 2000; BRITTO, KRONZUCKER, 2008; SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009). Em contrapartida, outros trabalhos como os de Martínez-Cordero, Martínez e Rubio (2005), em plantas de *Capsicum annum*, relatam que a absorção de K<sup>+</sup> é pouca afetada pelo íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Já em plantas de sorgo, Alvarez-Pizarro *et al.* (2011) observaram um estímulo na absorção de K<sup>+</sup> pelo íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

### 2.2.2. Absorção e exclusão de Na<sup>+</sup>

Assim como o K<sup>+</sup>, o Na<sup>+</sup> após absorvido da solução do solo pode permanecer na raiz ou ser transportado via xilema e permanecer em diversos tipos de células da parte aérea e, eventualmente, retornar às raízes (RODRÍGUEZ-NAVARRO; RUBIO, 2006; MUNNS; TESTER, 2008). Sob condições celulares normais, o gradiente de potencial eletroquímico celular favorece o influxo passivo de Na<sup>+</sup> para as células da raiz. Transportadores e canais não-seletivos têm sido propostos como determinantes para o influxo desse íon através da membrana plasmática (BLUMWALD, 2000; MUNNS; TESTER, 2008). Os principais transportadores envolvidos na absorção do Na<sup>+</sup> são os co-transportadores do tipo HKT, os transportadores do tipo LCT (*Low Affinity Cation Transporter*), os quais podem absorver uma variedade de cátions, como Na<sup>+</sup>, Rb<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Li<sup>+</sup> e Cs<sup>+</sup>, os canais catiônicos não seletivos NSCC (*Non-Selective Cations Channels*) insensíveis à voltagem (VIC – *Voltage Independent Channels*), e aqueles regulados por nucleotídeos cíclicos (CNGCs - *Cyclicnucleotide-Gated Channels*) e glutamato (GLRs - *Glutamate-Activated Channels*). Embora o papel de cada tipo de transportador possa variar dentro de cada espécie e dependa da condição de crescimento, várias evidências sugerem que transportadores diferentes podem trabalhar em paralelo mediando a aquisição de Na<sup>+</sup> pelas raízes (BLUMWALD; AHARON; APSE, 2000; MAATHIUS; SANDERS, 2001; RODRÍGUEZ-NAVARRO; RUBIO, 2006; APSE; BLUMWALD, 2007; MUNNS; TESTER, 2008; AFAQ *et al.*, 2009).

Uma via de influxo do Na<sup>+</sup> na célula pode ser mediada por transportadores de potássio de alta afinidade (HKT), sendo que tal mecanismo representa um sistema de co-transporte do tipo simporte Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> e um uniporte seletivo por Na<sup>+</sup> (RAINS; EPSTEIN, 1967; APSE; BLUMWALD, 2007; MUNNS; TESTER, 2008; AFAQ *et al.*, 2009). Segundo Gassmann, Rubio e Schroeder (1996) e Rodríguez-Navarro e Rubio, (2006), transportadores HKT1

possuem dois sítios de ligação, sendo um que é específico para o  $\text{Na}^+$  e o outro, em que tanto o  $\text{Na}^+$  quanto o  $\text{K}^+$  podem se ligar. Os transportadores HKT são expressos preferencialmente nas raízes, no entanto, em *Arabidopsis* e *Oriza sativa* foi comprovada sua expressão em células do parênquima do xilema e em células companheiras do floema (APSE; BLUMWALD, 2007). Dada a sua localização, esses transportadores (denominados AtHKT1:1 e OsHKT1:5) desempenhariam um papel primário na recirculação do  $\text{Na}^+$  e na tolerância da planta ao estresse salino (APSE; BLUMWALD, 2007).

O principal mecanismo de efluxo de  $\text{Na}^+$  nas células vegetais é controlado por um antiporte  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  presente na membrana plasmática. A troca eletroneutra de  $\text{Na}^+$  por  $\text{H}^+$  medeia o efluxo de  $\text{Na}^+$  e é resultado de uma rota de sinalização denominada SOS (*Salt Overly Sensitive*), a qual é o único modelo de transporte sugerido para o efluxo desse íon tóxico, sob condições fisiológicas para a homeostase iônica em plantas sob estresse salino (SCHUBERT; LÄUCHLI, 1990; NIU *et al.*, 1995; BLUMWALD, 2000; TESTER; DAVENPORT, 2003; DAVENPORT *et al.*, 2005; APSE; BLUMWALD, 2007; AFAQ *et al.*, 2009; OLÍAS *et al.*, 2009). A rota SOS possui como sinalizadores o ácido abscísico (ABA) e o  $\text{Ca}^{2+}$  inorgânico, sendo uma importante linha de defesa contra o estresse salino. A sinalização e a ativação da rota SOS ocorrem quando a entrada de  $\text{Na}^+$  na célula provoca despolarização da membrana plasmática, promovendo a ativação dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$ , o que gera oscilações nas concentrações desse cátion, ativando, assim, a expressão de genes que irão modular a resposta ao estresse (CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005). Por outro lado, o estresse osmótico gerado pelo aumento das concentrações de sais também é percebido pelo hormônio ABA e juntamente a isso, ocorre à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), que sinalizam a condição de estresse e ativam a rota SOS (CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005). Dessa forma, a função da rota SOS com o antiporte  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  tem papel crucial no efluxo de sódio das células da raiz e no transporte a longa distância de  $\text{Na}^+$  da

raiz para a parte aérea (CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005). Em *Arabidopsis*, a expressão do gene identificado como SOS1 (*Salt Overly Sensitive 1*) foi relacionada, pelos menos parcialmente, com o efluxo celular de sódio (SHI *et al.*, 2000; MUNNS; TESTER, 2008).

### 2.2.3. Absorção de $K^+$ e $Na^+$ sob condições de salinidade

Sob condições fisiológicas normais, a relação das concentrações dos íons  $K^+$  e  $Na^+$  no citosol da célula vegetal é alta, sendo a concentração de  $K^+$  ao redor de 100–200 mM e a de  $Na^+$  entre 1–10 mM (APSE; BLUMWALD, 2007). Entretanto, quando as plantas crescem em ambientes salinos, a absorção de nutrientes minerais, especificamente do  $K^+$  é bastante afetada e a homeostase  $K^+/Na^+$  é alterada (APSE; BLUMWALD, 2007; REJILI *et al.*, 2007; GHARS *et al.*, 2008).

O  $Na^+$  compete pelos sítios de absorção dos transportadores de  $K^+$  presentes na membrana plasmática das células das raízes. Tal competição se deve às propriedades físicas semelhantes entre o  $Na^+$  e o  $K^+$ , como a similaridade do raio iônico, o que proporciona dificuldade aos transportadores na discriminação desses íons (BLUMWALD, 2000; CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005; RODRÍGUEZ-NAVARRO; RUBIO, 2006). Com o influxo massivo de  $Na^+$  na célula, há uma despolarização significativa da membrana plasmática, o que torna termodinamicamente impossível a absorção passiva de  $K^+$  através de canais, fazendo com que este macronutriente fique indisponível às plantas (CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005). Outra consequência drástica do estresse salino sobre a homeostase iônica celular é que a elevação dos níveis de  $Na^+$  na célula causa incrementos no efluxo de  $K^+$  através de canais retificadores de saída desse íon. No citosol, o acúmulo excessivo de  $Na^+$  inibe a atividade de diversas enzimas e as propriedades regulatórias do  $K^+$ .

Também no vacúolo, as propriedades osmorreguladoras do  $K^+$  são afetadas pela presença do  $Na^+$  (GIERTH; MÄSER, 2007). Dessa forma, o excesso de sais absorvidos resulta em toxidez para a planta, causando desbalanceamento de íons e danos ao citoplasma, prejudicando a absorção de nutrientes minerais e interferindo nas funções fisiológicas celulares (MUNNS; TESTER, 2008).

Na parte aérea das plantas, altas concentrações de  $Na^+$  podem causar diversos problemas osmóticos e metabólicos. As folhas são mais vulneráveis aos efeitos deletérios do estresse salino que as raízes, isso por que os íons  $Na^+$  e  $Cl^-$  são acumulados em maior quantidade nos tecidos aéreos do que nos subterrâneos (TESTER; DAVENPORT, 2003). O resultado de todas essas alterações é a diminuição do crescimento e desenvolvimento do vegetal (TESTER; DAVENPORT, 2003).

#### **2.2.4. Mecanismos de controle da homeostase $K^+/Na^+$**

O menor acúmulo de  $Na^+$  acoplado à manutenção dos níveis de  $K^+$ , principalmente na parte aérea das plantas, tem sido relatado como um dos mais importantes mecanismos de tolerância a salinidade (MAATHIUS; AMTMANN, 1999; GAHRS *et al.*, 2008). Entretanto, a relação entre tolerância à salinidade e baixas concentrações de  $Na^+$  na parte aérea não é válida para todas as espécies. Exemplos que fogem à regra são as plantas halófitas, que mostram pequenas reduções no crescimento em altas concentrações de NaCl. Algumas plantas desse grupo, como as halófitas dicotiledôneas, podem acumular elevadas concentrações de  $Na^+$  na parte aérea, podendo atingir até 50% do seu peso seco, conseguindo mesmo assim sobreviver em ambientes salinos (TESTER; DAVENPORT, 2003). Dessa forma, os mecanismos de resposta a elevada concentração de sais variam entre as espécies, e diversos mecanismos atuam de forma coordenada para minimizar os efeitos do estresse salino. De modo geral, em

resposta ao excesso de sais, as plantas podem: minimizar o influxo dos sais tóxicos ou maximizar seu efluxo; minimizar o carregamento de sais no xilema ou maximizar sua retirada antes de chegar à parte aérea; maximizar a recirculação dos sais da parte aérea pelo floema; maximizar a compartimentalização ou alocação dos sais para locais particulares da parte aérea (como para as folhas velhas); ou excretar os sais para a superfície das folhas (TESTER; DAVENPORT, 2003).

Em glicófitas sob salinidade, o controle da homeostase envolve diversos mecanismos fisiológicos. Para a manutenção de uma alta relação  $K^+/Na^+$  no citosol, as estratégias celulares incluem a exclusão dos íons  $Na^+$  através da membrana plasmática e/ou sua compartimentalização no vacúolo, de modo que suas concentrações no citosol sejam mantidas baixas (NIU *et al.*, 1995; MAATHIUS; AMTMANN, 1999; BLUMWALD, 2000; TESTER; DAVENPORT, 2003; CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005; MUNNS; TESTER, 2008).

A compartimentalização do  $Na^+$  no vacúolo mantém níveis baixos desse íon no citosol apesar do influxo considerável do mesmo para o interior das células. Esse mecanismo é essencial para a tolerância a salinidade, promovendo também o ajustamento osmótico requerido para a expansão celular e manutenção de turgor (NIU *et al.*, 1995; TESTER; DAVENPORT, 2003; CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005; MUNNS; TESTER, 2008). O influxo de  $Na^+$  no vacúolo é controlado por um transportador NHX ( $Na^+/H^+$  Exchange) do tipo antiporte  $Na^+/H^+$  presente na membrana do tonoplasto (BLUMWALD, 2000; TESTER; DAVENPORT, 2003). Entretanto, o gradiente de próton necessário para esse transporte é gerado pelas bombas  $H^+$ -ATPase e  $H^+$ -PPase vacuolar (SONDERGAARD; SCHULZ; PALMGREM, 2004; APSE; BLUMWALD, 2007). Além dos transportadores NHX, os transportadores da rota SOS e os canais CPA também possuem funções importantes

no controle da homeostase  $K^+/Na^+$ , realizando a exclusão de  $Na^+$  durante o estresse salino (SZCZERBA; BRITTO; KRONZUCKER, 2009).

A capacidade de compartimentalização intracelular dos íons tóxicos pode explicar as diferenças em tolerâncias à salinidade entre espécies intimamente relacionadas (NIU *et al.*, 1995; MUNNS; TESTER, 2008). Essa idéia é apoiada por resultados observados por Staal *et al.* (1991), em que a espécie *Plantago maritima* (tolerante aos sais) apresentou uma atividade muito maior do antiporte  $Na^+/H^+$  vacuolar, durante a salinidade do que a espécie *Plantago media*, considerada sensível à salinidade. Em *Arabidopsis thaliana* tem sido mostrado que o gene AtNHX1 pode também realizar o cotransporte  $K^+/H^+$  o qual teria papel importante no estresse salino, auxiliando na manutenção da homeostase iônica e no pH celular (APSE; BLUMWALD, 2007; GIERTH; MÄSER, 2007; MUNNS; TESTER, 2008).

Diversos estudos estão voltados para elucidar os mecanismos de absorção de  $K^+$  e  $Na^+$  sob condições de salinidade, enquanto outros estão centrados na engenharia genética, visando aumentar a expressão de genes envolvidos com a tolerância ao estresse salino. Por exemplo, Ardie, Liu e Takano (2010) observaram que a expressão do gene AKT1 de *Puccinellia tenuiflora* em *Arabidopsis* produz incrementos na tolerância à salinidade. Contudo, na maioria dos casos, a tolerância à salinidade exibida por diversas espécies de plantas é atribuída principalmente à capacidade da manutenção de altas relações  $K^+/Na^+$  (ZHU, 2001).

### **2.3. Influência da fonte de nitrogênio na absorção e homeostase do $K^+$ sob condições normais e de estresse salino**

As principais formas de N absorvidas e utilizadas pelas plantas são o amônio ( $NH_4^+$ ) e o nitrato ( $NO_3^-$ ), embora possam ser tóxicas caso haja altos teores nos tecidos vivos (BOUKCIM; PAGÈS; MOUSAIN, 2006; GUO *et al.*, 2007c). Os sintomas relatados pela

toxicidade do íon  $\text{NH}_4^+$  geralmente aparecem em concentrações externas acima de 0,1 a 0,5 mM desse íon (BRITTO; KRONZUCKER, 2002). Nessas concentrações, ocorrem alterações no equilíbrio iônico e nas reações bioquímicas das plantas, resultando em reduções na produção de biomassa total e no conteúdo de nutrientes essenciais como os íons  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ . O declínio nos níveis desses cátions é acompanhado por um aumento nos níveis de ânions inorgânicos como o  $\text{Cl}^-$ , o  $\text{SO}_4^{2-}$  e o  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Em adição, as concentrações nos tecidos de ácidos dicarboxílicos, como o ácido málico, frequentemente são diminuídas enquanto há aumentos nos níveis de aminoácidos (BRITTO; KRONZUCKER; 2002).

Embora a absorção de muitos cátions inorgânicos seja reduzida em plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$ , a absorção desses íon é tão alta que, geralmente, plantas cultivadas com amônio acumulam excesso de cátions em relação aos ânions, e, ao mesmo tempo, acidificam o meio externo lançando prótons. Tal efluxo de prótons a partir da planta é uma forma de compensar o desbalanço de carga elétrica na membrana plasmática. Em contrapartida, plantas crescendo na presença  $\text{NO}_3^-$  promovem alcalinização no meio, provavelmente em resposta da troca eletroneutra desse ânion por íons hidroxila (BRITTO; KRONZUCKER; 2002).

Plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  normalmente exibem aumentos na relação de massa seca parte aérea/raiz e nas taxas respiratórias das raízes (BRITTO; KRONZUCKER; 2002). Com o aumento da respiração, há um consumo excessivo de moléculas de carbono, reduzindo, conseqüentemente, o conteúdo de carboidratos solúveis e amido (BRITTO; KRONZUCKER; 2002). Outros processos afetados pela nutrição com  $\text{NH}_4^+$  foram a redução na taxa de transpiração e as alterações na eficiência do uso da água (ZHANG *et al.*, 2010). No entanto, embora seja observada toxicidade com a nutrição de  $\text{NH}_4^+$  em muitas espécies quando esse íon é disponibilizado sozinho, quando ele é ofertado junto com o  $\text{NO}_3^-$ , o efeito pode ser aliviado (KANT *et al.*, 2007; FEIJÃO, 2009; ZHANG *et al.*, 2010).

O fluxo e o particionamento do  $K^+$  podem variar dependendo da forma de nitrogênio inorgânico presente no solo. A absorção de nitrato é capaz de estimular a captação líquida de  $K^+$  em várias culturas, sugerindo que o íon  $NO_3^-$  serve como um ânion acompanhante móvel durante a absorção e/ou transporte do  $K^+$ . Tem sido relatado que as propriedades semelhantes (carga e diâmetro hidratado) entre o  $NH_4^+$  e o  $K^+$  provoca a redução na absorção do  $K^+$  pelas raízes das plantas, inibindo principalmente o sistema de absorção de alta afinidade de  $K^+$ . Dessa forma, o efluxo de  $K^+$  em ambientes com concentrações elevadas de  $NH_4^+$  poderia contribuir para a diminuição do acúmulo de  $K^+$  nos tecidos da planta (SCHERER *et al.*, 1984; SZCZERBA *et al.*, 2008). Entretanto, situações contrárias têm sido observadas. Alvarez-Pizarro *et al.* (2011) observaram que plantas de sorgo cultivadas com  $NH_4^+$  tiveram sua capacidade de absorção de  $K^+$  estimulada quando comparadas àquelas nutridas com  $NO_3^-$ .

Segundo Zhang *et al.* (2010), a nutrição com  $NH_4^+$  promove maior translocação de  $K^+$  para as folhas do que a nutrição com  $NO_3^-$  em termos do montante de  $K^+$  transportado pelo xilema nas plantas, embora haja uma diminuição na absorção de potássio em relação àquela com fornecimento de  $NO_3^-$ . Já Wang e Below (1998) relataram que o fornecimento de ambas as formas de N ( $NO_3^-$  mais  $NH_4^+$ ) aumenta o acúmulo de  $K^+$  na planta inteira.

A salinidade é um dos estresses abióticos que mais limita a produtividade das plantas. No entanto, tem sido observado que a adubação nitrogenada pode trazer efeitos positivos sobre o crescimento da planta, reduzindo os efeitos deletéreos da salinidade (KANT *et al.*, 2007). O crescimento de diversas espécies de plantas é normalmente prejudicado quando o nitrogênio é aplicado apenas na forma de  $NH_4^+$ , principalmente pelo fato desse íon provocar um desbalanço nutricional nas plantas, inibindo a absorção e a homeostase do  $K^+$  (BRITTO; KRONZUCKER; 2002). Contudo, em alguns casos, a aplicação apenas do íon  $NO_3^-$  pode não ser benéfica à planta, especialmente sob estresse salino, quando sua taxa de absorção é reduzida, o que leva a uma diminuição no teor de N nas plantas. No entanto, foi relatado que a

aplicação combinada de  $\text{NO}_3^-$  com  $\text{NH}_4^+$  proporcionaram incrementos na produtividade de plantas de tomate cultivadas sob condições de salinidade (FLORES *et al.*, 2001). Contudo, existem diferenças substanciais entre as espécies vegetais com relação aos níveis de  $\text{NH}_4^+$  ou da mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  que são benéficos para as plantas (FLORES *et al.*, 2001; KANT *et al.*, 2007).

Kant *et al.* (2007) observaram que a salinidade provocou redução em todos os parâmetros de crescimento em plantas de cevada cultivadas em diferentes regimes de N. No entanto, embora a salinidade tenha promovido uma diminuição geral nos parâmetros de crescimento, a aplicação da mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  reduziu os efeitos deletérios do sal. Entretanto, Feijão (2009) observou que a aplicação combinada de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  em plantas de *Zea mays* sob condições de salinidade não foi capaz de minimizar os efeitos danosos dos sais.

Kant *et al.* (2007) atribui a tolerância à salinidade das plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  a energia economizada na assimilação do  $\text{NH}_4^+$ . A exigência de energia para a assimilação de  $\text{NO}_3^-$  é de 20 moléculas de ATP por molécula de  $\text{NO}_3^-$ , enquanto que a assimilação de  $\text{NH}_4^+$  requer apenas cinco moléculas de ATP por molécula de  $\text{NH}_4^+$ . Portanto, nas raízes, a assimilação do N na forma de  $\text{NH}_4^+$  pouparia cerca de 8-12% dos custos energéticos para o crescimento em relação ao  $\text{NO}_3^-$ , enquanto que para a assimilação na parte aérea, a economia de energia seria de 3-6% (KANT *et al.*, 2007). Tal economia de energia permitiria que mais recursos fossem alocados para os mecanismos de tolerância à salinidade que dependem de energia. Evidentemente, isto resultaria em efeitos positivos sobre o crescimento das plantas sob condições de salinidade.

Outro fator que pode atenuar os efeitos do estresse salino em plantas nutridas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  é o efeito de  $\text{NH}_4^+$  sobre os níveis de ABA, um hormônio que desempenha um papel crucial nas respostas das plantas ao estresse. Plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  apresentam aumento nos níveis da oxidase do aldeído, enzima que catalisa o passo final

na síntese de ABA, e dessa forma há aumento nos níveis de ABA na célula (KANT *et al.*, 2007).

Alguns trabalhos relatam que o acúmulo de  $\text{Na}^+$  em plantas crescendo sob condições de salinidade é menor na presença de  $\text{NH}_4^+$  do que nas outras fontes de N, e que, tal acúmulo é menor na parte aérea do que nas raízes (SAGI *et al.*, 1997; KANT *et al.*, 2007; FEIJÃO, 2009). Em azevém, foi sugerido que a concorrência entre  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{Na}^+$  pelos sítios de absorção radicular reduz a absorção e transporte de  $\text{Na}^+$  das raízes para a parte aérea, minimizando o acúmulo de  $\text{Na}^+$  nas folhas (SAGI *et al.*, 1997).

Dessa forma, Kant *et al.* (2007) propõe o emprego de adubação com ambas as fontes de N ( $\text{NO}_3^-$  mais  $\text{NH}_4^+$ ), porém, com baixos níveis de amônio, pois, assim a economia de energia na assimilação do  $\text{NH}_4^+$  beneficiaria a planta no combate ao estresse salino, e também poderia estar relacionada com a necessidade de evitar a toxicidade do amônio.

## 2.4. O sorgo

O sorgo é uma espécie gramínea com metabolismo fotossintético do tipo C4 e possui adaptações morfológicas que aumentam a assimilação do carbono e a eficiência do uso da água em ambientes secos e com temperaturas elevadas. Seu valor nutritivo o torna uma importante cultura em relação à qualidade nutricional de outras gramíneas, tais como o milho e o arroz. O sorgo tem se mostrado como uma boa opção em substituição ao milho, principalmente para o cultivo em regiões com clima semi-árido, devido à maior resistência a estiagem, maior produção por área e menor exigência quanto à fertilidade do solo em relação ao milho (DIAS *et al.*, 2001).

Dentre as espécies alimentares, o sorgo é uma das mais versáteis e mais eficientes, tanto do ponto de vista fotossintético, como na velocidade de maturação. Sua versatilidade

reconhecida se estende desde o uso de grãos na alimentação humana e animal; na matéria-prima para produção de álcool anidro, bebidas alcoólicas, colas e tintas; no uso das panículas para produção de vassouras; na extração de açúcar dos colmos; e nas inúmeras aplicações de sua forragem na nutrição de ruminantes (EMBRAPA, 2011).

Segundo dados do IBGE (2011), no Brasil, a área plantada, a produção e a produtividade média de sorgo alcançaram, no ano de 2010, valores de 649.466 ha, 1.505.093 toneladas e 2.331 Kg/ha, respectivamente. Os Estados de Goiás, Minas Gerais e Bahia são os maiores produtores a nível nacional. No entanto, vale ressaltar que, nos últimos anos, houve uma intensificação do cultivo de sorgo na Região Nordeste, principalmente nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco e Bahia, sendo este último o maior produtor da Região (IBGE, 2011).

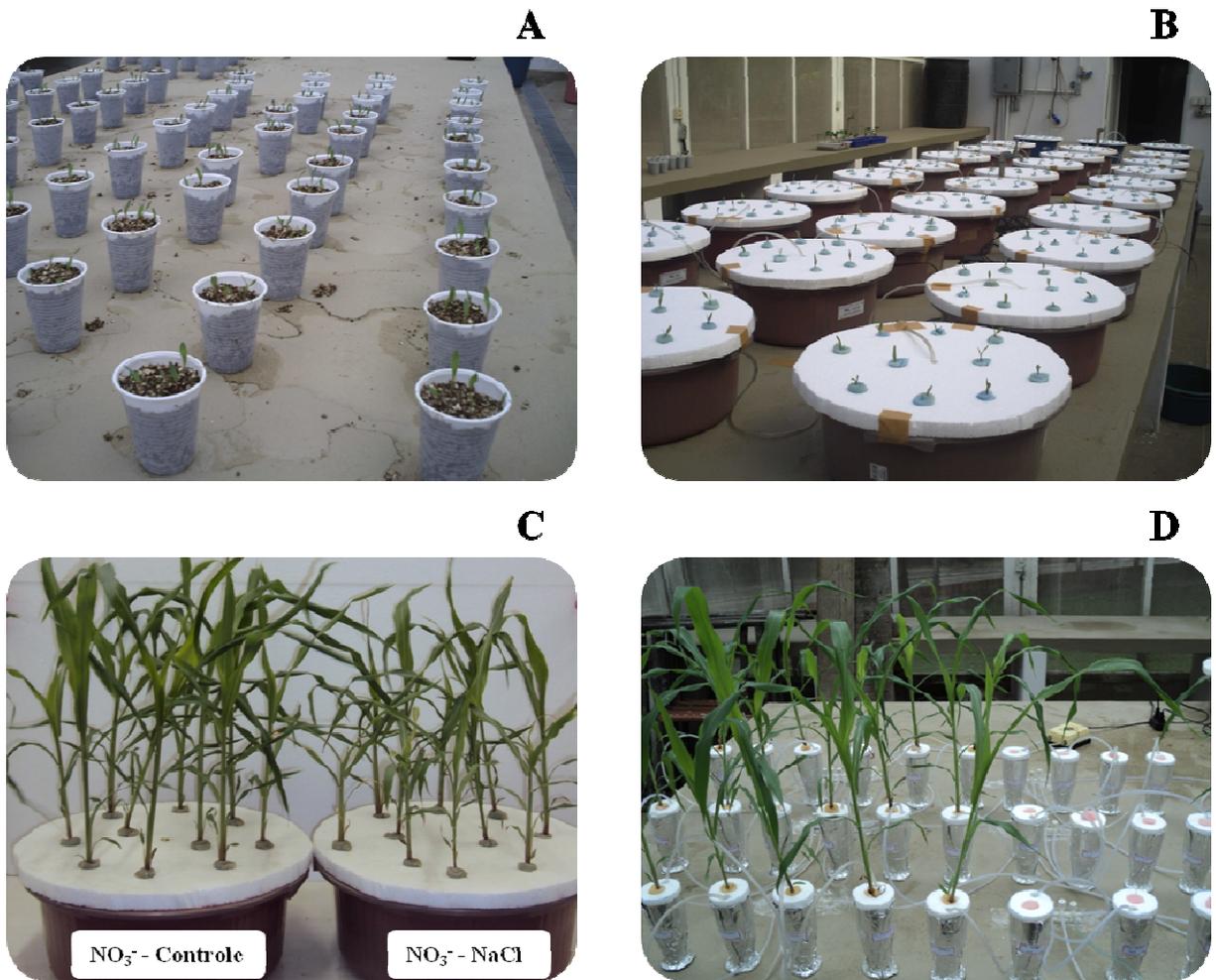
Estudos preliminares com plantas de sorgo mostraram que esta espécie pode compor um excelente modelo experimental, por se adaptar mais facilmente às condições adversas de temperatura e umidade (MORGADO, 2005), apresentar boa capacidade para absorção de nutrientes (como o  $K^+$ ) em baixas concentrações nas soluções nutritivas (ALVAREZ-PIZARRO *et al.*, 2011) e por alguns genótipos serem moderadamente tolerantes à salinidade (LACERDA *et al.*, 2003). Portanto, o conhecimento de mecanismos de resistência ao estresse salino na cultura de sorgo é relevante para que sua exploração, nas áreas áridas e semi-áridas, seja mais eficiente possível.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Condições gerais de experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e as análises fisiológicas e bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará. Sementes de sorgo forrageiro [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.], genótipo CSF20, obtidas da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), depois de selecionadas, foram tratadas com hipoclorito de sódio a 2% em cloro ativo, por 5 min e, em seguida, exaustivamente lavadas com água destilada, para retirar os resíduos de hipoclorito. A semeadura foi realizada em copos de plástico (100 mL), contendo vermiculita umedecida com água destilada, na proporção de 2:1 (v/v), sendo colocadas 5 sementes por copo (Figura 1A). Quatro dias após a semeadura, dez plântulas de tamanho uniforme foram transferidas para bacias contendo 10,0 L de soluções nutritivas completas a um terço de força iônica, as quais foram preparadas com base nas concentrações de nutrientes proposta por Hoagland (Figura 1B). Após cinco dias, as soluções nutritivas foram renovadas e, em seguida trocas periódicas foram feitas a cada três dias, com o intuito de evitar deficiência nutricional das plantas.

