



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE – UERN
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS – FANAT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS – PPGCN
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS NATURAIS – MCN



FRANCISCO FÁBIO MESQUITA OLIVEIRA

**COMPORTAMENTO DE PLANTAS DE *Lippia gracilis* SCHAUER EM CONDIÇÕES
DE DIFERENTES NÍVEIS DE SALINIDADE DA ÁGUA DE IRRIGAÇÃO**

MOSSORÓ/RN
2016

FRANCISCO FÁBIO MESQUITA OLIVEIRA

**COMPORTAMENTO DE PLANTAS DE *Lippia gracilis* SCHAUER EM CONDIÇÕES
DE DIFERENTES NÍVEIS DE SALINIDADE DA ÁGUA DE IRRIGAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, como parte das exigências para obtenção do título de *Magister Scientiae* em Ciências Naturais/Área de concentração: Recursos Naturais (Linha de Pesquisa: Tecnologia Ambiental).

Orientadora: Profa. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque – UERN.

MOSSORÓ/RN
2016

**Catologação da Publicação na Fonte.
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.**

Oliveira, Francisco Fábio Mesquita

Comportamento de plantas de *Lippia gracilis* Schauer em condições de diferentes níveis de salinidade da água de irrigação./

Francisco Fábio Mesquita Oliveira.- Mossoró - RN, 2015.100 p.

Orientador(a): Profa. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais.

1. *Lippia gracilis*. 2. Alocação de biomassa. 3. Cloreto - Sódio.
4. Taxa de assimilação líquida. I. Albuquerque, Cynthia Cavalcanti de. II. Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. III.Título.

UERN/BC

CDD 571.72

Bibliotecária: Jocelania Marinho Maia de Oliveira CRB 15/319

FRANCISCO FÁBIO MESQUITA OLIVEIRA

COMPORTAMENTO DE PLANTAS DE *Lippia gracilis* SCHAUER EM CONDIÇÕES DE DIFERENTES NÍVEIS DE SALINIDADE DA ÁGUA DE IRRIGAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, como requisito parcial à obtenção do título de *Magister Scientiae* em Ciências Naturais/Área de concentração: Tecnologia Ambiental.

A reprodução e/ou utilização de quaisquer fragmentos textuais deste trabalho é lícito, contanto que as contribuições de todos os autores sejam consideradas, conforme os preceitos éticos e morais.

Aprovada em 25 de fevereiro de 2016

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque - (UERN)
Orientadora

Prof. Dr. José Espínola Sobrinho - (UFERSA)
Examinador Externo

Prof. Dr. Ramiro Gustavo Valera Camacho - (UERN)
Examinador Interno

“...aprender a ver – habituar os olhos à calma, à paciência, ao deixar-que-as-coisas-se-aproximem-de-nós; aprender a adiar o juízo, a rodear e a abarcar o caso particular de todos os lados. Este é o primeiro ensino preliminar para o espírito: não reagir imediatamente a um estímulo, mas sim controlar os instintos que põem obstáculos, que isolam...”

Friedrich Nietzsche, in “Crepúsculos dos Ídolos”

RESUMO

Um experimento em casa de vegetação foi conduzido para avaliar os efeitos do estresse salino e tempo de exposição ao estresse sobre índices morfofisiológicos de *Lippia gracilis*. As plantas com 40 dias, obtidas por estaquia, cultivadas em vasos contendo 15 dm³ de substrato (areia lavada, solo natural e matéria orgânica, na proporção 3:1:1) foram irrigadas, duas vezes ao dia, com água contendo diferentes concentração de sais, ou seja, 0 (controle), 31,53; 60,06; 91,59 e 122,12 mM, durante os períodos de 25 e 50 dias. Após isso, foram determinadas a área foliar total (AF_T) e unitária (AF_U), altura das plantas (ALT_{plantas}), diâmetro do caule (Φ_{caule}), a massa seca das folhas (MSF), caules (MSC) e raízes (MSR) e calculados em seguida os seguintes índices de crescimento: frações de alocação de biomassa (FAB), taxa de crescimento relativo (TCR), taxa de assimilação líquida (TAL), razão de massa foliar (RMF), área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF) e índice de esclerofilia (IE). Adicionalmente foram calculadas, nas raízes e folhas, as concentrações de sódio, potássio, cloreto e razão potássio/sódio. Os resultados revelaram que o estresse salino e tempo de exposição, em maior ou menor extensão, afetaram todas as variáveis analisadas. O estresse salino, em função do tempo, induz a um aumento nas concentrações de sódio, nas folhas e raízes, com uma redução concomitante dos teores de potássio. Por outro lado, o conteúdo de cloreto, nas folhas e raízes, não sofre influência do tempo de exposição ao estresse, embora se acumule intensamente nas folhas. Em função do acúmulo de íons tóxicos (Na⁺ e Cl⁻) a área foliar é precocemente reduzida, não obstante a espécie entre em processo de microfilia naturalmente. A biomassa de *L. gracilis* é significativamente reduzida em todos os órgãos, embora a espécie mantenha um crescimento bastante considerável. A alocação de biomassa varia isometricamente, entre as raízes e o caule/ramos, permanecendo constante para as folhas. A taxa de assimilação líquida e a razão de área foliar, dependendo do tempo de exposição, influencia a taxa de crescimento relativa da espécie, embora esta sofra um processo de decréscimo natural, se tornando mais severo nas maiores concentrações de sais. Com base no crescimento e produção de biomassa da espécie, sugere-se que a mesma seja moderadamente resistente ao estresse salino, podendo ser utilizada em ambientes salinizados, sem prejuízo na produção de metabolitos secundários.

Palavras chave: *Lippia gracilis*, alocação de biomassa, cloreto, sódio, taxa de assimilação líquida.

ABSTRACT

A greenhouse-made experiment was conducted to evaluate the effects of salt stress and the exposing time to saline stress on physiological parameters of *Lippia gracilis*. The 40 days plants, which were obtained by cuttings and then cultivated in pots containing 15 dm³ of substrate (washed sand, natural soil and organic matter, at a ratio of 3:1:1), were irrigated twice a day with water containing different salt concentrations, which were 0 (control) 31.53; 61.06; 91.59 and 122.12 mM, during the time periods of 25 and 50 days. After that, total leaf area (TLA), unitary leaf area (ULA), plants height (H_{plants}), stem diameter (Φ_{stem}), the dry mass of the leaves, (DML), stem (DMS) and root (DMR) was determined. Moreover, it was calculated the following growth parameters: biomass allocation fractions (BAF), relative growth rate (RGR), net assimilation rate (NAR), leaf mass ratio (LMR), specific leaf area (SLA), leaf area ratio (LAR) and sclerophylly index (SI). Additionally were calculated in the roots and leaves, the concentrations of sodium, potassium, chloride and potassium/sodium ratio. The salt stress as a function of time, induces an increase in the sodium concentration in leaves and roots, with a concomitant reduction of potassium levels. On the other hand, the chloride content in leaves and roots, not influenced by the stress exposure time, although intensively accumulates in leaves. Due to the accumulation of toxic ions (Na⁺ and Cl⁻) early leaf area is reduced, regardless of the species enter microphyllly (the trait of having small leaves) process naturally. The biomass *L. gracilis* is significantly reduced in all organs, while the specie hold a considerable growth. The biomass allocation varies isometrically, between the roots and the stems/branches, being equal to the leaves. The net assimilation rate and the leaf area ratio, depending on the exposure time, influences the relative growth rate on the specie, although it undergoes a process of natural decrease, becoming more severe at higher salt concentrations. Based on growth and biomass production of the specie, it is suggested that it is moderately resistant to salt stress may be used in saline environments, without impairing the production of secondary metabolites.

Keywords: *Lippia gracilis*, biomass allocation, chloride, sodium, net assimilation rate.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....18

Figura 1 – Esquema representativo da resposta de crescimento ao estresse salino, ocorrendo em duas fases: uma resposta rápida onde ocorre o aumento na pressão osmótica externa (fase osmótica), e uma resposta mais lenta devido à acumulação de Na⁺ nas folhas (fase iônica). A linha verde (sólida) representa a alteração na taxa de crescimento, após a adição de NaCl. **(a)** A linha verde (pontilhada) representa a resposta hipotética de uma planta com uma maior tolerância ao componente osmótico do estresse salino. **(b)** A linha vermelha (pontilhada) representa a resposta de uma planta com uma maior tolerância para o componente iônico do estresse salino. **(c)** A linha verde e vermelha representa a resposta de uma planta com tolerância tanto aos componentes osmótico e iônico do estresse salino. (Fonte: MUNNS e TESTER, 2008).....26

Figura 2 – Efeitos de diferentes concentrações de NaCl sobre a morfofisiologia das plantas, aqui evidenciado pela clorose (A), senescência das folhas /degradação da clorofila e redução na produção de massa seca e área foliar (C). Fonte (A – B): Adaptado de XIAO et al. (2014) e (C) adaptado de ABREU et al. (2008).....27

Figura 3 – Rotas esquemáticas de absorção de N da rizosfera, incluindo a fonte de fertilizante nitrogenado a ser adquirido, principalmente na forma de amônio e nitrato pelas raízes, transporte, assimilação e remobilização no interior da planta. As espessuras das setas representam esquematicamente as quantidades relativas de nitrogênio e açúcar no interior da planta. Abreviaturas: AMT, transportador de amônio; AS, asparagina sintetase; Asn, asparagina; Asp, aspartato; GDH, glutamato desidrogenase; Gln, Glutamina; Glu, glutamato; GOGAT, glutamina 2-oxoglutarato-aminotransferase; GS, a glutamina sintetase; NAC-TF, fatores de transcrição que pertencem à família NAC; NiR, nitrito redutase; NR, nitrato redutase; NRT, transportador de nitrato. Fonte: XU et al. (2012).....31

Figura 4 – Microscopia confocal de varredura a laser seções da zona de transição de raízes (A) de *Triticum aestivum*, co-coradas com CoroNa Green e FM4-64, evidenciando intenso processo de vacuolização. Comparação da intensidade de fluorescência (CoroNa Green dye) resultante do intenso acúmulo de Na⁺ nas raízes de *T. aestivum* submetidas a 100 mM de NaCl (B), durante 72 horas e o controle (água MilliQ) (C). Quantificação de Na⁺ citosólico e vacuolar em raízes de *T. aestivum* (D), evidenciando a distribuição tecido específica do Na⁺. Barra = 200 µm. Fonte: WU et al. (2015).....35

Figura 5 – Micrografias de luz das seções transversais mostrando alterações morfológicas decorrentes do estresse salino. Folhas de *Zea mays* L. (A) controle e (B) tratadas com NaCl (100 mM), mostrando a redução na espessura do mesófilo (Mct) e folhas de (*Triticum aestivum*), onde (A) controle e (B) plantas tratadas com NaCl (120 mM). Fonte (A – B): CÁRCAMO et al. (2012) e (C – D) HU et al. (2005).....36

Figura 6 – Modelo do metabolismo de Pro em *Arabidopsis*. P5CS e P5CR sintetizam Pro a partir de Glu no citosol e cloroplastos. PRODH e P5CDH oxidam Pro em Glu na mitocôndria. OAT transfere o grupo Δ-amino de Orn para produzir GSA/P5C e Glu 2-oxoglutarato. P5C atua como um intermediário de todas estas vias. GSA, glutamato-semialdeído; P5C, Δ¹ pirrolina-5-carboxilato de etilo; P5CS, P5C sintase; P5CR, P5C redutase; ProDH, prolina desidrogenase; P5CDH, P5C desidrogenase; OAT, ornitina δ-amino transferase. Adaptado de RIZZI et al (2015).....39

Figura 7 – Regulação da homeostase iônica pela via de sinalização *Salt Overlay Sensitive* (SOS). O estresse salino é percebido por receptores desconhecidos (?) presentes na membrana plasmática da célula. Isto inclui uma perturbação citosólica de cálcio, a qual é detectada por SOS3, que modifica sua conformação de uma maneira dependente de Ca^{2+} e interage com SOS2. Essa interação libera SOS2 de sua auto-inibição resultando em sua ativação. SOS2 ativada e em complexo com SOS3, fosforila SOS1, um antiporte Na^+/H^+ , resultando em efluxo do excesso de Na^+ . Fonte: GUPTA; HUANG (2014).....41

Figura 8 – Principais locais de produção de H_2O_2 em células fotossintéticas. GO, glicolato oxidase. 3PGA, 3-fosfoglicerato. POX, peroxidase. RuBisCO, ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase. RuBP, ribulose 1,5-bisfosfato. SOD, superóxido dismutase. XO, xantina oxidase. Fonte: MHAMDI et al. (2010).....42

Figura 9 – Principais locais de produção de ERO's em células vegetais e os meios através dos quais os seus níveis são controlados, enfatizando a participação dos compartimentos subcelulares. Fonte: Adaptado de BOSE et al. (2014).....44

Figura 10 – Inter-relação entre a tríade glutaciona-tocoferol-ascorbato na eliminação das ERO's. O tocoferol elimina o radical peroxil antes que ele possa abstrair hidrogênio dos lipídeos das células, mediante doação de um átomo de hidrogênio, formando o radical tocoferoxil. O radical tocoferoxil é reduzido pelo ascorbato (Asc), enquanto o desidroascorbato (DHA) é formado. O ascorbato também está envolvido no processo de eliminação do H_2O_2 , especialmente como um substrato da ascorbato peroxidase (APX), que gera duas moléculas de monodehidroascorbato (MDHA). O MDHA pode ser reduzido a ascorbato pela catálise da monodehidroascorbato redutase (MDAR). O MDHA também pode se oxidar rapidamente gerando DHA, que é então reduzido a ascorbato pela ação da desidroascorbato redutase (DHAR) com glutaciona (GSH) como um substrato, gerando dissulfeto de glutaciona (GSSG). Uma alternativa para a eliminação de H_2O_2 é através da ação da glutaciona peroxidase (GPX), à custa da GSH. Finalmente, a glutaciona redutase (GR) reduz a GSSG em GSH à custa de NADPH. Fonte: SZARKA et al. (2012).....46

CAPÍTULO II – CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DE *Lippia gracilis* SCHAUER EM RESPOSTA AO ESTRESSE SALINO E AO TEMPO DE EXPOSIÇÃO.....37

Figura 1 – Matéria seca total (MST) (A), folhas (MSF) (B), caule (MSC) (C), raízes (MSR) (D), altura ($\text{ALT}_{\text{plantas}}$) (E) e diâmetro do caule (Φ_{caule}) (F) de plantas de *L. gracilis* em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (colunas preenchidas) e 50 (colunas não preenchidas) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n = 4$). As barras representam o desvio-padrão da média.....76

Figura 2 – Frações de alocação de biomassa entre folhas, caules e raízes em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (a) e 50 (b) dias após o estresse (DAE). Os dados (media \pm DP, %) foram submetidos a análise de variância, ANOVA *three-way* (salinidade *versus* tempo *versus* órgão), seguido pelo teste *post hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n = 4$), onde médias seguidas da mesma letra, minúscula para salinidade (comparações na direção horizontal) e maiúscula para tempo e órgão (comparação na direção vertical), não diferem estatisticamente entre si. As barras representam o desvio-padrão da média.....78

Figura 3 – Área foliar unitária (AF_U) (A) e área foliar total (AF_T) (B), em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (colunas preenchidas) e 50 (colunas não preenchidas) dias após o

estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.....79

Figura 4 – Taxa de crescimento relativo (TCR) (A), taxa de assimilação líquida (TAL) (B), área foliar específica (AFE) (C), razão de área foliar (RAF) (D), razão de massa foliar (RMF) (E) e índice de esclerofilia (IE) (F), em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (marcador em forma de pirâmide) e 50 (marcador em forma de quadrado e letras em negrito/italico) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.....80

Figura 5 – Teor de sódio em folhas (A) e raízes (B) de *L. gracilis*, em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 e 50 dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.....82

Figura 6 – Teor de potássio em folhas (A) e raízes (B) de *L. gracilis*, em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (colunas preenchidas) e 50 (colunas não preenchidas) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.....83

Figura 7 – Razão $[K^+]:[Na^+]$ em folhas (A) e raízes (B) de *L. gracilis*, em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (colunas preenchidas) e 50 (colunas não preenchidas) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.....84

Figura 8 – Concentração de cloreto em folhas (A) e raízes (B) de *L. gracilis*, sob diferentes níveis de salinidade, aos 25 e 50 DAE. A linha contínua representa a curva ajustada pelo modelo e os pontos representam os valores originais de cada tratamento ($n = 3$). ** significativo pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.....85

Figura 9 – Análise de componentes principais (ACP) de 22 variáveis obtidas após a irrigação de *L. gracilis* com diferentes concentrações de sais, ao longo do tempo. A ACP resultante de uma matriz de variância-covariância, mostra dois eixos dos componentes principais (PC1, representado por $[Na^+]_{foliar}$ e razão $K^+:Na^+$ nas folhas; e PC2, representado por MST e Aftotal), onde as setas indicam os eigenvetores que representam a força (dado pelo comprimento do vetor) e a direção relativa da correlação entre a característica e os dois primeiros componentes principais (PC1, PC2). **A** = 0 mM, 25 DAE; **B** = 31,53 mM, 25 DAE; **C** = 61,06 mM, 25 DAE; **D** = 91,59 mM, 25 DAE; **E** = 122,12 mM, 25 DAE. **AI** = 0 mM, 50 DAE; **BI** = 30,53 mM, 50 DAE; **CI** = 61,06 mM, 50 DAE; **DI** = 91,59 mM, 50 DAE; **EI** = 122,12 mM, 50 DAE.....86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos solos afetados por sais quanto as características químicas conforme Richards (1954).....	24
Tabela 2 – Exemplos de genes regulados positivamente em resposta ao estresse salino.....	29
Tabela 3 – Frações de alocação de biomassa (%) ¹ entre os diferentes órgãos de <i>L. gracilis</i> em função de diferentes concentrações de sais e dois tempos de exposição ao estresse (25 e 50 DAE).....	43

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%) – por cento

Φcaule – diâmetro do caule

[Cl]⁻_{foliar} – concentração de sódio nas folhas

[Cl]⁻_{radicular} – concentração de sódio nas raízes

[K⁺]_{foliar} – concentração de potássio nas folhas

[K⁺]_{radicular} – concentração de potássio nas raízes

[Na⁺]_{foliar} – concentração de sódio nas folhas

[Na⁺]_{radicular} – concentração de sódio nas raízes

•OH – radical hidroxila

μm – micrometro

μM – micromolar

¹Chl* – clorofila triplete

¹O₂ – oxigênio singleto

3PGA – 3-fosfoglicerato

ABA – ácido abscísico

ACP – fosfatase ácida

AFE – área foliar específica

AF_T – área foliar total

AF_U – área foliar unitária

AgNO₃ – nitrato de prata

A_L – arquitetura foliar

ALP – fosfatase alcalina

ALT_{plantas} – altura das plantas

AMT – transportador de amônio

APX – ascorbato peroxidase

AS – asparagina sintetase

Asc – ascorbato

Asn – asparagina

Asp – aspartato

AtNHX1 – gene que codifica um transportador vacuolar antiporte Na⁺/H⁺ em *Arabidopsis thaliana*