As soluções nutritivas foram elaboradas de forma a conter concentrações de  $K^+$  a 0,75 mM e nitrogênio inorgânico (N), na forma de  $NO_3^-$ ,  $NO_3^-/NH_4^+$  e  $NH_4^+$  a uma concentração final de 5,0 mM, conforme a tabela 1. A submissão das plantas ao estresse salino foi iniciada aos doze dias após a semeadura, sendo aplicado doses de 37,5 mM de NaCl a cada 24 horas até atingir a concentração final de 75 mM. Este procedimento foi utilizado para evitar o choque osmótico nas raízes das plântulas em desenvolvimento. O pH e a concentração de  $K^+$



**Figura 1:** Imagens do experimento com plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF 20, conduzido em casa de vegetação, expondo as etapas de semeadura (A) e plantas no momento da transferência para a solução nutritiva (B). Em C ilustram-se plantas controle à esquerda e plantas estressadas à direita no sétimo dia de estresse salino, e em D mostram-se plantas em soluções nutritivas durante o experimento de absorção e transporte de água no último dia de tratamento.

**Tabela 1:** Composição e concentração de sais usados para a preparação das soluções nutritivas contendo três diferentes fontes de nitrogênio inorgânico ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_4^+$ ). Nos tratamentos salinos, o NaCl foi adicionado mantendo uma proporção de 100:1 de  $\text{Na}^+$  em relação à concentração de  $\text{K}^+$ . A composição das soluções se baseou nas descritas por Hoagland a 1/3 da força iônica (ALVAREZ-PIZARRO, 2010).

Nível de $\text{K}^+$	$\text{K}^+$ (0,75 mM)		
	$\text{NO}_3^-$ (5 mM)	$\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ (2,5 mM/2,5 mM)	$\text{NH}_4^+$ (5 mM)
Fonte de Nitrogênio			
Soluções Estoque	Volume (mL) para 1 litro de solução		
<b>KCl</b> (1M)	0,75	0,75	0,75
<b>Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O</b> (1M)	2,50		
<b>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub></b> (1M)		2,50	
<b>NH<sub>4</sub>Cl</b> (1M)			4,50
<b>CaCl<sub>2</sub></b> (1M)		2,50	2,50
<b>MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</b> (1M)	0,33	0,33	0,33
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b> (1M)	0,25	0,25	
<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b> (1M)			0,25
<b>Fe – EDTA</b> (10 $\mu\text{M}$ )	1,00	1,00	1,00
<b>Micronutrientes*</b>	1,00	1,00	1,00
<b>NaCl</b> (1M)**	75,0	75,00	75,00

\* Solução preparada a partir de:  $\text{CaCl}_2$  a 50  $\mu\text{M}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  a 12,5  $\mu\text{M}$ ,  $\text{MnSO}_4$  a 1  $\mu\text{M}$ ,  $\text{CuSO}_4$  a 0,5  $\mu\text{M}$  e  $\text{H}_2\text{MoO}_4$  a 0,1  $\mu\text{M}$ .

\*\* Volume aplicado apenas nos tratamentos salinos.

foram medidos e monitorados diariamente sendo ajustados para pH 6,0 com NaOH ou HCl (1M) e a concentração de  $K^+$  mantida em 0,75 mM com adição de KCl.

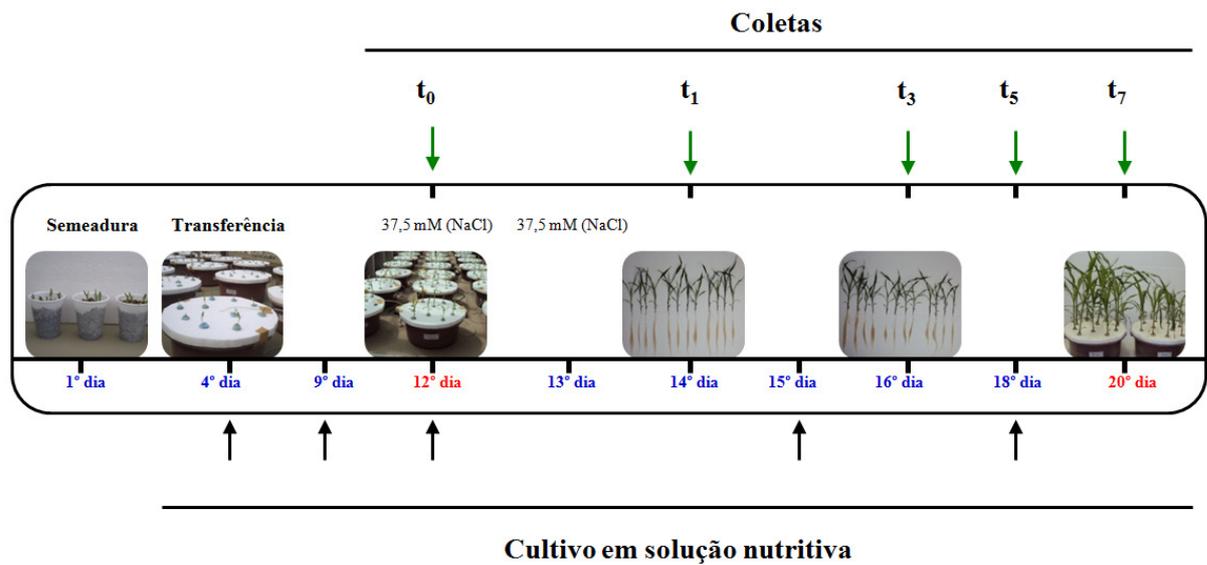
Durante o período experimental, as plantas foram crescidas sob condições de casa de vegetação com temperaturas médias de  $32,0 \pm 4^\circ\text{C}$  e  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante o dia e a noite, respectivamente; e com umidade relativa do ar média de  $73 \pm 11\%$ .

### **3.2. Experimento I: Análises de crescimento e de solutos orgânicos e inorgânicos de plantas de sorgo forrageiro cultivadas em diferentes fontes de nitrogênio inorgânico sob condições de estresse salino**

Este experimento teve por finalidade estudar as respostas de plantas de sorgo forrageiro à salinidade, avaliando-se o crescimento (produção de biomassa e medidas de comprimento das raízes) e os teores de solutos orgânicos e inorgânicos dos 12 aos 20 dias após a semeadura (0 a 7 dias de estresse salino com NaCl a 75 mM).

#### **3.2.1. Coleta do material vegetal e análise de crescimento**

O material vegetal foi coletado e analisado em cinco tempos diferentes. A primeira coleta das plantas foi realizada aos 12 dias de cultivo ( $t_0$ ), antes da aplicação da primeira dose de NaCl; as segunda, terceira, quarta e quinta coletas foram realizadas após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias de exposição das plantas ao NaCl a 75 mM. Na **figura 2** é apresentado um esquema do desenho experimental utilizado neste estudo, onde são mostradas a semeadura, transferência das plântulas para solução nutritiva, renovações de soluções e coletas do material vegetal. O experimento teve duração de 20 dias após a semeadura ou sete dias de estresse salino. Em cada tempo de análise, cinco plântulas de cada bandeja (repetição) foram coletadas individualmente, e colocadas em água destilada durante 10 min para lavagem



**Figura 2:** Esquema mostrando as condições de cultivo e coletas das plântulas de sorgo forrageiro genótipo CSF20. As setas pretas indicam as transferências das plântulas para as soluções nutritivas e renovações das soluções. As setas verdes mostram os tempos de estresse com NaCl a 75 mM: t<sub>0</sub>, plantas não estressadas; t<sub>1</sub>, t<sub>3</sub>, t<sub>5</sub> e t<sub>7</sub>, plantas com 1, 3, 5 e 7 dias de estresse (NaCl a 75 mM), respectivamente. As coletas do material vegetal foram realizadas nos cinco tempos de estresse.

das raízes. Em seguida, foi medido o comprimento das raízes e as plantas foram divididas em parte aérea (folha + colmo) e raiz, determinando-se os valores de massa fresca (MF). O material coletado foi imediatamente armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  e, após o congelamento, liofilizado. Após secagem completa do material, foram determinadas as massas secas (MS) da parte aérea e das raízes e, em seguida o material vegetal foi macerado com nitrogênio líquido com o auxílio de almofariz e pistilo. O pó liofilizado obtido foi armazenado a  $4^{\circ}\text{C}$  até posterior utilização. Os valores obtidos das massas frescas e secas foram utilizados para calcular a relação massa fresca da parte aérea/raiz (MFPA/MFR) e a relação massa seca da parte aérea/raiz (MSPA/MSR).

### **3.2.2. Determinação de compostos orgânicos**

#### **3.2.2.1. Preparação dos extratos para determinação de carboidratos solúveis, redutores e não redutores, N-aminossolúveis e amido**

Cada extrato foi preparado a partir do pó liofilizado dos órgãos da planta (parte aérea ou raiz) separadamente, sendo que cada planta compôs uma unidade experimental. Amostras de 10 mg de tecidos da parte aérea ou das raízes foram homogeneizadas com 5 mL de etanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) a 80%, sendo o homogenato em seguida mantido a  $75^{\circ}\text{C}$ , em banho-maria, durante 1 h, com agitações a cada 15 min. Transcorrido esse tempo, o material foi centrifugado a  $3.000 \times g$  por 10 min a  $4^{\circ}\text{C}$ , e o sobrenadante obtido foi coletado. O procedimento de extração foi repetido duas vezes, partindo-se do precipitado restante, sob as condições já descritas, à exceção do tempo de extração, que foi reduzido para 30 min. Ao fim do processo, todos os sobrenadantes coletados foram reunidos e tiveram seu volume completado para 25 mL com etanol a 80% (v/v) (contendo os solutos solúveis), sendo, em seguida armazenados a  $-25^{\circ}\text{C}$

até sua posterior utilização, enquanto o precipitado final foi utilizado para a extração do amido.

A extração do amido foi realizada segundo [Hodge e Hofreiter \(1962\)](#). No precipitado remanescente, foram adicionados 4,0 mL de ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) a 30% (v/v), sendo o homogenato mantido sob agitação constante, por 20 min, com o auxílio de uma mesa agitadora [Nova Ética®, modelo 108/3 (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil)], com movimentos orbitais a 45 rpm. Logo após, foram adicionados 3,33 mL de água desionizada em cada um dos tubos. Em seguida, o material foi centrifugado a  $3.000 \times g$  por 10 min a  $4^\circ\text{C}$ . O sobrenadante foi coletado e o precipitado submetido novamente a mais duas extrações, como descrito acima. Ao final das extrações, os sobrenadantes foram reunidos e tiveram seu volume aferido para 50 mL com água desionizada em balão volumétrico.

### **3.2.2.2. Carboidratos solúveis, redutores e não-redutores**

Os carboidratos solúveis totais foram determinados de acordo com [Dubois \*et al.\* \(1956\)](#). A 0,2 mL do extrato bruto foram adicionados 0,2 mL de fenol ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$ ) a 5% (v/v) e 1,0 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. A mistura foi agitada e deixada em repouso por 10 min para o seu resfriamento. Em seguida, as amostras foram quantificadas por meio de leituras de absorbância em 490 nm, utilizando-se como branco 0,2 mL de etanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) a 80% (em substituição ao extrato), 0,2 mL de fenol a 5% e 1,0 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. A curva padrão de carboidratos solúveis totais foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de D(+) glicose anidra. Cada extrato foi dosado em triplicata.

Os carboidratos redutores foram determinados de acordo com [Somogye \(1944\)](#) e [Nelson \(1945\)](#) descrito em [Hodge e Hofreiter \(1962\)](#). Em tubos de ensaio contendo 0,5 mL do extrato bruto, convenientemente diluído, foram adicionados 0,5 mL do reativo Nelson AB,

composto pela solução de Nelson A [carbonato de sódio anidro a 2,5% (p/v), tartarato de sódio e potássio a 2,5% (p/v), bicarbonato de sódio 2,0% (p/v) e sulfato de sódio anidro a 20% (p/v) em água desionizada] e solução de Nelson B [sulfato de cobre pentaidratado a 15% (p/v) em ácido sulfúrico concentrado a 0,01% (v/v) em água desionizada] na proporção de 4:1 (v/v). Em seguida, os tubos foram hermeticamente fechados, agitados e mantidos em banho-maria a 100°C, durante 20 min. Transcorrido esse tempo, a reação foi cessada colocando-se os tubos em banho de gelo (aproximadamente 2°C). Após resfriamento, foram adicionados 0,5 mL da solução arsenitomolibídica [molibdato de amônio tetraidratado a 5% (p/v), ácido sulfúrico concentrado a 4,2% (v/v) e arsenito de sódio heptaidratado a 0,6% (p/v) em água desionizada] e os tubos foram agitados vigorosamente por aproximadamente 2 min. Em seguida, foram adicionados 3,5 mL de água desionizada, sendo os tubos agitados. Após esse procedimento, as amostras foram submetidas à quantificação dos carboidratos redutores por meio de leituras de absorvância em 540 nm, utilizando-se como branco, etanol a 80% (em substituição ao extrato) e os demais componentes do meio de reação. A curva padrão de carboidratos redutores foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de D(+) glicose anidra. Cada extrato foi dosado em triplicata.

Os carboidratos não-redutores foram determinados pela diferença entre os carboidratos solúveis totais e os carboidratos redutores. Os teores de carboidratos solúveis totais, redutores e não-redutores representam a média das extrações independentes para cada repetição e foram expressos em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  de MS.

### **3.2.2.3. Amido**

A extração e determinação do amido de raiz e parte aérea foram realizadas conforme descrito por [Hodge e Hofreiter \(1962\)](#). Para a determinação do amido, foram adicionados em

tubos de ensaio 0,5 mL do extrato e 2,5 mL de antrona ( $C_{14}H_{10}O$ ) a 0,14% (p/v), preparada em  $H_2SO_4$  a 14 M. Os tubos foram mantidos a  $95^\circ C$ , em banho-maria, por 10 min. Decorrido esse tempo, a reação foi cessada pela colocação dos tubos em banho de gelo (aproximadamente  $2^\circ C$ ). Após atingirem a temperatura ambiente, as amostras foram submetidas à quantificação dos carboidratos solúveis nelas presentes (devido à hidrólise perclórica do amido) por meio de leituras de absorvância em 620 nm, utilizando-se como branco 0,5 mL de ácido perclórico a 6,9% (v/v), (em substituição ao extrato) e 2,5 mL de antrona a 0,14%. A curva padrão de carboidratos foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de D(+) glicose anidra. Cada extrato foi dosado em triplicata. Os teores de amido obtidos representam a média das extrações independentes para cada repetição, sendo expressos  $\mu mol$  equivalente de glicose  $g^{-1}$  de MS.

#### 3.2.2.4. N-aminossolúveis

Os teores de N-aminossolúveis foram determinados de acordo com o método de [Yemm e Cocking \(1955\)](#). Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,5 mL do extrato bruto; 0,25 mL de tampão citrato a 0,2 M, pH 5,0; 0,5 mL de cianeto de potássio (KCN) a 0,2 mM, em metilcelosolve ( $C_3H_8O_2$ ) a 100% (v/v); e 0,1 mL de ninhidrina ( $C_9H_6O_4$ ) a 5% (p/v), em metilcelosolve a 100% (v/v). Em seguida, os tubos foram hermeticamente fechados, agitados e mantidos a  $95^\circ C$ , em banho-maria, durante 20 min. A reação foi interrompida colocando-se os tubos em banho de gelo ( $2^\circ C$ ), nos quais foram adicionados 0,65 mL de etanol a 60% (v/v). Os teores de N-aminossolúveis foram estimados através de leituras de absorvância em 570 nm, tendo como branco 0,5 mL de etanol a 80% (v/v) (em substituição ao extrato) e os demais constituintes do meio de reação. A curva padrão foi elaborada a partir de soluções com concentrações crescentes de glicina. Cada extrato foi dosado em triplicata. Os teores de N-

aminossolúveis obtidos representam a média das extrações independentes para cada repetição, sendo expressos em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  de MS.

### 3.2.2.5. Proteínas solúveis

As proteínas solúveis foram extraídas a partir de 10 mg do pó liofilizado dos tecidos da parte aérea ou raízes, usando 0,4 mL de tampão fosfato pH 7,0 a 50 mM, sendo os extratos mantidos a 4°C, durante 1 hora, com agitações suaves a cada 15 min. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 3.000 x g por 10 min, a 4°C. O sobrenadante foi coletado e armazenado a -25°C até sua posterior utilização, sendo o precipitado descartado.

Os teores de proteínas solúveis foram determinados segundo [Bradford \(1976\)](#). Em tubos de ensaio contendo 0,1 mL do extrato, convenientemente diluído, adicionou-se 1,0 mL do reagente de Bradford [Coomassie Brilliant Blue G-250 (0,01%), etanol (4,75%) e ácido fosfórico (8,5%)], sendo a mistura agitada e deixada em repouso por 15 min. Passado esse tempo, foi feita a leitura em espectrofotômetro à 595 nm, tendo como branco a mistura contendo 0,1 mL de tampão fosfato pH 7,0 a 50 mM (em substituição ao extrato) e 1,0 mL do reagente de Bradford. Os teores de proteínas solúveis foram estimados com base em uma curva padrão ajustada a partir de soluções com concentrações crescentes de soroalbumina bovina (BSA). Cada extrato (repetição) foi dosado em triplicata, e os teores de proteínas solúveis foram expressos em  $\text{mg g}^{-1}$  MS.

### 3.2.3. Determinação de solutos inorgânicos

#### 3.2.3.1. Preparação do extrato

Para a determinação dos teores dos íons inorgânicos, 10 mg do pó liofilizado de tecidos da parte aérea e de raízes foram homogeneizados com 1,0 mL de água desionizada, em tubos de eppendorfs, os quais foram mantidos à temperatura ambiente, durante 1 h, com agitações a cada 10 min. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 3.000 x g por 15 min, à temperatura ambiente. O sobrenadante foi coletado e armazenado a -25°C até sua utilização, sendo o precipitado descartado.

#### 3.2.3.2. Teores de K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup>

Os teores de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> foram determinados segundo [Malavolta, Vitti e Oliveira \(1989\)](#), com o auxílio de um fotômetro de chama [Micronal, modelo B462 (São Paulo, São Paulo, Brasil)]. Com os dados obtidos de massa seca e dos teores de íons foram calculados os índices de eficiência de absorção (EA<sub>K</sub>) e de transporte (ET<sub>K</sub>) de K<sup>+</sup> em condições controle e de estresse salino, e os índices de seletividade (IS<sub>K,Na</sub>) ([DASHIT; KHAN; COLLINS, 2009](#)) e seletividade de transporte (ST<sub>K,Na</sub>) de K<sup>+</sup> em relação ao Na<sup>+</sup>, de acordo com as seguintes fórmulas ([WANG \*et al.\*, 2009](#)):

$$EA_K = (\text{Conteúdo total de K}^+ \text{ na planta}) (\text{Massa seca da raiz})^{-1}$$

$$ET_K = [(\text{Conteúdo total de K}^+ \text{ na parte aérea}) (\text{Conteúdo total de K}^+ \text{ na planta})^{-1}] \times 100$$

$$IS_{K,Na} = (\text{K}^+ \text{ na planta}/\text{K}^+ \text{ no meio}) (\text{Na}^+ \text{ na planta}/\text{Na}^+ \text{ no meio})^{-1}$$

$$ST_{K,Na} = (\text{Relação K}^+/\text{Na}^+ \text{ na parte aérea}) (\text{Relação K}^+/\text{Na}^+ \text{ na raiz})^{-1}$$

### 3.2.3.3. Teores de Cl<sup>-</sup>

Os teores de Cl<sup>-</sup> foram determinados segundo [Gaines, Parker e Gascho \(1984\)](#). A 1,0 mL do extrato bruto, convenientemente diluído, adicionaram-se 0,167 mL da mistura de reação formada por tiocianato de mercúrio [Hg(SCN)<sub>2</sub>] a 13,2 mM, em metanol a 100%, e nitrato férrico [Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O] a 20,2% (p/v), em água desionizada, na proporção de 4:1. Após agitação, as amostras permaneceram em repouso por 15 min, sendo os teores de Cl<sup>-</sup> estimados através de leituras de absorvância em 460 nm, utilizando-se como branco água desionizada (em substituição ao extrato) e o restante dos componentes da mistura de reação. Para a elaboração da curva padrão foram utilizadas soluções com concentrações crescentes de NaCl.

### 3.2.3.4. Teores de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

A determinação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi realizada de acordo com [Cataldo \*et al.\* \(1975\)](#). A 0,1 mL do extrato bruto, convenientemente diluído, foram adicionados 0,2 mL de ácido salicílico a 5%, em ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram agitados e, em seguida, foram adicionados aos mesmos 4,7 mL de NaOH a 2 M. Os tubos foram agitados vigorosamente e deixados por 20 min em repouso até a mistura de reação atingir temperatura ambiente. Os teores de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foram quantificados por leituras de absorvância em 410 nm, tendo como branco, um tubo de ensaio contendo água desionizada (em substituição ao extrato) e os demais constituintes do meio de reação. A determinação do conteúdo de NO<sub>3</sub> foi estimada com base em uma curva padrão elaborada com soluções com concentrações crescentes de KNO<sub>3</sub>.

### 3.2.3.5. Teores de $\text{NH}_4^+$

Os teores de amônio livre foram determinados segundo [Weatherburn \(1967\)](#). Esse método é baseado na formação do indofenol, após reação da amônia com o fenol e o hipoclorito, em pH alcalino. A 0,16 mL do extrato bruto, convenientemente diluído, adicionaram-se 1,0 mL da solução A (fenol a 1% e nitroprussiato a 0,005%, em água desionizada) e 1,0 mL da solução B (NaOH a 0,5% e hipoclorito de sódio a 0,06%, em água desionizada). Em seguida, a mistura de reação foi agitada e deixada a 37°C, em banho-maria por 20 min. Transcorrido esse tempo, o material ficou em repouso por 45 min, sendo então feitas as leituras de absorbância em 625 nm, tendo como branco, água desionizada (em substituição ao extrato) e os demais constituintes do meio de reação. Os teores de  $\text{NH}_4^+$  livre foram estimados a partir de uma curva padrão feita com concentrações crescentes de sulfato de amônio  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ .

A determinação dos íons inorgânicos  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  constou da dosagem em duplicata de cada extrato. Os teores dos íons foram expressos em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS e representam a média de cinco repetições.

### 3.3. Experimento II: Trocas gasosas e absorção de água de plantas de sorgo forrageiro cultivadas em diferentes fontes de nitrogênio inorgânico sob condições de estresse salino

Neste experimento foram analisados os efeitos do estresse salino sobre as trocas gasosas de plantas de sorgo forrageiro, sendo estudadas a fotossíntese ( $A$ ), a taxa de transpiração ( $E$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ) e a eficiência do uso da água instantânea ( $\text{EU}_{\text{Ai}}$ ). Para isso, com base nos resultados do primeiro experimento, foram escolhidos os tempos  $t_3$  e  $t_7$  de estresse para as análises de trocas gasosas e de absorção de água.

### 3.3.1. Condições ambientais e cultivo de plantas

De modo geral, durante o período experimental, as condições de cultivo foram às mesmas descritas anteriormente (ver item 3.1). As medições de trocas gasosas e absorção de água ocorreram sempre entre 10:00 e 12:00 h, sendo os valores médios de temperatura e umidade relativa do ar no interior da casa de vegetação nesse intervalo de tempo de  $29 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $75 \pm 3\%$  no  $t_3$  e  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $90 \pm 5\%$  no  $t_7$  de estudo, respectivamente.

### 3.3.2. Trocas gasosas

As medições de trocas gasosas foram feitas em folhas maduras completamente expandidas de cada planta. Os valores de fotossíntese líquida ( $A$ ), a transpiração ( $E$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ) foram determinados utilizando o analisador de gás no infravermelho IRGA (LCi, ADC, Hoddesdonm, UK), em um sistema com fluxo de ar de  $200 \text{ mL min}^{-1}$ , acoplado a uma fonte de radiação artificial (ADC BioScientific Ltd. Hoddesdonm, UK) com intensidade de aproximadamente  $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . As taxas de  $A$ ,  $E$  e  $g_s$  representam a média de quatro repetições de cada tratamento e foram expressas em  $\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente. Com dados de  $A$  e  $E$  foi calculada a eficiência do uso da água instantânea ( $\text{EUAi}$ ), a partir da seguinte fórmula:

$$\text{EUAi} = (\text{Fotossíntese líquida}) (\text{Transpiração})^{-1}$$

### 3.3.3. Taxa de absorção de água

A estimativa da taxa de absorção de água pelas plantas de sorgo teve por base a quantidade de massa de solução nutritiva absorvida. Para isso, cada planta foi transferida para

copos plásticos cobertos com papel alumínio contendo um volume de solução nutritiva equivalente a 150 g, com a mesma composição da solução nutritiva de crescimento (Figura 1D), onde permaneceram durante um período de 2 h. Copos plásticos contendo somente solução nutritiva (150 g) foram colocados simultaneamente para determinar a massa de água perdida por evaporação durante o período do experimento. Transcorrido o tempo do experimento, determinou-se a massa final da solução nutritiva. As raízes de cada planta foram cortadas e colocadas em estufa de secagem com circulação forçada de ar a 60°C para a determinação de sua MS.

Com os dados obtidos de MS das raízes e a massa final das soluções nutritivas foi calculada a taxa de absorção de água de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de absorção de água} = \left[ \frac{(\text{MIS} - \text{MFSCP}) - (\text{MIS} - \text{MFSSP})}{(\text{Massa seca das raízes})} \right] t^{-1} (\text{h})$$

**MIS** = Massa Inicial da Solução

**MFSCP** = Massa Final da Solução Com Planta

**MFSSP** = Massa Final da Solução Sem Planta

**t** = Tempo (horas)

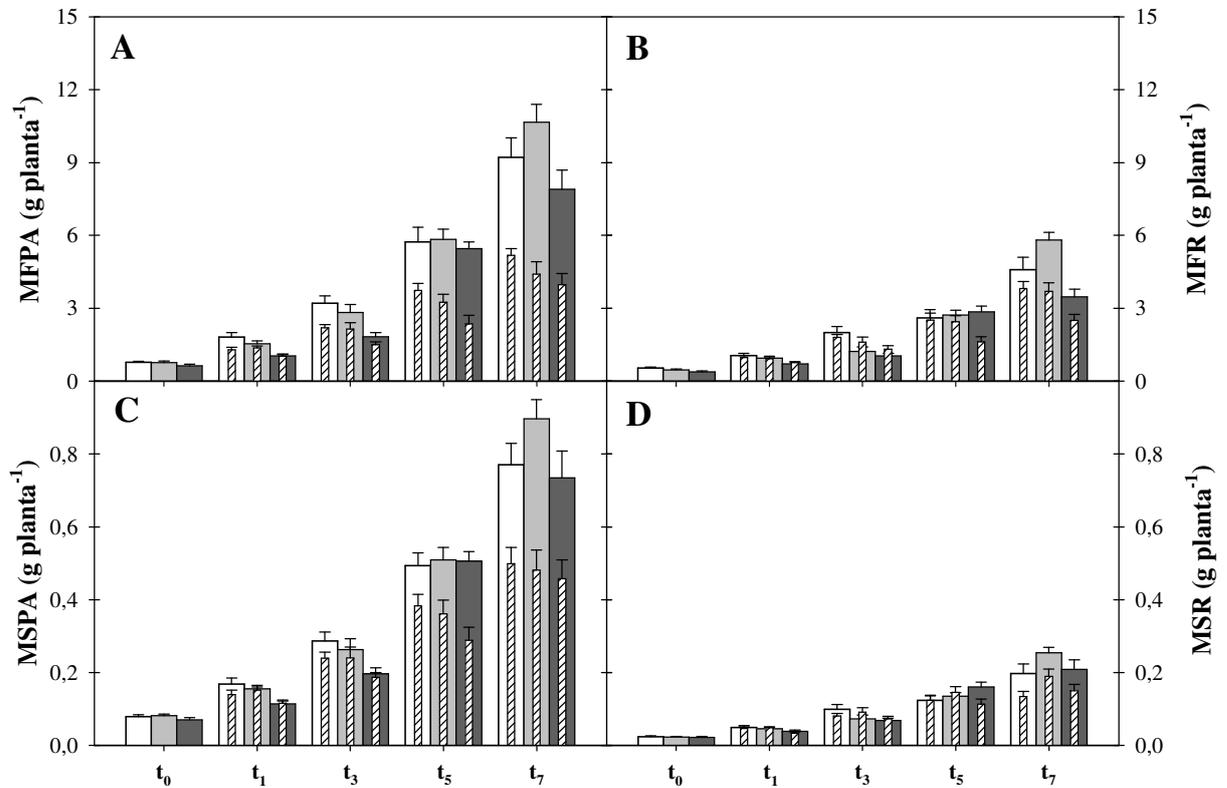
### 3.4. Delineamento experimental e análise de dados

O delineamento do experimento foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial correspondendo a 2 níveis de NaCl (0 e 75 mM de NaCl) × 3 fontes de nitrogênio ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_4^+$ ) × 5 cinco tempos de estresse ( $t_0$ ,  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$ ). Em cada tempo de estresse, foram coletadas 5 plantas/bacia, perfazendo um total de 27 bacias [no tempo  $t_0$  foram coletadas apenas as plantas correspondentes aos tratamentos controles (3 bacias)]. Para os ensaios, as plantas foram analisadas individualmente, sendo utilizadas 5 plantas (repetições) por cada tratamento. Os resultados foram analisados com base nas médias aritméticas e erro padrão.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Análise de crescimento

Os dados de crescimento das plantas de sorgo cultivadas em diferentes fontes de nitrogênio inorgânico e sob condições controle e de estresse salino são apresentados na **figura 3**. De modo geral, na ausência de sal, as plantas de sorgo cultivadas nas três fontes inorgânicas de nitrogênio ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_4^+$ ) não apresentaram grandes diferenças em relação ao seu crescimento. Na ausência de salinidade, a massa fresca da parte aérea (MFPA) foi reduzida nas plantas crescendo na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  nos tempos  $t_1$  e  $t_3$ , com reduções, em média, de 33,0% em relação às plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ . Entretanto, com o andamento do experimento, nos tempos  $t_5$  e  $t_7$  não houve diferenças significativas na MFPA das plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  comparadas às plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  (**Figura 3A**). Em termos quantitativos, no tempo  $t_7$ , plantas crescendo com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram maior produção MFPA (10,6 g) quando comparadas àquelas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  (9,2 g) e com  $\text{NH}_4^+$  (7,8 g). O estresse salino afetou severamente a MFPA das plantas (**Figura 3A**). Plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram reduções na MFPA desde o primeiro dia de estresse, que foram progredindo com o andamento do experimento, sendo registradas reduções de 29,1, 31,6, 34,9 e 43,8% nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  respectivamente, em relação ao tratamento controle (**Figura 3A**). Por outro lado, plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou com  $\text{NH}_4^+$  só apresentaram reduções significativas na MFPA com a salinidade nos tempos  $t_5$  e  $t_7$ . Nos tratamentos salinos cultivados com  $\text{NH}_4^+$ , nos tempos  $t_5$  e  $t_7$  a redução da MFPA foi em média de 53% em relação aos controles, enquanto que na presença da mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  a redução na MFPA na presença de sal foi de 44,3% no tempo  $t_5$ , e ainda mais pronunciada no tempo  $t_7$ , sendo 59% menor que o controle (**Figura 3A**).



**Figura 3:** Massas frescas da parte aérea (MFPA, A) e raízes (MFR, B) e massas secas da parte aérea (MSPA, C) e raízes (MSR, D) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas controle contendo NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (□), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações de biomassa foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse (t<sub>0</sub>), e após um (t<sub>1</sub>), três (t<sub>3</sub>), cinco (t<sub>5</sub>) e sete (t<sub>7</sub>) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

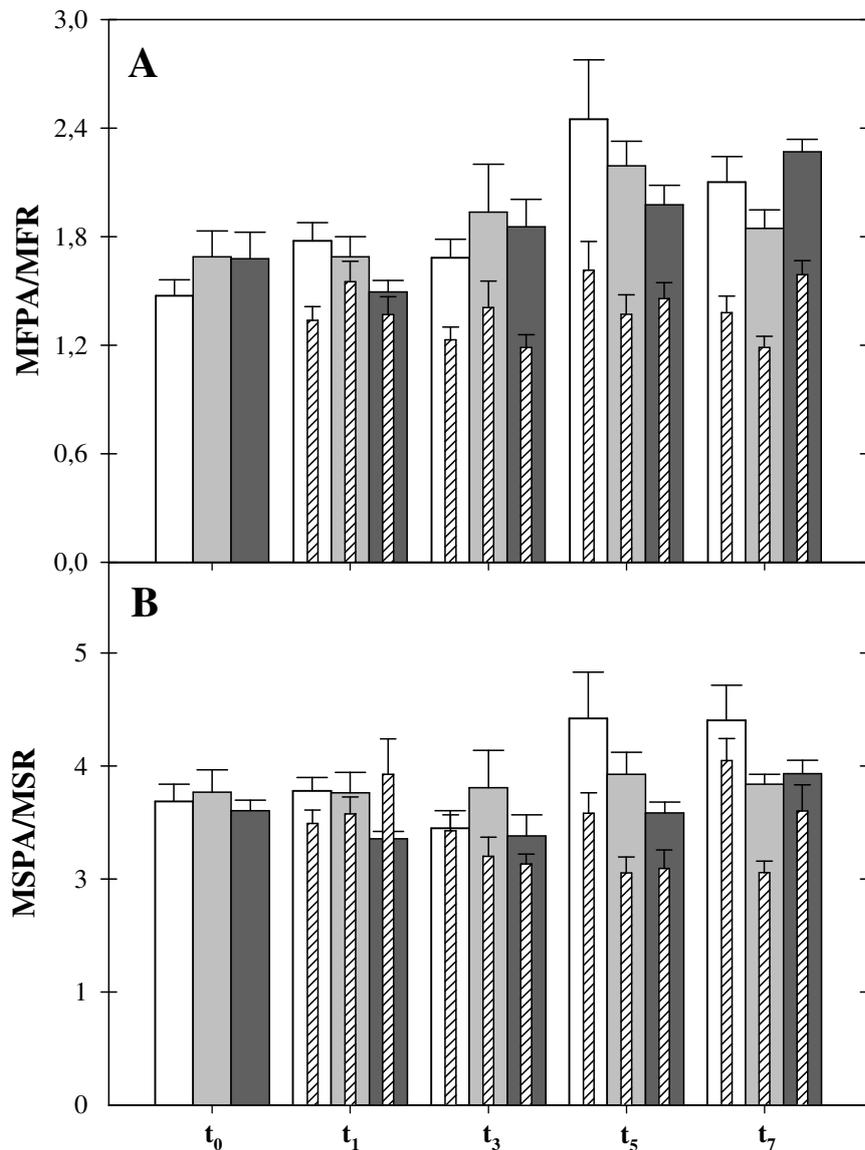
A massa fresca das raízes (MFR) das plantas sob condições controle, cultivadas com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_4^+$ , no tempo  $t_3$ , foi em média 43,2% menor do que a de plantas nutridas  $\text{NO}_3^-$  (Figura 3B); entretanto, no tempo  $t_7$ , plantas crescendo na mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram maior produção de MFR, seguidas pelas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  e, por fim, as crescidas com  $\text{NH}_4^+$  (Figura 3B). Com a salinidade, a produção de matéria fresca das raízes (MFR) só foi afetada após cinco dias de estresse, inicialmente em plantas cultivadas em solução contendo  $\text{NH}_4^+$  como única fonte de N (Figura 3B). Contudo, no tempo  $t_7$ , plantas cultivadas em presença da mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , sob estresse salino, tiveram a produção de MFR também afetada, apresentando maior redução (36,4%), em relação ao controle, quando comparada às condições de cultivo com  $\text{NH}_4^+$  (redução de 28,3%) e com  $\text{NO}_3^-$  (redução de 16,9%).

Sob condições controle, a massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas crescendo na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  apresentou redução média, nos tempos  $t_1$  e  $t_3$ , de 32,5% em relação àquelas crescidas com  $\text{NO}_3^-$ ; entretanto, nos tempos  $t_5$  e  $t_7$  não foram observadas diferenças significativas na MSPA das plantas comparadas àquelas de plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 3C). Por outro lado, no tempo  $t_7$ , plantas crescendo na presença da mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram em termos quantitativos, maior valor de MSPA, sendo em média, 16,1% superior à MSPA das plantas cultivadas nas outras fontes de N. A MSPA de plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  foi afetada desde o primeiro dia de submissão ao estresse salino, apresentando reduções médias de 16,7% nos tempos  $t_1$  e  $t_3$ , 22,5 e 35,3% nos tempos  $t_5$  e  $t_7$ , respectivamente, em relação aos controles (Figura 3C). Por outro lado, plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NH}_4^+$  só apresentaram reduções na MSPA a partir do quinto dia crescendo em presença de NaCl. No tempo  $t_7$  de estresse, plantas salinizadas e cultivadas em presença de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  tiveram a MSPA severamente afetada com redução de 46,2% em relação ao controle. Por outro lado, plantas nutridas apenas com  $\text{NH}_4^+$  ou com  $\text{NO}_3^-$  mostraram reduções na MSPA de apenas 36,5% comparado aos controles (Figura 3C).

Nas plantas controle, de maneira geral, a massa seca das raízes (MSR) não teve sua produção afetada pela fonte de N utilizada; entretanto, no tempo  $t_7$ , plantas cultivadas com a combinação  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram valores de MSR, em média, 20,1% superiores ao de plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  ou com  $\text{NH}_4^+$  (Figura 3D). A redução na produção de MSR com a exposição ao sal foi evidente inicialmente em plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$ , apresentando no tempo  $t_5$ , 29,3% menos massa seca do que plantas do tratamento controle (Figura 3D). Entretanto, no tempo  $t_7$ , plantas crescendo na salinidade apresentaram em média, redução de 28,4% na MSR em relação aos respectivos controles, independentemente da fonte de N utilizada.

Na ausência do estresse salino, as plantas de sorgo não apresentaram grandes diferenças na relação MFPA/MFR em função da fonte de N (Figura 4A). No entanto, na presença de NaCl a relação MFPA/MFR foi reduzida quase que em todos os tempos de tratamento, independente da fonte de N. Plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  tiveram a relação MFPA/MFR afetada pelo estresse salino desde o primeiro dia, apresentado valor 24,7% menor do que o controle (Figura 4A). Por outro lado, plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  só apresentaram reduções nessa relação a partir do terceiro dia de estresse, com um valor 35,9% menor que esta relação nas plantas controle. Nos tempos  $t_5$  e  $t_7$ , plantas crescendo com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e com  $\text{NO}_3^-$  foram as mais afetadas com a salinidade, apresentando reduções médias na relação MFPA/MFR de 35,7% (no tempo  $t_5$ ) e 35,0% (no tempo  $t_7$ ), respectivamente, em relação aos valores dessa relação nas plantas dos respectivos controles (Figura 4A).

Em condições controle, no tempo  $t_1$ , a relação MSPA/MSR de plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  foi 15,0% menor que a de plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 4B). Já nos tempos  $t_5$  e  $t_7$ , plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram as maiores relações

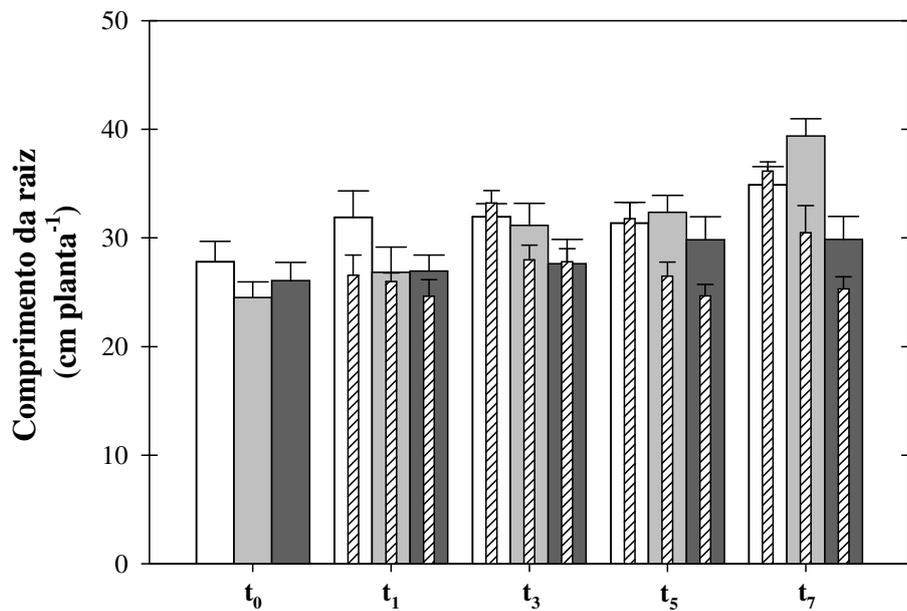


**Figura 4:** Relação entre massa fresca da parte aérea e das raízes (MFPA/MFR, A) e entre massa seca da parte aérea e das raízes (MSPA/MSR, B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (□), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As relações de biomassa foram determinadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse (t<sub>0</sub>), e após um (t<sub>1</sub>), três (t<sub>3</sub>), cinco (t<sub>5</sub>) e sete (t<sub>7</sub>) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

MSPA/MSR, mostrando valores, respectivamente, 24,4 e 13,9% superiores aos de plantas crescidas com  $\text{NH}_4^+$ , embora sem significância entre os erros padrões. De modo geral, o estresse salino promoveu reduções na relação MSPA/MSR que variaram com o tempo de estresse e com a fonte de N. As plantas nutridas com a combinação  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  foram as mais afetadas pela salinidade, apresentando valores 21,6, 29,7 e 27,5% menores que os respectivos controles, nos tempos  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$ , respectivamente (Figura 4B). Por outro lado, plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  ou com  $\text{NH}_4^+$  só apresentaram reduções significativas na relação MSPA/MSR no tempo  $t_5$ , exibindo valores 24,4 e 19,0%, respectivamente, menores que aqueles de plantas dos tratamentos controles.

Os comprimentos das raízes das plantas de sorgo na ausência de NaCl sofreram efeitos diretos da fonte de N utilizada. Plantas crescendo na presença de  $\text{NO}_3^-$  apresentaram valores em média 15,5% superiores aos de plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$  e  $t_7$ , respectivamente (Figura 5). Em termos quantitativos, no tempo  $t_7$ , plantas crescendo com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram raízes com os maiores comprimentos (39,3 cm), seguidas por plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  (34,9 cm), e por fim, das cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  (29,8 cm).

A salinidade não promoveu reduções nos comprimentos das raízes de plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  em relação ao controle, exceto naquelas no tempo  $t_1$  de estresse (Figura 5). Por outro lado, no tempo  $t_5$  de estresse, foram observadas reduções no comprimento das raízes de plantas crescendo em soluções contendo  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NH}_4^+$ , apresentando reduções médias de 17,7% em relação aos respectivos controles. Já no tempo  $t_7$  de estresse, plantas crescendo na mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram as maiores reduções, sendo o comprimento das raízes 22,6% menor do que o das plantas controle (Figura 5).



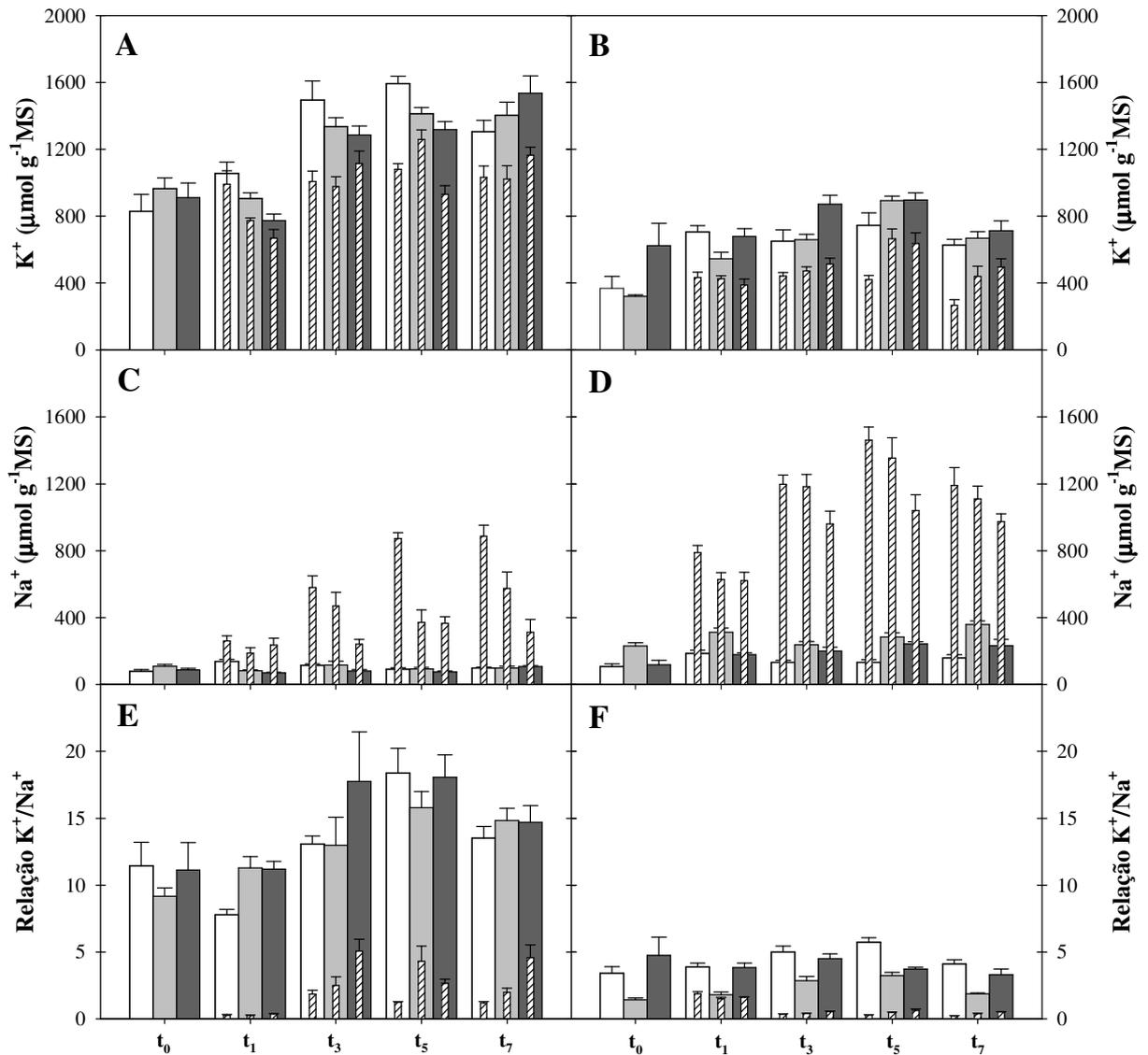
**Figura 5:** Comprimento das raízes de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (■) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As medidas de comprimento foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

## 4.2. Solutos inorgânicos

### 4.2.1. Teores de potássio e sódio e relação $K^+/Na^+$

Em condições controle, nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$  e  $t_5$ , as plantas nutridas com  $NO_3^-$  acumularam um maior conteúdo de  $K^+$  na parte aérea, sendo seguidas das nutridas com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  e, por fim, das tratadas com  $NH_4^+$  (Figura 6A). Entretanto, no tempo  $t_7$ , foi observado um resultado interessante, plantas cultivadas com  $NH_4^+$  apresentaram maiores concentrações de  $K^+$  na parte aérea, apresentando valores 17,6% superiores àqueles de plantas nutridas com  $NO_3^-$ . De modo geral, sob condições de estresse salino o conteúdo de  $K^+$  na parte aérea das plantas de sorgo, foi menor que aquele das plantas controle, independentemente da fonte de N utilizada (Figura 6A). A redução no teor de  $K^+$  na parte aérea das plantas foi maior nas cultivadas com  $NO_3^-$  como única fonte de N. Já no tempo  $t_3$  de estresse salino, as plantas tratadas com  $NO_3^-$  acumularam em média 32,6% menos  $K^+$  do que as plantas controle, enquanto que as tratadas com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  ou com  $NH_4^+$  apresentaram reduções de 26,8 e 13,3%, respectivamente. Contudo, nos tempos  $t_5$  e  $t_7$ , a salinidade reduziu de modo semelhante os teores de  $K^+$  na parte aérea das plantas cultivadas com  $NO_3^-$  e com  $NH_4^+$ , sendo que as plantas do tratamento salino apresentaram, em média, 30,7 e 22,5% menos  $K^+$  do que as plantas controle, respectivamente (Figura 6A).

Na ausência de estresse, a fonte de N teve efeito direto sobre o conteúdo de  $K^+$  nas raízes (Figura 6B). Nos tempos  $t_0$  e  $t_3$ , os teores de  $K^+$  de plantas crescidas em  $NH_4^+$  foram, em média, 81 e 33,0% respectivamente, superiores aos de plantas cultivadas com  $NO_3^-$  e com  $NO_3^-/NH_4^+$ . Entretanto, nos tempos  $t_5$  e  $t_7$ , o conteúdo de  $K^+$  nas raízes das plantas cultivadas com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  não apresentaram diferenças significativas ao de plantas nutridas com  $NH_4^+$  (Figura 6B). Nas raízes, a salinidade reduziu os teores de  $K^+$  em todos os tempos



**Figura 6:** Teores dos íons  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  e relação entre  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  na parte aérea (A, C e E, respectivamente) e nas raízes (B, D e F, respectivamente) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (■) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações dos íons foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

estudados, independente da fonte de N. Porém, como observado na parte aérea, as maiores reduções foram nas plantas contendo  $\text{NO}_3^-$  como única fonte de N (Figura 6B). Nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$ , as raízes das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram 38,7, 32,0, 43,6 e 57% respectivamente, menos  $\text{K}^+$  do que os respectivos controles. Plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  tiveram o conteúdo de  $\text{K}^+$  nas raízes severamente afetado com a salinidade, apresentando reduções de 42,0, 41,0, 29,2 e 30,7% respectivamente, nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$ , em relação às plantas controle. Entretanto, apesar da redução pronunciada nos teores de  $\text{K}^+$  nas raízes das plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$ , em termos quantitativos, o conteúdo de  $\text{K}^+$  dessas plantas sob condições de salinidade foi, nos tempos  $t_5$  e  $t_7$ , 51 e 85%, respectivamente, superior ao de plantas crescendo com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 6B). Plantas crescendo em solução contendo a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram comportamento semelhante ao de plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  com cinco e sete dias de imposição do estresse.

Sob condições controle, os teores de  $\text{Na}^+$  da parte aérea das plantas de sorgo forrageiro não foram influenciados pela fonte de N, apresentando valores semelhantes em todas as condições e em todos os tempos estudados (Figura 6C). O estresse salino aumentou consideravelmente os teores de  $\text{Na}^+$  na parte aérea das plantas de sorgo estudadas, independente da fonte de N, sendo as plantas crescendo na presença de  $\text{NO}_3^-$  as mais afetadas, apresentando aumentos mais pronunciados no acúmulo de  $\text{Na}^+$  no decorrer do experimento (Figura 6C). Nos tempos  $t_5$  e  $t_7$  de estresse, o conteúdo deste íon na parte aérea das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  apresentou valores oito vezes maiores que aqueles das plantas controle. Por outro lado, plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  como única fonte de N e salinizadas, apresentaram em termos quantitativos, nos tempos  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$ , teores de  $\text{Na}^+$  respectivamente, 59, 58, e 65% menores que aqueles das plantas estressadas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 6C).

Nas raízes, sob condições controle, houve influência da fonte de N nos teores de  $\text{Na}^+$ , sendo os maiores teores encontrados nas plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , com

valores nos tempos  $t_0$  e  $t_1$ , em média, 106 e 76%, respectivamente superiores ao das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$  (Figura 6D). Nessas condições, plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram baixos teores de  $\text{Na}^+$  nas raízes, em todos os tempos estudados, quando comparados aos observados nas plantas cultivadas com as outras fontes de N. Sob condições salinas, os teores de  $\text{Na}^+$  nas raízes aumentaram com o tempo de exposição ao sal, independentemente da fonte de N (Figura 6D). Contudo, as plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  e sob estresse salino acumularam menos íons  $\text{Na}^+$  em comparação com plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NO}_3^-$ . As plantas estressadas e cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ , acumularam os maiores teores de  $\text{Na}^+$  nas raízes, alcançando valores até 10 vezes superiores que os das plantas controle, como observado no  $t_5$  (Figura 6D). Já plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e sob salinidade apresentaram comportamento semelhante aos das plantas crescidas com  $\text{NO}_3^-$ , acumulando altas concentrações de  $\text{Na}^+$  nas raízes. Por outro lado, como ocorrido na parte aérea, plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  acumularam menos íons  $\text{Na}^+$  nas raízes (em termos quantitativos) quando expostas à salinidade, apresentando valores nos tempos  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$ , 19,8, 28,7 e 18,2%, respectivamente, menores que os das plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  sob essas mesmas condições (Figura 6D).