B – elemento químico boro

C3 – plantas de metabolismo C3

Ca²⁺ – cátion cálcio

CaCl₂.2H₂O – cloreto de cálcio diidratado

CAT – catalase

CE_{es} – condutividade elétrica do extrato de saturação

CEME – Central de Medicamentos

Cl⁻ – ânion cloreto

CLC – chloride channel

CO₂ – dióxido de carbono/gás carbônico

CTC – capacidade de troca de cátions

Cu – elemento químico cobre

DAE – dias após o estresse

DHA – desidroascorbato

DHAR – desidroascorbato redutase

dm³ – decímetro cúbico

DNA – ácido desoxirribonucleico

DP – Desvio padrão

DREB – fatores de transcrição relacionados com desidratação/dehydration-responsive element-binding protein genes

dS m⁻¹ – decismens por metro

EC – Enzyme Commission

ERO's – espécies reativas de oxigênio;

F₀ – fluorescência inicial

FAB – frações de alocação de biomassa

Fe – elemento químico ferro

F_m – fluorescência máxima

FS II – fotossistema II

FTSS – Floresta Tropical Sazonalmente Seca

F_v/F_m – eficiência fotoquímica máxima do FS II

g kg⁻¹ MS – Grama por quilograma de matéria seca

GDH – glutamato-desidrogenase

Gln – glutamina

Glu – glutamato

GO – glicolato oxidase;

GOGAT – glutamina 2-oxoglutarato aminotransferase
GPOD – guaiacol peroxidase
GPX – glutathione peroxidase
GR – glutathione reductase
GS – glutamine synthetase
GSA – glutamate-semialdehyde
GSH – glutathione
GSSG – disulfide of glutathione
GST – glutathione transferase
H⁺ – hydrogen ion
H⁺-ATPase – adenosine triphosphatase translocator of protons
H₂O - water
H₂O₂ – hydrogen peroxide
HepG2 – human hepatocellular carcinoma
HKT1 – High-affinity K⁺ Transporter
HSP – heat shock proteins/proteins of thermal shock/chaperone molecules
IE – index of sclerophilia
K⁺ – potassium cation
kg – kilogram
km² – square kilometer
ln – natural logarithm
m – mass
m/m – mass per mass
MCP – programmed cell death;
Mct – thickness of the mesophyll
MDAR – monodehydroascorbate reductase
MDHA – monodehydroascorbate
mg mmol⁻¹ – milligram per millimole
Mg²⁺ – magnesium cation
MgCl₂.6H₂O – magnesium hexahydrate
M_L – leaf biomass
mL – milliliter
mM – millimolar
MMCl⁻ - molar mass of the chloride

mmol mL⁻¹ – milimol por mililitro
Mn – elemento químico manganês
Mo – elemento químico molibdênio
mol L⁻¹ – mol por litro
MP – biomassa vegetal
MPa – megapascal
M_r – molaridade real
mS cm⁻¹ – milisiemens por centímetro
MSC – massa seca do caule
MSF – massa seca das folhas
MSR – massa seca das raízes
N₂ – nitrogênio atmosférico
Na⁺ – cátion sódio
NaCl – cloreto de sódio
NAC-TF – fator de transcrição pertencente à família NAC
NADPH – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NH₄⁺ – íon amônio
Ni – elemento químico níquel
NiR – nitrito redutase
nm – nanometro
NO₃⁻ – íon nitrato
NO₂⁻ – íon nitrito
NR – nitrato redutase
NRT – transportador de nitrato
NSCC's – nonselective cation channels/canais de cátions não seletivos
O₂ – oxigênio
O₂^{•-} – radical superóxido
OAT – ornitina δ-amino transferase
°C – graus Celsius
P – elemento químico fósforo
P5C – Δ¹ pirrolina-5-carboxilato de etilo
P5CDH – P5C desidrogenase
P5CR – P5C redutase
P5CS – P5C sintase

PAGs – proteínas arabinogalactânicas

PERMANOVA – Permutational Multivariate Analysis of Variance

pH – potencial hidrogeniônico

Pi – fosfato inorgânico

POX – peroxidase

PPP – via das pentoses fosfato

PRGs – proteínas ricas em glicina

Pro – prolina

ProDH – prolina desidrogenase

PRPs – proteínas ricas em prolina

PSI – photosystem I

PSII – photosystem I

PST – percentagem saturação por sódio

RAF – razão de área foliar

RAS – razão de adsorção de sódio

RMF – razão de massa foliar

RuBisCo – ribulose- 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase

RuBP – ribulose 1,5-bisfosfato

SAG – gene associado à senescência/senescence associated gene

SO₄²⁻ – íon/ânion sulfato

SOD – superóxido dismutase

SOS – Salt overlay sensitive

TAL – taxa de assimilação líquida

TCA – ciclo dos ácidos tricarboxílicos

TCR – taxa de crescimento relativo

TOC – tocoferóis

v/v – volume por volume

XO – xantina oxidase

Zn – elemento químico zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	24
2.1 Efeitos do excesso de sais sobre o solo	24
2.2 Efeitos da salinidade sobre as plantas	25
2.2.1 Efeitos do estresse salino sobre as plantas – Nível fisiológico	27
2.2.1.1 Metabolismo de proteínas	27
2.2.1.2 Expressão gênica	28
2.2.1.3 Fotossíntese	29
2.2.1.4 Desbalanço nutricional	30
2.2.2 Efeitos do estresse salino sobre as plantas – Nível morfológico	34
2.3 Mecanismos de tolerância das plantas ao estresse salino	38
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
4 OBJETIVOS	67
4.1 Objetivo geral	67
4.2 Objetivos específicos	67
5 CAPÍTULO II: Características morfofisiológicas de <i>Lippia gracilis</i> Schauer em resposta ao estresse salino e ao tempo de exposição	69
5.1 Resumo	69
5.2 Abstract	70
5.3 Introdução	71
5.4 Materiais e métodos	72
5.4.1 Caracterização da área de estudo	72
5.4.2 Material vegetal, condições de crescimento e tratamentos	73
5.4.3 Análises dos parâmetros de crescimento e ecofisiológicos	73
5.4.4 Processo de digestão das amostras	74
5.4.5 Ensaio de espectroscopia de absorção atômica em chama	74
5.4.6 Processo de extração e quantificação de cloreto solúvel	74
5.4.7 Design experimental e análises estatísticas	75
5.5 Resultados	75
5.5.1 Efeitos da salinidade e do tempo de exposição sobre a produção de matéria seca, altura e diâmetro do caule de plantas de <i>L. gracilis</i>	75
5.5.2 Alocação de biomassa para folhas, caule e raízes	77
5.5.3 Respostas morfológicas, a nível foliar, de <i>L. gracilis</i> submetidas a diferentes concentrações de sais em função do tempo de exposição	79
5.5.4 A salinidade e o tempo de exposição modulam a taxa de crescimento relativo de plantas de <i>L. gracilis</i>	80
5.5.5 Concentração de íons em folhas e raízes	81
5.5.6 Análise multivariada	85
5.6 Discussão	87
5.7 Conclusão	92
5.8 Referências bibliográficas	93

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1 INTRODUÇÃO

As terras áridas e semiáridas compõem 47% da superfície do planeta, sendo que 900 milhões de pessoas habitam essas regiões. Esses ambientes se constituem de uma combinação de fatores e formações peculiares, espalhados em diversas regiões do planeta, distintos entre si, contudo conservando traços comuns de identidade que os tornam *sui generis* em relações aos demais ecossistemas (BARAKAT, 2009).

No Brasil o domínio do semiárido se concentra na maior parte da região Nordeste, ocupando uma área aproximada de 900 mil km², abrigando 40,22% da população nordestina, o que equivale a aproximadamente 70% da região Nordeste e 13% do território brasileiro (LEITE; SOUSA, 2012). Inserida nessa região se encontra a Caatinga, bioma exclusivamente brasileiro.

A Caatinga é o tipo de vegetação que cobre a maior parte da área com clima semiárido na região Nordeste do Brasil, com cerca de 844.453 km², correspondendo a 9,9% do território brasileiro ou 55,6% do Nordeste e abrangendo os nove Estados nordestinos – Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia, além do Vale do Jequitinhonha, região norte de Minas Gerais (GARIGLIO et al., 2010).

A Caatinga é um dos tipos de vegetação mais difícil de ser definido, em função da heterogeneidade em termos de composição e fitofisionomia, sendo muitas vezes definida como um conjunto de formações vegetais dominadas por árvores, evoluído sob as condições de clima e solo do semiárido nordestino, com diversas adaptações morfofisiológicas como caducifólia, suculência, microfilia e tolerância ao estresse hídrico (GARIGLIO et al., 2010). O IBGE (2012) classifica a Caatinga como Savana-Estépica, enquanto Penington et al. (2009) a denomina de Floresta Tropical Sazonalmente Seca (FTSS) conectada com o restante das florestas sazonais secas, desde a Argentina até a Colômbia e Venezuela.

Em função das peculiaridades geológicas, a Caatinga apresenta uma imensa diversidade florística e faunística, aliada a uma elevada variabilidade pedológica, fazendo com que a mesma tenha um valor ecológico incalculável, assim como uma enorme importância para a manutenção da economia regional, seja para a geração de energia a partir da biomassa na forma de lenha, configurando-se na segunda fonte energética da região, seja na comercialização de produtos florestais madeireiros e não-madeireiros (GARIGLIO et al., 2010). A importância vital da Caatinga ampara e legitima ações que visem o desenvolvimento sustentável e a conservação dos seus recursos naturais.

Apesar de sua importância, a Caatinga enquanto bioma teve sua dinâmica geológica alterada, de forma ilegal e insustentável, através da destruição de sua cobertura

vegetal para consumo energético, agricultura de irrigação, pecuária e construção civil (GARIGLIO et al., 2010), sendo que tais eventos contribuem para o desaparecimento da sua biodiversidade e degradação do solo. Aliado a isso, a Caatinga está localizada em um domínio de climas semiáridos e devido aos períodos prolongados de seca e altas temperaturas, as regiões áridas e semiáridas do Brasil limitam a produtividade das plantas.

Como alternativas, foram introduzidas práticas econômicas e tratos culturais, como a adoção de perímetros irrigados, onde o uso incorreto da irrigação acarreta a incorporação de sais ao perfil do solo haja vista que a água contém sais solúveis e seu uso constante na ausência de lixiviação faz com que o sal se deposite na zona do sistema radicular, devido às elevadas taxas de evaporação (GHEYI et al., 2010). Infelizmente, em função dos fatores climáticos, dos métodos de irrigação utilizados, das condições edáficas, os sais dissolvidos retidos na água de irrigação e na água do aquífero podem se acumular gradualmente, incorrendo em impactos ambientais severos como a salinização dos solos (SARMENTO, 2011; ENDO et al., 2011).

Os solos da região semiárida nordestina apresentam, naturalmente, concentrações relativamente altas de sais solúveis na solução do solo (salinidade) e de sódio trocável (sodicidade), contudo, esse fenômeno também se estende para outras regiões como Rio Grande do Sul, no Pantanal Mato-Grossense. Nessas regiões, o aumento populacional e a pressão econômica pela produção de alimentos têm resultado no aumento da área de solos degradados por salinidade e sodicidade, em virtude da expansão das áreas irrigadas, do manejo inadequado da água e do solo e da ausência de drenagem, com prejuízos para a economia regional (RIBEIRO, 2010).

Além das irrigadas, outras áreas afetadas pela salinidade são as localizadas próximas de salinas e em torno de atividade da carcinicultura. Essas atividades são amplamente desenvolvidas na região Nordeste e alguns pesquisadores relatam a influência negativa dessas práticas sobre a vegetação nativa, a qual apresenta alto índice de mortandade devido ao aumento da salinidade residual da água e degradação do meio ambiente (FERREIRA et al., 2008).

Os principais sais solúveis encontrados nos solos salinos são cloretos, sulfatos e bicarbonatos de sódio, cálcio e magnésio. Em menor quantidade pode ocorrer potássio, amônio, nitratos e carbonatos (ULZURRUN, 2000; RIBEIRO, 2010). A magnitude do problema depende da concentração do íon na água de irrigação, da sensibilidade da cultura ao íon, da demanda evapotranspiratória da região e do método de irrigação em uso. Estes íons geralmente acumulam-se nas folhas, causando problemas de clorose e queima dos tecidos, reduzindo a produção vegetal ou mesmo chegando a culminar na morte da planta, quando o seu acúmulo é muito elevado (YILDIZTUGAY et al., 2014). O crescimento das plantas sob condições de

estresse de salino é bastante complexo, sendo que a forma como o mesmo é afetado não é completamente entendida, uma vez que as respostas das plantas à salinidade excessiva são variadas e multifacetadas, envolvendo mudanças na morfologia, fisiologia e metabolismo das mesmas, mediante decréscimo do teor de matéria fresca, teor de clorofilas, carboidratos, proteínas solúveis e com isso provocando distúrbios e limitando sua produtividade (MAHBOOBEH; AKBAR, 2013).

Avaliação dos estresses abióticos e seus impactos ecológicos em plantas tem sido uma área de interesse nos últimos anos com vistas a elaboração de novas estratégias para fitorremediação, e tolerância das plantas aos mesmos (SCHUTZENDUBEL; POLLE, 2002). Além disso, o estresse salino tem uma enorme influência sobre o metabolismo secundário das plantas, muitas vezes atuando como elicitores, potencializando a produção de metabólitos secundários (GHASSEMI et al., 2011; EZZ et al., 2009). É nesse contexto que o cultivo de plantas medicinais e suas respostas às condições ambientais tornam-se fundamentais, onde a avaliação do comportamento da espécie de interesse, mediante quantificação de seus atributos morfofisiológicos torna-se uma importante ferramenta no desenvolvimento de plantas medicinais submetidas a condições de estresse (FREITAS et al., 2012). É imprescindível ainda, que se desenvolvam estudos no sentido de buscar espécies que mais se adaptem as condições salinas, de modo que áreas degradadas voltem a ser produtivas. A avaliação do comportamento de espécies arbóreas em solos degradados, visando à escolha de plantas mais tolerantes aos sais, representa uma alternativa viável. Várias dessas espécies são de usos múltiplos, fornecendo uma melhor proteção contra a erosão, reduzindo a evaporação, aumentando a permeabilidade e a porosidade do solo (LEITE et al., 2010) e conseqüentemente modificando o microclima superficial (MORGAN; RICKSON, 1995).

Lippia gracilis Shauer, pertencente à família Verbenaceae, é uma espécie endêmica do Nordeste brasileiro (GOMES et al., 2011), conhecida popularmente conhecida como “alecrim-da-chapada”, de porte subarbustivo com altura variando de 1,2 a 3,0 metros, pouco ramificado, contendo folhas aromáticas, flores de coloração branca (MATOS et al., 2004) e frutos contendo um número bastante reduzido de sementes viáveis (observação pessoal). Geralmente a espécie é encontrada nos Estados da Bahia, Sergipe, Piauí (LORENZI; MATOS, 2002), no semiárido do Estado de Pernambuco e em pequena parte do Rio Grande do Norte (MARRETO et al., 2008), sendo que neste Estado a mesma ocorre normalmente em áreas de afloramentos calcáreos e apresentando um sistema radicular bastante superficial (observação pessoal). As folhas de *L. gracilis* são ricas em óleo essencial, acumulado em tricomas glandulares (TOZIN et al., 2015), apresentando significativa atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias

(ALBUQUERQUE et al, 2006; FERNANDES et al., 2015), em função do elevado teor de timol e carvacrol (RAGAGNIN et al., 2014) que atuam sinergicamente com outros componentes presentes no óleo essencial (CHORIANOPOULOS et al., 2004).

Os constituintes voláteis e semi-voláteis de *L. gracilis* vem sendo usados topicamente em dermatoses, infecções da garganta, resfriados, tratamento da acne; como agente larvicida no controle de espécies como *Aedes aegypti* e *Callosobruchus maculatus* (PEREIRA et al., 2007; MARRETO et al., 2008). Também se observou eficácia no controle *in vitro* de larvas e teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CRUZ et al, 2013), bem como atividades moluscida e antioxidante (LIMA et al., 2008). A ação anticancerígena do óleo essencial de *L. gracilis* foi observada em ensaios *in vitro* da proliferação e apoptose de células HepG2 (human hepato cellular carcinoma) e em camundongos com células tumorais de Sarcoma 180 (S-180) ou Tumor de Crocker, evidenciando em ambos ensaios uma atividade antitumoral significativa (FERRAZ et al., 2013).

Diante da grande relevância medicinal e econômica, juntamente com outras espécies do gênero como *L. alba* e *L. sidoides*, *L. gracilis* foi incluída na primeira lista da Central de Medicamentos (CEME), extinto órgão do Ministério da Saúde do Brasil, que selecionava plantas medicinais a serem investigadas quanto ao efeito farmacológico, toxicológico e à composição química (BRASIL, 2006). Em função da importância das espécies medicinais, existe a necessidade de explorar o cultivo das mesmas em terras degradadas, pois a maioria dos estudos revela que as plantas medicinais podem ser utilizadas na recuperação de ambientes impactados (KIRAN et al., 2009), além do fato de que, esses ambientes favorecem o aumento da produção de óleos essenciais (MOSTAJERAN et al., 2014). Porém, apesar de *L. gracilis* ser uma espécie promissora, em função da importância dos metabólitos secundários produzidos, bem como pelo fato de ser uma espécie endêmica da região semiárida, ainda não há estudos a respeito do comportamento morfofisiológico dessa espécie e suas respostas às condições ambientais, principalmente o seu cultivo sob irrigação salina, corroborando o fato de que, pouco se sabe sobre o efeito dessas condições ambientais sobre as plantas medicinais (AGHAEI; KOMATSU, 2013), em especial importantes espécies de uso medicinal no Nordeste brasileiro (FREITAS et al., 2012).

Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos, em função do tempo de exposição, da salinidade da água de irrigação sobre os atributos morfofisiológicos e o acúmulo de íons em plantas de *L. gracilis*. Um entendimento quantitativo do comportamento da espécie, submetida a doses crescentes de sais, ao longo do tempo, é de fundamental importância para uma melhor compreensão dos fatores que influenciam a ecofisiologia da

espécie, favorecendo assim, o desenvolvimento de boas práticas de manejo que visem a exploração sustentável e a proteção desse importante recurso.

Nosso trabalho abrange os seguintes questionamentos:

Quais os efeitos interativos da salinidade e tempo de exposição, sobre o acúmulo de biomassa e área foliar de plantas de *L. gracilis*?

Como a alocação de biomassa é afetada quando as plantas são cultivadas em ambiente salino, ao longo do tempo?

Quais as causas que poderiam conduzir diferenças na taxa de crescimento relativo de *L. gracilis*?

A interação da salinidade e tempo de exposição induzem a *L. gracilis* a aumentar a taxa de fotossíntese e/ou a diminuir a taxa de respiração, resultando em uma alta taxa de assimilação líquida?

As plantas de *L. gracilis*, sob estresse salino, ao longo do tempo, alocam mais biomassa para as folhas (alta razão de área foliar), ou produzem folhas mais finas ou menos densas resultando em uma alta área foliar específica?

Quais os efeitos do estresse salino, ao longo do tempo sobre a absorção e translocação dos íons sódio, potássio e cloreto em plantas de *L. gracilis*?

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Efeitos do excesso de sais sobre o solo

A salinidade do solo é uma condição adversa predominante em regiões áridas e semiáridas ao redor do mundo, e que traz graves consequências pedológicas, climáticas, hidrológicas, geoquímicas, agrícolas, sociais e econômicas (HILLEL, 2000; ALLBED; KUMAR, 2013). Os solos halomórficos ou solos salinos e sódicos, geralmente são caracterizados pela presença de sais solúveis, sódio trocável ou ambos, em horizontes ou camadas próximas à superfície (RIBEIRO, 2010). Nesses ambientes, onde as condições favorecem o acúmulo de sais, os íons predominantes são os cloretos, sulfatos e bicarbonatos de Na^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} (QADIR et al., 2007).

A classificação dos solos salinos, de acordo com Richards (1954), baseia-se nos efeitos da salinidade sobre as plantas e dos níveis de sódio no complexo de troca de cátions, expressos em termos de condutividade elétrica do extrato de saturação (CE_{es}), percentagem de saturação por sódio (PST) ou razão de adsorção de sódio (RAS), respectivamente, classificando os solos em três grupos: salino (solonchaks), sódico (solonetz) e salino – sódico (solonetz solodizado) conforme mostra a Tabela 1. Nesta classificação, o valor estabelecido da CE_{es} para distinguir solos salinos dos não salinos, é fixado em 4 dS m^{-1} , o qual é equivalente a cerca de 40 mmol L^{-1} de NaCl e gera uma pressão osmótica de aproximadamente 0,2 MPa.

Tabela 1. Classificação dos solos afetados por sais quanto as características químicas conforme Richards (1954).

Solo	CE_{es} (dS m^{-1}) ¹	RAS (%) ³	PST (%) ²	pH
Não Salino	<4	<13	<15	<8,5
Salino/Solonchaks	≥4	<13	<15	<8,5
Sódico/Solonetz	<4	>13	>15	≥8,5
Salino - Sódico/Solonetz Solodizado	≥4	>13	>15	<8,5

Fonte: FRANCISCO FÁBIO MESQUITA OLIVEIRA.

¹ CE_{es} , condutividade elétrica no extrato de saturação.

$$^2\text{PST} = \frac{\text{sódio trocável} \left(\frac{\text{mE}}{100 \text{ g de solo}} \right)}{\text{Capacidade de Troca de Cátions (CTC)}} \times 100 = \frac{\text{Na}}{\text{Na} + \text{Ca} + \text{Mg} + \text{K}} \times 100$$

$$^3\text{RAS} = \frac{\text{Na}^+}{\sqrt{\frac{\text{Ca}^{++} + \text{Mg}^{++}}{2}}}$$

O processo de salinização, nas regiões áridas e semiáridas, decorrentes das condições edafoclimáticas naturais como baixa precipitação pluviométrica, associada com a presença maciça de sais solúveis, com altas taxas de evaporação e a deposição de sais provenientes das

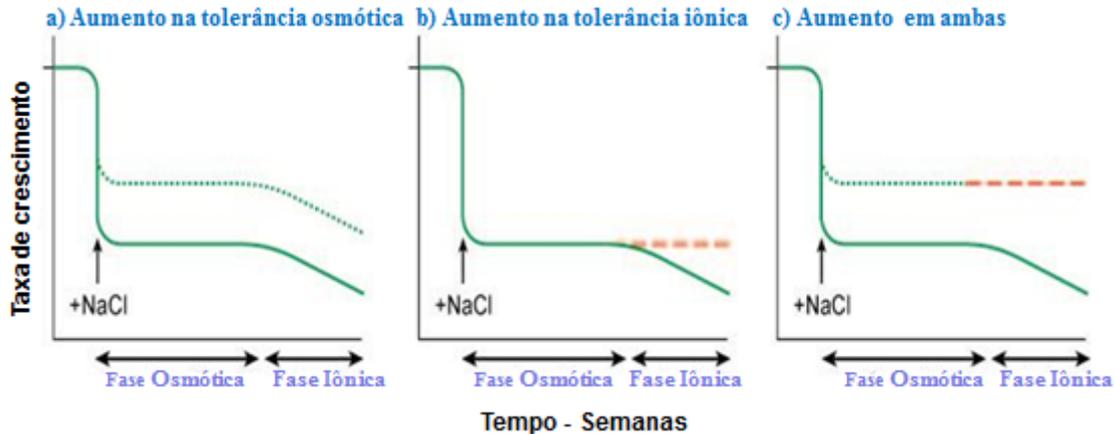
águas oceânicas, ação das chuvas e ventos, denomina-se salinização primária ou pedogênica (SANTOS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010). Infelizmente, devido à rápida expansão populacional e rápido desenvolvimento econômico, as atividades humanas, como a exploração de grandes áreas de terra, irrigação inadequada, poluição industrial e uso excessivo de fertilizantes aceleram e/ou intensificam a salinização do solo (ZHANG, 2011), sendo esse processo denominado de salinização secundária ou antrópica.

O efeito da salinidade sobre o solo ocorre pela interação eletroquímica entre os sais e a argila, onde concentrações elevadas de sódio provocam a expansão das argilas, reduzindo a porosidade, sendo as partículas dispersas, translocadas no perfil do solo, acumulando-se e formando uma crosta que reduz a permeabilidade do solo e causa problemas de drenagem. A instabilidade química e desestruturação física do solo, reduz da condutividade hidráulica do mesmo (RIBEIRO et al., 2009), diminuindo a taxa de decomposição da matéria orgânica (NEUBAUER et al., 2013), resultando em solos anaeróbios e inférteis. As alterações químicas do solo e a diminuição do potencial osmótico, devido a flutuações na salinidade, afetam negativamente o processo de mineralização da matéria orgânica e a disponibilidade de nitrogênio, em função dos efeitos tóxicos dos sais sobre a microbiota do solo (LODHI et al., 2009; GUÉNON et al., 2013).

2.2 Efeitos da salinidade sobre as plantas

Os estresses ambientais, em particular a salinidade e sodicidade afetam adversamente o crescimento e a produtividade das plantas (ISLAM et al., 2011), pois o acúmulo de sais solúveis na zona radicular, mediante redução do potencial osmótico do solo ou pelo acúmulo de íons tóxicos, causam diversas alterações no metabolismo das plantas (MUNNS, 2005). A extensão dos danos causados pelo excesso de sais depende da espécie, variedade, fase de crescimento, fatores ambientais, e a natureza dos sais (YADAV et al., 2011). As altas concentrações de sais no solo reduzem a capacidade de absorção de água, além de se acumularem nos tecidos vegetais, inibindo diversos processos fisiológicos e bioquímicos. Um modelo que demonstra os efeitos do estresse salino sobre as plantas foi proposto por Munns e Termaat (1986), conforme exposto na figura 1. De acordo com esse modelo, as plantas sensíveis ou tolerantes à salinidade se diferem quanto à velocidade em que os íons tóxicos alcançam níveis danosos ao tecido foliar.

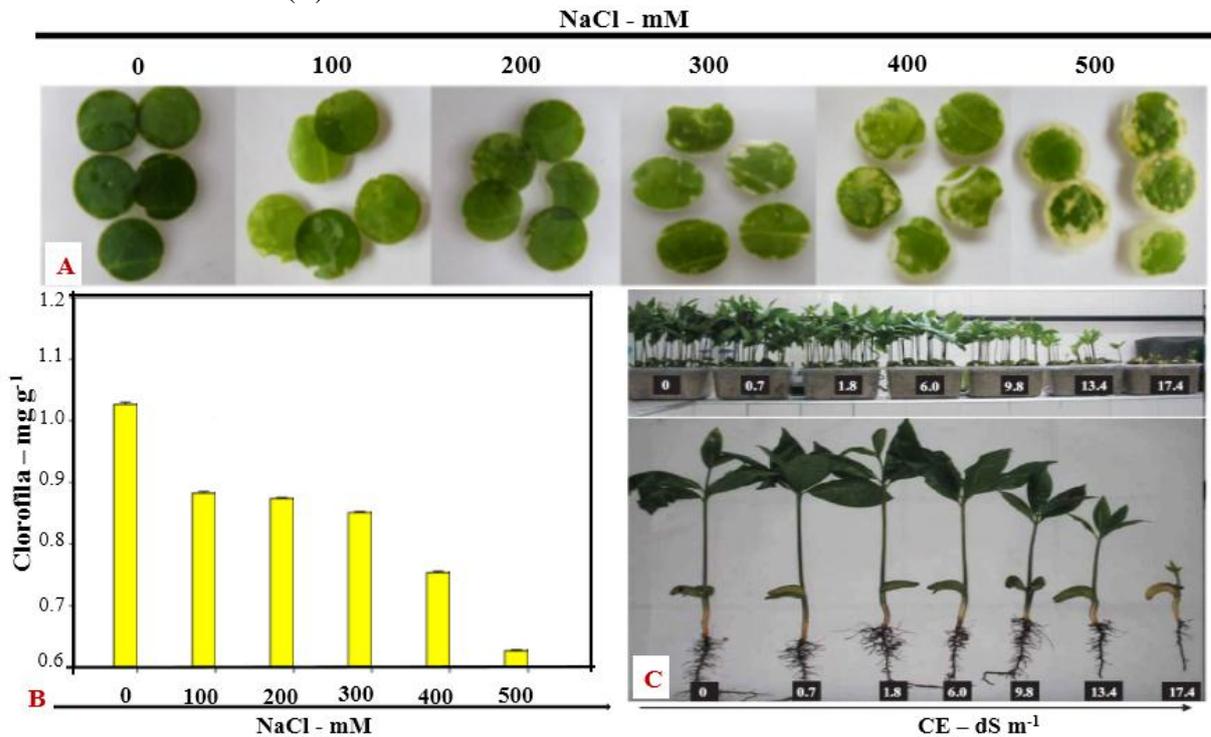
Figura 1. Esquema representativo da resposta de crescimento ao estresse salino, ocorrendo em duas fases: uma resposta rápida onde ocorre o aumento na pressão osmótica externa (fase osmótica), e uma resposta mais lenta devido à acumulação de Na^+ nas folhas (fase iônica). A linha verde (sólida) representa a alteração na taxa de crescimento, após a adição de NaCl . **(a)** A linha verde (pontilhada) representa a resposta hipotética de uma planta com uma maior tolerância ao componente osmótico do estresse salino. **(b)** A linha vermelha (pontilhada) representa a resposta de uma planta com uma maior tolerância para o componente iônico do estresse salino. **(c)** A linha verde e vermelha representa a resposta de uma planta com tolerância tanto aos componentes osmótico e iônico do estresse salino.



Fonte: MUNNS; TESTER (2008).

Para suportar o estresse salino, as plantas têm desenvolvido mecanismos complexos, embora a resposta das plantas à salinidade, de uma forma geral, seja explicada pelo modelo de resposta de duas fases, descrito por Munns e Termaat (1986) (Figura 1). De acordo com este modelo, o crescimento de plantas submetidas ao estresse salino é inicialmente reduzido pelo baixo potencial osmótico da solução do solo, quando a concentração de sais em torno da rizosfera atinge um determinado limiar. Esse limite na concentração salina provoca um aumento na pressão osmótica do solo, prejudicando a absorção de água pela planta e desencadeando em consequência, uma forte redução na taxa de crescimento, devido à diminuição na formação e expansão das folhas e gemas laterais (FOROOZANFAR, 2013). A segunda fase (íon-específica) ocorre mais tardiamente quando os sais tóxicos se acumulam nas folhas maduras que não crescem mais e, portanto, não diluem o conteúdo de sais acumulados, levando ao aparecimento de necrose, clorose, abscisão e morte prematura. Se a taxa de senescência (ou morte) das folhas mais velhas for maior do que a taxa formação de folhas novas, a capacidade fotossintética diminuirá a ponto de não suprir a demanda metabólica basal da planta, levando-a a uma drástica redução (ou cessão completa) na sua taxa de crescimento (MUNNS; TESTER, 2008) (Figura 2).

Figura 2. Efeitos de diferentes concentrações de NaCl sobre a morfofisiologia das plantas, aqui evidenciado pela clorose (A), senescência das folhas /degradação da clorofila e redução na produção de massa seca e área foliar (C).



Fonte (A – B): Adaptado de XIAO et al. (2014) e (C) adaptado de ABREU et al. (2008).

2.2.1 Efeitos do estresse salino sobre as plantas – Nível fisiológico

Um aumento da concentração de sais solúveis na água de irrigação ou do solo pode provocar problemas de fitotoxicidade, mediante déficit hídrico provocado tanto pela redução do potencial osmótico da solução do solo, quanto pelo efeito causado pelo acúmulo de determinados íons, os quais provocam toxicidade iônica e/ou deficiências nutricionais (MUNNS, 2005). As alterações no metabolismo decorrentes do estresse salino são consequências de várias respostas fisiológicas da planta, dentre as quais se destacam as modificações em balanço iônico, comportamento estomático e eficiência fotossintética (ZANANDREA et al., 2006).

2.2.1.1 Metabolismo de proteínas

A toxicidade iônica, restrições de nutrientes, estresses hiperosmótico e oxidativo causados por estresse salino, alteram significativamente a síntese de proteínas interferindo na atividade enzimática (ZHU, 2002; RAJAEI et al., 2009), o que leva a uma alteração nos níveis ótimos de muitas proteínas envolvidas no metabolismo de carbono e energia, incluindo a glicólise, o ciclo dos ácidos tricarboxílicos (TCA) e via das pentoses fosfato (PPP) (GUO et al.,

2012; LI et al., 2015). O estresse salino regula negativamente as funções das proteínas através da degradação das mesmas, que se encontram associadas aos microtúbulos (KUREPA et al., 2012), resultando na desestabilização dos mesmos (WANG et al., 2011). Esse efeito provoca uma redução e reorientação da expansão das células, afetando negativamente o crescimento (MUNNS; TESTER, 2008) ou ainda ativando fatores de transcrição que ativam vias proteolíticas, como o sistema da ubiquitina-proteossoma, que degrada enzimas reguladoras e outras proteínas oxidadas pelo estresse salino (VIERSTRA, 2003; LIU et al., 2007). No entanto, alguns trabalhos comprovam que alguns componentes do complexo ubiquitina/proteossoma 26S diminuem sob estresse salino, sugerindo que a degradação de proteínas é compensada pela biossíntese (LI et al., 2015).

Por outro lado, o estresse salino incrementa a produção das proteínas ricas em glicina (PRGs) e em prolina (PRPs), além das proteínas arabinogalactânicas (PAGs), que são componentes estruturais essenciais das paredes celulares (LI et al., 2015), cuja biossíntese e acumulação em tecidos vasculares são parte dos mecanismos de defesa das plantas (MOUSAVI; HOTTA, 2005). Adicionalmente sob estresse salino uma série de enzimas envolvidas no sistema antioxidante, como superóxido dismutase (SOD), ascobato peroxidase (APX), catalase (CAT), glutathione transferase (GST) e guaiacol peroxidase (GPOD), tem seus níveis de expressão aumentados, em função da essencialidade desse sistema na prevenção de danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (DU et al., 2010; WITZEL et al., 2009). Essa regulação diferencial de diferentes componentes da maquinaria de síntese de proteínas indica que os mecanismos pelos quais as plantas lidam com o estresse salino são bastante complicados (LI et al., 2015).

2.2.1.2 Expressão gênica

O estresse provoca alteração significativa no padrão de expressão de genes envolvidos em diversas vias fisiológicas e reguladoras que atuam em nível de transdução de sinal, componentes da parede celular e transportadores de membrana e genes envolvidos na regulação da expressão gênica de fatores de transcrição (UEDA et al., 2006; WALIA et al., 2007). Exemplos de genes de sal de resposta estão listados na Tabela 2, e estes genes são principalmente classificados nas seguintes categorias funcionais: transporte de íons ou homeostase (genes de *SOS*, *AtNHX1*, e *H⁺-ATPase*), genes associados à senescência (*SAG*), chaperonas moleculares (*HSP*), e fatores de transcrição relacionados com desidratação (*DREB*).

Tabela 2. Exemplos de genes regulados positivamente em resposta ao estresse salino.

Espécies	NaCl - mM	Nome do Gene	Função gênica	Referências
<i>Brassica juncea</i> e <i>B. campestris</i>	25 e 50	<i>SOS1</i> <i>SOS2</i> <i>SOS3</i> <i>AtNHX1</i>	(i) Na ⁺ /K ⁺ antiporte no plasmalema (ii) Proteína cinase (iii) Proteína ligante de cálcio (iv) Na ⁺ /K ⁺ antiporte vacuolar	Chakraborty et al. 2012
<i>Oryza sativa</i>	50	<i>PRP</i> <i>SAG</i> <i>HSPC025</i>	(i) Proteína rica em prolina e proteção da da parede celular (ii) Genes associados a senescencia, processos regulatórios e transdução de sinal; (iii) Proteínas heat-shock e proteínas estabilizantes	Roshandel e Flowers, 2009
<i>Oryza sativa</i>	100	<i>OsHSP23.7</i> <i>OsHSP71.1</i> <i>OsHSP80.2</i>	Proteínas heat-shock, chaperonas moleculares e proteínas envolvidas em no enovelamento e transporte	Zou et al. 2009
<i>Arabidopsis thaliana</i>	150	<i>AtSKIP</i>	Fator de transcrição e poliadenilação	Lim et al. 2010

Fonte: GUPTA; HUANG (2014).

Muitos fatores de transcrição regulam a expressão de genes da biossíntese de antocianinas, secreção extracelular de hidratos de carbono, e a formação de tricomas (RODRIGUEZ-URIBE et al., 2011), desempenhando papéis importantes no processo de estresse salino (CAO et al., 2006). O estresse salino também influencia a estrutura da cromatina, induzindo acetilação das histonas e modificando o padrão de metilação/hipometilação do DNA (KARAN et al., 2012), alterando dessa forma, a expressão de genes relacionados a processos morfofisiológicos essenciais durante uma resposta adaptativa (LI et al., 2014).

2.2.1.3 Fotossíntese

Durante o estresse salino, a fotossíntese é afetada diretamente pela redução da condutância dos estômatos do mesófilo foliar, reduzindo a absorção de CO₂ (Flexas et al., 2007), o que provoca uma redução na eficiência de carboxilação da ribulose- 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCo) nos parâmetros de fluorescência da clorofila a, fluorescência inicial (F₀), fluorescência máxima (F_m), eficiência fotoquímica máxima do FS II (F_v/F_m), no rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F_m'$), e na taxa de transporte de elétrons, evidenciando assim os danos causados pela salinidade no aparato fotossintético (TATAGIBA et al., 2014).

Adicionalmente, altas concentrações de sais que se acumulam no tecido foliar, induzem inativação da RuBisCo em função do rompimento das membranas dos cloroplastos, ocasionado por espécies reativas de oxigênio geradas através da fotorredução do O₂ para formar superóxido (reação de Mehler) ou através da interação de clorofila triplete (¹Chl*) para formar oxigênio singleto (¹O₂) (FOYER et al, 2002), provocando a fotoinibição do fotosistema II (LUPINKOVÁ; KOMENDA, 2004). Além disso, o estresse salino promove severos danos às enzimas que degradam amido nos cloroplastos, juntamente com a degradação de clorofilas, interferindo negativamente em todos os componentes dos fotossistemas, no transporte de elétrons na membrana e no gradiente de prótons entre o lúmen do tilacóide e o estroma (MARCONDES; GARCIA, 2009; TAVAKKOLI et al., 2010), resultando na diminuição da taxa fotossintética líquida.