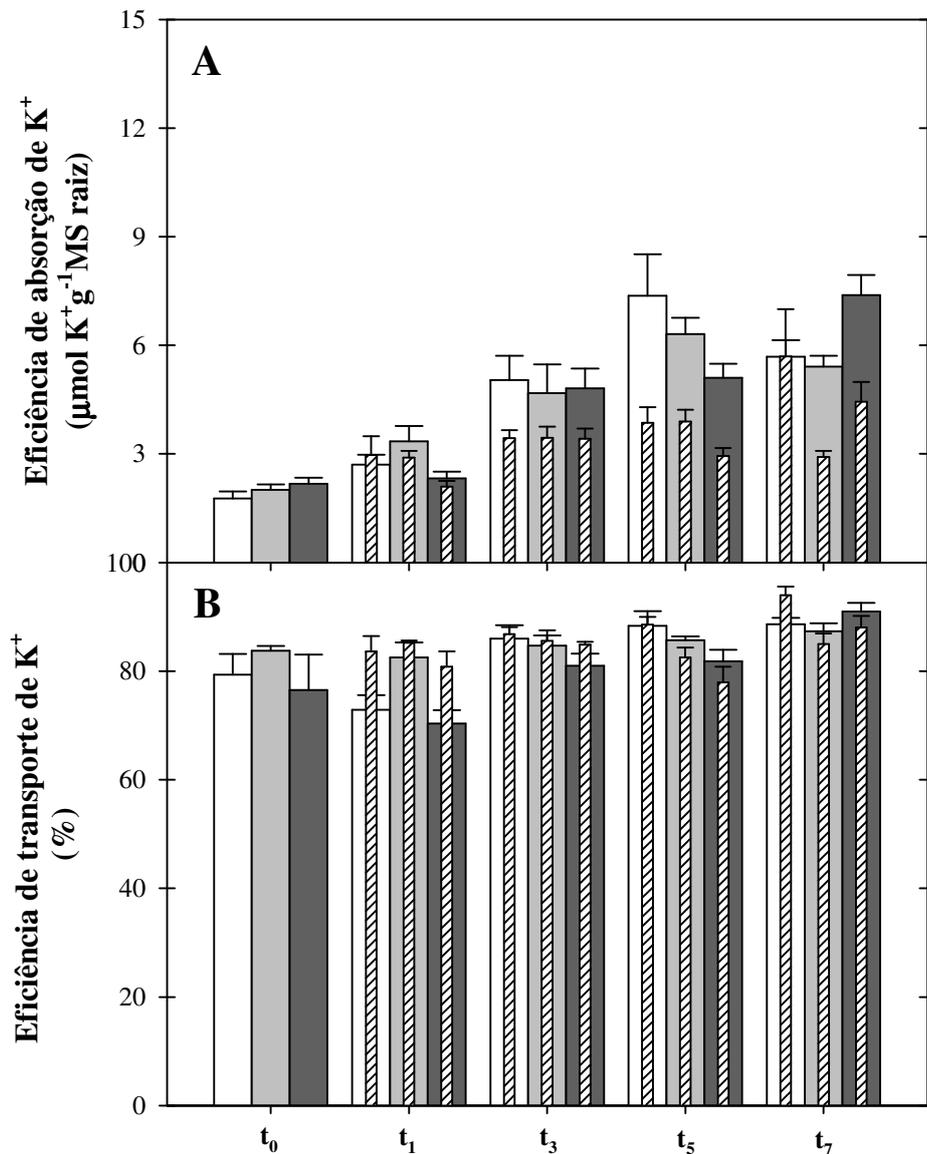
A relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  na parte aérea das plantas de sorgo crescendo na ausência de NaCl foi pouco influenciada pela fonte de N, com exceção no tempo  $t_1$ , porém, esta relação aumentou com o tempo de coleta (Figura 6E). A relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  da parte aérea das plantas de sorgo diminuiu fortemente quando as plantas foram submetidas à salinidade (Figura 6E). Após um dia de exposição ao sal ( $t_1$ ), a relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  nos tecidos aéreos de plantas de sorgo apresentou reduções de 96% em relação aos respectivos controle, não havendo diferenças em função da fonte de nitrogênio em que as plantas foram cultivadas. Entretanto, conforme o tempo de exposição ao sal foi aumentando, as plantas de sorgo crescidas em presença de  $\text{NO}_3^-$ , como única fonte de nitrogênio, apresentaram menores valores da relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$

quando comparadas às outras condições de cultivo. Nos tempos  $t_3$  e  $t_7$  de exposição ao sal, a relação  $K^+/Na^+$  na parte aérea das plantas cultivadas com  $NH_4^+$  foi maior em 63 e 74% em comparação à de plantas cultivadas com  $NO_3^-$ , respectivamente.

Nas raízes das plantas cultivadas sob condições controle, e na presença da mistura  $NO_3^-/NH_4^+$ , foi onde foram observados os menores valores da relação  $K^+/Na^+$  nos diversos tempos estudados, com valores aproximadamente 50% menores que os de plantas nutridas com  $NO_3^-$  (Figuras 6F). Da mesma forma que na parte aérea, nas raízes, a salinidade afetou severamente a relação  $K^+/Na^+$  (Figura 6F). De modo geral, a redução na relação  $K^+/Na^+$  foi independente da fonte de N utilizada, a qual apresentou valores semelhantes dentro de cada fonte de nitrogênio usada e em todos os tempos do estresse.

#### 4.2.2. Eficiências de absorção e de transporte de $K^+$

Os valores de eficiência de absorção ( $EA_K$ ) e de transporte ( $ET_K$ ) de  $K^+$  das plantas de sorgo forrageiro sob condições controle e de estresse salino são mostrados na figura 7. De modo geral, os valores de  $EA_K$  das plantas não estressadas (controle) aumentaram progressivamente com o tempo de coleta até o tempo  $t_5$ , especialmente aquelas dos tratamentos com  $NO_3^-$  e com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$ . Nesse mesmo tempo, plantas cultivadas com  $NO_3^-$  apresentaram valores de  $EA_K$  44,4% maior do que aqueles de plantas cultivadas com  $NH_4^+$ , que por sua vez, no tempo  $t_7$ , apresentaram valores de  $EA_K$  29,9% superiores ao de plantas cultivadas com  $NO_3^-$  (Figura 7A). Em termos absolutos, os maiores valores de  $EA_K$ , em condições controle, foram observados nos tempos  $t_5$  e  $t_7$  para as plantas nutridas com  $NO_3^-$  e  $NH_4^+$ , respectivamente, cujo valor médio foi de  $7,3 \mu\text{mol } K^+ \text{ g}^{-1} \text{ MS raiz}$  (Figura 7A).



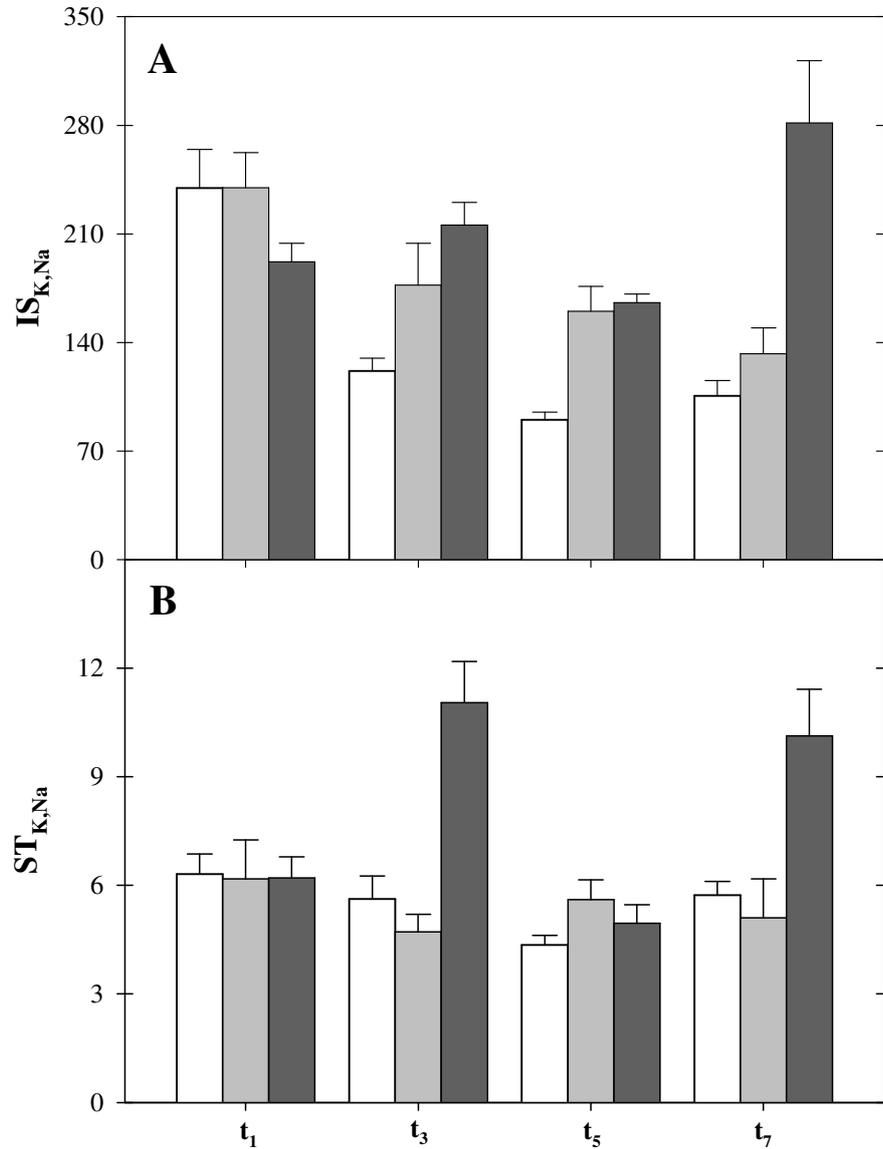
**Figura 7:** Eficiência de absorção (A) e de transporte (B) de  $K^+$  de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (■) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações dos índices foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. As colunas representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

O efeito da salinidade na  $EA_K$  das plantas de sorgo foi observado a partir do tempo  $t_3$  de exposição ao estresse salino. Independentemente da fonte de nitrogênio em que as plantas foram cultivadas, a  $EA_K$  foi reduzida em aproximadamente 29,0 e 42,7%, nos tempos  $t_3$  e  $t_5$  respectivamente, quando comparada aos respectivos controles (Figura 7A). Com sete dias de estresse ( $t_7$ ), o valor da  $EA_K$  não foi afetado pela salinidade nas plantas crescendo na presença de  $NO_3^-$ , entretanto, plantas nutridas com  $NO_3^-/NH_4^+$  e com  $NH_4^+$  apresentaram valores 46,0 e 39,9%, respectivamente, menores do que o controle.

A  $ET_K$  de plantas de sorgo, sob condições controle, diferentemente do ocorrido com a  $EA_K$ , não apresentou diferença em função da fonte de N utilizada, apresentando valores semelhantes em todos os tratamentos (Figura 7B). Esse mesmo comportamento também foi observado quando as plantas foram expostas ao estresse salino, mantendo inclusive valores parecidos durante os diferentes períodos de estresse estudados.

#### 4.2.3. Índice de seletividade e seletividade de transporte de $K^+$ ao invés do $Na^+$

Os valores do índice de seletividade ( $IS_{K,Na}$ ) e de seletividade de transporte ( $ST_{K,Na}$ ) de  $K^+$  ao invés do  $Na^+$  das plantas de sorgo determinados no presente estudo são apresentados na figura 8. Os valores de  $IS_{K,Na}$  das plantas de sorgo estressadas cultivadas com  $NO_3^-$  ou com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  foram, em média, no tempo  $t_1$ , 19,8% maiores que aqueles de plantas cultivadas com  $NH_4^+$  (Figura 8A). Entretanto, nos tempos  $t_3$  e  $t_5$ , plantas cultivadas com  $NO_3^-$  apresentaram em média, valores de  $IS_{K,Na}$ , 44,6% inferiores aos de plantas nutridas com  $NH_4^+$ . Já no tempo  $t_7$ , plantas cultivadas com  $NH_4^+$  apresentaram valores de  $IS_{K,Na}$ , 167 e 112% superiores àqueles de plantas crescendo na presença de  $NO_3^-$  e  $NO_3^-/NH_4^+$ , respectivamente (Figura 8A).



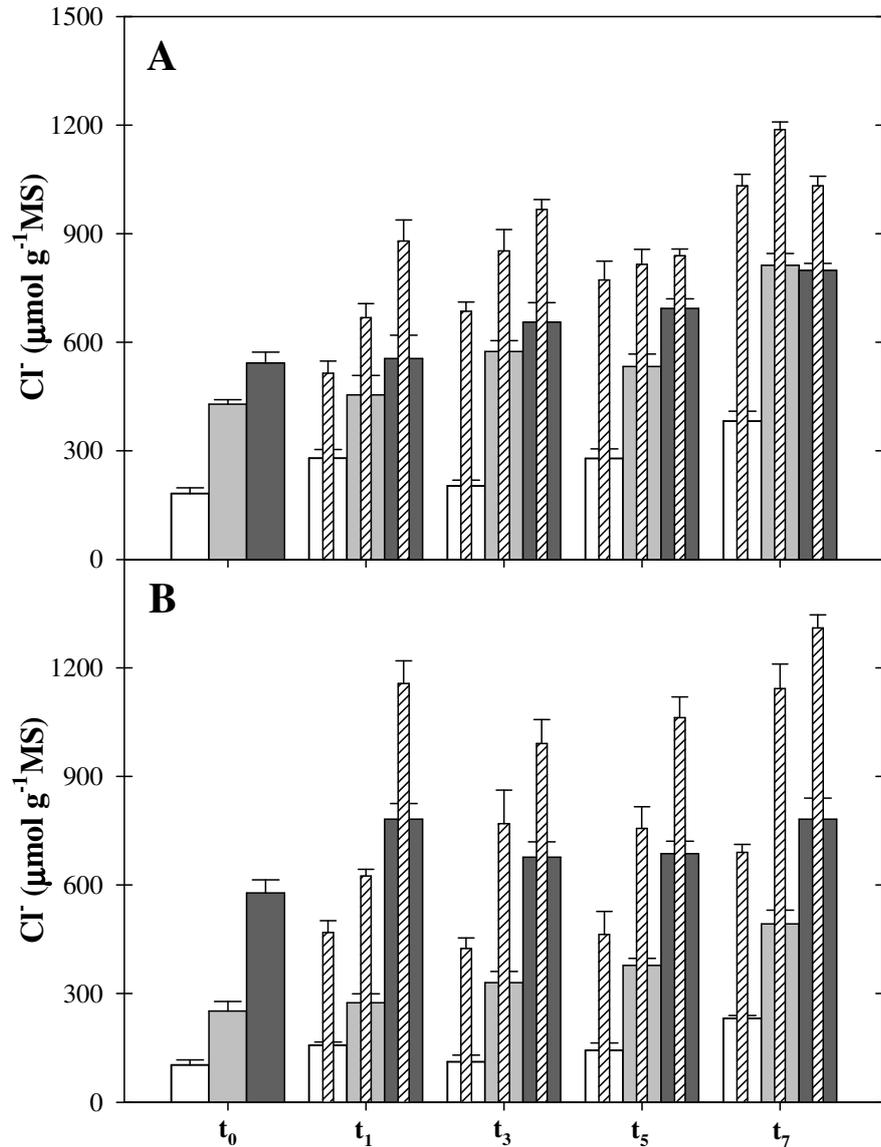
**Figura 8:** Índice de seletividade ( $IS_{K,Na}$ , A) e seletividade de transporte ( $ST_{K,Na}$ , B) de  $K^+$  ao invés do  $Na^+$  de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $NO_3^-$  (□),  $NO_3^-/NH_4^+$  (■) e  $NH_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM. As determinações dos índices foram realizadas após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. As colunas representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

Os valores de  $ST_{K,Na}$  das plantas de sorgo sob condições de estresse salino não apresentaram variações consideráveis entre as diferentes de N nos tempo  $t_1$  e  $t_5$  (Figura 8B). Em contraste, nos tempos  $t_3$  e  $t_7$  de estresse, plantas crescendo em presença do íon  $NH_4^+$  apresentaram em média, valores de  $ST_{K,Na}$ , respectivamente, 114 e 87% superiores aos de plantas cultivadas com  $NO_3^-$  ou com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  (Figura 8B).

#### 4.2.4. Teores de cloreto

Sob condições controle, o conteúdo de cloreto foi maior, tanto na parte aérea quanto nas raízes, nas plantas cultivadas em soluções nutritivas contendo o íon  $NH_4^+$ , seguidas das com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  e, por fim daquelas cultivada em soluções contendo apenas  $NO_3^-$  como única fonte de nitrogênio (Figura 9), sendo este comportamento observado nos cinco tempos em que as plantas foram coletadas. Quando expostas ao estresse salino, os teores de  $Cl^-$  nos tecidos aéreos das plantas de sorgo aumentaram consideravelmente com o tempo de exposição ao sal (Figura 9A). Nessas mesmas condições, observaram-se que os incrementos de  $Cl^-$  na parte aérea das plantas cultivadas com  $NO_3^-$ , em relação as plantas controle, foram maiores do que aquelas nas plantas cultivadas com as outras duas fontes de nitrogênio. Nos tempos  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de imposição do estresse os incrementos nos teores de  $Cl^-$  na parte aérea de plantas cultivadas com  $NO_3^-$  foram de 237, 177 e 170%, respectivamente, em relação aos controles (Figura 9A). Já nas plantas cultivadas com as outras duas fontes de N os aumentos nos teores de  $Cl^-$  em relação aos controles foram, em média, de 47,8, 37,0 e 27,7% respectivamente nos tempos  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$ .

Nas raízes, a salinidade também aumentou o teor de  $Cl^-$  das plantas nutridas com  $NO_3^-$ , porém de forma mais pronunciada que na parte aérea (Figura 9B). Nas raízes das plantas cultivadas com  $NO_3^-$ , nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de estresse, os teores de  $Cl^-$  foram 197, 280,

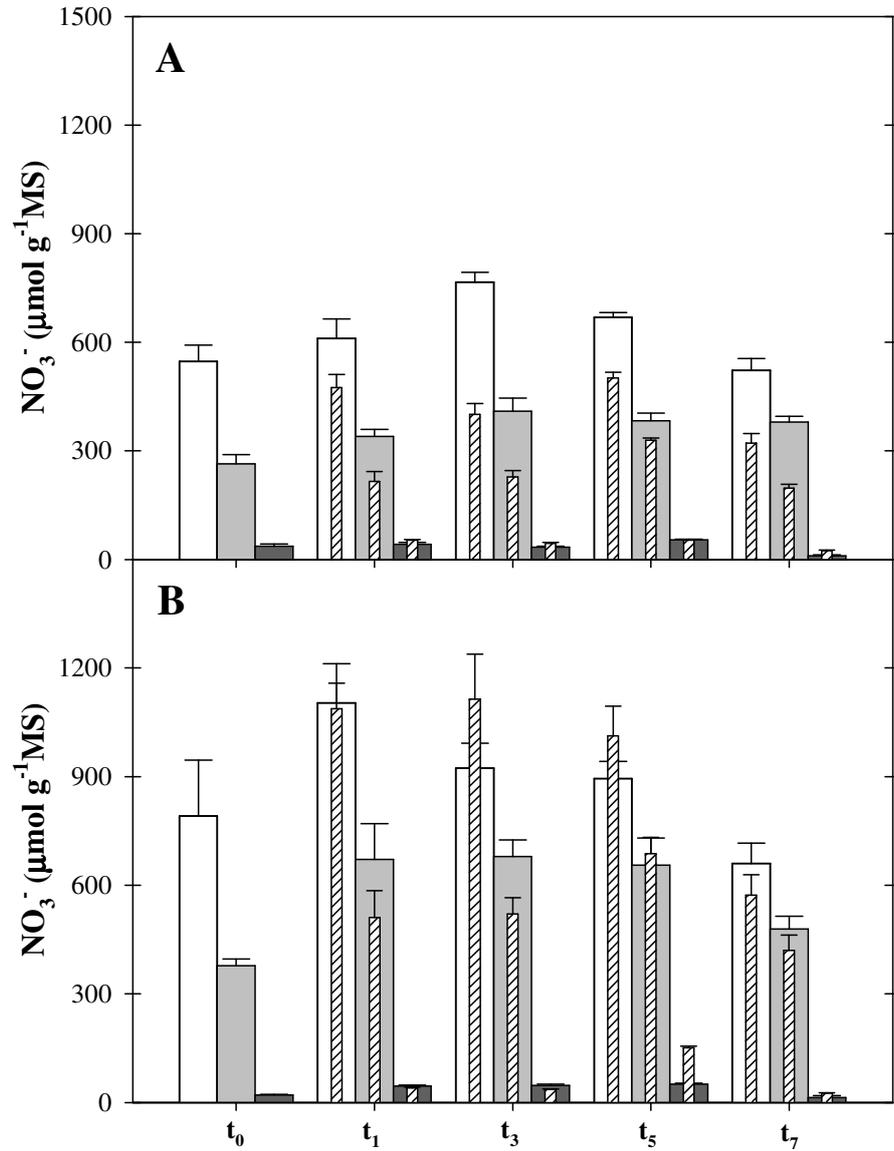


**Figura 9:** Teores de cloreto da parte aérea (A) e das raízes (B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (■) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com  $\text{NaCl}$  a 75 mM (▨). As determinações dos teores de cloreto foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. As colunas representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

222 e 198%, respectivamente, maiores que os respectivos controles, enquanto que nas raízes de plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  esse teores foram de apenas 47,8, 46,4, 54 e 67%, respectivamente, superiores aos controles nos mesmos tempos de coleta. Entretanto, em termos absolutos, os incrementos causados pela salinidade nos teores de  $\text{Cl}^-$  nas raízes das plantas de sorgo foram semelhantes em todas as fontes de N utilizadas, apresentando aumentos, em média, de  $353 \mu\text{mol g}^{-1}$  MS nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ , e  $t_5$  de estresse. No entanto, no tempo  $t_7$ , os maiores aumentos nos teores desse íon, em termos quantitativos, foram observados nas plantas nutridas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , com acréscimo de  $651 \mu\text{mol g}^{-1}$  MS, enquanto que as plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  ou com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram incremento médio de  $494 \mu\text{mol g}^{-1}$  MS (Figura 9B).

#### 4.2.5. Teores de nitrato

De modo geral, independente do órgão e do tempo de coleta, plantas cultivadas em presença de  $\text{NO}_3^-$  apresentaram maiores acúmulos desse íon, tanto em condições controle quanto de estresse salino, seguida das cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e das cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  que apresentaram baixíssimos conteúdos de  $\text{NO}_3^-$  (Figura 10). Sob condições controle, plantas nutridas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  nos tempos  $t_0$ ,  $t_1$ ,  $t_3$ , e  $t_5$  de coleta, apresentaram na parte aérea, em média, 46,4% menos íons nitrato do que plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 10A). Com o estresse salino, os teores de  $\text{NO}_3^-$  na parte aérea das plantas crescendo em presença de  $\text{NO}_3^-$  ou com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  foram reduzidos de forma semelhante ao longo do experimento, sendo essas reduções de 29,5, 46,0, 19,5 e 43,0% nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de estresse, respectivamente, quando comparado com os respectivos controles (Figura 10A).

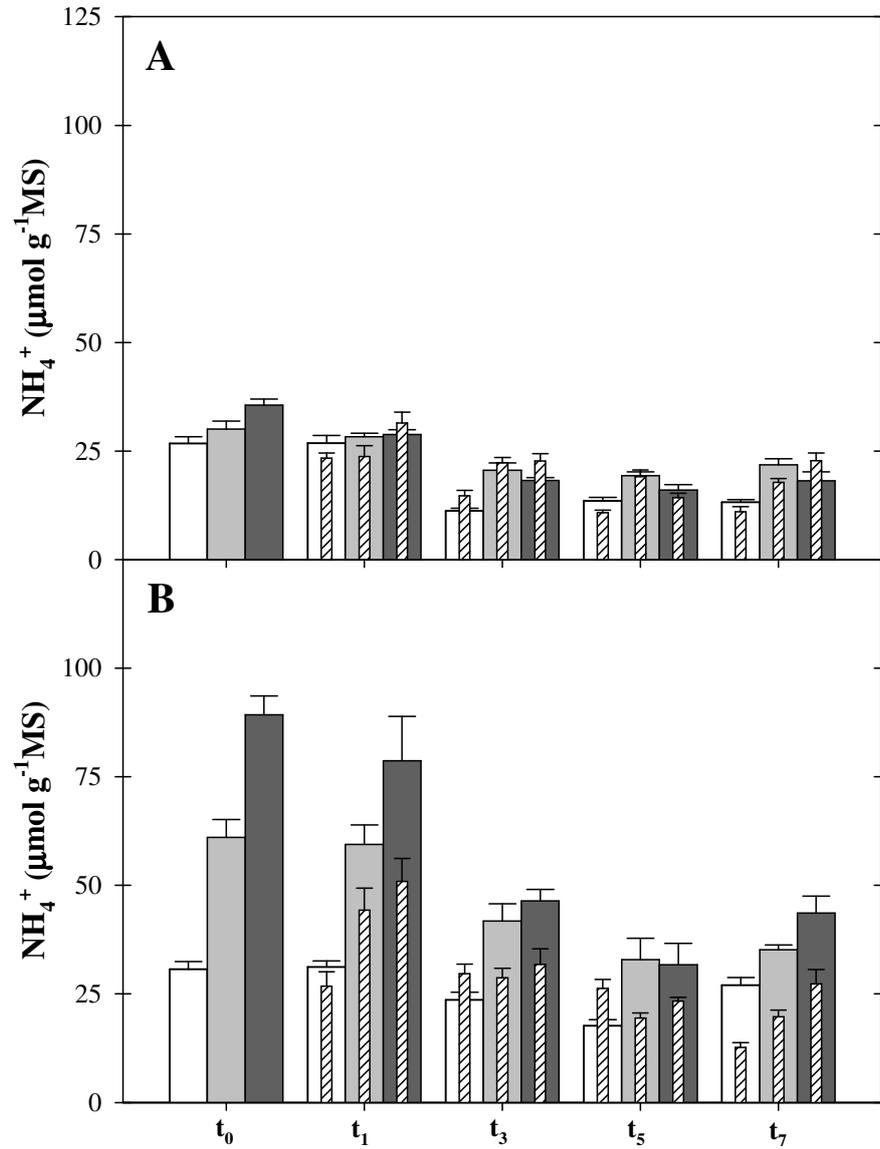


**Figura 10:** Teores de nitrato da parte aérea (A) e das raízes (B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (■) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações dos teores de nitrato foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. As colunas representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

Sob condições controle, as raízes das plantas nutridas com a combinação  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram nos tempos  $t_0$  e  $t_1$ , teores de  $\text{NO}_3^-$  52 e 39,2% menores que aqueles de plantas tendo  $\text{NO}_3^-$  como única fonte de N, respectivamente (Figura 10B). Entretanto, nos tempos  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de coleta, o conteúdo de nitrato nas raízes das plantas crescidas em  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  foram, em média, apenas 26,9% inferior ao de plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ . A salinidade pouco interferiu nos teores de  $\text{NO}_3^-$  nas raízes durante o período experimental. Contudo, reduções nos teores de  $\text{NO}_3^-$  de 23,6%, em média, foram observadas nas raízes das plantas crescendo na presença da mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  nos tempos  $t_1$  e  $t_3$  de estresse, em relação aos controles (Figura 10B). Durante o período de tempo estudado, a salinidade praticamente não interferiu nos teores de  $\text{NO}_3^-$  das raízes de plantas nutridas com este íon.