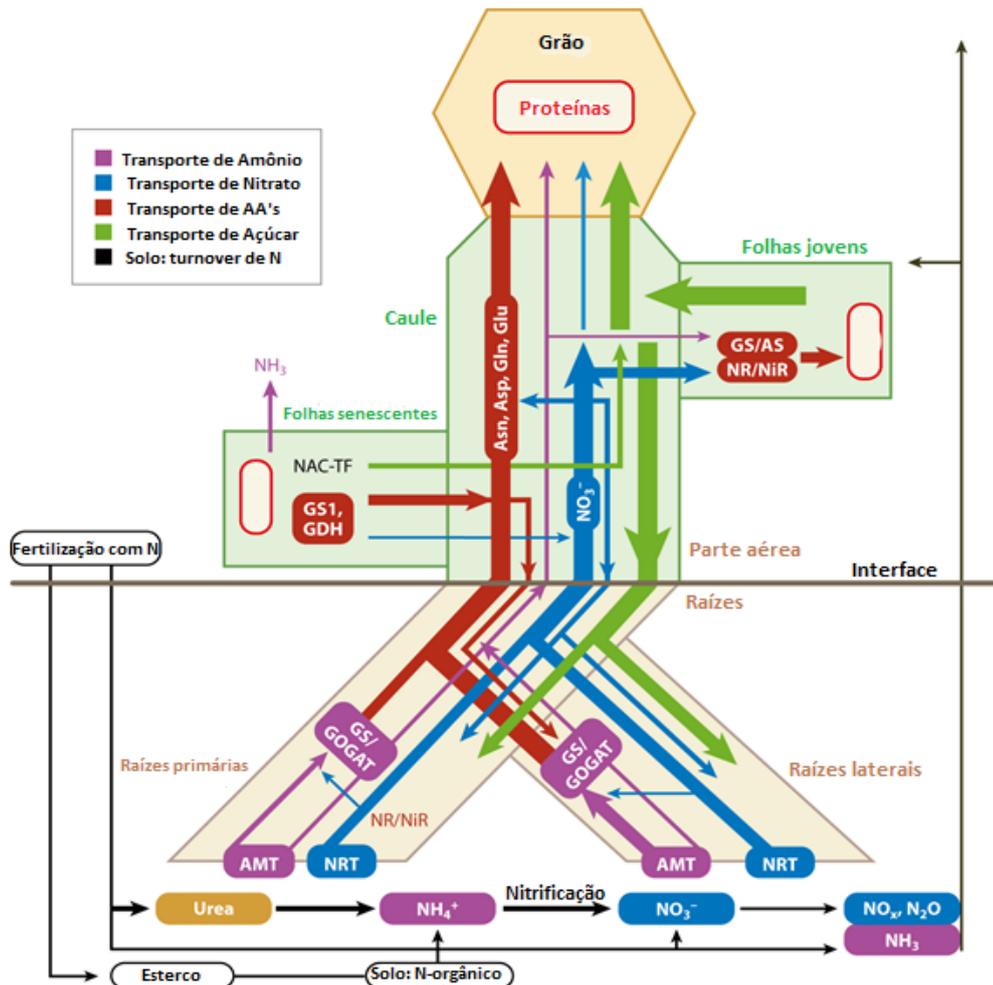
2.2.1.4 Desbalanço nutricional

Uma quantidade excessiva de sais solúveis no meio ambiente da raiz provoca estresse osmótico, o que pode resultar na perturbação das relações água-plantas na absorção e utilização de nutrientes essenciais, e também na acumulação de íons tóxicos (NAWAZ et al., 2010). Um dos efeitos mais conhecidos do estresse de sódio na nutrição da planta é uma supressão da absorção de potássio, onde a interação competitiva por sítios essenciais entre esses dois íons durante a fase de absorção iônica, provoca alterações nas proporções intracelulares destes íons levando à disrupção das atividades desempenhadas pelo potássio (BLUMWALD et al., 2000). Uma variação no gradiente de potencial através da membrana plasmática, devido ao Na⁺, pode ser responsável por efluxo de K⁺, onde a despolarização da membrana via canais de potássio e/ou canais de cátions não seletivos (NSCC's), provoca uma diminuição na concentração citosólica de K⁺, e um aumento na concentração de Ca²⁺ citosólico que por sua vez leva a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO's) que causam a morte celular programada (MCP) (SHABALA, 2009).

O aumento nas concentrações internas de sódio provoca mudanças nas condições osmóticas que estimulam o efluxo de potássio, devido aos danos provocados na membrana plasmática (BRITO et al., 2010), ocasionados pela deficiência de cálcio, visto que o sódio provoca a sua dessorção, substituindo-o na membrana plasmática (MURATA et al., 2000). Esse processo também altera a capacidade de transporte de nitrato (CRAMER et al., 1986), principal fonte de nitrogênio em solos agrícolas, cuja deficiência é o que mais frequentemente limita o crescimento de plantas (MELONI et al., 2004).

Como parte do metabolismo global das plantas, o metabolismo do nitrogênio também é fortemente afetado pelo estresse salino, devido à essencialidade desse macronutriente, a nível de metabolismo primário. Esse elemento está envolvido também, na síntese de compostos envolvidos nos mecanismos de tolerância ao estresse (LÄUCHLI; LÜTTGE, 2002), sendo essencial para a construção de células e tecidos vegetais. Esse elemento químico muitas vezes vem de aplicação de fertilizantes, e, embora a atmosfera é maioritariamente constituído por N, apenas as plantas da família Leguminosae/Fabaceae podem converter N_2 atmosférico em sua forma biodisponível, o nitrato (NO_3^-), embora o nitrito (NO_2^-) e o cátion amônio (NH_4^+), em ultima instância, resultem do processo de nitrificação (MOKHELE et al., 2012) (Figura 3).

Figura 3. Rotas esquemáticas de absorção de N da rizosfera, incluindo a fonte de fertilizante nitrogenado a ser adquirido, principalmente na forma de amônio e nitrato pelas raízes, transporte, assimilação e remobilização no interior da planta. As espessuras das setas representam esquematicamente as quantidades relativas de nitrogênio e açúcar no interior da planta. Abreviaturas: AMT, transportador de amônio; AS, asparagina sintetase; Asn, asparagina; Asp, aspartato; GDH, glutamato desidrogenase; Gln, Glutamina; Glu, glutamato; GOGAT, glutamina 2-oxoglutarato-aminotransferase; GS, a glutamina sintetase; NAC-TF, fatores de transcrição que pertencem à família NAC; NiR, nitrito redutase; NR, nitrato redutase; NRT, transportador de nitrato.



Fonte: XU et al. (2012).

A assimilação de nitrogênio pelas plantas (Figura 3), em solos aeróbios onde nitrogênio está predominantemente disponível sob a forma do íon NO_3^- , se dá em grande parte pelas raízes que o transporta para a parte aérea, reduzindo-o a nitrito, no citosol, pela nitrato redutase (NR, EC 1.6.6.1) e, em seguida, a amônio (NH_4^+) pela nitrito redutase (NiR, EC 1.6.6.4), nos plastídeos e/ou cloroplastos. O íon NH_4^+ derivado da redução primária do NO_3^- , bem como de outras vias metabólicas (absorção direta pelas raízes, fotorrespiração e catabolismo dos aminoácidos) é diretamente absorvida através de transportadores de amônio e convertido primeiramente a glutamina, nos plastídios e citoplasma, pela glutamina sintetase (GS, EC 6.3.1.2), e, em seguida, a glutamato pela glutamina 2-oxoglutarato aminotransferase (GOGAT) (LAM et al., 1996; XU et al., 2012). Alternativamente, NADH-glutamato-desidrogenase (GDH) mitocondrial pode incluir amônio em glutamato em resposta a níveis elevados de amônio sob estresse.

Sob estresse salino a assimilação de nitrogênio, sob a forma de NO_3^- , é drasticamente reduzida em função do antagonismo entre os íons Cl^- e NO_3^- (MOYA et al., 1999), atribuído à competição dos íons Cl^- pelos transportadores de NO_3^- (OGAWA et al., 2000) e/ou inativação dos transportadores de NO_3^- pelos efeitos tóxicos de íons cloreto (LIN et al., 2002), levando a uma menor assimilação de nitrogênio, conseqüentemente, provocando uma redução na síntese de ácidos aminados (FLORES et al., 2002). Além disso, a salinidade reduz a absorção de NO_3^- em função da diminuição na atividade e teor da nitrato redutase e nitrito redutase (FARISSI et al., 2014; HOSSAIN et al., 2012), bem como pela redução da quantidade de substrato no sítio ativo da enzima (NATHAWAT et al., 2005), ou ainda regulando negativamente os transportadores de nitrato (YAO et al., 2008). Adicionalmente o excesso de sais reduzem o fluxo da seiva no xilema, em função dos efeitos osmótico e íon-específico, resultando em rompimento da membrana das células radiculares e provocando uma redução no fornecimento de água e nutrientes, inclusive o nitrato (ABD-EL BAKI et al., 2000; ARAGÃO et al., 2010), induzindo ao aparecimento dos sintomas de deficiência como clorose, senescência foliar precoce e crescimento deficiente.

As plantas submetidas ao estresse salino são afetadas pela deficiência de fósforo (P) (GRATTAN; GRIEVE, 1999) uma vez que este é um componente indispensável de ácidos nucléicos e fosfolipídios da membrana, além de desempenhar um papel fundamental na transferência de energia, como um regulador das atividades enzimáticas, e na transdução de sinal (KAVANOVÁ et al., 2006). A deficiência de fósforo se dá principalmente em locais que prevalecem solos calcários e alcalinos (VANCE et al., 2003) e solos salino-sódicos com pH elevado, onde os níveis de sais solúveis podem induzir a deficiência de P (MTIMET, 2001;

ZRIBI et al., 2012). Em solos salinos a deficiência desse macronutriente ocorre em função do aumento da força iônica que reduzem atividade de P, bem como de processos de sorção que lixiviam esse nutriente da solução do solo (UYGUR; YETISIR, 2006).

Nas plantas a deficiência de fósforo (P), se traduz em uma séria de respostas metabólicas ajustadas ao conteúdo de P internamente, bem como a sua disponibilidade no solo. Essas respostas incluem mudanças na arquitetura e morfologia radicular (YUAN; LIU, 2008), redução no conteúdo de clorofilas (ZRIBI et al., 2012) e acúmulo de antocianinas (JIANG et al., 2007). Além disso, o estresse salino estimula o aumento na síntese e secreção da fosfatase ácida (ACP, EC 3.1.3.2) e fosfatase alcalina (ALP, EC 3.1.3.1) (BYBORDI; EBRAHIMIAN, 2011), em função da baixa disponibilidade de fosfato, resultando assim na ativação dessas enzimas, provocando a liberação de fosfato solúvel a partir dos seus compostos insolúveis dentro ou fora das células, modulando o ajuste osmótico pelo mecanismo de captação de fosfato livre (FINCHER, 1989; NASRI et al., 2015). As folhas deficientes em fósforo apresentam uma coloração verde-escura ou púrpura, apresentando também uma marcante redução na expansão foliar e na razão parte aérea/raiz, afetando o acúmulo de biomassa e conseqüentemente o rendimento.

A salinidade interfere negativamente sobre a absorção e distribuição do cálcio (GONDIM et al., 2010), cuja deficiência provoca o surgimento de necrose, principalmente nas extremidades das folhas em desenvolvimento, uma vez que a principal função do cálcio na manutenção da integridade da parede celular é comprometida (MALAVOLTA et al., 1997). Semelhantemente, o aumento nas concentrações de sais do meio externo ocasiona a diminuição dos teores de magnésio (GARCIA et al., 2007), íon que atua como co-fator em quase todas as enzimas do metabolismo energético e na molécula de clorofila, atuando também na manutenção da integridade dos ribossomos (KLEIN et al., 2004), além de contribuir efetivamente na biossíntese de clorofilas, fixação de dióxido de carbono e transporte de foto-assimilados, via floema (CAKMAK; YAZICI, 2010). As plantas deficientes em magnésio reduzem o crescimento radicular pronunciadamente, aumentando a razão parte aérea/raízes e apresentam visualmente amarelecimento foliar, na forma de clorose internerval, juntamente com manchas avermelhadas na lâmina da folha (CAKMAK, 1994).

Com relação aos efeitos do estresse salino sobre o acúmulo de enxofre alguns autores relatam que esse ânion decresce nos tecidos vegetais, em função do aumento nos níveis de sais (CHANG; RANDLE, 2004; GARCIA et al., 2005). Assimilação de enxofre em plantas começa com a absorção desse elemento na forma de sulfato (SO_4^{2-}) a partir do solo e, em seguida, são carregados para a parte aérea através de um grupo de transportadores de sulfato (CHAN et al.,

2013). O enxofre é fundamental na tolerância das plantas ao estresse salino, pois é utilizado na síntese de glutathione, que atua na manutenção do equilíbrio redox celular e reduz os danos causados por espécies reativas de oxigênio (GALLARDO et al., 2014). Além disso, esse ânion é essencial na resposta das plantas à seca e salinidade, uma vez que o mesmo atua na biossíntese do ácido abscísico (ABA), um importante regulador da condutância estomática (WILKINSON; DAVIES, 2002).

Em solos salinos e sódicos, a solubilidade de micronutrientes (Cu, Mn, Fe, Zn e Mo) é particularmente baixa, e as plantas que crescem em tais solos muitas vezes experimentam deficiências nestes elementos (PAGE et al., 1990; EL-FOULY et al., 2011), embora outros pesquisadores relatem uma alta absorção (MORENO et al., 2000; ZUAZO et al., 2004). Essas diferenças, no que diz respeito à capacidade de absorção de microelementos, pode ser atribuída à espécie, ao tipo de tecido, ao nível e composição dos sais, à concentração de micronutrientes, às condições de crescimento e a duração do estudo (GRATTAN; GRIEVE, 1998; HU; SCHMIDHALTER, 2001). Conseqüentemente, a relação entre salinidade e a quantidade de micronutrientes nas plantas é complexa, pois esse fator de estresse pode induzir o aumento, diminuição ou não ter efeito sobre a concentração desses minerais nos tecidos vegetais. Os micronutrientes zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe), boro (B), manganês (Mn), molibdênio (Mo) e níquel (Ni) são importantes constituintes celulares indispensáveis para o crescimento e desenvolvimento das plantas (EPSTEIN; BLOOM, 2006), bem como adjuvantes essenciais na tolerância ao estresse (HABIBI, 2014), uma vez que atuam na biossíntese de pigmentos fotossintéticos e ativação de diversas enzimas (EPSTEIN; BLOOM, 2006; ALMEIDA et al., 2014), partição de fotoassimilados (YRUELA, 2005) e regulação da atividade enzimática e absorção de macronutrientes (SAGI et al., 1997), melhorando assim a produtividade das plantas (ZAYED et al., 2011).

2.2.2 Efeitos do estresse salino sobre as plantas – Nível morfológico

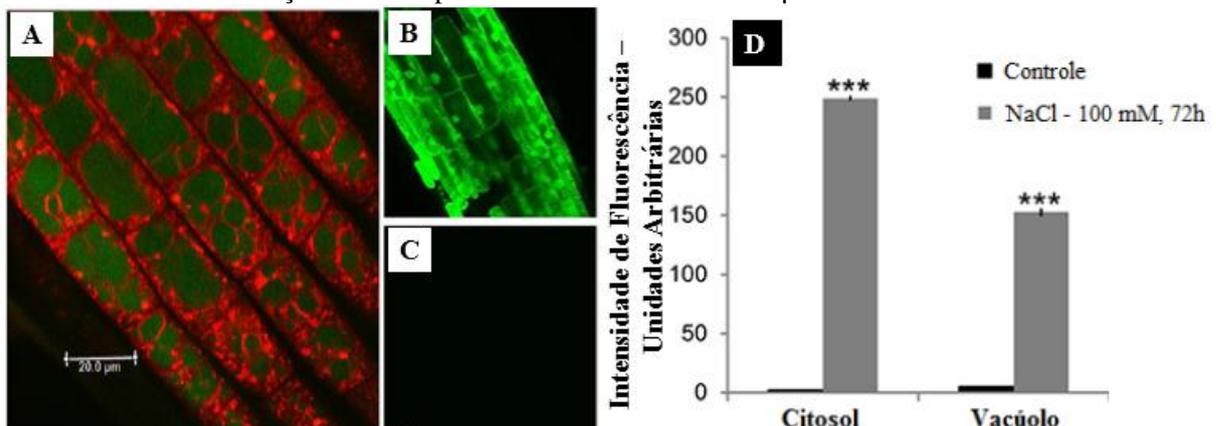
Quando os estímulos ambientais excedem o nível de tolerância máxima de qualquer espécie vegetal, todos os processos estruturais, de desenvolvimento, bioquímicos e fisiológicos (RIAZ et al., 2010) são afetados negativamente. Esses efeitos sobre o crescimento, a morfologia, a anatomia, ultra-estrutura e o metabolismo foram relatados por diversos pesquisadores em diferentes espécies de plantas (SHAO et al., 2008).

O estresse salino, por exemplo, provoca uma redução rápida e potencialmente duradoura da taxa de crescimento da raiz, em função da diminuição no número de células

alongadas e/ou na redução da taxa de alongamento das células, ou de ambos (KNIPFER; FRICKE, 2010). Nesse órgão, o efeito da salinidade afeta também, a estrutura do cilindro vascular e parênquima cortical (AKRAM et al., 2002; BOUGHALLEB et al., 2009), alterando a atividade e expressão de aquaporinas transmembranares (LÓPEZ-PÉREZ et al., 2009; SKORUPA-KLAPUT et al., 2015), diminuindo a condutância hidráulica e conseqüentemente o transporte de água através da membrana plasmática (MARTÍNEZ-BALLESTA et al., 2004). As alterações na condutividade hidráulica da raiz pode ser relacionada à diferença na área de superfície, na taxa de lignificação, no potencial osmótico e distribuição da raízes seminais e adventícias (EMAM; BIJANZADEH, 2012).

O estresse salino danifica os tecidos radiculares alterando a atividade do câmbio vascular, o que reduz a produção de floema e xilema secundários (REINOSO et al., 2004) e provoca diminuição no diâmetro dos vasos xilemáticos, em função de uma repressão no desenvolvimento de metaxilema (CÉCCOLI et al., 2011). Além disso, a salinidade induz a lignificação da endoderme (CHENG et al., 2012), onde a deposição de suberina nas lamelas de células endodérmicas atua como barreira para a absorção de íons via apoplasto (GLENN et al., 1999). A figura 4 mostra algumas alterações anatômicas nas raízes, decorrentes da exposição ao estresse salino.

Figura 4. Microscopia confocal de varredura a laser de secções da zona de transição de raízes (A) de *Triticum aestivum*, co-coradas com CoroNa Green e FM4-64, evidenciando intenso processo de vacuolização. Comparação da intensidade de fluorescência (CoroNa Green dye) resultante do intenso acúmulo de Na⁺ nas raízes de *T. aestivum* submetidas a 100 mM de NaCl (B), durante 72 horas e o controle (água MilliQ) (C). Quantificação de Na⁺ citosólico e vacuolar em raízes de *T. aestivum* (D), evidenciando a distribuição tecido específica do Na⁺. Barra = 200 µm.