#### 4.2.6. Teores de amônio

De modo geral, em condições controle, o conteúdo de amônio das plantas de sorgo nutridas com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e com  $\text{NH}_4^+$ , em termos absolutos, foi maior nas raízes do que na parte aérea (Figura 11). Na ausência de estresse, plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou com  $\text{NH}_4^+$  como fontes de N, apresentaram concentrações semelhantes de  $\text{NH}_4^+$  na parte aérea em todos os tempos de coleta, com exceção do tempo  $t_0$ , onde foram observados nas plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$ , teores desse íon 18,1% maiores que aqueles das plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (Figura 11A). Em contraste, plantas crescendo tendo como única fonte de N o íon  $\text{NO}_3^-$  mostraram nos tempos  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de coleta, em média, 41,9, 23,5 e 33,6% menos amônio na parte aérea do que plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NH}_4^+$ , respectivamente. De modo geral, a salinidade promoveu pouca ou nenhuma alteração nos teores de amônio na parte aérea das plantas, independente da fonte de N e do tempo de exposição ao NaCl (Figura 11A), contudo, nos tempos  $t_3$  e  $t_7$ , plantas submetidas à



**Figura 11:** Teores de amônio da parte aérea (A) e das raízes (B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (■) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações dos teores de amônio foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. As colunas representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

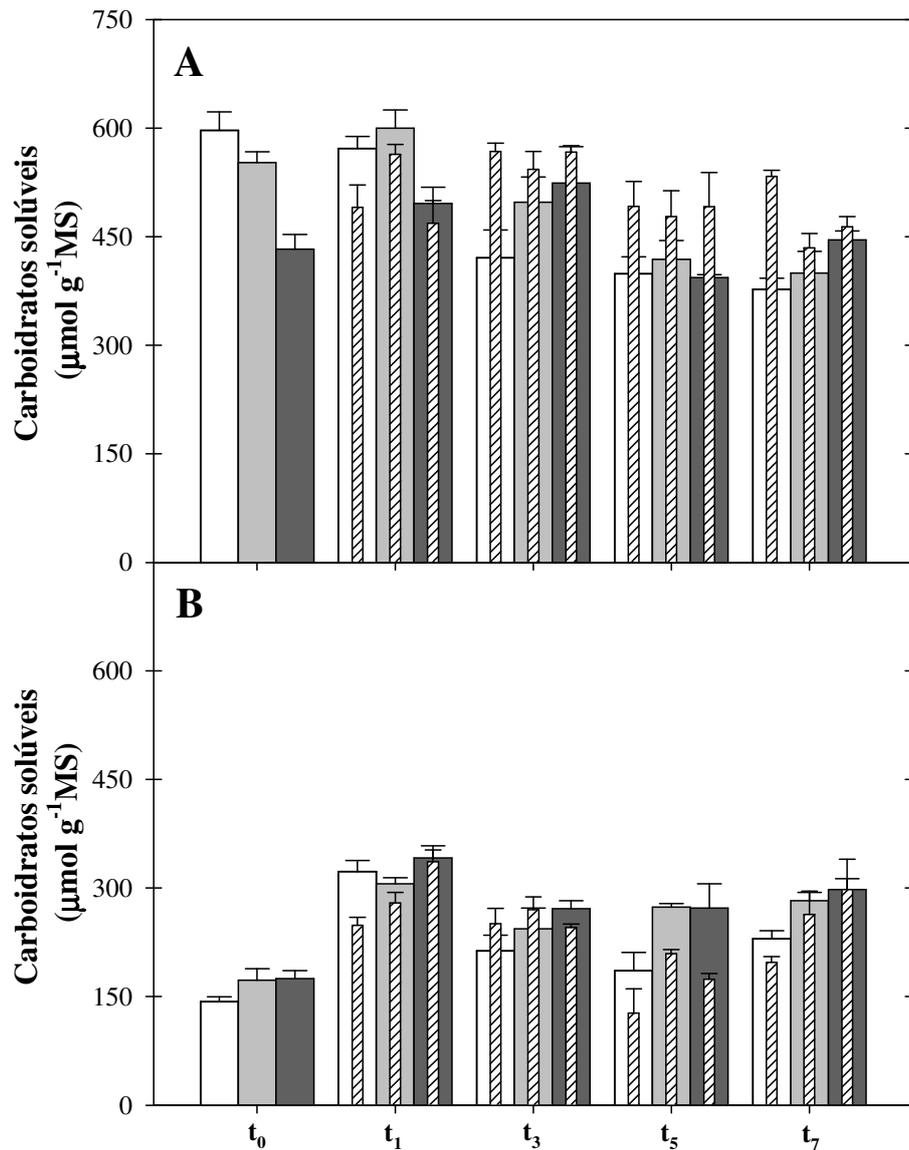
salinidade e nutridas com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram, em média, teor de  $\text{NH}_4^+$  25,0% superior ao controle.

Nas raízes, na ausência de estresse, as maiores concentrações de  $\text{NH}_4^+$  foram encontradas em plantas cultivadas com este íon como única fonte de N, seguidas das nutridas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e, por fim, das cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 11B). Contudo, os teores de  $\text{NH}_4^+$  variaram com a salinidade, com a fonte de N e com o tempo de estresse. Sob condições de estresse salino, plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram reduções no conteúdo de amônio nas raízes, em todos os tempos de estresse. Já com um dia ( $t_1$ ) de estresse salino, plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram redução no conteúdo deste íon de 35,2% em relação ao controle. Em contraste, plantas estressadas crescidas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram conteúdos de  $\text{NH}_4^+$  nos tempos  $t_3$  e  $t_5$ , 25,6 e 49,0%, respectivamente maiores, do que os respectivos controles (Figura 11B). Por outro lado, no tempo  $t_7$  de exposição ao sal, todos os tratamentos apresentaram reduções no conteúdo do íon amônio nas raízes, sendo essas reduções de 53, 43,8 e 37,4% em relação aos respectivos controles para as plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_4^+$ .

### 4.3. Solutos Orgânicos

#### 4.3.1. Carboidratos solúveis

Sob condições controle, nos tempos  $t_0$  e  $t_1$  de coleta, os teores de carboidratos solúveis na parte aérea das plantas crescendo na presença de  $\text{NH}_4^+$  foram, em média, 24,7 e 15,4%, respectivamente, menores do que nas plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  (Figura 12A). Entretanto nos tempos  $t_3$  e  $t_7$ , esses teores foram, respectivamente, 24,4 e 18,1% superiores àqueles de plantas crescidas com  $\text{NO}_3^-$  como única fonte de N. De modo geral, os



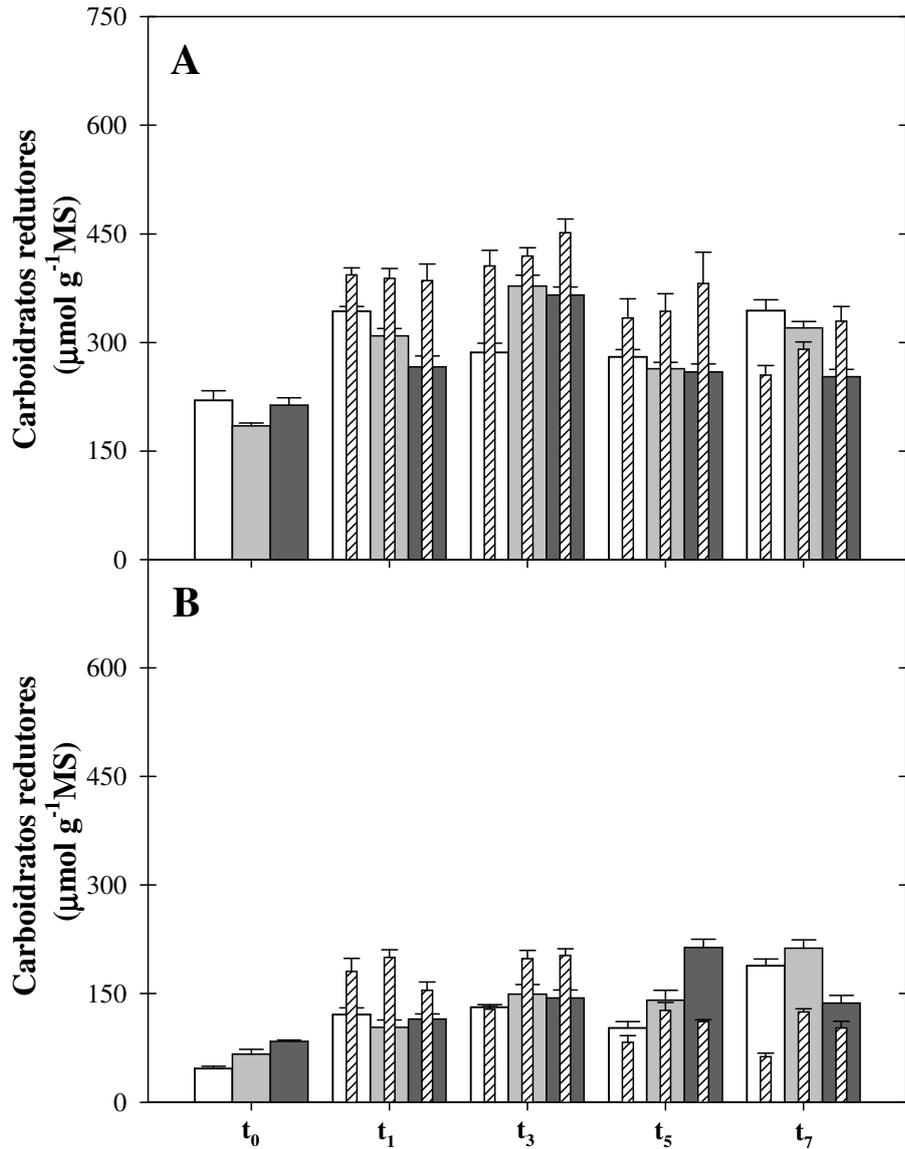
**Figura 12:** Teores de carboidratos solúveis na parte aérea (A) e nas raízes (B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (■) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações dos teores de carboidratos solúveis foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

teores de carboidratos solúveis da parte aérea das plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou com  $\text{NH}_4^+$  não foram alterados com o estresse salino, com exceção no tempo  $t_5$  de estresse, em que as plantas nutridas com o íon  $\text{NH}_4^+$  apresentaram valores 24,8% superiores aos de plantas controle (Figura 12A). Em contraste, no tempo  $t_1$  de estresse, os teores de carboidratos solúveis na parte aérea das plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  foram 14,1% menores do que o controle. Contudo, com o aumento do tempo de exposição ao estresse, plantas cultivadas na presença de  $\text{NO}_3^-$  apresentaram aumentos nos teores de carboidratos solúveis na parte aérea, sendo que, nos tempos  $t_3$  e  $t_7$  de coleta, foram observados incrementos de 34,8 e 41,3% em relação aos controles, respectivamente (Figura 12A).

Nas raízes das plantas controle, nos tempos  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de coleta, os teores de carboidratos solúveis das plantas crescendo na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  foram em média 34,3% superiores àqueles de plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 12B). Já nas raízes das plantas sob estresse salino, nos tempos  $t_1$ ,  $t_5$  e  $t_7$ , os teores de carboidratos solúveis das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  foram 22,9, 31,7 e 14,7% menores que aqueles dos respectivos controles (Figura 12B). Por outro lado, plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram reduções nos teores de carboidratos solúveis pela salinidade, respectivamente, de 23,5 e 36,1% no tempo  $t_5$  de estresse, em relação aos respectivos tratamentos controles.

#### 4.3.2. Carboidratos redutores

Sob condições controle, os teores de carboidratos redutores na parte aérea das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  nos tempos  $t_1$  e  $t_7$  de coleta, foram 28,7 e 36,0% respectivamente, superiores aos das plantas tendo  $\text{NH}_4^+$  como única fonte de N (Figura 13A). Entretanto, no tempo  $t_3$  de coleta, plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  ou com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram teores de carboidratos redutores cerca de 29,8% superiores àqueles das plantas cultivadas com



**Figura 13:** Teores de carboidratos redutores na parte aérea (A) e nas raízes (B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  ( $\square$ ),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ( $\blacksquare$ ) e  $\text{NH}_4^+$  ( $\blacksquare$ ), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM ( $\text{▨}$ ). As determinações dos teores dos carboidratos redutores foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

$\text{NO}_3^-$ . Na parte aérea, os teores de carboidratos redutores variaram com a salinidade, com a fonte de N e com o tempo de estresse (Figura 13A). Nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$  e  $t_5$  de estresse, os teores de carboidratos redutores das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  foram respectivamente, 14,7, 41,7 e 19,1% maiores que os respectivos controles, entretanto, no tempo  $t_7$  de estresse, os teores desses compostos foram 25,9% inferiores àqueles das plantas controle. Por outro lado, plantas estressadas crescendo na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  apresentaram incrementos nos teores de carboidratos redutores, em relação aos controles em todos os tempos de coleta, sendo estes aumentos, de 44,7, 23,6, 47,2 e 30,3% nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$ , respectivamente (Figura 13A).

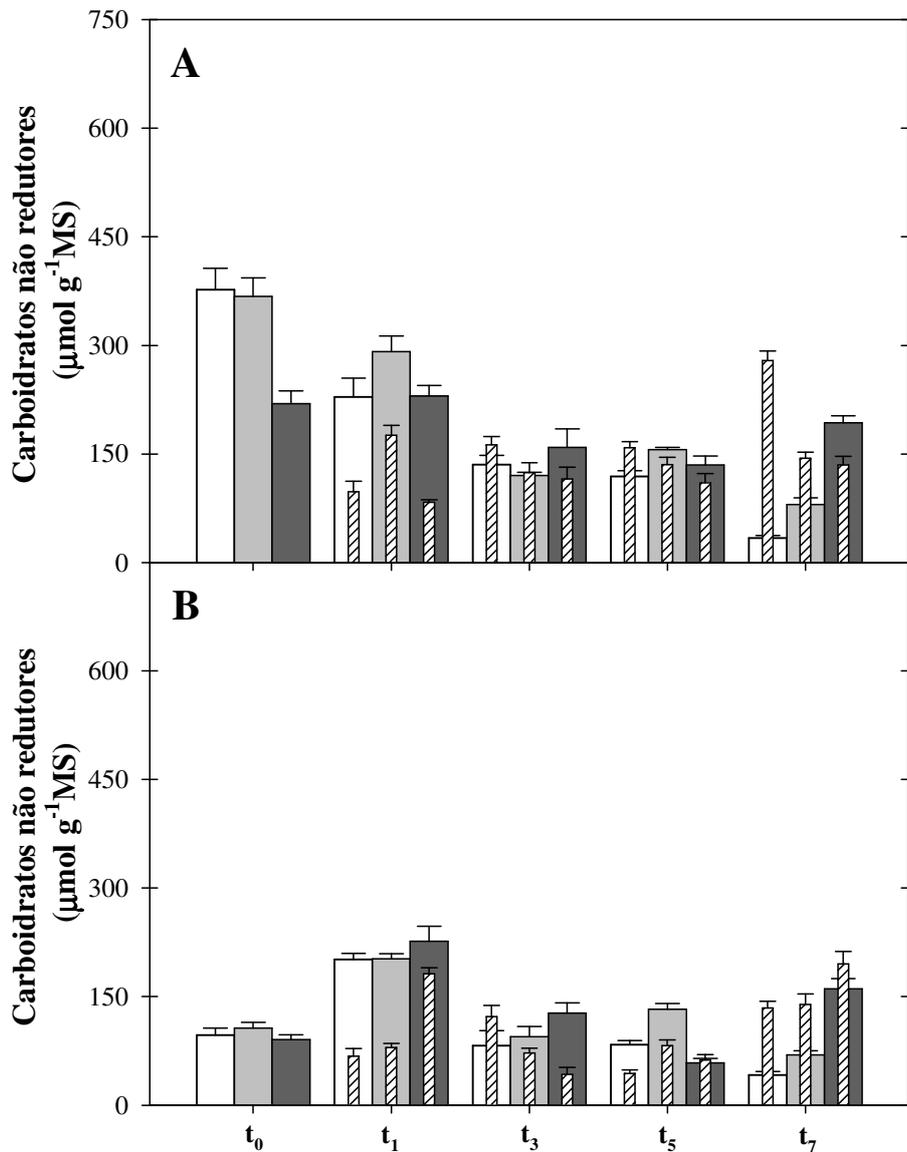
Sob condições controle, os teores de carboidratos redutores nas raízes das plantas crescidas com  $\text{NH}_4^+$  nos tempos  $t_0$  e  $t_5$  foram respectivamente, 80 e 108% maiores que os das plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 13B). No entanto, no tempo  $t_7$  de coleta, plantas nutridas com o íon  $\text{NO}_3^-$  apresentaram teores de carboidratos redutores 37,3% superiores àqueles das plantas crescidas com  $\text{NH}_4^+$ . Nas raízes, o estresse salino promoveu no tempo  $t_1$  de coleta, aumentos de 49,0% nos teores de carboidratos redutores das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  em relação ao controle (Figura 13B), porém, no tempo  $t_7$  de estresse, essas plantas foram as mais afetadas pela salinidade, apresentando teores de carboidratos redutores 66% inferiores àqueles das plantas controle. Por outro lado, nos tempos  $t_1$  e  $t_3$  de exposição aos sais, plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram, em média, 37,6% mais carboidratos redutores que plantas controle, contudo, nos tempos  $t_5$  e  $t_7$  foram observadas reduções de 47,9 e 25,2% nos teores de carboidratos redutores em relação aos controles, respectivamente.

#### 4.3.3. Carboidratos não redutores

Na ausência de estresse, plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  e com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram altos teores de carboidratos não redutores, na parte aérea, no início do

experimento, os quais foram diminuindo ao longo dos tempos de coleta (Figura 14A). Por outro lado, os teores de carboidratos não redutores na parte aérea das plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  foram menores, entretanto apresentaram poucas variações em todo o período de tempo estudado. No tempo  $t_1$  de coleta, os teores de carboidratos não redutores da parte aérea das plantas de todos os tratamentos foram severamente afetados com a salinidade, apresentando reduções, respectivamente, de 57, 39,7 e 63% nas plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_4^+$  em relação aos respectivos controles (Figura 14A). Contudo, neste mesmo tempo de estresse, em termos absolutos, plantas estressadas nutridas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram na parte aérea, em média, 80% mais carboidratos não redutores do que as plantas cultivadas com as outras fontes de N nas mesmas condições. No tempo  $t_7$  de estresse, os teores de carboidratos não redutores das plantas crescendo na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  foram 30,2% inferiores àqueles das plantas controle (Figura 14A). Em contraste, no tempo  $t_7$  de estresse, foram observados aumentos nos teores desses compostos na parte aérea das plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  e com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , sendo os incrementos de 729 e 79% em relação aos respectivos controles.

Nas raízes, sob condições controle, plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram respectivamente, nos tempos  $t_3$  e  $t_7$  de coleta 55% e 286% mais carboidratos não redutores que plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 14B). Sob condições de salinidade, no tempo  $t_1$ , os teores de carboidratos não redutores nas raízes das plantas de todos os tratamentos foram reduzidos, sendo as maiores reduções observadas nas plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  e com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , apresentando valores em média 63% inferiores àqueles dos respectivos controles (Figura 14B). Contudo, nesse mesmo tempo de estresse, os teores de carboidratos não redutores das plantas estressadas crescidas na presença de  $\text{NH}_4^+$ , foram, em termos absolutos, 146% maiores que aqueles das plantas cultivadas com as outras fontes de N nas mesmas condições. Por outro lado, no tempo  $t_7$ , foram observados incrementos nos teores de



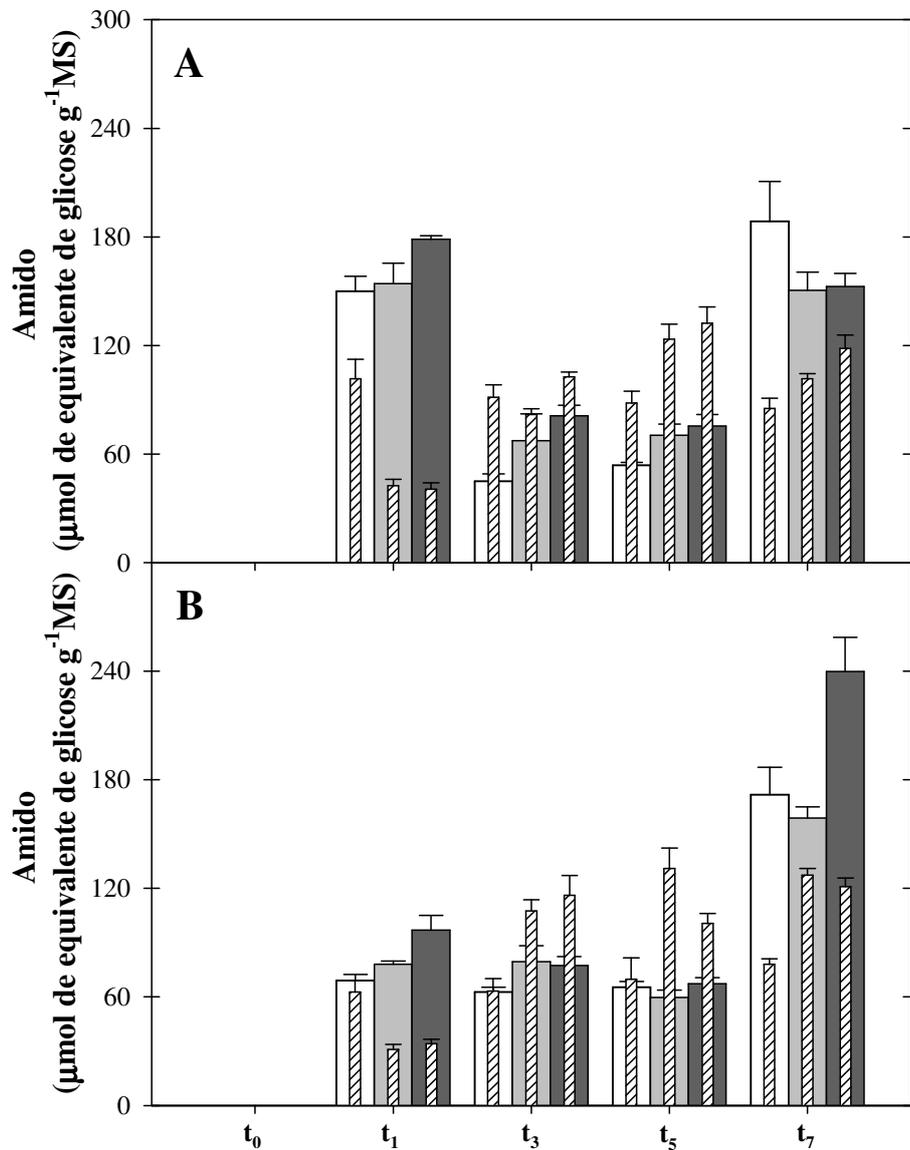
**Figura 14:** Teores de carboidratos não redutores na parte aérea (A) e nas raízes (B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (□), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações dos teores dos carboidratos não redutores foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse (t<sub>0</sub>), e após um (t<sub>1</sub>), três (t<sub>3</sub>), cinco (t<sub>5</sub>) e sete (t<sub>7</sub>) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

carboidratos não redutores nas raízes das plantas sob estresse salino de todos os tratamentos em relação aos controles, sendo os maiores acréscimos observados nas plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  (222%), seguidas das nutridas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (100%), e por fim das crescidas com  $\text{NH}_4^+$  (21,4%) (Figura 14B).

#### 4.3.4. Amido

Os teores de amido das plantas de sorgo forrageiro determinados durante o período experimental são mostrados na figura 15. Convém salientar que, no tempo  $t_0$  de coleta, não foi possível detectar teores significativos desse carboidrato nas amostras analisadas. Sob condições controle, os teores de amido na parte aérea das plantas cultivadas com o íon  $\text{NH}_4^+$  foram, respectivamente, nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$  e  $t_5$ , 19,1, 80 e 40,2% superiores àqueles de plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 15A), entretanto, no tempo  $t_7$  de coleta, plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram teores 23,6% maiores que aqueles das plantas crescidas com  $\text{NH}_4^+$ . No tempo  $t_1$  de coleta, plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  foram às menos afetadas pela salinidade, apresentando reduções nos teores de amido na parte aérea de 32,2%, enquanto, plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ou com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram reduções médias de 74%, quando comparadas aos respectivos controles (Figura 15A). Por outro lado, no tempo  $t_5$  de estresse, todas as plantas apresentaram incrementos nos teores de amido na parte aérea, independente da fonte de N utilizada, apresentando aumentos médios de 71% em relação aos respectivos controles (Figura 15A).

Nas raízes, na ausência de NaCl, os teores de amido das plantas de todos os tratamentos, nos tempos  $t_3$  e  $t_5$ , apresentaram valores semelhantes, entretanto, nos tempos  $t_1$  e  $t_7$ , plantas cultivadas com o íon  $\text{NH}_4^+$  apresentaram valores em média, 40,2% maiores que àqueles das plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  e com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (Figura 15B). Em

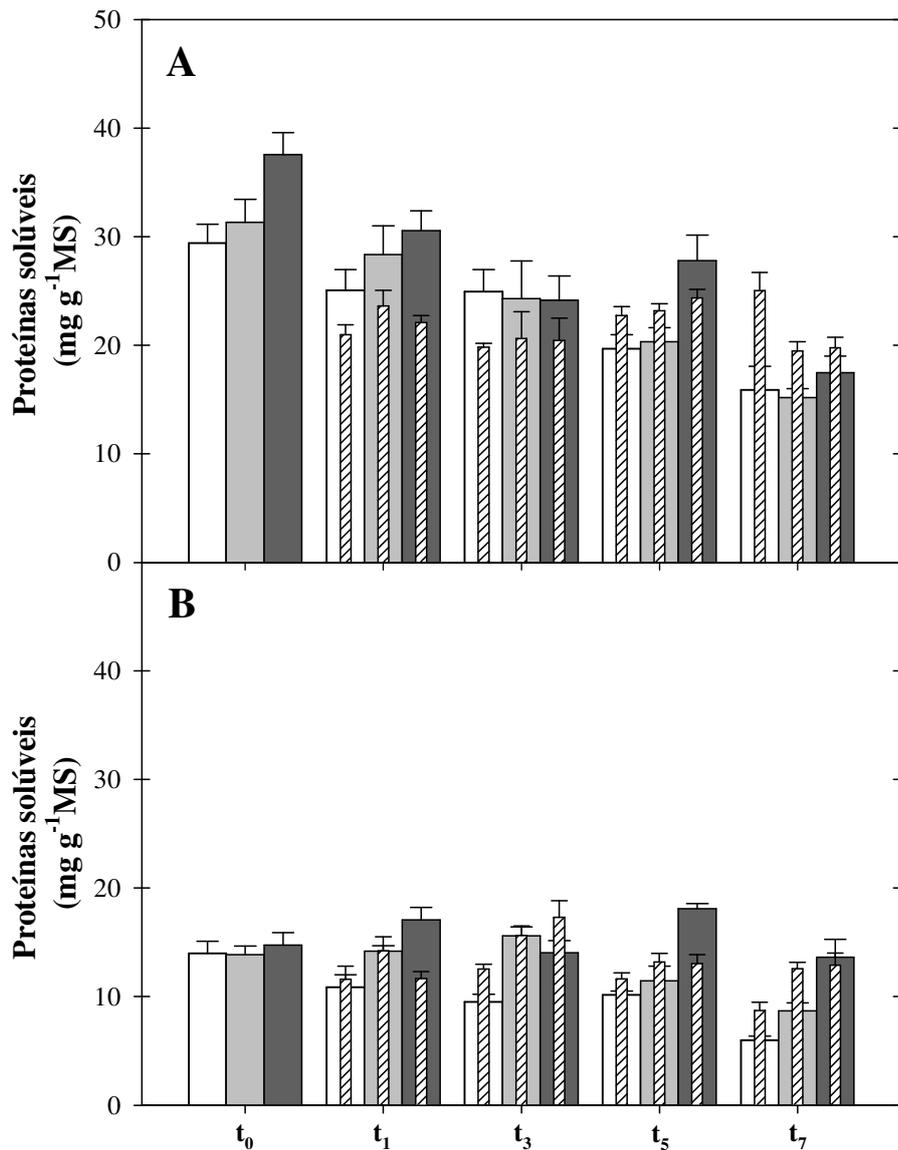


**Figura 15:** Teores de amido na parte aérea (A) e nas raízes (B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (□), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■), como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações das concentrações de amido foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse (t<sub>0</sub>), e após um (t<sub>1</sub>), três (t<sub>3</sub>), cinco (t<sub>5</sub>) e sete (t<sub>7</sub>) dias da aplicação do estresse salino. As colunas representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

condições salinas, os teores de amido nas raízes das plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ , nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$  e  $t_5$ , não apresentaram alterações, em relação ao controle, entretanto, no tempo  $t_7$  de estresse, houve redução de 54% nos teores de amido em relação ao controle (Figura 15B). Por outro lado, foram observadas reduções nos teores de amido pela salinidade no tempo  $t_1$ , de 62%, em média, nas raízes das plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e com  $\text{NH}_4^+$ . No entanto, nos tempos  $t_3$  e  $t_5$  de coleta, o estresse salino promoveu incrementos de 35,4 e 119% nos teores desse polissacarídeo nas raízes das plantas crescidas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , em relação aos respectivos controles (Figura 15B). Por outro lado, incrementos médios de 49,8% nos teores de amido, causados pela salinidade, foram observados nas raízes das plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  nos tempos  $t_3$  e  $t_5$  de estresse, em relação aos respectivos controles. Entretanto, no tempo  $t_7$ , plantas sob estresse salino, nutridas com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram teores de amido 49,5% inferiores aos do controle. Ressalta-se que, em termos absolutos, os valores dos teores de amido das plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  foram 55% superiores àqueles das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 15B).

#### 4.3.5. Proteínas solúveis

Sob condições controle, de modo geral, os teores de proteínas solúveis na parte aérea das plantas de sorgo apresentaram valores elevados no início do experimento e foram diminuindo ao longo do período experimental (Figura 16A). Nos tempos  $t_0$ ,  $t_1$ , e  $t_5$  de coleta, plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram, respectivamente, 27,6, 21,9 e 41,1% mais proteínas solúveis que plantas crescendo com  $\text{NO}_3^-$  como única fonte de N. Os teores de proteínas solúveis na parte aérea das plantas de sorgo apresentaram variações com a salinidade (Figura 16A). No tempo  $t_1$  de exposição ao sal, apesar das plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  terem sido as mais afetadas nos teores de proteínas solúveis com a salinidade (redução de 27,6% em relação



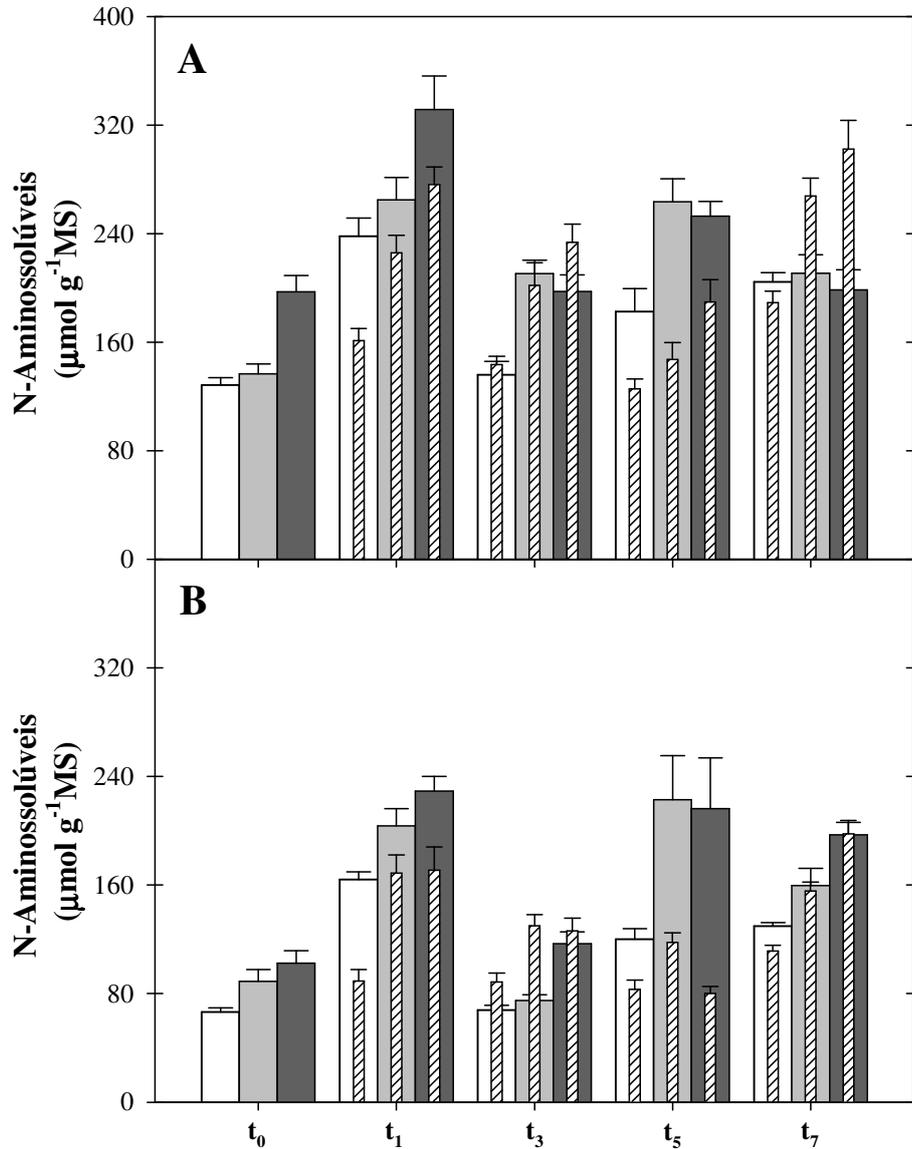
**Figura 16:** Teores de proteínas solúveis na parte aérea (A) e nas raízes (B) das plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (▒) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações das concentrações de proteínas foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse ( $t_0$ ), e após um ( $t_1$ ), três ( $t_3$ ), cinco ( $t_5$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

ao controle), não foram observadas diferenças entre os teores de proteínas solúveis na parte aérea dessas plantas com o daquelas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  ou com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (Figura 16A). Nos tempos  $t_1$  e  $t_3$  de estresse, plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram reduções nos teores de proteínas solúveis de 16,3 e 20,5%, respectivamente, em relação aos controles, entretanto, no tempo  $t_7$  de salinidade, foram observados aumentos de 57% em relação ao controle.

Na ausência do estresse, os teores das proteínas solúveis nas raízes das plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$ , nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de coleta, foram respectivamente, 57, 48, 78 e 127% superiores àqueles das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 16B). Sob condições de salinidade, os teores de proteínas solúveis nas raízes das plantas cultivadas com o íon  $\text{NH}_4^+$  foram os únicos afetados negativamente, apresentando reduções nos tempos  $t_1$  e  $t_5$  de 31,5 e 27,8%, em relação aos controles, respectivamente (Figura 16B). Por outro lado, nessas mesmas condições, plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram teores de proteínas solúveis 32,0 e 45,7% superiores àqueles de plantas controles, nos tempos  $t_3$  e  $t_7$  de estresse, respectivamente.

#### 4.3.6. N-aminossolúveis

Sob condições controle, os teores de N-aminossolúveis na parte aérea das plantas cultivadas na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  foram 53, 39,3, 45,2 e 38,5% superiores àqueles de plantas crescidas com  $\text{NO}_3^-$ , nos tempos  $t_0$ ,  $t_1$ ,  $t_3$  e  $t_5$  de coleta, respectivamente (Figura 17A). Já plantas nutridas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram teores de N-aminossolúveis na parte aérea nos tempos  $t_0$  e  $t_1$ , 30,0 e 20,0% respectivamente, menores que os de plantas crescidas com  $\text{NH}_4^+$ . Em condições salinas, os teores de N-aminossolúveis na parte aérea das plantas de todos os tratamentos foram reduzidos nos tempos  $t_1$  e  $t_5$  de coleta, independente da



**Figura 17:** Teores de N-aminossolúveis da parte aérea (A) e das raízes (B) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (□), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (▒) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■), como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações das concentrações de N-aminossolúveis foram realizadas aos 12 dias de cultivo na ausência de estresse (t<sub>0</sub>), e após um (t<sub>1</sub>), três (t<sub>3</sub>), cinco (t<sub>5</sub>) e sete (t<sub>7</sub>) dias da aplicação do estresse salino. As colunas representam a média de cinco plantas (repetições) de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

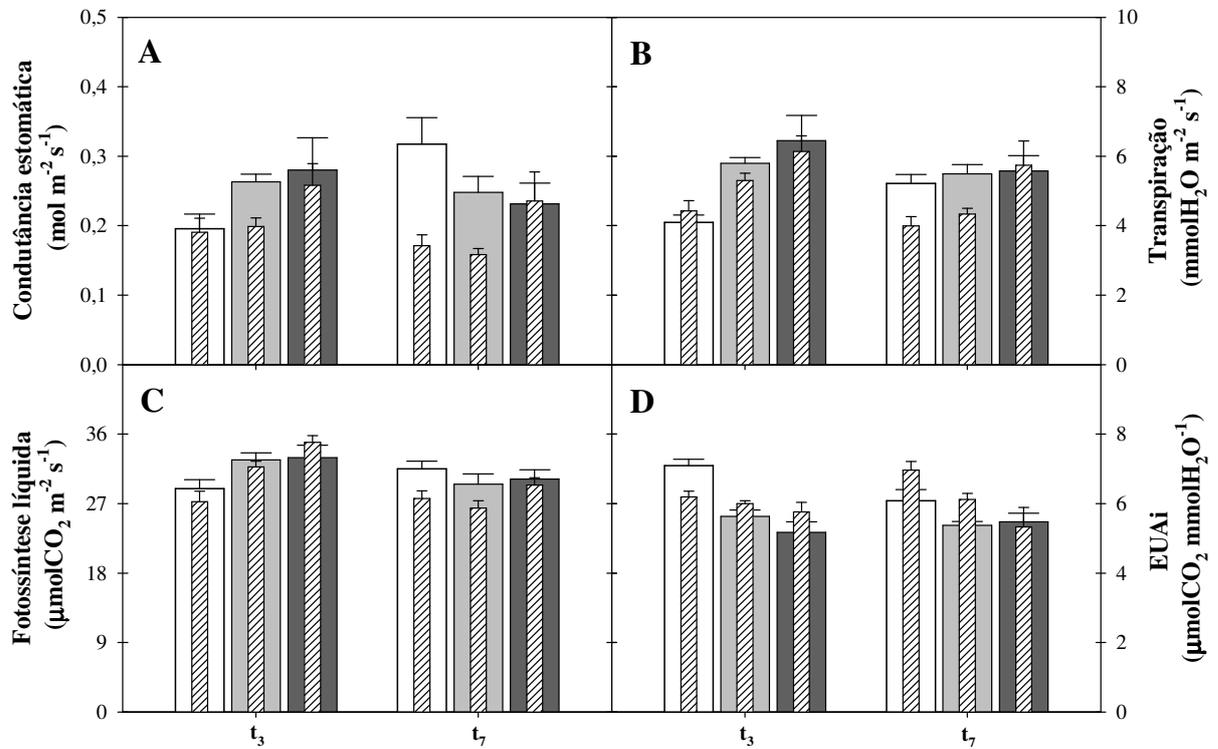
fonte de N utilizada (Figura 17A). Nesses tempos de exposição ao sal, plantas crescendo na presença de  $\text{NO}_3^-$  apresentaram reduções médias de 31,7% nos teores de N-aminossolúveis da parte aérea em relação aos controles, enquanto plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram reduções nos teores desses compostos de apenas 16,6 e 25,0% nos tempos  $t_1$  e  $t_5$ , respectivamente, em relação aos controles. Por outro lado, no tempo  $t_7$  de coleta foram observados incrementos de 52% nos teores de N-aminossolúveis na parte aérea das plantas salinizadas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  em relação aos controles (Figura 17A). Contudo, nos tempos  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de estresse, em termos absolutos, plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  acumularam em média, na parte aérea, 61% mais N-aminossolúveis que plantas crescidas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 17A).

Nas raízes, sob condições controle, plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram teores de N-aminossolúveis 54, 39,7, 72, 80 e 52% superiores àqueles das plantas crescendo com  $\text{NO}_3^-$ , nos tempos  $t_0$ ,  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$  e  $t_7$  de coleta, respectivamente (Figura 17B). Em condições salinas, os teores de N-aminossolúveis foram superiores em todos os tempos de coleta nas raízes das plantas estressadas e crescidas com  $\text{NH}_4^+$  em comparação àquelas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ , com exceção do tempo  $t_5$  de estresse, em que foram observados valores semelhantes. No tempo  $t_1$  de coleta, plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  foram as mais afetadas pela salinidade, apresentando reduções nos teores de N-aminossolúveis nas raízes de 45,6% em relação as do controle. Já nos tempos  $t_1$  e  $t_7$  de estresse, plantas nutridas com o íon  $\text{NH}_4^+$  apresentaram em termos absolutos, teores de N-aminossolúveis 91 e 77% superiores àqueles das plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ , respectivamente (Figura 17B).

#### 4.4. Trocas gasosas

Os dados referentes à condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ), fotossíntese líquida ( $A$ ) e eficiência do uso da água instantânea ( $EU_{Ai}$ ) das plantas de sorgo são apresentados na **figura 18**. Na ausência de estresse, a fonte de N utilizada teve efeito direto na  $g_s$  das plantas, sendo que, no tempo  $t_3$  de análise, plantas cultivadas com  $NO_3^-$  apresentaram, em média, valor de  $g_s$  28,0% inferior àquele de plantas nutridas com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  ou com  $NH_4^+$ . Entretanto, no tempo  $t_7$ , a  $g_s$  de plantas cultivadas com  $NO_3^-$  foi 32,5% superior àqueles das plantas nutridas com as outras fontes de N (**Figura 18A**). No tempo  $t_3$ , os valores de  $E$  das plantas nutridas com  $NO_3^-$  foram, em média, 33,2% menores que àqueles das plantas nutridas com a combinação  $NO_3^-/NH_4^+$  ou com  $NH_4^+$  (**Figura 18B**). Ainda na ausência de estresse salino, os valores de  $A$  das plantas cultivadas com  $NO_3^-/NH_4^+$  ou com  $NH_4^+$  foram, em média, 13,3% superiores àquele de plantas nutridas com  $NO_3^-$  (**Figura 18C**).

De modo geral, alterações nas trocas gasosas das plantas de sorgo com a salinidade só foram evidentes no tempo  $t_7$  de análise, com exceção da  $g_s$  das plantas cultivadas com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  que, no tempo  $t_3$  de análise, apresentou valor 24,4% inferior aquele do controle (**Figura 18A**). É importante destacar que durante os tempos de análise não foram observadas variações com a salinidade nas trocas gasosas das plantas cultivadas com o íon  $NH_4^+$  como única fonte de N utilizada. A  $g_s$  das plantas cultivadas com  $NO_3^-$  no tempo  $t_7$  de análise foi reduzida em 46,0% com a salinidade. Nesse mesmo tempo de estresse, a  $E$  dessas plantas foi reduzida em 23,4%, em relação ao controle (**Figura 18A e B**). Por outro lado, a  $A$  das plantas crescidas com  $NO_3^-$  no tempo  $t_7$  de análise foi menos afetada pelo estresse salino, com redução de apenas 12,3% em relação ao controle (**Figura 18C**). No tempo  $t_7$  de análise, plantas estressadas e cultivadas com a mistura  $NO_3^-/NH_4^+$  apresentaram reduções nos valores



**Figura 18:** Condutância estomática (A), transpiração (B), fotossíntese líquida (C) e eficiência do uso da água instantânea (EUAi, D) de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo  $\text{NO}_3^-$  (□),  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (■) e  $\text{NH}_4^+$  (■), como fontes de nitrogênio, e sob condições de estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações das trocas gasosas foram realizadas após três ( $t_3$ ) e sete ( $t_7$ ) dias da aplicação do estresse salino. Os valores representam a média de quatro plantas (repetições) analisadas de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

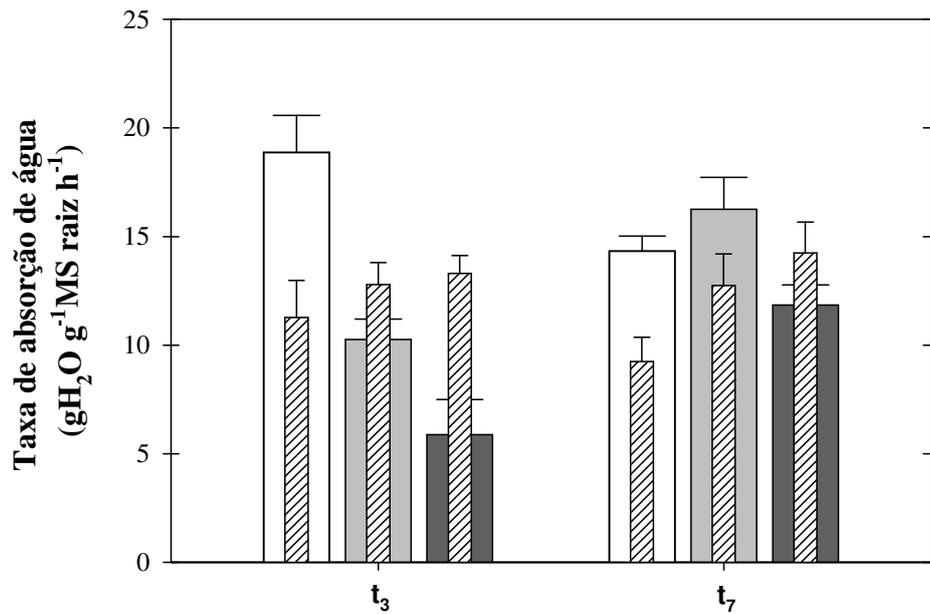
de  $g_s$ ,  $E$  e  $A$  na ordem de 36,0, 21,7 e 10,4% em relação aos controles, respectivamente (Figuras 18A, B e C).

Sob condições controle, a **EUAI** foi afetada pela fonte de N (Figura 18D). Nos tempos  $t_3$  e  $t_7$  de análise, plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram valores médios 31,1 e 12,1% superiores àqueles das plantas crescidas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e com  $\text{NH}_4^+$ , respectivamente. Sob condições de estresse salino, no tempo  $t_3$  análise, plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  apresentaram valores 12,6% menores na **EUAI** em relação aos controles. Ainda sob condições de estresse, a **EUAI** das plantas crescendo em presença da mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  foi 13,7% superior àquela de plantas controle no tempo  $t_7$  de análise (Figura 18D).

#### 4.5. Taxa de absorção de água

Sob condições controle, no tempo  $t_3$  de análise, plantas cultivadas com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e com  $\text{NH}_4^+$  apresentaram taxas de absorção de água 54 e 31,1%, respectivamente, menores que aquela de plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 19). Entretanto, no tempo  $t_7$  de análise, plantas crescendo na mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram taxa de absorção 37,3% maior que aquela de plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$ , porém, essa taxa de absorção foi ligeiramente superior aquela de plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$ .

A salinidade afetou severamente a taxa de absorção de água das plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$ , sendo os valores nos tempos  $t_3$  e  $t_7$ , 40,3 e 35,5% menores que os controles, respectivamente (Figura 19). Em contraste, plantas sob salinidade crescendo com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  como fonte de N, apresentaram no tempo  $t_3$  de análise, taxa de absorção de água 24,6% maior que aquela do controle, porém, no tempo  $t_7$ , apresentaram redução nessa taxa de 21,6% quando comparado às das plantas não estressadas do mesmo tratamento. A taxa de absorção de água foi aumentada nas plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  sob condições salinas



**Figura 19:** Taxa de absorção de água de plantas de sorgo forrageiro, genótipo CSF20, cultivadas em soluções nutritivas contendo NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (□), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (■), como fontes de nitrogênio, e submetidas a estresse salino com NaCl a 75 mM (▨). As determinações da absorção de água foram realizadas após três (t<sub>3</sub>) e sete (t<sub>7</sub>) dias da aplicação do estresse salino. As colunas representam a média de cinco plantas analisadas de cada tratamento e as barras representam o erro padrão.

(Figura 19). Os incrementos nessa taxa atingiram o maior valor no tempo  $t_3$ , sendo a taxa de absorção de água 126% superior à das plantas controle. No tempo  $t_7$ , no entanto, o aumento foi menos pronunciado, sendo o incremento de 20,3%, porém, pela análise dos erros da média, sem diferenças significativas.

Convém salientar que, apesar das variações observadas nas taxas de absorção de água com a salinidade, no tempo  $t_3$ , em termos absolutos, a absorção de água das plantas cultivadas em  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_4^+$  com o estresse salino não apresentaram grandes diferenças entre si, registrando taxas médias de  $12 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ MS raiz h}^{-1}$  (Figura 19).

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. A fonte de N tem influência no acúmulo de Na<sup>+</sup> e na relação K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>

Estudos recentes têm salientado a importância da regulação da homeostase iônica envolvendo os íons K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup> como um mecanismo relevante de tolerância ao estresse salino (BLUMWALD, 2000; JAMES *et al.*, 2006; VOLKOV; AMTMANN, 2006; QUINTERO, FOURNIER; BENLLOCH, 2007; CHEN *et al.*, 2007; REJILI *et al.*, 2007; CHEN; POTTOSIN; CUIN, 2007; GHARS *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2009). Esses estudos mostram que o controle mais eficiente da aquisição e redistribuição do K<sup>+</sup> bem como o da exclusão do Na<sup>+</sup> são mecanismos-chave para a regulação da homeostase K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> em plantas sob condições de estresse salino.

De acordo com alguns autores, as respostas das plantas ao estresse salino podem ser distintas, dependendo da fonte de nitrogênio prevalecente no meio de crescimento. Por exemplo, tem sido observado que a presença de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> pode favorecer o influxo de grandes quantidades de íons Na<sup>+</sup>, o que pode não ser benéfico sob condições de alta salinidade (KANT *et al.*, 2007). Em contrapartida, o aumento do fornecimento de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> promoveu reduções nos teores de Na<sup>+</sup> em plantas de trigo (ZHENG *et al.*, 2008). Em outros casos, a nutrição das plantas com uma mistura nitrato e amônia, em proporções similares, tem restabelecido parcialmente o decréscimo induzido pela salinidade no crescimento de plantas de cevada (KANT *et al.*, 2007). Por outro lado, Sagi *et al.* (1997) observaram, em plantas de azevém cultivadas com NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, uma redução da absorção de Na<sup>+</sup> nas raízes e do seu transporte para a parte aérea, tendo isso proporcionado o menor acúmulo de Na<sup>+</sup> nas folhas.

No presente estudo, menores acúmulos de Na<sup>+</sup> em função da salinidade foram encontradas em plantas de sorgo cultivadas com NH<sub>4</sub><sup>+</sup> do que em plantas cultivadas com

$\text{NO}_3^-$  e com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , sendo esse acúmulo mais proeminente nas raízes do que na parte aérea (Figura 6C e D). O menor acúmulo de  $\text{Na}^+$  nas raízes de plantas de sorgo cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  pode ser devido ao influxo limitado de  $\text{Na}^+$  através da membrana plasmática das raízes. A baixa absorção de  $\text{Na}^+$  pode originar-se da competição entre os íons  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{Na}^+$  pelos sítios de absorção nas raízes, fato este, que tem sido reportado por vários autores (SAGI *et al.*, 1997; KANT *et al.*, 2007). Os resultados sugerem também que mecanismos mais eficientes de exclusão de  $\text{Na}^+$  podem ter sido ativados em presença de  $\text{NH}_4^+$  como única fonte de nitrogênio. A via de sinalização SOS e a atividade do antiporter  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (SOS1) têm sido bastante caracterizadas em diferentes espécies vegetais sob estresse salino, ressaltando-se seu papel na exclusão celular de  $\text{Na}^+$  (TESTER; DAVENPORT, 2003). Olías *et al.*, (2009) observaram em plantas de tomate, que a tolerância à salinidade é largamente dependente da função do gene SOS1, que está envolvido com o particionamento do  $\text{Na}^+$  entre os órgãos da planta. Entretanto, não existem relatos da influência do íon  $\text{NH}_4^+$  sobre a atividade deste transportador em plantas sob estresse salino.

Tanto o influxo limitado, como a exclusão de  $\text{Na}^+$  pelas raízes das plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  e sob estresse salino, podem ter contribuído para o menor acúmulo de  $\text{Na}^+$  na parte aérea (Figura 6C). Apesar de alguns autores terem reconhecido o controle do transporte de  $\text{Na}^+$  para a parte aérea, através da compartimentalização radicular (M'RAH *et al.*, 2006; APSE; BLUMWALD, 2007; GHARS *et al.*, 2008), os resultados observados sobre a partição do  $\text{Na}^+$  entre a parte aérea e as raízes sugerem que tal mecanismo pode não ter ocorrido em presença do íon  $\text{NH}_4^+$ . O conteúdo desses íons nas raízes não mostrou valores que sugeriram a atuação do mecanismo de compartimentalização nesses órgãos da planta. Como visto na figura 6D, o acúmulo de  $\text{Na}^+$  nas raízes das plantas nutridas com amônio foi menor que o observado nas plantas nutridas com as outras fontes de N, apesar dos menores teores de  $\text{Na}^+$  na parte aérea observados nas plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$

(Figura 6C),. Porém, é importante salientar que a limitação do transporte de  $\text{Na}^+$  para a parte aérea, em plantas de sorgo sob estresse salino, através do seu acúmulo nas raízes tem sido observado em outros estudos (LACERDA *et al.*, 2003; BAVEI; SHIRAN; ARZANI, 2011).

Semelhante ao observado nesta pesquisa, plantas de *Zea mays* apresentaram notáveis incrementos nos teores de  $\text{Na}^+$  quando submetidas ao estresse salino, contudo, estes incrementos foram menos pronunciados na presença de  $\text{NH}_4^+$  do que na presença de outras fontes de nitrogênio (FEIJÃO, 2009). Em contraste, em plantas de trigo sob estresse salino, o fornecimento de maiores concentrações de nitrato promoveu uma redução do acúmulo de  $\text{Na}^+$  nos tecidos da planta, bem como aumentos significativos nos teores de  $\text{K}^+$  (ZHENG *et al.*, 2008).

Tem sido amplamente demonstrado que os teores de  $\text{K}^+$  são severamente reduzidos em condições de estresse salino (CHEN *et al.*, 2005; ALVAREZ PIZARRO, 2006; TRINDADE *et al.*, 2006; FEIJÃO, 2009; KHOLOVA; SAIRAM; MEENA, 2009). No presente trabalho, essa redução não foi tão acentuada, entretanto, o efeito da salinidade sobre os teores de  $\text{K}^+$  pode ser diferente dependendo da fonte de nitrogênio em que as plantas são cultivadas. O uso do íon  $\text{NH}_4^+$ , como fonte de nitrogênio, nas plantas de sorgo foi benéfico em relação ao conteúdo de  $\text{K}^+$  nas raízes em condições de salinidade, o que resultou em reduções menos severas nos teores desse íon, sendo mais evidente nos tempos  $t_5$  e  $t_7$  de exposição ao estresse salino (Figura 6A e B). Esses resultados discordam dos observados em milho (FEIJÃO, 2009), azevém (SAGI *et al.*, 1997), trigo (IRSHAD *et al.*, 2002) e ervilha (FRECHILLA *et al.*, 2001), nos quais a concentração de  $\text{K}^+$  foi mais reduzida em plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$ , tanto em condições controle como de salinidade.