Fonte: WU et al. (2015).

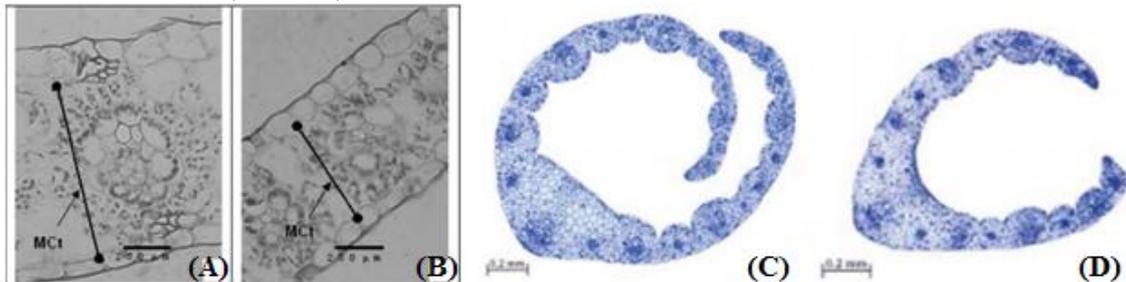
O aumento drástico nas concentrações de Na⁺ e Cl⁻ nos tecidos leva a uma rápida redução do crescimento, mediante inibição da expansão foliar, ocasionada pela redução da turgescência, sendo que isto provoca também um atraso na proliferação e alongamento das

células e inibição completa da divisão celular (MANIVANNAN et al., 2007; ROY et al., 2014). A inibição do crescimento de folhas jovens, na fase osmótica do estresse salino, ocorre por meio da inibição da divisão e alongamento celular causada em parte por diminuição na extrusão de H^+ para o apoplasto, mediante redução na atividade das bombas de prótons (H^+ -ATPases) na membrana plasmática (HATZIG et al., 2010). Adicionalmente, o influxo de íons tóxicos e especialmente o Na^+ leva a inibição dos mecanismos que regulam a extensibilidade da parede celular e conseqüentemente reduz o crescimento (GEILFUS et al., 2010; ZAGORCHEV et al., 2014).

Anatomicamente, o estresse salino provoca redução nas células meristemáticas, aumento da vacuolização das células e formação de vacúolos autofágicos (MAHMOODZADEH, 2008), além da redução no tamanho do córtex e metaxilema, no número de estômatos e espessura foliar (HWANG; CHEN, 1995; AKRAM et al., 2002). Adicionalmente, o aumento da concentração de sais provoca uma redução na espessura do tecido paliçádico, no floema secundário (REINOSO et al., 2004; KARIMI et al., 2009), na secção transversal das folhas e no tamanho da nervura central (possivelmente alterando o processo de recrutamento das células fundadoras do meristema apical) alterando negativamente a venação, interferindo na capacidade de transporte de nutrientes e inibindo a re-translocação de assimilados (HU et al., 2000; HU et al., 2005).

A redução dos espaços intercelulares no mesófilo foliar diminui a condutância estomática e do tecido foliar, restringindo o fluxo de carbono para os cloroplastos, causando em consequência, a inibição da fotossíntese (DELFINE et al., 1998; LORETO et al., 2003), mediante depressão do sistema de captação e transporte de CO_2 . A figura 5 mostra algumas alterações anatômicas no tecido foliar decorrentes do estresse salino.

Figura 5. Micrografias de luz das seções transversais mostrando alterações morfológicas decorrentes do estresse salino. Folhas de *Zea mays* L. (A) controle e (B) tratadas com NaCl (100 mM), mostrando a redução na espessura do mesófilo (Mct) e folhas de (*Triticum aestivum*), onde (A) controle e (B) plantas tratadas com NaCl (120 mM).



Fonte (A – B): CÁRCAMO et al. (2012) e (C – D) HU et al. (2005).

Embora a diminuição da área foliar se constitua em um mecanismo de proteção ao estresse salino, uma vez que isso reduz o volume celular e facilita o ajuste osmótico (ARAÚJO et al., 2010; TAIZ; ZEIGER, 2013), a perda de área foliar fotossinteticamente ativa, altera negativamente o acúmulo de biomassa (VASANTHA et al., 2010) e a partição de fotoassimilados, o que provoca a inibição da taxa de crescimento relativo - TCR (LEBLEBICI et al., 2011). TCR é um fenômeno extremamente complexo e importante, que depende da alocação de biomassa para as folhas, construção eficiente da área da superfície foliar e do crescimento de biomassa por unidade de área foliar, através do ganho de carbono através da fotossíntese e da perda de carbono pela respiração. A contribuição relativa desses três fatores é avaliada pela decomposição da TCR em seus componentes (Taxa de assimilação líquida, TAL; área foliar específica, AFE e razão de massa foliar, RMF), os quais se relacionam com biomassa vegetal (M_P), biomassa foliar (M_L) e arquitetura foliar (A_L), respectivamente, conforme demonstra Shipley (2006), através das equações 1a, 1b e 1c:

$$\left(\frac{1}{M_P}\right)\left(\frac{dM_P}{dt}\right) = \left[\left(\frac{1}{A_L}\right)\left(\frac{dM_P}{dt}\right)\right]\left(\frac{A_L}{M_L}\right)\left(\frac{M_L}{M_P}\right) \text{----- Equação 1a}$$

$$\text{TCR} = \text{TAL} \times \text{AFE} \times \text{RMF} \text{----- Equação 1b}$$

$$\ln(\text{TCR}) = \ln(\text{TAL}) + \ln(\text{AFE}) + \ln(\text{RMF}) \text{----- Equação 1c}$$

As fortes restrições ao crescimento e sobrevivência das plantas, impostas por condições de estresse, modulam as estratégias adaptativas relacionadas com os diferentes atributos morfofisiológicos (como a TCR e seus componentes), sendo estes considerados variáveis-chaves no estudo de espécies que crescem em ambientes adversos (LAMBERS; POORTER, 1992; MOLES; WESTOBY, 2004; SHIPLEY, 2006). Especificamente em ambientes salinos, o excesso de sais solúveis provoca fortes reduções na TCR, que dependendo da espécie, pode provocar alterações negativas na capacidade fotossintética (TAL) e/ou alterações morfológicas (RAF = AFE x RMF). De fato, o estresse salino aumenta a resistência à difusão de CO_2 , diminuindo taxa de assimilação de carbono (TAL), assim como reduzindo a expansão da área foliar (folhas menores e mais espessas), o que provoca um declínio na RAF (consistentemente associada com a diminuição da AFE), resultando na queda da TCR (BAYUELO-JIMÉNEZ et al., 2012). Vale salientar que as alterações morfológicas ou a possível diluição de íons tóxicos pelo crescimento foliar são, geralmente, os processos de longo prazo que ocorrem nas plantas sob estresse salino. Especialmente em espécies lenhosas, é imperativo o estudo do estresse salino durante um longo período de tempo (NIEVES et al., 2011).

2.3 Mecanismos de tolerância das plantas ao estresse salino

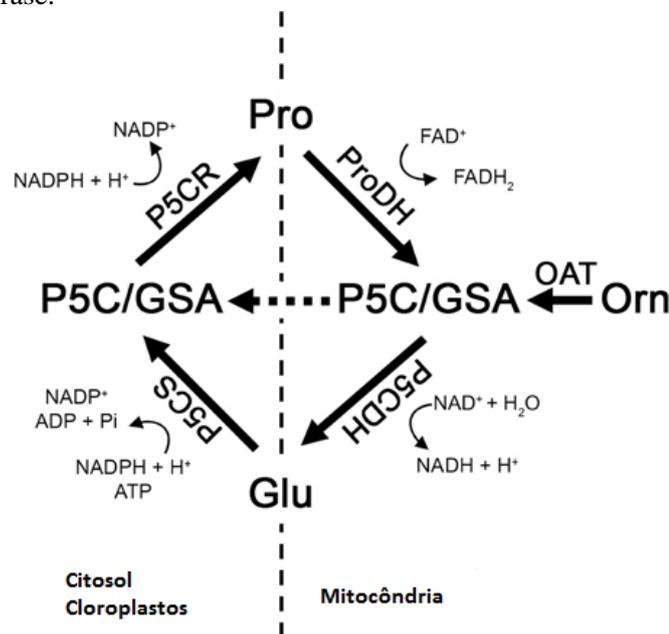
O acúmulo de sais no solo induz a diversos distúrbios fisiológicos e metabólicos, onde as plantas expostas a esse tipo de ambiente estão sujeitas a limitações como (I) baixo potencial osmótico da solução do solo (estresse osmótico); (II) efeitos de íon específico (estresse iônica); (III) restrições à captação de carbono em função da redução da condutância estomática e (IV) desequilíbrio nutricional levando a efeitos nocivos sobre o crescimento e desenvolvimento da planta (KANAWAPEE et al., 2012;. HUSSIN et al., 2013). Para sobreviver em ambiente salino às plantas desenvolveram várias adaptações fisiológicas e bioquímicas, onde os principais mecanismos são o acúmulo ou exclusão de íons (ZHU, 2003), controle de absorção de íons especialmente K^+ pelas raízes e transporte em folhas, (MAHAJAN; TUTEJA, 2005), compartimentação de íons (SHABALA; MACKAY, 2011), biossíntese de osmoprotetores/solutos compatíveis (SLAMA et al., 2015), modificações no processo fotossintético (UZILDAY et al., 2015), ativação de enzimas antioxidantes e síntese de compostos antioxidantes (WANG et al., 2013), síntese de poliaminas (TAKAHASHI; KAKEHI, 2010), geração de óxido nítrico (LUIS, 2015) e indução e modulação de hormônios vegetais (GUPTA; HUANG, 2014).

Como um dos mecanismos de resposta às mudanças no potencial osmótico do meio salino, as plantas sintetizam e acumulam metabólitos de baixo peso molecular, definidos como osmólitos, osmoprotetores ou solutos compatíveis (MUNNS, 2005), que em altas concentrações na célula, atuam auxiliando no ajuste osmótico, e em baixas concentrações atuam na proteção celular (ASHAF; FOOLAD, 2007). Dentre os principais grupos de solutos compatíveis destacam-se: polióis (mio-inositol, pinitol e manitol) (WILLIAMSON et al., 2002) açúcares solúveis (YOUSFI et al., 2010) ou poliméricos (frutanas), poliaminas (putrescina, espermidina e cadaverina) (MANSOUR, 2000), além dos aminoácidos/iminoácidos e compostos quaternários de amônio (prolina, glicina betaína, alanina betaína) (BELKHEIRI; MULAS, 2011).

Dentre os solutos compatíveis, a prolina (Pro) se acumula em uma grande quantidade de espécies botânicas sob estresse salino, sendo isso muitas vezes acompanhado por um aumento da síntese e uma redução concomitante no catabolismo celular (VERSLUES; SHARMA, 2010), embora ambos os processos possam coexistir (FABRO et al., 2004; KAPLAN et al., 2007). A maioria das enzimas do metabolismo da prolina está bem caracterizada a nível bioquímico, mas conexões entre processos anabólicos e catabólicos não foram minuciosamente estudados, sobretudo em circunstâncias onde a degradação inicial de

prolina contribui para estimular as defesas das plantas. A via catabólica da prolina tem lugar nas mitocôndrias, em que a mesma é oxidada para ácido glutâmico (Glu) em dois passos (VERSLUES; SHARMA, 2010), o qual pode ser utilizado como precursor na síntese da Pro, no citosol e plastídeos (Figura 6).

Figura 6. Modelo do metabolismo de Pro em *Arabidopsis*. P5CS e P5CR sintetizam Pro a partir de Glu no citosol e cloroplastos. PRODH e P5CDH oxidam Pro em Glu na mitocôndria. OAT transfere o grupo Δ -amino de Orn para produzir GSA/P5C e Glu 2-oxoglutarato. P5C atua como um intermediário de todas estas vias. GSA, glutamato-semialdeído; P5C, Δ^1 pirrolina-5-carboxilato de etilo; P5CS, P5C sintase; P5CR, P5C redutase; ProDH, prolina desidrogenase; P5CDH, P5C desidrogenase; OAT, ornitina δ -amino transferase.



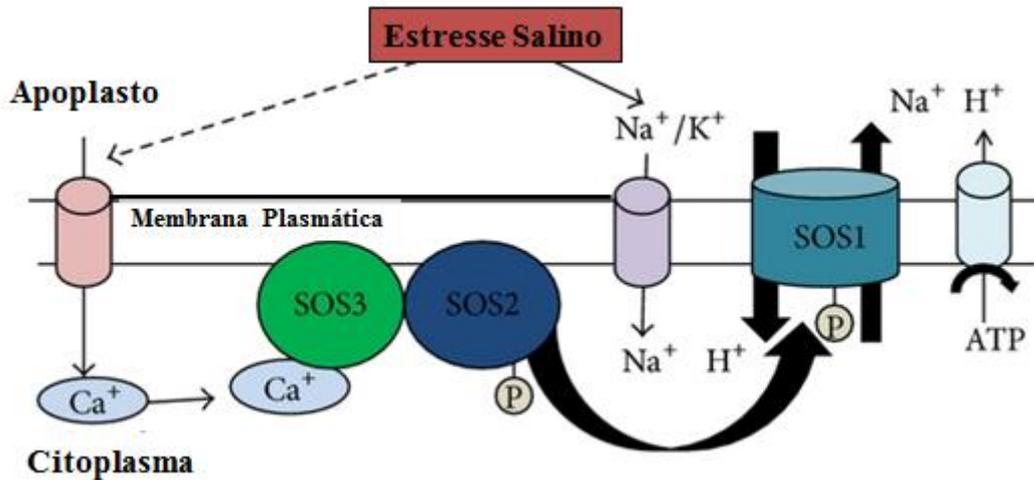
Fonte: Adaptado de RIZZI et al. (2015).

As alterações metabólicas envolvendo a biossíntese e degradação da prolina aliviam os danos impostos pela salinidade de diferentes maneiras. Devido à sua natureza química, este aminoácido desempenha papéis-chaves nas respostas adaptativas ao estresse, desempenhando as seguintes funções: (I) soluto compatível, (II) chaperona molecular para a estabilização da estrutura das proteínas, (III) fonte de nitrogênio e carbono, (IV) para equilibrar o estado redox da célula e (V) sinalizador de estresse que influencia respostas adaptativas (ASHRAF; FOOLAD, 2007; VERBRUGGEN; HERMANS, 2008). Além disso, a sua síntese e degradação gera um extenso transporte de produtos intermediários e cofatores entre os diferentes compartimentos subcelulares, ajudando a ajustar o pH citosólico e o estado redox da célula (LIANG et al., 2013; BEN REJEB et al., 2014). Além disso, a Pro sintetizada em brotos pode ser transportada para as raízes para degradação posterior, sustentando o crescimento das raízes em condições desfavoráveis (SHARMA et al., 2011).

Além das alterações no potencial osmótico, as células vegetais ainda têm seu equilíbrio iônico alterado em decorrência da exposição ao estresse salino. O efeito iônico ocorre como consequência da elevada quantidade de íons dispersos no solo. As plantas internalizam tais íons, cujo resultado é a alteração da razão K^+/Na^+ , que, por sua vez, aumenta a concentração dos íons Na^+ e Cl^- no citosol. Esse desbalanço iônico afeta a atividade enzimática, a regulação e a expressão gênica e inúmeros outros processos celulares (YILDIZTUGAY et al., 2014; LI et al., 2015; SAHI et al., 2006). Além das inúmeras estratégias já citadas para aliviar o estresse salino, as plantas minimizam o afluxo e mantem o efluxo de íons Na^+ e Cl^- , potencialmente tóxicos, através de transportadores de membrana, e translocação e compartimentação no vacúolo celular (KADER, 2006; HAUSER; HORIE, 2010), além da extrusão do Na^+ do simplasto para o apoplasto através de transportadores de membrana Na^+/H^+ , tipo antiporte (BARTELS; SUNKAR, 2005).

Uma das primeiras respostas ao estresse salino é manter a homeostase celular, e para atingir esse equilíbrio, o sódio tóxico acumulado (TESTER; DAVENPORT, 2003) é eliminado por meio de proteínas transportadoras de íons localizadas na membrana plasmática (BLUMWALD et al., 2000). Um dos principais componentes envolvidos no controle da homeostase iônica é a via de sinalização Salt Overlay Sensitive (SOS), cuja ativação, funciona como um mecanismo chave para o controle e a exclusão de íons de Na^+ (ZHU, 2000). A via de sinalização SOS (Figura 07) é constituída por três proteínas principais, SOS1, SOS2, e SOS3. A proteína SOS1 é um transportador Na^+/H^+ do tipo antiporte na membrana plasmática, essencial na regulação do efluxo de Na^+ para o apoplasto, facilitando também o transporte de Na^+ das raízes para a parte aérea (GUPTA; HUANG, 2014). A proteína SOS2 é uma serina/treonina quinase que ativa o SOS1 (LIU et al., 2000), enquanto o SOS3 é uma proteína de ligação ao cálcio capaz de detectar o cálcio citosólico, mediante sinal potencializado pelo estresse salino (ISHITANI et al., 2000). De uma forma simplificada o efluxo de sódio através do SOS1 é regulado pela atividade cinásica do complexo SOS3-SOS2 (CHINNUSAMY et al., 2005), embora esse complexo também outros transportadores de íons, tal como o HKT1 (High-affinity K^+ Transporter), que medeia o transporte de Na^+ para o citoplasma durante o estresse salino. A expressão do gene *HKT1* que codifica esse transportador de Na^+ situado na membrana plasmática das células do parênquima xilemático (ZHU, 2002), é inibida pelo complexo SOS3-SOS2. Além disso, o complexo SOS2-SOS3 interage com proteínas antiporte de Na^+/H^+ localizadas no vacúolo e contribuem para o processo de compartimentalização do Na^+ . A figura 7 resume o mecanismo de funcionamento da via SOS e sua atuação na resposta ao estresse salino (MAHAJAN; TUTEJA, 2005).

Figura 7. Regulação da homeostase iônica pela via de sinalização *Salt Overlay Sensitive* (SOS). O estresse salino é percebido por receptores desconhecidos (?) presentes na membrana plasmática da célula. Isto inclui uma perturbação citosólica de cálcio, a qual é detectada por SOS3, que modifica sua conformação de uma maneira dependente de Ca^{2+} e interage com SOS2. Essa interação libera SOS2 de sua auto-inibição resultando em sua ativação. SOS2 ativada e em complexo com SOS3, fosforila SOS1, um antiporte Na^+/H^+ , resultando em efluxo do excesso de Na^+ .