A redução nos teores de  $\text{K}^+$  nas raízes (Figura 6B) foi provavelmente consequência da exposição direta desses órgãos ao  $\text{NaCl}$ , o que provoca alterações na integridade e permeabilidade seletiva da membrana plasmática ao  $\text{K}^+$ . Dessa forma, a diminuição da

eficiência de absorção de  $K^+$  pela salinidade (Figura 7A) pode ser atribuída à inibição do crescimento da raiz e/ou a diminuição do sistema de absorção de  $K^+$  de alta afinidade, resultando em uma diminuição da eficiência do uso do  $K^+$  por concorrência direta entre o  $Na^+$  e o  $K^+$  pelos transportadores localizados na membrana plasmática das raízes (NIU *et al.*, 1995; GHARS *et al.*, 2008).

Quando crescidas em presença de  $NH_4^+$ , o maior conteúdo de  $K^+$  e o menor acúmulo de  $Na^+$  observado na parte aérea de plantas de sorgo sob estresse salino (Figura 6A e C) podem ser atribuídos à melhor capacidade seletiva do sistema radicular para discriminar de forma mais eficiente os íons  $K^+$  e  $Na^+$  e, conseqüentemente, a maior aquisição de  $K^+$  (Figura 8A). Em apoio a essa idéia, em algumas espécies, inclusive no sorgo, tem sido observado um aumento na capacidade de absorção de  $K^+$  quando cultivadas com o íon  $NH_4^+$ , como única fonte de nitrogênio (NIEVES CORDONES *et al.*, 2008; ALVAREZ-PIZARRO, 2010), sendo correlacionada à maior atividade de transporte de  $H^+$  mediada pela enzima  $H^+$ -ATPase de membrana plasmática (ALVAREZ-PIZARRO *et al.*, 2011). Paralelamente, outro fator para a regulação das concentrações de  $K^+$  e de  $Na^+$  pode ter sido o controle mais efetivo no transporte de  $K^+$  em vez de  $Na^+$  para a parte aérea da planta, o qual mostrou-se uma característica que se destacou na presença do íon  $NH_4^+$ , sendo esta mais evidente na condição de maior tempo de exposição ao estresse salino (Figura 8B). Tais resultados ressaltam o papel do íon  $NH_4^+$  na realocação do  $K^+$  nos tecidos das plantas, o que também foi evidenciado por Lu *et al.* (2005) e Zhang *et al.* (2010). Esses autores, observaram que apesar do íon  $NH_4^+$  ter promovido uma redução substancial na absorção de  $K^+$  pelas raízes ele promoveu uma maior translocação de  $K^+$  para as folhas, em comparação aos cultivos com  $NO_3^-$ .

É importante comentar que apesar do reconhecido papel do  $NH_4^+$  em reduzir os teores de  $K^+$  nos tecidos da planta em relação ao cultivo com outras fontes de N (como o  $NO_3^-$ ) (SHAVIV *et al.*, 1990; BRITTO; KRONZUCKER, 2002), neste estudo na ausência de sais,

esse efeito foi apenas visualizado nos teores de  $K^+$  da parte aérea (e somente em alguns tempos de coleta,  $t_1$ ,  $t_3$ ,  $t_5$ , [Figura 6A](#)), sendo que, nas raízes não se observaram reduções significativas ([Figura 6B](#)). Pode-se inferir, portanto, com base no menor efeito do  $NH_4^+$  sobre os teores de  $K^+$ , que as plantas de sorgo exibem maior tolerância do que outras espécies aos efeitos tóxicos do  $NH_4^+$  presente no meio de crescimento.

Como resultado, principalmente, do menor acúmulo dos íons  $Na^+$  nos tecidos aéreos das plantas ([Figura 6C](#)), uma maior relação das concentrações  $K^+/Na^+$  foi mantida pelas plantas de sorgo cultivadas em presença de  $NH_4^+$  ([Figura 6E](#)). Diferentes autores consideram que a tolerância ao estresse salino está mais fortemente correlacionada à manutenção de uma maior relação  $K^+/Na^+$ , em compartimentos celulares como o citosol, do que apenas à manutenção de uma baixa concentração de  $Na^+$  ([GORHAM; JONES; BRISTOL, 1990](#); [DUBCOVSKY et al., 1996](#); [MAATHIUS; AMTMANN, 1999](#); [CUIN et al., 2003](#); [WANG et al., 2009](#)). Dessa forma, pode-se afirmar que as plantas de sorgo cultivadas com  $NH_4^+$  foram as que responderam melhor à salinidade, quando considerado esse critério de tolerância ([Figura 6E](#)). Em algumas espécies halófitas como *Puccinellia tenuiflora*, [Wang et al. \(2009\)](#), observaram uma capacidade maior da planta para manter uma alta relação  $K^+/Na^+$  nos seus tecidos, a qual tem sido atribuída à elevada capacidade dessa espécie para absorver seletivamente o  $K^+$  em vez do  $Na^+$ , sob condições de estresse salino, fato que contrasta com a capacidade reduzida que se observa em plantas glicófitas ([SAGI et al., 1997](#); [CHEN et al., 2005](#)). Outros estudos têm mostrado que em condições de estresse salino, ocorrem acúmulos significativos de íons  $Na^+$  em espécies como *Arabidopsis thaliana* (glicófita) e *Thellungiella halophila* (halófitas) ([M'RAH et al., 2006](#); [GHARS et al., 2008](#)). Entretanto, em *T. halophila* o conteúdo de  $K^+$  não foi afetado pelo estresse salino ([GHARS et al., 2008](#)). Segundo os autores, esses resultados sugerem que a halófitas possui características intrínsecas para manter a homeostase  $K^+/Na^+$ , a qual pode ser controlada por um canal específico presente na

membrana plasmática (VOLKOV; AMTMANN, 2006) ou por eficientes mecanismos de compartimentalização de íons (M'RAH *et al.* 2006).

## **5.2. Os efeitos tóxicos da salinidade no metabolismo e na fisiologia podem ser reduzidos pela fonte de N**

O excesso de NaCl no solo induz fechamento dos estômatos, com consequências negativas em vários dos aspectos da fisiologia da planta. Neste estudo, plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  ou com a mistura  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  apresentaram reduções na condutância estomática com a salinidade em relação aos controles, enquanto as plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  não foram afetadas negativamente com o estresse (Figura 18). Embora o fechamento estomático promova alterações no processo de assimilação de carbono, por limitar a absorção de  $\text{CO}_2$  do ambiente e, conseqüentemente, a fotossíntese líquida (ZHU, 2001; GOU *et al.*, 2007a; LI *et al.*, 2009), esse pode ser uma resposta de adaptação ao estresse salino, desde que minimiza as perdas de água, quando as plantas são crescidas com baixo potencial hídrico do solo (BRUGNOLI; LAUTERI, 1991; ROBINSON *et al.*, 1997) e limita o transporte excessivo de sais tóxicos para a parte aérea (ROBINSON *et al.*, 1997).

No presente estudo, as maiores taxas de fotossíntese líquida foram observadas nas plantas submetidas à salinidade e cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  (Figura 18C). Tal resposta pode ter promovido a produção de moléculas ricas em energia necessárias para a operação dos mecanismos celulares envolvidos na regulação da homeostase iônica (baixos teores de  $\text{Na}^+$ ) de tecidos aéreos e raízes (Figura 6A e B).

No presente estudo, sob condições controle, no tempo  $t_3$ , as maiores taxas de transpiração foram registradas nas plantas cultivadas com o íon  $\text{NH}_4^+$ , embora no tempo  $t_7$  não tenha sido observado diferenças entre as plantas cultivadas com as outras fontes de N (Figura

18B). Tais resultados discordam dos observados por Lu, Li e Zhang (2005) trabalhando com plantas de tabaco, onde encontraram maiores taxas de transpiração nos tratamentos com  $\text{NO}_3^-$  ou com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  em relação às cultivadas com  $\text{NH}_4^+$ .

A manutenção ou o aumento dos índices de EUAi observados nas plantas de sorgo sob condições de estresse salino (Figura 18D), ocorreu em consequência de dois fatores: a taxa de  $A$  das plantas foi pouco comprometida com a salinidade independente da fonte de N (Figura 18C); e, o segundo fator preponderante foi a redução na taxa de transpiração, a qual foi possível devido a menor condutância estomática dessas plantas (Figuras 18A e B). A resposta das plantas ao estresse salino, com relação a EUAi, é bastante variável, algumas espécies apresentaram aumentos (OMAMI; HAMMES; ROBBERTSE, 2006), enquanto que outras não se observa qualquer alteração (ARANDA; SORIA; CUARTERO, 2001), podendo também ocorrer redução (KORYO, 2006). No presente trabalho, não foi possível estabelecer qualquer relação entre esse parâmetro e a tolerância ao estresse salino.

Um processo importante para a manutenção das atividades celulares quando as plantas estão sob condições de estresse é a manutenção da absorção e do transporte de água, bem como das taxas transpiratórias. Diversos estudos relatam que a absorção de água tem influência direta da fonte de N (ADLER; WILCOX; MARKHART, 1996; GUO; BRUCK; SATTELMACHER, 2002; WANG; ZHANG, 2003). Alguns estudos relataram que na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  a absorção de água foi reduzida, e isto pode ser atribuído à menor condutividade hidráulica das raízes (ADLER; WILCOX; MARKHART, 1996), aos efeitos negativos sobre o potencial hídrico da folha devido a uma reduzida capacidade de ajustamento osmótico (GUO; BRUCK; SATTELMACHER, 2002) ou a uma redução na área foliar (GUO *et al.*, 2007c). Entretanto, esses resultados estão em discordância com diversos trabalhos em que não foram relatadas diferenças na taxa de absorção de água e na condutividade hidráulica nas raízes entre plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ , ou ainda estudos que relatam maior

absorção de água em plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  (WALCH-LIU *et al.*, 2000; GUO; SHEN; BRUECK, 2007b; LI *et al.* 2009). Nesta pesquisa, sob condições de estresse salino, a nutrição das plantas com o íon  $\text{NH}_4^+$  promoveu incrementos na taxa de absorção de água das plantas de sorgo, enquanto que na presença de  $\text{NO}_3^-$  houve redução nessa taxa (Figura 19). As menores taxas de absorção de água registradas nas plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  se correlacionaram com as menores taxas de condutância estomática e de transpiração (principalmente no tempo  $t_7$ , Figuras 18A e B), sendo isso uma evidência do comprometimento da homeostase hídrica dessas plantas com a salinidade. As consequências de uma menor absorção de água podem resultar em déficit hídrico ou em menor transporte de  $\text{Na}^+$  (e de  $\text{K}^+$ ) para a parte aérea da planta, o qual não foi observado em plantas cultivadas com nitrato. Em contrapartida os maiores teores de  $\text{K}^+$  na parte aérea das plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  em relação às outras fontes de N podem ser atribuídos ao fato de que, na salinidade as trocas gasosas não sofreram alterações (Figura 18). Além disso, sob condições de estresse salino houve estímulo na absorção de água (Figura 19), e conseqüentemente, pode ter ocorrido maior transporte de  $\text{K}^+$  via xilema para a parte aérea.

Sob condições salinas, as menores taxas de absorção de água observadas no tempo  $t_7$  em plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$  e com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  se correlacionaram com as menores taxas de  $g_s$  e  $E$  (Figuras 18B, 18C e 19). Dessa forma, as reduções na absorção de água dessas plantas podem ser atribuídas à menor demanda de água devido às reduções na condutância estomática, que como consequência tiveram baixas taxas de transpiração. Nossos resultados estão de acordo com os observados por Guo, Bruck e Sattelmacher (2002) em plantas de feijão, onde a absorção de água em condições controle foi maior em plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ . Li *et al.* (2009) observaram que a absorção de água de plantas sob estresse hídrico na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  foi 30% maior do que das cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ . Dessa forma, os autores concluíram que o íon  $\text{NH}_4^+$  foi benéfico para as plantas de arroz, promovendo maior

absorção de água e mantendo inalteradas as trocas gasosas, o que resultou em uma maior produtividade de massa seca do que plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ .

É importante destacar que neste estudo as condições ambientais em que foram realizadas as medições dos parâmetros de trocas gasosas não foram às mesmas nos diferentes tempos de estresse. Por exemplo, no tempo correspondente ao  $t_7$ , a temperatura ambiente ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e umidade relativa ( $90 \pm 5\%$ ) apresentavam condições desfavoráveis ao ótimo de desenvolvimento. Condições desse tipo tendem a diminuir a demanda evaporativa, pela diminuição do gradiente de concentração de vapor de água entre a planta e a atmosfera, reduzindo assim, a taxa transpiratória e em conseqüência, redução na condutância estomática. Arelado a isso (taxa transpiratória reduzida), há uma menor demanda de água pela planta, resultando em uma menor absorção.

Segundo [Munns \(2005\)](#) o maior acúmulo de solutos orgânicos nas plantas submetidas a estresses abióticos ocorre porque o suprimento de assimilados pelas folhas excede sua demanda pelos órgãos em crescimento. Além disso, a deficiência de  $\text{K}^+$ , a qual pode ser agravada pela salinidade, pode reduzir a velocidade com que os fotoassimilados são alocados para os tecidos-dreno ([ARMENGAUD \*et al.\*, 2009](#)). De modo geral, neste experimento foi observado maior acúmulo de carboidratos solúveis e de carboidratos redutores na parte aérea das plantas estressadas ([Figuras 12A e 13A](#)), enquanto que nas raízes os teores de carboidratos solúveis foram reduzidos com o estresse salino ([Figura 12B](#)). Tal resposta pode ser explicada pela menor translocação desses compostos dos tecidos fonte para os locais de demanda, o que pode ter sido ocasionado pela redução dos teores de  $\text{K}^+$  induzida pelo estresse salino ([ARMENGAUD \*et al.\*, 2009](#)). Quando o íon  $\text{NH}_4^+$  foi usado como única fonte de nitrogênio, as plantas submetidas ao estresse salino apresentaram menor e maior conteúdo de carboidratos redutores nas raízes e na parte aérea, respectivamente, do que quando cultivadas com as outras fontes de nitrogênio ([Figura 13](#)). Estes resultados sugerem que a

velocidade de transporte de carboidratos sintetizados na parte aérea foi severamente reduzida ou que um maior consumo desses compostos em células das raízes foi estimulado com a finalidade de fornecer energia aos processos envolvidos na exclusão de íons tóxicos, o que seria uma evidência para os menores acúmulos de  $\text{Na}^+$  nas plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  (Figura 6A e B). Em outros trabalhos, inclusive com o sorgo, resultados semelhantes têm sido relatados (LACERDA *et al.*, 2003; PRAXEDES *et al.*, 2011). Porém, em milho, os teores de carboidratos solúveis das folhas e de raízes foram reduzidos ou se mantiveram constantes com o estresse salino (AZEVEDO NETO *et al.*, 2004).

A menor translocação de fotoassimilados sob condições de estresse salino pode estar associada ao baixo conteúdo de carboidratos não redutores (Figura 14), tais como a sacarose. Provavelmente, a redução do conteúdo destes carboidratos não redutores esteja associada a uma baixa síntese, a qual pode ter acarretado o aumento de carboidratos redutores usados para sua formação (como os monossacarídeos glicose e frutose, Figura 13). Resultados semelhantes foram encontrados na gramínea *Pennisetum clandestinum* submetidas a estresse salino (MUSCOLO; PANUCCIO; SIDARI, 2003). Entretanto, evidências contrárias foram observadas em plantas de feijão sob condições de estresse salino, onde não houve variações nos teores de sacarose (PRAXEDES *et al.*, 2011).

O maior conteúdo de amido em folhas de plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  nos primeiros tempos de estresse salino (principalmente nos tempos  $t_3$  e  $t_5$ , Figura 15) pode ser uma estratégia adequada para garantir a continuidade das reações fotossintéticas (Figura 18C) tendo em vista que o acúmulo excessivo de carboidratos solúveis (Figura 12) pode inibir as reações bioquímicas desse processo. Entretanto, com o incremento da exposição ao estresse salino, a demanda por fontes de energia e esqueletos de carbono promoveu a redução nos teores de amido (Figura 15) e sua mobilização para diferentes tecidos da planta. Em *Oriza sativa*, os baixos teores de amido em folhas de plantas foram atribuídos à diminuição da

atividade fotossintética, a alteração da biossíntese de amido e/ou a uma maior eficiência da sua degradação (CHEN; CHEN; WANG, 2008).

O acúmulo de aminoácidos livres em plantas sob estresse salino é uma resposta frequentemente relatada, sendo observado tanto em espécies sensíveis como nas tolerantes ao sal (AZEVEDO NETO *et al.*, 2004; CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005; DLUZNIIEWSKA *et al.*, 2007; SHABALA; CUIN, 2007). No entanto, a função da maior parte dos aminoácidos acumulados permanece obscura, mas, provavelmente grande parte desses compostos tenha papel relacionado à osmoproteção (DLUZNIIEWSKA *et al.*, 2007), ao suprimento de N ou energia, ou para aliviar os efeitos do estresse oxidativo por eliminar espécies reativas de oxigênio (MANSOUR, 2000), podendo ainda funcionar como um dreno para o excesso de N acumulado devido à redução no crescimento (KANT *et al.*, 2007). Neste estudo, o acúmulo de N-aminossolúveis, que em grande parte é composto por aminoácidos livres (KARAMANOS, 1995) e seus derivados (NOLTE; HANSON; GAGE, 1997), nas plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  tanto em condições controle como de salinidade (Figura 17) pode ser uma resposta para prevenir o acúmulo de amônio livre em níveis tóxicos. Pode-se sugerir que o aumento nos teores de N-aminossolúveis nas plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  foi originado da *síntese de novo* nos tecidos radiculares, e estes exportados para a parte aérea. O aumento nos teores de N-aminossolúveis favoreceu, provavelmente, a síntese de proteínas cujo acúmulo foi significativamente maior nas plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  sob condições controle (Figura 16). Entretanto, sob salinidade os teores de proteínas apresentaram poucas variações entre as plantas cultivadas com as diferentes fontes de N (Figura 16). Além disso, os maiores teores de N-aminossolúveis e proteínas solúveis coincidiram com os menores teores de carboidratos redutores e não redutores nas raízes (Figuras 13B e 14B), os quais possivelmente teriam sido direcionados para atuarem como substratos para a síntese de aminoácidos. Contrário aos resultados aqui mostrados, Dluzniewska *et al.* (2007) observaram

em *Populus canescens* que o conteúdo de proteínas solúveis aumentava com a salinidade na plantas crescidas com  $\text{NO}_3^-$ , enquanto na presença do íon  $\text{NH}_4^+$  houve redução.

### 5.3. A influência da salinidade nos teores de $\text{Cl}^-$ , $\text{NO}_3^-$ e $\text{NH}_4^+$

Os maiores teores de íons  $\text{Cl}^-$  encontrados nas plantas nutridas com o íon  $\text{NH}_4^+$  e na ausência de  $\text{NaCl}$  (Figura 9) podem ser atribuídos ao uso de sais de cloreto nas soluções de cultivo para o fornecimento de alguns dos macronutrientes como  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{NH}_4^+$  (Tabela 1). Sob condições salinas, em termos de valores absolutos, os incrementos nos teores de  $\text{Cl}^-$  nas raízes das plantas de sorgo, em relação aos controles, não apresentaram diferenças em função da fonte de N usada (Figura 9B), o que sugere que o controle da absorção e transporte de  $\text{Cl}^-$  não é influenciada por esse fator. Contudo, em termos percentuais, os maiores aumentos nos teores de  $\text{Cl}^-$  pelo estresse salino, foram observados nas plantas nutridas com  $\text{NO}_3^-$  (Figura 9). O controle da translocação de íons (principalmente  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) por intermédio do seu acúmulo nas raízes tem sido proposto como uma característica de tolerância particularmente importante em glicófitas (MUNNS; TERMAAT, 1986; MUNNS, 2002). Tal controle envolve processos que minimizam o transporte de sais tóxicos das raízes para a parte aérea ou que maximizam sua remoção do xilema radicular e caulinar (PARANYCHIANAKIS; CHARTZOULAKIS, 2005). Os dados aqui apresentados concordam com os observados em plantas de milho por Feijão (2009) que relatou que os teores de  $\text{Cl}^-$  na parte aérea das plantas de *Zea mays* sob condições de estresse salino, percentualmente, se acumularam menos em plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$ , enquanto os maiores acúmulos foram observados nos tecidos foliares de plantas cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ .

No presente estudo, os menores teores de  $\text{NO}_3^-$  observados na parte aérea das plantas de sorgo (Figura 10A) não podem ser atribuídos a menor absorção deste íon pelas raízes na

salinidade, em função da competição com o  $\text{Cl}^-$  (NIU *et al.*, 1995; SILVEIRA *et al.*, 2001; PARIDA; DAS; MITTRA, 2004), haja vista, que nestes órgãos não foram observadas grandes diferenças entre os teores de  $\text{NO}_3^-$  nas plantas crescendo na ausência e na presença de NaCl (Figura 10B). Dessa forma, os menores teores desses íons nos tecidos aéreos podem ser resultado de um menor carregamento no xilema radicular (ABD-EL BAKI *et al.*, 2000).

Apesar de alguns estudos relatarem que a absorção de diversos cátions pelas plantas poder ser afetada pela disponibilidade de  $\text{NH}_4^+$  (BRITTO; KRONZUCKER, 2002), outros têm mostrado que o fornecimento de  $\text{NH}_4^+$  pode ser benéfico com relação aos teores de  $\text{K}^+$  (KANT *et al.*, 2007). Por exemplo, Hoopen *et al.* (2010) observaram que não houve interação negativa no influxo dos íons  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{K}^+$  em plantas de cevada, e isto levou a conclusão de que o sistema de transporte para ambos os cátions podem operar sem mútua inibição, desde que os níveis de  $\text{K}^+$  sejam relativamente altos e os de  $\text{NH}_4^+$  não atingissem valores que causassem inibição dos sistema de transporte de  $\text{K}^+$ . Dessa forma, o menor acúmulo de  $\text{NH}_4^+$  observado na parte aérea das plantas de sorgo (Figura 11A) em relação às raízes (Figura 11B) pode ser atribuído ao fato desse íon não ser transportado via xilema, tendo dessa maneira, que ser assimilado nas raízes. Embora não seja transportado via xilema, a presença de  $\text{NH}_4^+$  na parte aérea pode ser resultado da redução do nitrato a amônio, da desaminação de aminoácidos e/ou do amônio produzido pela fotorrespiração (MIFLIN; LEA, 1976). Nas raízes, os menores teores de íons  $\text{NH}_4^+$  pela salinidade (Figura 11B) podem ser resultado da inibição da absorção pela competição direta desse íon com o sódio e/ou à despolarização da membrana plasmática causada pelas altas concentrações de NaCl resultando na inibição da  $\text{H}^+$ -ATPase de membrana plasmática (HAWKINS; LEWIS, 1993).

#### 5.4. A produção de biomassa na salinidade não é influenciada pela fonte de N

As condições de cultivo neste estudo foram ideais para o crescimento da cultura de sorgo, haja vista, que as plantas apresentaram aumento progressivo na produção da biomassa no decorrer do experimento, independente da fonte de N (Figura 3). Apesar do íon  $\text{NH}_4^+$  ser tóxico para muitas culturas em elevadas concentrações, não houve limitações no crescimento para a cultura do sorgo (Figura 3). Diversos trabalhos relatam que plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  apresentam redução significativa na produção de matéria seca em relação às nutridas com  $\text{NO}_3^-$  e com  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (LU; LI; ZHANG, 2005, DLZUNIEWSKA *et al.*, 2007; GUO *et al.*, 2007a; GUO; SHEN; BRUECK, 2007b;). Para Guo *et al.* (2007a) a maior redução da massa seca de plantas nutridas com  $\text{NH}_4^+$  são atribuídas à redução na expansão foliar devido à menor regulação osmótica ou por uma desregulação hormonal entre a parte aérea e raízes. Entretanto, outros estudos mostram que o fornecimento do íon  $\text{NH}_4^+$  pode ser benéfico (KANT *et al.*, 2007), e dessa forma, alguns pesquisadores sugerem a utilização combinada de  $\text{NO}_3^-$  com  $\text{NH}_4^+$  como fontes de N (BRITTO; KRONZUCKER, 2002; KANT *et al.*, 2007). Com o estresse salino, a menor produção de massa seca da parte aérea em comparação a da raiz resulta em menor relação MSPA/MSR (Figura 3C e D, Figura 4) das plantas quando submetidas à salinidade, fato este, que tem sido relatado por diversos autores (COSTA *et al.*, 2003; PRAXEDES, 2008). Na realidade, isto já é esperado para as plantas submetidas ao estresse, pois isso é resultado de uma menor produção de fotoassimilados nos tecidos aéreos em relação aos existentes nas raízes. Esses resultados corroboram com os encontrados na literatura para outras glicófitas, nos quais uma resposta característica dessas espécies com a salinidade é a redução no crescimento e na produção de biomassa (COSTA *et al.*, 2003; MUSCOLO; PANUCCIO; SIDARI, 2003; AZEVEDO-NETO *et al.*, 2004; ALVAREZ-

PIZARRO, 2006; RABHI *et al.*, 2007; KANT *et al.*, 2007; CUIN *et al.*, 2008; INNOCENTI *et al.*, 2009; BAVEI; SHIRAN; ARZANI, 2011; FEIJÃO *et al.*, 2011).

A salinização do ambiente radicular resulta em dois processos característicos desse estresse. Inicialmente o excesso de NaCl promove um estresse hídrico em função do abaixamento do potencial osmótico pelo sal. Dessa forma, a planta, impedida de absorver água, mobiliza fotoassimilados para possibilitar o crescimento das raízes e conseqüentemente, aumentar sua superfície de absorção. Mais tardiamente, o efeito do sal é caracterizado pelos efeitos tóxicos do Na<sup>+</sup> e do Cl<sup>-</sup> na planta. Neste passo, vários processos metabólicos são afetados e o crescimento do vegetal é reduzido (SILVEIRA *et al.*, 2010). Segundo Paranychianakis e Chartzoulakis (2005), os efeitos negativos da salinidade sobre o crescimento das plantas estão associados a sua interferência nos processos de assimilação líquida, translocação de fotoassimilados para os tecidos drenos e nos desvios de fontes de energias essenciais ao crescimento para outros processos, como a síntese de solutos compatíveis, o ajustamento osmótico, a manutenção de processos metabólicos básicos e o reparo de danos causados pela salinidade. Dessa forma, os primeiros órgãos a serem afetados com a salinidade são os tecidos aéreos, e assim, os resultados encontrados nesse estudo corroboram com essa idéia (Figura 3A e C).

O maior comprimento das raízes observado no presente estudo nas plantas cultivadas com nitrato em relação às cultivadas com amônio (Figura 5), não se correlacionou com a produção de massa seca destes órgãos, haja vista, que não foram registradas diferenças consideráveis na MSR das plantas cultivadas nas diferentes condições de tratamento (na presença de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (Figura 3D). Tal comportamento pode ser explicado pelo fato de que raízes de plantas crescendo com a mistura NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e com NH<sub>4</sub><sup>+</sup> apresentaram mais ramificações (características observadas visualmente) do que as plantas cultivadas com NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

As diferentes fontes de N utilizadas no presente estudo não foram capazes de reduzir os efeitos deletérios da salinidade na produção de biomassa das plantas de sorgo, pelo menos, durante o período de tempo avaliado. Contudo, sob condições de salinidade, a oferta de  $\text{NH}_4^+$  promoveu incrementos na homeostase  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  e na regulação de diversos processos fisiológicos importantes para o metabolismo da planta, tais como a fotossíntese líquida, a condutância estomática e a taxa de transpiração. Pesquisas posteriores são necessárias para elucidar os mecanismos envolvidos na atuação do íon  $\text{NH}_4^+$  nesses processos de modo que tais conhecimentos possam ser utilizados pelos melhoristas para produzir plantas de sorgo tolerantes à salinidade.

## 6. CONCLUSÕES

1. O cultivo de plantas de sorgo com  $\text{NH}_4^+$  limitou severamente o acúmulo de  $\text{Na}^+$  nos tecidos da planta, favorecendo a manutenção da homeostase  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  sob condições de estresse salino;
2. Sob condições de salinidade, o sistema de absorção de  $\text{K}^+$  apresenta maior seletividade quando em presença de  $\text{NH}_4^+$ ;
3. A maior restrição no acúmulo de  $\text{Na}^+$  em presença do íon  $\text{NH}_4^+$ , provavelmente possa ocorrer através da ativação de mecanismos envolvidos na exclusão desse íon tóxico pela planta;
4. O melhor controle da homeostase iônica sob condições salinas em plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  se refletiu na manutenção de parâmetros fisiológicos como as trocas gasosas e a absorção de água;
5. O maior acúmulo de compostos orgânicos, principalmente proteínas e N-aminossolúveis em presença do íon  $\text{NH}_4^+$  pode ter contribuído para melhor controle da homeostase  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  sob condições de estresse salino.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-EL BAKI, G. K.; SIEFRITZ, F.; MAN, H. M.; WEINER, H.; KALDENHOFF, R.; KAISER, W. M. Nitrate reductase in *Zea mays* L. under salinity. **Plant, Cell and Environment**, v.23, p.515-521, 2000.

ADLER, P. R.; WILCOX, G. E.; MARKHART, A. H.  $\text{NH}_4^+$  decreases muskmelon root system hydraulic conductivity. *Journal of Plant Nutrition*, v.19, p.1395–1403, 1996.

AFAQ, A. M.; SENADHEERA, P.; MAATHIUS, F. J. M. Improving Crop Salt Tolerance: Anion and Cation Transporters as Genetic Engineering Targets. **Plant Strees**, (Special Issue 1) p.64-74, 2009.

ALVAREZ-PIZARRO, J. C. **Caracteres fisiológicos e bioquímicos da tolerância à salinidade em clones de cajueiro anão precoce**. 2006, 135 f. (Mestrado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. 2006.

ALVAREZ-PIZARRO, J. C. **Sistema de absorção de  $\text{K}^+$  de alta afinidade em plantas de sorgo forrageiro: papel da  $\text{H}^+$ -ATPase de membrana plasmática e dos componentes sensível e não-sensível ao íon  $\text{NH}_4^+$** . 2010, 163f. (Doutorado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. 2010.

ALVAREZ-PIZARRO, J. C.; GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J. T.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. OLIVEIRA-NETO, O. B.  $\text{NH}_4^+$  stimulated low  $\text{K}^+$  uptake is associated with the induction of  $\text{H}^+$  extrusion by the plasma membrane  $\text{H}^+$  - ATPase in sorghum roots under  $\text{K}^+$  deficiency. **Journal of Plant Physiology**, v. p. , 2011.

AMTMANN, A.; TROUFFLARD, S.; ARMENGAUD, P. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. **Physiologia Plantarum**, v.133, p.682-691, 2008.

APSE, M. P.; BLUMWALD, E.  $\text{Na}^+$  transport in plants. **FEBS Letters**, v.581, p.2247-2254, 2007.

ARANDA, R. R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. **Plant Science**, v.160, n.2, p.265-272, 2001.

ARDIE, S. W.; LIU, S.; TAKANO, T. Expression of the AKT1-type K<sup>+</sup> channel gene from *Puccinellia tenuiflora*, *PutAKT1*, enhances salt tolerance in *Arabidopsis*. **Plant Cell Rep**, v.29, p.865-874, 2010.

ARMENGAUD, P.; BREITLING, R.; AMTMANN, A.; The Potassium-Dependent Transcriptome Proton Pump ATPase: The significance of gene subfamilies. **Planta**, v.216, p.355-365, 2004.

ARMENGAUD, P.; SULPICE, R.; MILLER, A. J.; STITT, M.; AMTMANN, A.; GIBON, Y. Multilevel Analysis of Primary Metabolism Provides New Insights into the Role of Potassium Nutrition for Glycolysis and Nitrogen Assimilation in *Arabidopsis* Roots. **Plant Physiology**, v.150, p.772-785, 2009.

AZEVEDO-NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; LACERDA, C. F.; SILVA, J. S.; 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, n.1, p.31-38, 2004.

BAVEI, V.; SHIRAN, B.; ARZANI, A. Evaluation of salinity tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) using ion accumulation, proline and peroxidase criteria. **Plant Growth Regulation**, v.64, p.375-285, 2011.

BENECH ARNOLD, R.; FENNER, M.; EDWARDS, P. J. Influence of potassium nutrition on germinability, abscisic acid content and sensitivity of the embryo to abscisic acid in developing seeds of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **New Phytologist**, v.130, p.207-216, 1995.

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.

BLUMWALD, E. Sodium transport and salt tolerance in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, v.12, p.431-434, 2000.

BLUMWALD, E.; AHARON, G. S.; APSE, M. P. Sodium transport in plant cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1465, p.140-151. 2000.

BOUKCIM, H.; PAGÈS, L.; MOUSAIN, D. Local NO<sub>3</sub><sup>-</sup> or NH<sub>4</sub><sup>+</sup> supply modifies the root system architecture of *Cedrus atlantica* seedlings grown in a split-root device. **Journal of Plant Physiology**, v.163, p.1293-1304, 2006.

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.

BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. Cellular mechanism of potassium transport in plants. **Physiologia Plantarum**, v.133, p.637-650, 2008.

BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. NH<sub>4</sub><sup>+</sup> toxicity in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v.159, p.567-584, 2002.

BRUNGNOLI, E.; LAUTERI, M. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-tolerance (*Phaseolus vulgaris* L.) C<sub>3</sub> non-halophytes. **Plant Physiology**, v.95, p.628-635, 1991.

CATALDO, J.M.; HAROOM, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue. **Commun. Soil Science and Plant Analysis**, v.6, n.1, p.1-80, 1975.

CHEN, H. J.; CHEN, J. Y.; WANG, S. J. Molecular regulation of starch accumulation in rice seedling leaves in response to salt stress. **Acta Physiologia Plantarum**, v.30, p.135-142, 2008.

CHEN, Z.; NEWMAN, I.; ZHOU, M.; MENDHAM, N.; ZHANG, G.; SHABALA, S. Screening plants for salt tolerance by measuring  $K^+$  flux: a case study for barley. **Plant, Cell & Environment**, v.28, p.1230–1246. 2005.

CHEN, Z.; POTTOSIN, I. I.; CUIN, T. A.; FUGLSANG, A. T.; TESTER, M. JHA, D.; ZEPEDA-JAZO, I.; ZHUO, M.; PALMGREN, M. G.; NEWMAN, I. A.; SHABALA, S. Root plasma membrane transporters controlling  $K^+/Na^+$  homeostasis in salt-stressed Barley. **Plant Physiology**, v.145, p.1714-1725, 2007.

CHEN, Z. H.; POTTOSIN, L. I.; CUIN, T. A. Root plasma membrane transporters controlling  $K^+/Na^+$  homeostasis in salt stressed barley. **Plant Physiology**, v.145, p.1714-1725, 2007.

CHINNUSAMY, V.; JAGENDORF, A.; ZHU, J. K. Understanding and Improving Salt Tolerance in Plants. **Crop Science**, v.45, p.437-448, 2005.

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

CUIN, T. A.; BETTS, S. A.; CHALMANDRIER, R.; SHABALA, S. A root's ability to retain  $K^+$  correlates with salt tolerance in wheat. **Journal of Experimental Botany**, v.59, n.10, p.2697–2706, 2008.

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.

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

DASHIT, A.; KHAN, A. A.; COLLINS, J. C. Effects of salinity on growth, ionic relations and solute content of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Journal of Plant Nutrition**, v.32, p.1219-1236, 2009.

DIAS, A. M. A. D.; BATISTA, A. M. V.; FERREIRA, M. A.; LIRA, M. A.; SAMPAIO, I. B. M. Efeito do estágio vegetativo do sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] sobre a composição química da silagem, consumo, produção e teor de gordura do leite para vacas em lactação, em comparação à silagem de milho [*Zea mays* (L.)]. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.2086-2092, 2001.

DLUZNIEWSKA, P.; GRESSLER, A.; DIETRICH, H.; SCHNITZLER, J. P.; TEUBER, M.; RENNENBERG, H. Nitrogen uptake and metabolism in *Populus x canescens* as affected by salinity. **New Phytologist**, v.173, p.279-293, 2007.

DREW, M. C. Comparison of the effects of a localized supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on the growth of the seminal root system and the shoot in barley. **New Phytologist**, v.75, p.479-490, 1975.

DUBCOVSKY, J.; SANTA MARIA, G.; EPSTEIN, E.; LUO, M. C.; DVORÁK, J. Mapping of the  $K^+/Na^+$  discrimination locus *Knal* in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v.92, p.448-454, 1996.

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.

EMBRAPA (**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**). Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sorgo/CultivodoSorgo/importancia.htm>. Acesso em: 08/06/2011.

EPSTEIN, E.; RAINS, D.; ELZAM, O. Resolution of dual mechanism of potassium absorption by barley roots. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.49, p.684-692, 1963.

FEIJÃO, A. R. **Crescimento, trocas gasosas, partição de íons e metabolismo do nitrogênio em plantas de milho submetidas à salinidade e diferentes fontes de N.** 2009, 112 f. (Mestrado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. 2009.

FEIJÃO, A. R.; SILVA, J. C. B.; MARQUES, E. C.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Efeito da nutrição de nitrato na tolerância de plantas de sorgo Sudão à salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.3, p.675-683, 2011.

FLORES, P.; CARVAJAL, M.; CERDA, A.; MARTÍNEZ, V. Salinity and ammonium / nitrate interactions on tomato plant development, nutrition, and metabolites. **Journal of Plant Nutrition**, v.24, p.1561-1573, 2001.

FOURNIER, J. M.; ROLDÁN, A. M.; SÁNCHEZ, C.; ALEXANDRE, G.; BENLLOCH, M. K<sup>+</sup> starvation increases water uptake in whole sunflower plants. **Plant Science**, v.168, p.823-829, 2005.

FRECHILLA, S.; LASA, B.; BARRETXE, L.; LAMSFUS, C.; APARICIO-TEJO, P. Pea responses to saline stress is affected by the source of nitrogen nutrition (ammonium or nitrate). **Plant Growth Regulation**, v.35, p.171-179, 2001.

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.

GASSMANN, W. RUBIO, F. SCHROEDER, J. I. Alkali cation selectivity of the wheat root high-affinity potassium transporter HKT1. **Plant Journal**, v.10, p.869-882, 1996.

GHARS, M. A.; PARRE, E.; DEBEZ, A.; BORDENAVE, M.; RICHARD, L.; LEPORT, L.; BOUCHEREAU, A.; SAVOURÉ, A.; ABDELLY, C. Comparative salt tolerance analysis between *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila*, with special emphasis on K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> selectivity and proline accumulation. **Journal of Plant Physiology**, v.165, p.588-599, 2008.

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

GORHAM, J.; JONES, R. G. W.; BRISTOL, A. Partial characterization of trait for enhanced  $K^+$ - $Na^+$  discrimination in the D genome of wheat. **Planta**, v.180, p.590-597, 1990.

GUO, S.; BRÜCK, H.; SATTELMACHER, B. Effects of supplied nitrogen form on growth and water uptake of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. **Plant Soil**, v.239, p.267-275, 2002.

GUO, S.; CHEN, G.; ZHUO, Y.; SHEN, Q. Ammonium nutrition increases photosynthesis rate under water stress at early development stage of rice (*Oriza sativa* L.). **Plant Soil**, v.296, p.115-124, 2007a.

GUO, S.; SHEN, Q.; BRUECK, H. Effect of Local Supply on Water Uptake of Bearn Plants in a Split Root System. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.49, n.4, p.472-480, 2007b.

GUO, S.; ZHUO, Y.; SHEN, Q.; ZHANG, F. Effect of Ammonium and Nitrate Nutrition On Some Physiological in Higher Plants – Growth, Photosynthesis, Photorespiration, and Water Relations. **Plant Biology**, v.9, p.21-29, 2007c.

HAWKINS, H. J.; LEWIS, A. M. Effect of NaCl salinity, nitrogen form, calcium and potassium concentration on nitrogen uptake and kinetics in *Triticum aestivum* L. cv, Gamtoos. **New Phytologist**, v.124, p.171-177, 1993.

HERMANS, C.; HAMMOND, J. P.; WHITE, P. J.; VERBRUGGEN, N. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? **TRENDS in Plant Science**, v.11, n.12, 2006.

HODGE, J. E.; HOFREITER, B. R. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: WILSTER, R.L.; WOLFROM, M.L. (eds.). **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic Press, v.1, p.380-394, 1962.

HOOPEN, F. T.; CUIN, T. A.; PEDAS, P.; HEGELUND, J. N.; SHABALA, S.; SCHJOERRING, J. K.; JAHN, T. P. Competition between uptake of ammonium and potassium in barley and *Arabidopsis* roots: molecular mechanisms and physiological consequences. **Journal of Experimental Botany**, v.61, n.9, p.2303-2315, 2010.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, v.24, n.04, p.1-82. Abril, 2011.

INNOCENTI, E. D.; HAFSI, C.; GUIDI, L.; NAVARI-IZZO, F. The effect of salinity on photosynthetic activity in potassium-deficient barley species. **Journal of Plant Physiology**, v.166, p.1968-1981, 2009.

IRSHAD, M.; HONNA, T.; ENEJI, A. E.; YAMAMOTO, S. Wheat response to nitrogen source under saline conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v.25, p.2603-2612, 2002.

JAMES, R. A.; MUNNS, R.; CAEMMERER, S. V.; TREJO, C.; MILLER, C.; CONDON, T. Photosynthetic capacity is related to the cellular and subcellular partitioning of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in salt-affected barley and durum wheat. **Plant, Cell and Environment**, v.29, p.2185-2197, 2006.

JORDAN-MEILLE, L.; PELLERIN, S. Shoot and root growth of hydroponic mayze (*Zea mays* L.) as influenced by K deficiency. **Plant Soil**, v.304, p.157-168, 2008.

KANT, S.; KANT, P.; LIPS, H.; BARAK, S. Partial substitution of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> by NH<sub>4</sub><sup>+</sup> fertilization increases ammonium assimilating enzyme activities and reduces the deleterious effects of salinity on the growth of barley. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p.303-311, 2007.

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.

KARLEY, A. J.; WHITE, P. J. Moving cationic minerals to edible tissues: potassium, magnesium, calcium. **Current Opinion in Plant Biology**, v.12, p.291-298, 2009.

KHOLOVA, J.; SAIRAM, R. K.; MEENA, R. C. Osmolytes and metal ions accumulation, oxidative stress and antioxidant enzymes activity as determinants of salinity stress tolerance in mayze genotypes. **Acta Physiologia Plantarum**, 2009.

KOYRO, H. W. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). **Environmental and Experimental Botany**, v.56, n.2, p.136-146, 2006.

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, 2003.

LEBAUDY, A.; VÉRY, A. A.; SENTENAC, H. K<sup>+</sup> channel activity in plants: Genes regulations and functions. **FEBS Letters**, v.581, p.2357-2366, 2007.

LEIGH, R. A.; WYN JONES, R. G. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell. **New Phytologist**, v.97, p. 1-13, 1984.

LI, Y.; GAO, Y.; DING, L.; SHEN, Q.; GUO, S. Ammonium enhances the tolerance of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) to drought condition. **Agricultural Water Management**, v.96, p.1746-1750, 2009.

LU, Y. X.; LI, C. J.; ZHANG, F. S. Transpiration, Potassium Uptake and Flow in Tobacco as Affected by Nitrogen Forms and Nutrient Levels. **Annals of Botany**, v.95, p.991-998, 2005.

M'RAH, S.; OUERGHI, Z.; BERTHOMIEU, C.; HAVAUX, M.; JUNGAS, C.; HAJJI, M.; GRIGNON, C.; LACAÂL, M. – Effects of NaCl on the growth, ion accumulation and photosynthetic parameters of *Thellungiella halophila*. **Journal of Plant Physiology**, v.163, p.1022-1031. 2006.

MAATHIUS, F. J. M. Physiological functions of mineral macronutrients. **Current Opinion in Plant Biology**, v.12, p.250-258, 2009.

MAATHIUS, F. J. M.; AMTMANN, A. K<sup>+</sup> nutrition and Na<sup>+</sup> toxicity: the basis of cellular K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratios. **Annals of Botany**, v.84, p.123-133. 1999.

MAATHIUS, F.; SANDERS, D. Mechanism of high-affinity potassium uptake in roots of *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.91, p.9272-9276, 1994.

MAATHUIS, F. J. M.; SANDERS D. Mechanisms of potassium absorption by higher plant roots. **Plant Physiology**, v.96, p.158-68. 1996.

MAATHUIS, F. J. M.; SANDERS, D. Sodium uptake in *Arabidopsis* roots is regulated by cyclic nucleotides. **Plant Physiology**, v.127, p.1617-1625, 2001.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas**. Princípios e Aplicações. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 1989. 201p.

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

MARTINEZ-CORDERO, M.; MARTINEZ, V.; RUBIO, F. High-affinity K<sup>+</sup> uptake in pepper plants. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1553-1562, 2005.

MIFLIN, B. J.; LEA, P. J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. **Phytochemistry**, v.15, p.873-885, 1976.

MORGADO, L. B. Sorgo. Em: KIILL, L. H. P.; MENEZES, E. A. Eds. **Espécies Vegetais Exóticas com Potencial para o Semi-árido**, Embrapa, p.251-274, 2005.

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

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, v.167, p.645-663, 2005.

MUNNS, R.; TERMAAT, A. Whole-plant responses to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 13, p. 143-160, 1986.

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

MUSCOLO, A.; PANUCCIO, M. R.; SIDARI, M. Effects of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst). **Plant Science**, v.164, p.1103-1110. 2003.

NIEVES CORDONES, M.; MILLER, A. J.; ALEMÁN F.; MARTÍNEZ, V.; RUBIO, F. A putative role for the plasma membrane potential in the control of the expression of the gene encoding the tomato high affinity potassium transporter HAK5. **Plant Molecular Biology**, v.68, p.521-32, 2008.

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.109, p.735-742, 1997.

OLÍAS, R.; ELJAKAOVI, C.; LI, J.; MORALES, P. A.; MARÍN-MANZANO, M. C.; PARDO, J. M.; BELVER, A. The plasma membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter SOS1 is essential for salt tolerance in tomato and effects the partitioning of Na<sup>+</sup> between plant organs. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.904-916, 2009.

OMAMI, E. N.; HAMMES, P. S.; ROBBERTSE, P. J. Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (*Amaranthus* spp.) genotypes. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v.34, n.1, p.11-22, 2006.

PAGE, M. J.; DI CERA, E. Role of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> in Enzymes Function. **Physiological Review**, v.86, p.1049-1092, 2006.

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.

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: Structure and Function**, v.18, p.167-174, 2004.

PETTIGREW, W. T. Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. **Physiologia Plantarum**, v.133, p.670-681, 2008.

PRAXEDES, S. C.; LACERDA, C. F.; FERREIRA, T. M.; PRISCO, J. T.; DAMATTA, F. M.; GOMES-FILHO, E. Salt tolerance is unrelated to carbohydrate metabolism in cowpea cultivars. **Acta Physiology Plant**, v.33, p.887-896, 2011.

PRAXEDES, S. D. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em dois cultivares de feijão-de-corda com tolerância diferencial à salinidade**. 2008, 143f. (Doutorado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. 2008.

QUINTERO, J. M.; FOURNIER, J. M.; BENLLOCH, M. Na<sup>+</sup> accumulation in shoot is related to water transport in K<sup>+</sup>-starved sunflower plants but not in plants with a normal K<sup>+</sup> status. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p.60-67, 2007.

RABHI, M.; BARHOUMI, Z.; KSOURI, R.; ABDELLY, C.; GHARSALLI, M. Interactive effects of salinity and iron deficiency in *Medicago ciliaris*. **Plant biology and pathology**, v.330, p.779-788, 2007.

RAINS, D.; EPSTEIN, E. Sodium absorption by barley roots. Its mediation by mechanisms 2 of alkali cation transport. **Plant Physiology**, v.42, p.319-323. 1967.

REJILI, M.; VADEL, A. M.; GUETET, A.; NEFFATTI, M. Effect on the growth and the ionic balance K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> of two populations of *Lotus creticus* (L.) (Papilionaceae). **South African Journal of Botany**, v.73, p.623-631, 2007.

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.

RODRIGUEZ-NAVARRO, A. Potassium transport in fungi and plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1469, p.1-30, 2000.

RODRÍGUEZ-NAVARRO, A.; RUBIO, F. High-affinity potassium and sodium transport systems in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.57, p.1149-1160, 2006.

SAGI, M.; DOVRAT, A.; KIPNIS, T.; LIPS, S. H. Ionic balance and the production of biomass and organic nitrogen as affected by salinity and N source in annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam). **Journal of Plant Nutrition**, v.20, p.1291-1316, 1997.

SANDERS; D.; BETHKE, P. Membrane Transport. In.: BUCHANAM, B. B., GRUISSEM, W., JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists, 2000, 1367p.

SANTA-MARIA, G. E.; DANNA, C. H.; CZIBENER, C. High-affinity Potassium Transport in Barley Roots. Ammonium-Sensitive and -Insensitive Pathways. **Plant Physiology**, v.123, p.297-306, 2000.

SCHERER, H. W.; MACKOWN, C. T.; LEGGETT, J. E. Potassium-Ammonium uptake interactions in tobacco seedlings. **Journal Experimental Botany**, v.35, p.1060-1070, 1984.

SCHUBERT, S.; LÄUCHLI, A. Sodium exclusion mechanisms at the root surface of two maize cultivars. **Plant and Soil**, v.123, p.205-209, 1990.

SENTENAC, H.; BONNEAUD, N.; MINET, M.; LACROUTE, F.; SALMON, J. M.; GAYMARD, F.; GRIGNON, C. Cloning and expression in yeast of a plant potassium ion transport system. **Science**, v.256, p.663-665, 1992.

SHABALA, S.; CUIN, T. A. Potassium transport and plant salt tolerance. **Physiologia Plantarum**, v.133, p.651-669, 2007.

SHAVIV, A.; HAZAN, O.; NEUMANN, P. M.; HAGIN, J. Increasing salt tolerance of wheat by mixed ammonium nitrate nutrition. **Journal of Plant Nutrition**, v.13, p.1227-1239, 1990.

SHI, H.; ISHITANI, M.; KIM, C; ZHU, J. K. The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter. **PNAS USA**, v.97, p.6896-6901, 2000.

SILVEIRA, J. A. G.; MELO, A. R. B.; VIÉGAS, R. A.; OLIVEIRA, J. T. A. Salinity-induced effects on nitrogen assimilation related to growth in cowpea plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.46, p.171-179. 2001.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, A. R. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. Em: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza, p.161-179. 2010.

SONDERGAARD, T. E.; SCHULZ, A.; PALMGREM, M. Energization of transport processes in plants. Roles of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase. **Plant Physiology**, v.136, p.2475-2482, 2004.

STAAL, M.; MAATHUIS, F. J. M.; ELZENGA, J. T.M.; OVERBEEK, J. H.M.; PRINS, H. B.A. Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport activity in tonoplast vesicles from roots of the salt-tolerant *Plantago maritima* and the salt-sensitive *Plantago media*. **Physiology Plantarum**, v.82, p.179–84. 1991.

SZCZERBA, M. W.; BRITTO, D. T.; ALI, S. A.; BALKOS, K. D.; KRONZUCKER, H. J. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-stimulated and -inhibited components of K<sup>+</sup> transport in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, v.59, n.12, p.3415-3423. 2008.

SZCZERBA, M. W.; BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. K<sup>+</sup> transport in plants: Physiology and molecular biology. **Journal of Plant Physiology**, v.166, p.447-466. 2009.

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.

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

VÉRY, A. A.; SENTENAC, H. Molecular Mechanisms and Regulation of K<sup>+</sup> Transport in Higher Plants. **Annual Review Plant Biology**, v.54, p.575-603, 2003.

VOLKOV, V.; AMTMANN, A. *Thellungiella halophila*, a salt-tolerant relative of *Arabidopsis thaliana*, has specific root ion-channel features supporting K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostasis under salinity stress. **The Plant Journal**, v.48, p.342-353, 2006.

WALCH-LIU, P.; NEUMANN, G.; BANGERTH, F.; ENGELS, C. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.227-237, 2000.

WALKER, D.; LEIGH, R.; MILLER, A. J.; Potassium homeostasis in vacuolated plant cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.93, p.10510-10514, 1996.

WANG, G.; LI, C.; ZHANG, F. Effects of different nitrogen forms and combination with foliar spraying with 6-benzylaminopurine on growth, transpiration, and water and potassium uptake and flow in tobacco. **Plant and Soil**, v.256, p.169-178, 2003.

WANG, S. M.; ZHANG, J. L.; FLOWERS, T. J. Low-affinity Na<sup>+</sup> Uptake in the Halophyte *Suaeda maritima*. **Plant Physiology**, v.145, p.559-571, 2007.

WANG, S. M.; ZHANG, J. L.; LIU, X. S.; LI, Z.; WU, G. Q.; CAI, J. Y.; FLOWERS, T. J. WANG, S. M. *Puccinellia tenuiflora* maintains a low Na<sup>+</sup> level under salinity by limiting unidirectional Na<sup>+</sup> influx resulting in a high selectivity for K<sup>+</sup> over Na<sup>+</sup>. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.486-496. 2009.

WANG, X. T.; BELOW, F. E. Accumulation and partitioning of mineral nutrition in wheat as influenced by nitrogen form. **Journal Plant Nutrition**, v.21, p.49-61, 1998.

WANG, Y.; WU, W. H. Plant Sensing and Signaling in Response to K<sup>+</sup> - Deficiency. **Molecular Plant**, v.3, n.2, p.280-287, 2010.

WEATHERBURN, M.W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Anal. Chem.**, v. 39, p.971-974, 1967.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.

YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. Salt stress tolerance of plants. **JIRCAS Working Report**, p.25-33. 2002.

ZHANG, F.; NIU, J.; ZHANG, W.; CHEN, X.; LI, C.; YUAN, L.; XIE, J. Potassium nutrition of crops under varied regimes of nitrogen supply. **Plant soil**, v.335, p.21-34, 2010.

ZHENG, Y.; JIA, A.; NING, T.; XU, J.; LI, Z.; JIANG, G. Potassium nitrate application alleviates sodium chloride stress in winter wheat cultivars differing in salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v.165, p.1455-1465, 2008.

ZHU, J. K. Plant salt tolerance. **TRENDS in Plant Science**, v.6, n.2, 2001.