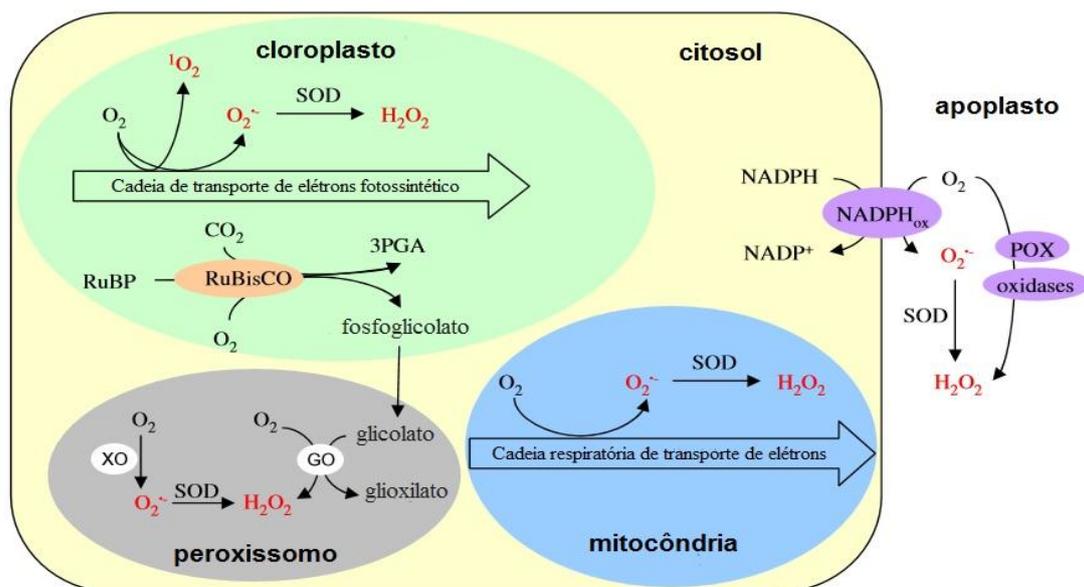
Fonte: GUPTA; HUANG (2014).

As plantas também são capazes de compartimentalizar o Na^+ dentro do vacúolo, fornecendo um mecanismo eficiente para evitar os efeitos deletérios do Na^+ no citosol e manter o potencial osmótico através do acúmulo de Na^+ e Cl^- , facilitando a absorção de água pelas células (APSE et al., 1999). O processo de compartimentalização do Na^+ no vacúolo provoca a alcalinização do mesmo, e as proteínas antiporte de Na^+/H^+ , associadas a vesículas do tonoplasto, foram indicadas como parcialmente responsáveis por essa alcalinização (HASEGAWA et al., 2000). Além do Na^+ , a compartimentalização do cloreto também é importante para a tolerância ao sal, uma vez que níveis elevados de Cl^- no citosol podem ser prejudiciais (XU et al., 1999). Visto que o vacúolo é moderadamente positivo em relação ao citosol, a planta envia os íons Cl^- excedentes desse compartimento para o interior do vacúolo, mediante proteínas transportadoras ou carreadores de membrana que se acoplam ao Cl^- e movimentam este íon através do vacúolo a favor do gradiente de prótons. É sugerido que transportador antiporte de Cl^-/H^+ também esteja envolvido nos processos de compartimentalização deste ânion no vacúolo (HASEGAWA et al., 2000), bem como vários canais aniônicos voltagem-dependentes da família CLC (*Chloride Chanel*) (BRINI; MASMOUDI, 2012).

Uma importante consequência do estresse salino é o aumento do estresse oxidativo, onde uma grande variedade e quantidade de espécies reativas de oxigênio (ERO's), as quais podem desempenhar diversas funções no metabolismo celular, sendo produzidas em diferentes

compartimentos celulares, tais como cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos, membrana plasmática, e outros locais da célula, em função de seus processos metabólicos como a fotossíntese e respiração (MITTLER, 2002; NEIL et al., 2002). Quando produzidos em excesso, as ERO's prejudicam a homeostase metabólica através de danos oxidativos a lipídeos (peroxidação lipídica), proteínas e ácidos nucleicos, resultando em morte celular (MØLLER et al., 2007; NGUYEN et al., 2009). Dentre as principais ERO's podemos destacar o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e o oxigênio singlete (1O_2), que são produzidas nos cloroplastos pela fotorredução do oxigênio e transferência de energia da clorofila no estado excitado tripleto para o oxigênio, respectivamente, e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxil ($\bullet OH$) (WANG et al., 2013). O H_2O_2 , particularmente é gerado por uma redução de dois elétrons do O_2 , catalisada por certas oxidases ou indiretamente, através de redução ou dismutação do $O_2^{\bullet-}$, que é formado por oxidases, peroxidases, ou pelas cadeias transportadoras de elétrons da respiração e/ou fotossíntese (FOYER; NOCTOR, 2000; MITTLER et al., 2004; BINDSCHEDLER et al., 2006; SAGI; FLUHR, 2006). Estas reações geram H_2O_2 em vários compartimentos subcelulares (Figura 8), sendo o impacto desse H_2O_2 fortemente influenciado pelo grau em que o sistema antioxidante permite o seu acúmulo.

Figura 8. Os principais locais de produção de H_2O_2 em células fotossintéticas. GO, glicolato oxidase. 3PGA, 3-fosfoglicerato. POX, peroxidase. RuBisCO, ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase. RuBP, ribulose 1,5-bisfosfato. SOD, superóxido dismutase. XO, xantina oxidase.



Fonte: MHAMDI et al. (2010).

Como mecanismo de tolerância, as plantas usam diferentes estratégias para resolver este problema, sendo um deles um aumento na atividade de enzimas antioxidantes e o acúmulo

de compostos antioxidantes não enzimáticos (SZARKA et al., 2012). O metabolismo antioxidativo, que inclui enzimas antioxidantes e compostos antioxidantes não enzimáticos, desempenham um papel crítico na detoxificação de ROS induzidos por estresse salino (Tabela 3).

Tabela 3. Tipos, natureza e locais de atuação de antioxidantes dentro da célula, segundo Mittler (2002).

Mecanismo Antioxidante	Enzima ou Composto Orgânico	Local na Célula	EROs
Enzimático	Dismutase do Superóxido (SOD – EC 1.15.1.1)	Cloroplasto Citosol Mitocôndria Peroxisomo Apoplasto	•O ₂ ⁻
	Peroxidase do Ascorbato (APX – EC 1.11.1.11)	Cloroplasto Citosol Mitocôndria Peroxisomo Apoplasto	H ₂ O ₂
	Catalase (CAT – EC 1.11.1.6)	Peroxisomo	H ₂ O ₂
	Peroxidase da Glutaciona (GPX – EC 1.11.1.9)	Citosol	H ₂ O ₂ e ROOH
	Peroxidases (POD – EC 1.11.1.7)	Parede Citosol Vacúolo	H ₂ O ₂
	Peroxidase da Tiorredoxina (TPX – EC 1.11.1)	Parede Citosol Mitocôndria	H ₂ O ₂ e ROOH
Não Enzimático	Ácido Ascórbico	Cloroplasto Citosol Mitocôndria Peroxisomo Apoplasto	•O ₂ ⁻ e H ₂ O ₂
	Glutaciona	Cloroplasto Citosol Mitocôndria Peroxisomo Apoplasto	H ₂ O ₂
	α-Tocoferol	Membranas	•O ₂ ⁻ e ROOH
	Carotenóides	Cloroplasto	•O ₂ ⁻

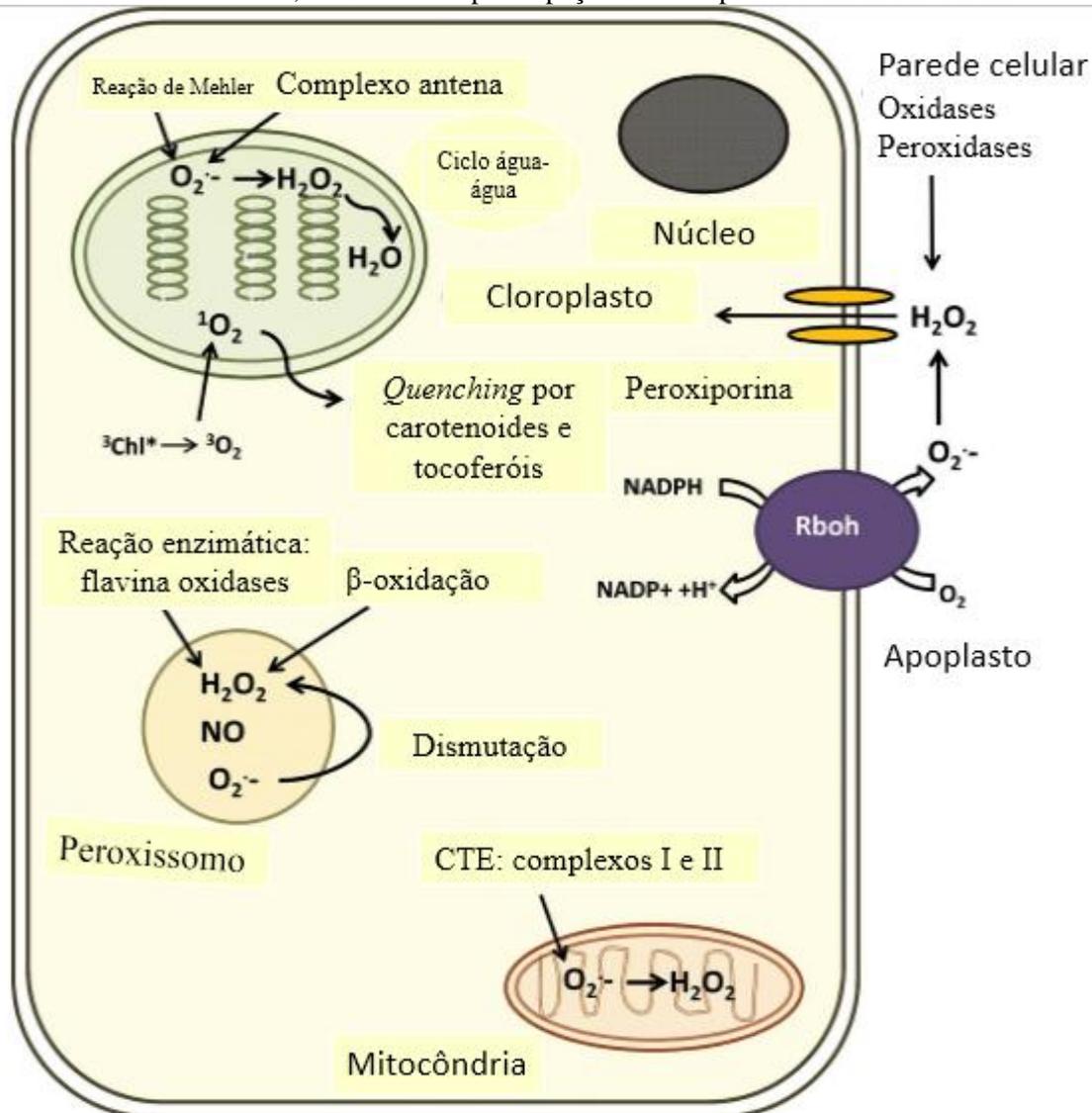
Fonte: PRISCO; GOMES FILHO (2010).

As enzimas antioxidantes envolvidas nos mecanismos de tolerância ao estresse salino são a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), a glutaciona peroxidase (GPX), peroxidase de ascorbato (APX) e glutaciona redutase (GR) (GUPTA et al., 2005; ASADA, 1999). A SOD catalisa a dismutação do superóxido (O₂^{•-}) a peróxido de hidrogênio (H₂O₂), enquanto a CAT, que está localizada nos peroxissomos, glioxissomos e mitocôndrias, catalisa a conversão de H₂O₂, oriundo principalmente da fotorrespiração e/ou respiração, em água e O₂ (APEL; HIRT, 2004). Da mesma forma a APX, presentes no citosol, em membranas dos peroxissomos e em cloroplastos, catalisa a conversão de H₂O₂ em H₂O. Diferentemente da CAT, que degrada diretamente o H₂O₂ sem consumir agentes redutores celulares, a detoxificação pela APX ocorre com a oxidação de ascorbato, reação que resulta em monodeidroascorbato (MDHA) e H₂O. A regeneração do ascorbato é mediada pela monodeidroascorbato redutase (MDHAR) utilizando NADPH como equivalente redutor (FOYER; HALLIWELL, 1976; NAKANO; ASADA, 1981).

Durante o estresse salino diversos compartimento subcelulares (Figura 9) contribuem para a produção das ERO's, como as mitocôndrias, cloroplastos, peroxissomos, bem como em locais menos vulgarmente conhecidos, como o núcleo e o retículo endoplasmático

(OVERMYER et al., 2003; ASHTAMKER et al., 2007; FOYER; NOCTOR, 2009; JASPERS; KANGASJÄRVI, 2010; MAZARS et al., 2010).

Figura 9. Principais locais de produção de ERO's em células vegetais e os meios através dos quais os seus níveis são controlados, enfatizando a participação dos compartimentos subcelulares.



Fonte: Adaptado de BOSE et al. (2014).

Adicionalmente, as ERO's podem ser produzidas no apoplasto por NADPH oxidases, peroxidases associadas a parede celular (POXs), e oxalato oxidases (KAWANO, 2003). Estas enzimas, vulgarmente conhecidas como oxidases homólogas da explosão respiratória (Rboh) são flavoproteínas transmembranares que oxidam o NADPH citoplasmático, translocando os eletrons através da membrana plasmáticas e reduzindo o oxigênio triplete, do ambiente extracelular, a $O_2^{\bullet -}$ na parede celular. Adicionalmente, as funções das NADPH oxidases nas plantas se estendem além de respostas ao estresse salino, incluindo papéis no desenvolvimento

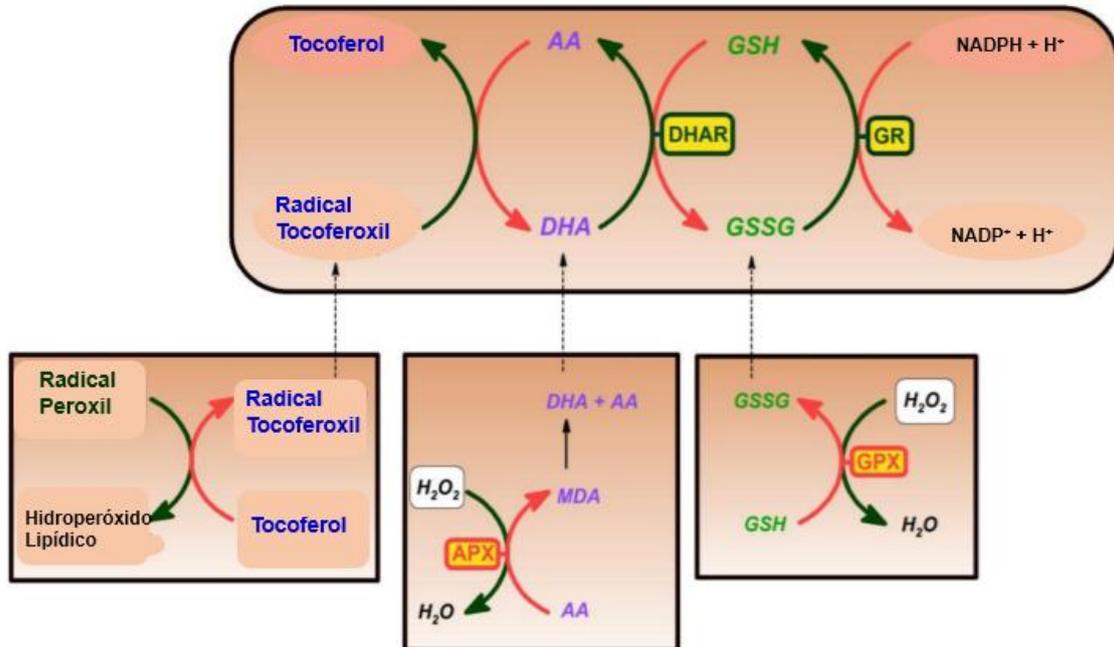
(SAGI; FLUHR, 2006; TAKEDA et al., 2008), no transporte de sódio na seiva do xilema, (JIANG et al., 2012), além da sinalização de longa distância (sistêmica) envolvendo as ERO's (MILLER et al., 2009).

Embora não esteja bem caracterizado como as redes de sinalização entre as organelas empregam as ERO's como segundos mensageiros, sabe-se que, por exemplo, o H_2O_2 em baixas concentrações, desempenha um papel na sinalização celular de plantas sob estresse, modulando a transcrição de genes nucleares, influenciando a expressão de proteínas citosólicas, cloroplastídicas e mitocondriais e atuando como um regulador chave em uma ampla variedade de processos fisiológicos, incluindo senescência (PENG et al., 2005), fotorrespiração e fotossíntese (NOCTOR; FOYER, 1998) condutância estomática (BRIGHT et al., 2006), ciclo celular (MITTLER et al., 2004), crescimento e desenvolvimento (FOREMAN et al., 2003) e morte celular programada (FATH et al., 2002). Nesse caso, o papel das enzimas antioxidantes, como a CAT e APX por exemplo, é realizar um controle fino sobre as concentrações celulares de H_2O_2 , em vez de removê-lo completamente (ABOGADALLAH, 2010; HANCOCK et al., 2006; APEL; HIRT, 2004). O H_2O_2 produzido nos cloroplastos é eliminado pelas enzimas APX, enquanto o produzido nos peroxissomos/glioxissomos é removido pelas CAT (MITTLER et al., 2004; KOTCHONI; GACHOMO, 2006). Esta especificidade entre as enzimas e o H_2O_2 (Figura 09) reflete as diferentes afinidades existentes entre eles. A APX tem alta afinidade (μM) e a CAT baixa afinidade (mM) pelo H_2O_2 , sendo as APX as responsáveis pela modulação fina destas ERO's, enquanto que as CAT seriam responsáveis pela remoção do excesso de ERO's durante o estresse, sendo, portanto essencial à compreensão sobre suas atividades e interações entre os diferentes tipos de estresses ambientais (SHIGEOKA et al., 2002; WILLEKENS et al., 1997; NOCTOR; FOYER, 1998).

Os antioxidantes não enzimáticos incluem o ácido ascórbico (ASC), a glutathiona (GSH), os tocoferóis (TOC) e os compostos fenólicos (ABOGADALLAH, 2010) e atuam de forma coordenada com quatro enzimas essenciais, a ascorbato peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR) e a glutathiona redutase (GR), responsáveis pela geração e regeneração de seus principais componentes (GARA et al., 2010) (Figura 10).

Figura 10. Inter-relação entre a tríade glutathiona-tocoferol-ascorbato na eliminação das ERO's. O tocoferol elimina o radical peroxil antes que ele possa abstrair hidrogênio dos lipídeos das células, mediante doação de um átomo de hidrogênio, formando o radical tocoferoxil. O radical tocoferoxil é reduzido pelo ascorbato (Asc), enquanto o desidroascorbato (DHA) é formado. O ascorbato também está envolvido no processo de eliminação do H_2O_2 , especialmente como um substrato da ascorbato peroxidase (APX), que gera duas moléculas de monodehidroascorbato (MDHA). O MDHA pode ser

reduzido a ascorbato pela catálise da monodehidroascorbato redutase (MDAR). O MDHA também pode se oxidar rapidamente gerando DHA, que é então reduzido a ascorbato pela ação da desidroascorbato redutase (DHAR) com glutatona (GSH) como um substrato, gerando dissulfeto de glutatona (GSSG). Uma alternativa para a eliminação de H_2O_2 é através da ação da glutatona peroxidase (GPX), à custa da GSH. Finalmente, a glutatona redutase (GR) reduz a GSSG em GSH à custa de NADPH.



Fonte: SZARKA et al. (2012).

Dentre os antioxidantes não enzimáticos, o ASC se destaca, principalmente devido ao seu alto poder antioxidante e sua participação em vias de biossíntese e em processos fisiológicos importantes para a célula vegetal (JALEEL et al., 2009). Da mesma forma GSH mantém a cisteína, homocisteína, enzimas e ascorbato (ASA) na forma ativa, regulando a relação tiol/dissulfeto nas proteínas da membrana celular e protegendo contra os radicais livres e H_2O_2 (SZALAI et al., 2009). O ASC e a GSH promovem a detoxificação das ERO's de maneira direta ou através do ciclo ascorbato-glutationa, onde o H_2O_2 é reduzido a água pelo ASC, que então é oxidado a monodehidroascorbato (MDHA) e dehidroascorbato (DHA) e estes podem ser novamente reduzidos a ASC por meio da GSH (POTTERS et al., 2010; ZECHMANN et al., 2011).

Além da atuação desses mecanismos, as respostas das plantas à salinidade são muitas vezes acompanhadas por alterações morfológicas e anatômicas, como aumento da quantidade de estômatos (CÁRMANO et al., 2012); a lignificação dos tecidos vasculares, sobretudo xilema (DOLATABADIAN et al., 2011); suberização e lenhificação da exoderme, reduzindo assim a absorção de sais ou outros solutos tóxicos para o estelo (CHEN et al., 2011) e lignificação da parede celular nas estrias de Caspary e metaxilema, reduzindo o transporte de íons Na^+ pela via apoplástica (GOYAL et al., 2003; EMAM; BIJANZADEH, 2012).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD-EL-BAKI, G.K.; F. SIEFRITZ, F.; MAN, H. M.; WEINER, H.; KALDENHOFF, R.; KAISER, W. M. Nitrate reductase in *Zea mays* L. under salinity. **Plant. Cell. Environ.** v. 23, pp. 515-521, 2000.
- ABOGADALLAH, G. M. Antioxidative defense under salt stress. **Plant Signal Behav.** v. 5, n. 4, pp. 369–374, 2010.
- ABREU, C. E. B. de; PRISCO, J. T.; NOGUEIRA, A. R. C.; BEZERRA, M. A.; LACERDA, C. F. de; GOMES-FILHO, E. Physiological and biochemical changes occurring in dwarf-cashew seedlings subjected to salt stress. **Braz. J. Plant Physiol.** v. 20, n. 2, pp. 105 – 118, 2008.
- AGHAEI, K.; KOMATSU, S. Crop and medicinal plants proteomics in response to salt stress. **Frontiers Plant Sci.** v. 8, pp. 1–9, 2013.
- AKRAM, M.; AKHTAR, S.; JAVED, I. U. H.; WAHID, A.; RASUL, E. Anatomical Attributes of Different Wheat (*Triticum aestivum*) Accessions/Varieties to NaCl Salinity. **Int. J. Agri. Biol.** v. 4, n. 1, pp. 166 – 168, 2002.
- ALBUQUERQUE, C.C.; CAMARA, T.R.; MARIANO, R. L. R.; WILLADINO, L.; MARCELINO JÚNIOR, C.; ULISSES, C. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology.** v. 49, n.4, p. 527-535, 2006.
- ALLBED, A.; KUMAR, L. Soil Salinity Mapping and Monitoring in Arid and Semi-Arid Regions Using Remote Sensing Technology: A Review. **Advances in Remote Sensing.** v. 2, pp. 373-385, 2013.
- ALMEIDA, E. I. B.; NÓBREGA, G. N.; CORRÊA, M. C. M.; PINHEIRO, E. A. R.; ARAÚJO, N. A. Growth and absorption march on micronutrients to cultivate Crimson Sweet watermelon. **Revista Agro@ambiente.** v. 8, n. 1, p. 74-80, 2014.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annu Rev Plant Biol.** v. 55, pp. 373–399., 2004.
- APSE, M. P.; AHARON, G. S.; SNEDDEN, W. A.; BLUMWALD, E. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. **Science.** v. 285, pp. 1256 - 1258, 1999.
- ARAGÃO, R. M.; SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, E. N.; LOBO, A. K. M.; DUTRA, A. T. B. Nitrate uptake, xylem NO₃⁻ flux, and nitrate assimilation in cowpea exposed to salinity. **Revista Ciência Agronômica,** v. 41, n. 1, p. 100-106, 2010.

- ARAÚJO, C.A.S.; RUIZ, H.A.; CAMBRAIA, J. NEVES, J.C.L.; FREIRE, M.B.G.S.; FREIRE, F.J. Seleção varietal de *Phaseolus vulgaris* quanto à tolerância ao estresse salino com base em variáveis de crescimento. **Revista Ceres**. v. 57, n.1, p. 132-139, 2010.
- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Biology**. v. 50, pp. 601–639, 1999.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**. v. 59, n. 2, pp. 206–216, 2007.
- ASHTAMKER, C.; KISS, V.; SAGI, M.; DAVYDOV, O.; FLUHR, R. Diverse subcellular locations of cryptogeiin-induced reactive oxygen species production in tobacco Bright Yellow-2 cells. **Plant Physiol**. v. 143, pp. 1817–1826, 2007.
- BARAKAT, H. N. Arid Lands: Challenges and Hopes. In: CILEK, V.; SMITH, R. H. (eds). **EARTH SYSTEM: HISTORY AND NATURAL VARIABILITY**. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). Paris: Eolss Publishers-UNESCO, 2009. 354 p. Vol. III.
- BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Crit. Rev. Plant Sci**. v. 24, pp. 23-58, 2005.
- BAYUELO-JIMÉNEZ, J. S.; JASSO-PLATA, N.; OCHOA, I. Growth and physiological responses of *phaseolus* species to salinity stress. **International Journal of Agronomy**. v. 2012, pp. 1 – 13, 2012.
- BELKHEIRI, O.; MULAS, M. The effects of salt stress on growth, water relations and ion accumulation in two halophyte *Atriplex* species. **Environ Exp Bot**. v. 86, pp. 17-28, 2011.
- BEN REJEB, K.; ABDELLY, C.; SAVOURE, A. How reactive oxygen species and proline face stress together. **Plant Physiol. Biochem**. v. 80, pp. 278–284, 2014.
- BINDSCHEDLER, L. V.; DEWDNEY, J.; BLEE, K. A.; STONE, J. M.; ASAI, T.; PLOTNIKOV, J.; DENOUX, C.; HAYES, T.; GERRISH, C.; DAVIES, D. R.; AUSUBEL F.M.; BOLWELL, G. P. Peroxidase dependent apoplastic oxidative burst in Arabidopsis required for pathogen resistance. **The Plant Journal**. v. 47, pp. 851–863, 2006.
- BLUMWALD, E.; AHARON, G. S.; APSE, M. P. (2000). Sodium transport in plant cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes**. v. 1465, n. 1-2, pp. 140-151, 2000.
- BLUMWALD, E.; AHARON, G. S.; APSE, M. P. Sodium transport in plant cells. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1465, p. 140-151, 2000.
- BOUGHALLEB, F.; DENDEN, M.; TIBA, B. B. Anatomical changes induced by increasing NaCl salinity in three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea*. **Acta physiol. Plant**. v. 31, pp. 947-960, 2009.
- BOSE, J.; RODRIGO-MORENO, A.; SHABALA, S. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. **J. Exp. Bot**. v. 6, n. 5, pp. 1241-1257, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisa de plantas medicinais da central de medicamentos/ministério da saúde, secretaria de ciência, tecnologia e insumos estratégicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 148p. — Série B. textos básicos de saúde.

BRIGHT, J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. T.; WEIR, I. S.; NEILL, S. J. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. **Plant J.** v. 45, pp. 113–122, 2006.

BRINI, F.; MASMOUDI, K. Ion Transporters and Abiotic Stress Tolerance in Plants. **ISRN Molecular Biology.** v. 2012, pp. 1 - 13, 2012.

BRITTO, D. T.; EBRAHIMI-ARDEBILI, S.; HAMAM, A. M.; COSKUN, D.; KRONZUCKER, H. J. ⁴²K analysis of sodium-induced potassium efflux in barley: mechanism and relevance to salt tolerance. **New Phytol.** v. 186, pp. 373–384, 2010.

BYBORDI, A.; EBRAHIMIAN, E. Effect of Salinity Stress on Activity of Enzymes Involved in Nitrogen and Phosphorous Metabolism Case Study: Canola (*Brassica napus* L.). **Asian Journal of Agricultural Research.** v. 5, pp. 208-214, 2011.

CAKMAK, I. Activity of ascorbate-dependent H₂O₂-scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium deficient leaves, but not in phosphorus deficient leaves. **J Exp Bot.** v. 45, pp. 1259–1266, 1994.

CAKMAK, I.; YAZICI, M. Magnesium: a forgotten element in crop production. **Better Crops.** v. 94, pp. 23–25, 2010.

CAO, Y.; SONG, F.; GOODMAN, R.; ZHENG, Z. Molecular characterization of four rice genes encoding ethylene-responsive transcriptional factors and their expressions in response to biotic and abiotic stress. **J. Plant Physiol.** v. 163, pp. 1167–1178, 2006.

CÁRCAMO, H. J.; BUSTOS, R. M.; FERNÁNDEZ, F. E.; BASTÍAS, I. E. Mitigating effect of salicylic acid in the anatomy of the leaf of *Zea mays* L. lluteño ecotype from the Lluta Valley (Arica-Chile) under NaCl stress. **Idesia.** v. 30, n. 3, pp. 55 – 63, 2012.

CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; VILELA DE RESENDE, M. L.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: **FEALQ.** v. 13 p. 51-80, 2006.

CÉCCOLI, G.; RAMOS, J. C.; ORTEGA, L. I.; ACOSTA, J. M.; PERRETA, M.G. Salinity induced anatomical and morphological changes in *Chloris gayana* Kunth roots. **Biocell.** v. 35, pp. 9-17, 2011.

CHAKRABORTY, K.; SAIRAM, R. K.; R. C. BHATTACHARYA, R. C. Differential expression of salt overly sensitive pathway genes determines salinity stress tolerance in Brassica genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry.** v. 51, pp. 90–101, 2012.

- CHAN, K. X.; WIRTZ, M.; PHUA, S. Y.; ESTAVILLO, G. M.; POGSON, B. J. Balancing metabolites in drought: the sulfur assimilation conundrum. **Trends Plant Sci.** v. 18, n. 1, pp. 18–29, 2013.
- CHANG, P. T.; RANDLE, W. M. Sodium Chloride in Nutrient Solutions Can Affect Onion Growth and Flavor Development. **Hortscience.** v. 39, n. 6, pp. 1416–1420. 2004.
- CHEN, T.; CAI, X.; WU, X.; KARAHARA, I.; SCHREIBER, L.; LIN, J. Casparian strip development and its potential function in salt tolerance. **Plant Signal Behav.** v. 6, n. 10, pp. 1499 – 1502, 2011.
- CHENG, H.; WANG, Y.S.; YE, Z.H.; CHEN, D.T.; WANG, Y.T.; PENG, Y.L.; WANG, L.Y. Influence of N deficiency and salinity on metal (Pb, Zn and Cu) accumulation and tolerance by *Rhizophora stylosa* in relation to root anatomy and permeability. **Environ. Pollut.** v. 164, pp. 110–117, 2012.
- CHINNUSAMY, V.; JAGENDORF, A.; ZHU, J.K. Understanding and improving salt tolerance in plants. **Crop Sci.** v. 45, 437–448, 2005.
- CHORIANOPOULOS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; ALIGIANNIS, N.; MITAKU, S.; NYCHAS, G. J.; HAROUTOUNIAN, S. A. Essential oils of *Satureja*, *Origanum*, and *Thymus* Species: Chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v. 52, n. 26, pp. 8261–8267, 2004
- CRAMER, G.R., LAUCHLI, A., AND EPSTEIN, E. Effects of NaCl and CaCl₂ on Ion Activities in Complex Nutrient Solutions and Root Growth of Cotton. **Plant Physiol.** v. 81, pp. 792–797, 1986.
- CRUZ, E. M. O.; COSTA-JUNIOR, L. M.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, D. A.; ARAUJO, S. A.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BACCI, L.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H.; BLANK, A. F. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology.** v. 195, n. 1-2, pp. 198 – 202, 2013.
- DELFINE, S.; ALVINO, A.; ZACCHINI, M.; LORETO, F. Consequences of salt stress on conductance to CO₂ diffusion, Rubisco characteristics and anatomy of spinach leaves. **Aust J Plant Physiol.** v. 25, pp. 395–402, 1998.
- DOLATABADIAN, A.; MODARRESSANAVY, S. A. M.; GHANATI, F. Effect of salinity on growth, xylem structure and anatomical characteristics of soybean. **Not Sci Biol.** v. 3, pp. 41–45, 2011.
- DU, C. X.; FAN, H. F.; GUO, S. R.; TEZUKA, T.; LI, J. Proteomic analysis of cucumber seedling roots subjected to salt stress. **Phytochemistry.** v. 71, pp. 1450–1459, 2010.
- EL-FOULY, M. M.; MOBARAK, Z. M.; SALAMA, Z. A. Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L. **African Journal of Plant Science.** v. 5, n. 5, pp. 314-322, 2011.

EMAM, Y.; BIJANZADEH, E. Water uptake and hydraulic conductivity of seminal and adventitious roots of five wheat cultivars at early growth stage. **Journal of Agriculture, Science and Technology**. v. 14, pp. 1605-1616, 2012.

ENDO, T. et al. Status and Causes of Soil Salinization of Irrigated Agricultural Lands in Southern Baja California, Mexico. **Applied and Environmental Soil Science**. 2011. 12 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: Princípios e perspectivas**. Londrina: Planta, 2006. 403p.

EZZ, E.D.A.A.; AZIZ, E.E.; HENDAWY, S.F.; OMER, E.A. Response of *Thymus vulgaris* L. to salt stress and alar (B9) in newly reclaimed soil. **J. Appl. Sci. Res.** v.5, pp. 2165–2170, 2009.

FABRO, G.; KOVACS, I.; PAVET, V.; SZABADOS, L.; ALVAREZ, M. E. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. **Mol. Plant Microbe Interact.** v. 17, pp. 343–350, 2004.

FARISSI, M.; FAGHIRE, M.; BARGAZ, A.; BOUIZGAREN, A.; MAKOUDI, B.; SENTENAC, H.; GHOULAM, C. Growth, Nutrients Concentrations, and Enzymes Involved in Plants Nutrition of Alfalfa Populations under Saline Conditions. **J. Agr. Sci. Tech.** v. 16, pp. 301-314, 2014.

FATH, A.; BETHKE, P.; BELIGNI, V.; JONES, R. Active oxygen and cell death in cereal aleurone cells. **J. Exp. Bot.** v. 53, pp. 1273–1282, 2002.

FERNANDES, L. C. B.; ALBUQUERQUE, C. C.; SALES JÚNIOR, R.; MESQUITA-OLIVEIRA, F. F.; GURGEL, E. P.; MESQUITA, M. V.; SILVA, M. D. S. Fungitoxicity of plant extracts and essential oil of *Lippia gracilis* Schauer on the fungus *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker. **Summa phytopathol.** v. 41, n. 2, pp. 153-155, 2015.

FERRAZ, R.P.C.; BOMFIM, D.S.; CARVALHO, N.C.; SOARES, M.B.P.; SILVA, T.B. da; MACHADO, W.J.; PRATA, A.P.N.; COSTA, E.V.; MORAES, V.R.S.; NOGUEIRA, P.C.L.; BEZERRA, D.P. Cytotoxic effect of leaf essential oil *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae). **Phytomedicine**. v.20, p.615-621. 2013.

FERREIRA, D. M.; MELO, J. V.; COSTA NETO, L. X. influência da carnicultura sobre a salinização do solo em áreas do município de Guamaré/RN. **Holos**. v. 2, pp. 72 – 80, 2008.

FINCHER, G.B. Molecular and Cellular Biology Association with Endosperm Mobilization in Germination Cereal Grains. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 40, pp. 305-346, 1989.

FLEXAS, J.; DIAZ-ESPEJO, A.; GALMÉS, J.; KALDENHOFF, R.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBO, M. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. **Plant, Cell and Environment**. v. 30, pp. 1284-1298, 2007.

FLORES, P.; BOTELLA, M. A.; MARTINEZ, V.; CERDA, A. Response to salinity of tomato seedlings with a split-root system: nitrate uptake and reduction. **J. Plant Nutr.** v. 25, pp. 177-187, 2002.

FOREMAN, J.; BOTHWELL, J. H.; DEMIDCHIK, V.; MYLONA, P.; TORRES, M. A.; LINSTED, P.; COSTA, S.; BROWNLEE, C.; JONES, J. D.; DAVIES, J. M.; DOLAN, L. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. **Nature**. v. 422, n. 6930, pp. 442–446, 2003.

FOROOZANFAR, M. **Genetic control of tolerance to salinity in *Medicago truncatula***. 2013. 131 f. Thèse (Ecologie Fonctionnelle) - Sciences de l'Univers, de l'Environnement et de l'Espace – Université de Toulouse, Toulouse. 2013.

FOYER, C. H.; HALLIWELL, B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. **Planta**. v. 133, pp. 21–25, 1976.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. **New Phytologist**. v. 146, pp. 359–388, 2000.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. **Antioxid. Redox Signal**. v. 11, pp. 861–905, 2009.

FOYER, C. H.; VANACKER, H.; GOMEZ, L. D.; HARBINSON, J. Regulation of photosynthesis and antioxidant metabolism in maize leaves at optimal and chilling temperatures. **Review. Plant Physiol Biochem**. V. 40, pp. 659–668, 2002.

FREITAS, A. V. L.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; AZEVEDO, R. A. B. Plantas medicinais: um estudo etnobotânico nos quintais do Sítio Cruz, São Miguel, Rio Grande do Norte, Brasil. **R. bras. Bioci**. v. 10, n. 1, pp. 48-59, 2012.

GALLARDO, K.; COURTY, P. E.; LE SIGNOR, C.; WIPF, D.; VERNOUD, V. Sulfate transporters in the plant's response to drought and salinity: regulation and possible functions. **Front Plant Sci**. v. 5: 580, 2014.

GARA, L. DE; LOCATO, V.; DIPIERRO, S.; PINTO, M. C. DE. Redox homeostasis in plants. The challenge of living with endogenous oxygen production. **Respiratory physiology and neurobiology**, v. 173 Suppl, p. S13-9, 31 ago 2010.

GARCIA, G. O.; FERREIRA, P. A.; MIRANDA, G. V.; NEVES, J. C. L.; MORAES, W. B.; Santos, D. B. Leaf contents of cationic macronutrients and their relationships with sodium in maize plants under saline stress. **Idesia**. v. 25, n. 3, pp. 93-106, 2007.

GARCIA, G. O.; FERREIRA, P. A.; SANTOS, D. B. OLIVEIRA, F. G.; MIRANDA, G. V. Estresse salino em plantas de milho: I - macronutrientes de milho: I - macronutrientes aniônicos e suas relações com o cloro aniônicos e suas relações com o cloro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 9, (Suplemento), p.26-30, 2005.

GARIGLIO, M. A. et al. **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da Caatinga**. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010. 368p.

GEILFUS, C. M.; ZORB, C.; MUHLING, K. H. Salt stress differentially affects growth mediating β -expansins in resistant and sensitive maize (*Zea mays* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 48, p. 993-998, 2010.

GHASSEMI-GOLEZANI, K.; ZEHTAB-SALMASI, S.; DASTBORHAN, S. Changes in essential oil content of dill (*Anethum graveolens*) organs under salinity stress. **Journal of Medicinal Plants Research**. v. 5, n. 14, pp. 3142-3145, 18 July, 2011.

GHEYI, H.R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTsal, 2010. p.221-250.

GLENN, E.; BROWN, J. J.; BLUMWALD, E. Salt tolerance and crop potential of halophytes. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v. 18, pp. 227-255, 1999.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**. v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011.

GONDIM, F.A.; GOMES FILHO, E.; LACERDA, C.F.; PRISCO, J.T.; AZEVEDO NETO, A.D.; MARQUES, E.C. Pretreatment with H₂O₂ in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 22, p. 103-112, 2010.

GOYAL, S.S.; SHARMA, S. K.; RAINS, D. W. **Crop production in saline environments: global and integrative perspectives**. New York: Haworth Press; 2003. pp. 131–162.

GRATTAN, S. R.; GRIEVE, C. M. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. **Sci Hortic**. v. 78, pp. 127–157, 1999.

GRATTAN, S.R.; GRIEVE, C. M. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**. v. 78, pp. 127-157, 1998.

GUÉNON, R.; VENNETIER, M.; DUPUY, N.; ROUSSOS, S.; PAILLER, A.; GROS, R. Trends in recovery of Mediterranean soil chemical properties and microbial activities after infrequent and frequent wildfires. **Land Degradation and Development**. v. 24, pp. 115–128, 2013.

GUO, G.; GE, P.; MA, C.; LI, X.; LV, D.; WANG, S.; MA, W.; YAN, Y. Comparative proteomic analysis of salt response proteins in seedling roots of two wheat varieties. **J. Proteomics**. v. 75, pp. 1867–1885, 2012.

GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **Int. J. Genom**. 1–18, 2014.

GUPTA, K. J.; STOIMENOVA, M.; KAISER, W. M. In higher plants, only root mitochondria, but not leaf mitochondria reduce nitrite to NO, *in vitro* and *in situ*. **Journal of Experimental Botany**. v. 56, n. 420, pp. 2601–2609, 2005.

HABIBI, G. Role of trace elements in alleviating environmental stress. In: AHMAD P.; RASOOL, S. (eds.). **Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance Biological Techniques**. USA: Elsevier, 2014. pp. 313-331.

HANCOCK, J.; DESIKAN, R.; HARRISON, J.; BRIGHT, J.; HOOLEY, R.; NEILL, S. Doing the unexpected: proteins involved in hydrogen peroxide perception. **J Exp Bot.** v. 57, pp.1711–1718, 2006.

HASEGAWA, P.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.** v. 51, pp. 463–499, 2000.

HATZIG, S.; HANSTEIN, S. SCHUBERT, S. Apoplast acidification is not a necessary determinant for the resistance of maize in the first phase of salt stress. **J. Plant Nutr. Soil Sci.** v. 173, pp. 559–562, 2010.

HAUSER, F.; HORIE, T. A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K/Na ratio in leaves during salinity stress. **Plant Cell Environ.** v. 33, n. 4, pp. 552-565, 2010.

HILLEL, D. **Salinity Management for Sustainable Irrigation: Integrating Science, Environment, and Economics.** World Bank Publications, Washington DC, 2000.

HOSSAIN, M. A.; UDDIN, M. K.; ISMAIL, M. R.; ASHRAFUZZAMAN, M. Responses of Glutamine Synthetase-Glutamate Synthase Cycle Enzymes in Tomato Leaves under Salinity Stress. **Int. J. Agric. Biol.**, 14: 509–515, 2012.

HU, Y.; FROMM, J.; SCHMIDHALTER, U. Effect of salinity on tissue architecture in expanding wheat leaves. **Planta.** v. 220, pp. 838–848, 2005.

HU, Y.; SCHMIDHALTER, U. Effects of salinity and macronutrient levels on micronutrients in wheat. **J. Plant Nutr.** v. 24, pp. 273-281, 2001.

HU, Y.; SCHNYDER, H.; SCHMIDHALTER, U. Carbohydrate accumulation and partitioning in elongating leaves of wheat in response to saline soil conditions. **Aust J Plant Physiol.** v. 27, pp. 363– 370, 2000.

HUSSIN, S.; GEISLER, N.; KOYRO, H.W. Effect of NaCl salinity on *Atriplex nummularia* (L.) with special emphasis on carbon and nitrogen metabolism. **Acta Physiologiae Plantarum.** v. 35, pp. 1025–1038, 2013.

HWANG, Y. H.; CHEN, S. C. Anatomical responses in *Kandelia candel* (L.) Druce seedlings growing in the presence of different concentrations of NaCl. **Bot. Bull. Acad. Sin.** v. 36, pp. 181-188, 1995.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas, 2012. **Manual Técnico da Vegetação Brasileira.** Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, Rio de Janeiro, RJ. Disponível em: ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/recursos_naturais/manuais_tecnicosmanual_tecnico_vegetacao_brasileira.pdf Acesso em 21 jul 2014

ISHITANI, M.; LIU, J.; HALFTER, U.; KIM, C. S.; SHI, W.; ZHU, J. K. SOS3 function in plant salt tolerance requires N-myristoylation and calcium binding. **Plant Cell.** v. 12, pp. 1667–1678, 2000.

- ISLAM, M. S.; AKHTER, M. M.; SABAGH, A. EL.; LIU, L. Y.; NGUYEN, N. T.; UEDA, A.; MASAOKA, Y.; SANEOKA, H. Comparative studies on growth and physiological responses to saline and alkaline stresses of Foxtail millet (*Setaria italica* L.) and Proso millet (*Panicum miliaceum* L.). **AJCS**. v. 5, n. 10, pp. 1269-1277, 2011.
- JALEEL, C. A.; RIADH, K.; GOPI, R.; MANIVANNAN, P.; INÈS, J.; AL-JABURI, H. J.; XING, Z. C.; BO, S. H.; PANNEERSELVAM, R. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, n. 3, p. 427-436, fev 2009.
- JASPERS, P.; KANGASJÄRVI, J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. **Physiol. Plant**. v. 138, pp. 405–413, 2010.
- JIANG, C.; BELFIELD, E. J.; MITHANI, A.; VISSCHER, A.; RAGOUSSIS, J.; MOTT, R.; SMITH, J. A.; HARBERD, N. P. ROS-mediated vascular homeostatic control of root-to-shoot soil Na delivery in *Arabidopsis*. **EMBO J**. v. 31, pp. 4359–4370, 2012.
- JIANG, Y.; YANG, B.; HARRIS, N. S.; DEYHOLOS, M. K. Comparative proteomic analysis of NaCl stress-responsive proteins in *Arabidopsis* roots. **Journal of Experimental Botany**. v. 58, pp. 3591-3607, 2007.
- KADER, A. **Salt Stress in Rice: Adaptive Mechanisms for Cytosolic Sodium Homeostasis**. 2006. 129p. Tese (Natural Resources and Agricultural Sciences) - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. 2006.
- KANAWAPEE, N.; SANITCHON, J.; LONTOM, W.; THREERAKULPISUT, P. Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. **Plant and Soil**. v. 358, pp. 235–249, 2012.
- KANGASJÄRVI, S.; NEUKERMANS, J.; LI, S.; ARO E. M.; NOCTOR, G. Photosynthesis, photorespiration, and light signalling in defence responses. **J. Exp. Bot**. v. 63, pp. 1619–1636, 2012.
- KAPLAN, F.; KOPKA, J.; SUNG, D. Y.; ZHAO, W.; POPP, M.; PORAT, R.; GUY, C. L. Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of *Arabidopsis* reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content. **Plant J**. v. 50, pp. 967–981, 2007.
- KARAN, R.; DELEON, T.; BIRADAR, H.; SUBUDH, P. K. Salt stress induced variation in DNA methylation pattern and its influence on gene expression in contrasting rice genotypes. **PLoS ONE**. v. 7, n. 6, pp. 1 – 10, 2012: e40203.
- KARIMI, E.; ABDOLZADEH, A.; SADEGHIPOUR, H. R. Increasing salt tolerance in Olive, *Olea europaea* L. plants by supplemental potassium nutrition involves changes in ion accumulation and anatomical attributes. **International Journal of Plant Production**. v. 3, n. 4, pp. 49 – 60, 2009.
- KAVANOVA, M.; LATTANZI, F. A.; GRIMOLDI, A. A.; SCHYDER, H. Phosphorus Deficiency Decreases Cell Division and Elongation in Grass Leaves. **Plant Physiol**. v. 141, n. 2, pp. 766–775, 2006.

KAWANO, T. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. **Plant Cell Reports**. v. 21, pp. 829 – 837, 2003.

KIRAN; KUDESIA, R.; RANI, M.; PAL, A. Reclaiming Degraded Land in India Through the Cultivation of Medicinal Plants. **Botany Research International**. v. 2, n. 3, pp. 174-181, 2009.

KLEIN, J. D.; MOORE, P. B.; STEITZ, T. A. The contribution of metal ions to the structural stability of the large ribosomal subunit. **RNA**. v. 10, n. 9, pp. 1366–1379, 2004.

KNIPFER, T.; FRICKE, W. Water uptake by seminal and adventitious roots in relation to whole-plant water flow in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Experimental Botany**. v. 61, pp. 1-17, 2010.

KOTCHONI, S. O.; GACHOMO, E. W. The reactive oxygen species network pathways: an essential prerequisite for perception of pathogen attack and the acquired disease resistance in plants. **Journal of Bioscience**. v.31, p.389-404, 2006.

KUREPA, J.; SONGHU, W.; SMALLE, J. The role of 26S proteasome-dependent proteolysis in the formation and restructuring of microtubule networks. **Plant Signaling and Behavior**. v. 7, n. 10, pp. 1289-1295, 2012.

LAM, H. M.; COSCHIGANO, K.; OLIVEIRA, I. C.; MELO-OLIVEIRA, R.; CORUZZI, G. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 47, pp. 569–93, 1996.

LAMBERS, H.; POORTER, H. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for ecological causes and consequences. **Adv Ecol Res**. v. 23, pp. 187–261, 1992.

LÄUCHLI, A.; LÜTTGE, U. **Salinity and Nitrogen Nutrition**. Boston Kluwer Academic Publishers, Boston, 2002. 112p.

LEBLEBICI, Z.; AKSOY, A.; DUMAN, F. of salinity on the growth and heavy metal accumulation capacity of *Spirodela polyrrhiza* (Lemnaceae). **Turk J Biol**. v. 35, pp. 215-220, 2011.

LEITE, E. M.; SANTOS, R. V.; SOUTO, P. C.; VITAL, A. F. M.; ARAÚJO, J. L. Crescimento inicial de espécies arbóreas em solo degradado do semiárido tratado com corretivos. **Revista Verde**, (Mossoró – Brasil). v.5, n.3, p.179 – 187, 2010.

LEITE, J. C. F.; SOUZA, K. L. **Novo Perfil do Nordeste Brasileiro no Censo Demográfico 2010**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil 2012. 106 p.

LI, W.; ZHAO, F.; FANG, W.; XIE, D.; YANG, X.; ZHAO, Y.; TANG, Z.; NIE, L.; LV, S. Identification of early salt stress responsive proteins in seedling roots of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) employing iTRAQ-based proteomic technique. **Front Plant Sci**. v. 6, pp. 1 – 14, 2015.

LI, Q.; EICHTEN, S. R.; HERMANSON, P. J.; ZAUNBRECHER, V. M.; SONG, J.; WENDT, J.; ROSENBAUM, H.; MADZIMA, T. F.; SLOAN, A. E.; HUANG, J.; BURGESS, D. L.; RICHMOND, T. A.; MCGINNIS, K. M.; MEELEY, R. B.; DANILEVSKAYA, O. N.;

VAUGHN, M. W.; KAEPLER, S. M.; JEDDELOH, J. A.; SPRINGER, N. M. Genetic perturbation of the maize methylome. **Plant Cell**. v. 26, pp. 4602–4616, 2014.

LIANG, X.; ZHANG, L.; NATARAJAN, S. K.; BECKER, D. F. Proline mechanisms of stress survival. **Antioxid. Redox Signal**. v. 19, pp. 998–1011, 2013.

LIMA, M.C.L.; LEMOS, T.L.G.; PESSOA, O.D.L.; SANTIAGO, G.M.P.; MATOS, F.J.A.; ARRIAGA, A.M.C.; OLIVEIRA, J.P.P.; SANTANA, A.E.G. Composition and biological activities of *Lippia* aff. *Gracilis* essential oil. **Chemistry of Natural Compounds**. v.44, n.2, p.254-256. 2008.

LIM, G. H.; ZHANG, X.; CHUNG, M. S.; LEE, D. J.; WOO, Y. M.; CHEONG, H. S.; KIM, C. S. A putative novel transcription factor, AtSKIP, is involved in abscisic acid signalling and confers salt and osmotic tolerance in *Arabidopsis*. **New Phytologist**. v. 185, no. 1, pp. 103–113, 2010.

LIN, C. C.; HSU, Y.; T.; KAO, C. H. The effect of NaCl on proline accumulation in rice leaves. **Plant Growth Regulation**. v. 36, n. 1, p. 275-285, 2002.

LIU, J.; ISHITANI, M.; HALFTER, U.; KIM, C. S.; ZHU, J. K. The *Arabidopsis thaliana* SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 97, pp. 3730 – 3734, 2000.

LIU, P.; SHERMAN-BROYLES, S.; NASRALLAH, M. E.; NASRALLAH, J. B. A cryptic modifier causing transient self incompatibility in *Arabidopsis thaliana*. **Current biology**. v. 17, pp. 734 – 740, 2007.

LODHI, A.; ARSHAD, M.; AZAM, F.; SAJJAD, M. H. Changes in mineral and mineralizable N of soil incubated at varying salinity, moisture and temperature regimes. **Pakistan Journal of Botany**. v. 41, n. 2, pp. 967-980, 2009.

LÓPEZ-PÉREZ, L.; MARTÍNEZ-BALLESTA, M. DEL C.; MAUREL, C.; CARVAJAL, M. Changes in plasma membrane lipids, aquaporins and proton pump of broccoli roots, as an adaptation mechanism to salinity. **Phytochemistry**. v. 70, pp. 492 – 500, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LORETO, F.; CENTRITTO, M.; CHARTZOULAKIS, K. Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress. **Plant, Cell and Environment**. v. 26, pp. 595–601, 2003.

LUIS, A. ROS and RNS in plant physiology: an overview. **J. Exp. Bot.** v. 66, pp. 2827–2837, 2015.

LUPINKOVÁ, L.; KOMENDA, J. Oxidative Modifications of the Photosystem II D1 Protein by Reactive Oxygen Species: From Isolated Protein to Cyanobacterial Cells. **Photochemistry and Photobiology**. v. 79, n. 2, pp. 152-162, 2004.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Arch. Biochem. Biophys.** v. 444, pp. 139–158, 2005.

MAHBOOBEH, R.; AKBAR, E. A. Effect of salinity on growth, chlorophyll, carbohydrate and protein contents of transgenic *Nicotiana plumbaginifolia* over expressing P5CS gene. **Journal of Environmental Research and Management.** v. 4, pp. 163 – 170, January, 2013.

MAHMOODZADEH, H. Ultrastructural Changes in Shoot Apical Meristem of Canola (*Brassica napus* cv. Symbol) Treated with Sodium Chloride. **Pakistan Journal of Biological Sciences.** v. 11, pp. 1161-1164, 2008.

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

MANIVANNAN, P.; JALEEL, C. A.; SANKAR, B.; SOMASUNDARAM, R.; MURAL, P. V.; SRIDHARAN, R.; PANNEERSELVAM, R. Salt stress mitigation by calcium chloride in *Vigna radiata* (L.) Wilczek. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica.** v. 49, pp. 105-109, 2007.

MANSOUR, M. M. F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. **Biol. Plant.** v. 43, pp. 491–500, 2000.

MARCONDES, J.; GARCIA, A. B. Aspectos citomorfológicos do estresse salino em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). **Arq. Inst. Biol.** v.76, n.2, pp. 187-194, 2009.

MARRETO, R. N.; ALMEIDA, E.E.C.V.; ALVES, P.B.; NICULAU, E.S.; NUNES, R.S.; MATOS, C.R.S.; ARAÚJO, A.A.S. Thermal analyses and gás chromatography coupled mass spectrometry analyses of hidroxipropylmetry analyses of hidroxipropyl- β -cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. **Thermochemica Acta.** v. 475. p.53-58. 2008.

MARTÍNEZ-BALLESTA, M. C.; MARTÍNEZ, V.; CARVAJAL, M. Osmotic adjustment, water relations and gas exchange in pepper plants grown under NaCl or KCl. **Environ Exp Bot.** v. 52, pp. 161–174, 2004.

MATOS, F. J. A. et al. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras.** 2. ed. Fortaleza: Ed. UFC, 2004. 445 p.

MAZARS, C.; THULEAU, P.; LAMOTTE, O.; BOURQUE, S. Cross-talk between ROS and calcium in regulation of nuclear activities. **Mol. Plant.** v. 3, pp. 706–718, 2010.

MELONI, D. A.; GULOTTA, M. R.; MARTÍNEZ, C. A.; OLIVA, M. A. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. **Brazilian Journal Plant Physiology.** v. 16, n.1, p.39-46, 2004.

MHAMDI, A.; QUEVAL, G.; CHAOUCH, S.; VANDERAUWERA, S.; VAN BREUSEGEM, F.; NOCTOR, G. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. **Journal of Experimental Botany.** v. 61, n. 15, pp. 4197–4220, 2010.

- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Sci.** v. 7, pp. 405–410, 2002.
- MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science.** v.9, p.490-498, 2004.
- MILLER, G.; SCHLAUCH, K.; TAM, R., CORTES, D.; TORRES, M. A.; SHULAEV, V.; DANGL, J. L.; MITTLER, R. The plant NADPH oxidase RBOHD mediates rapid systemic signaling in response to diverse stimuli. **Sci. Signal.** v. 2, n. 84, pp. ra45, 2009.
- MOKHELE, B.; ZHAN, X.; YANG, G.; ZHANG, X. Review: Nitrogen assimilation in crop plants and its affecting factors. **Can. J. Plant Sci.** v. 92, pp. 399 – 405, 2012.
- MOLES, A. T.; WESTOBY, M. What do seedlings die from and what are the implications for evolution of seed size? **Oikos.** v. 106, pp. 193–199, 2004.
- MØLLER, I. M.; JÉNSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative Modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology.** v. 58, p.459-81, 2007.
- MORENO, D. A.; PULGAR, G.; ROMERO, L. Yield improvement in zucchini under salt stress: determining micronutrient balance. **Scientia Hort.** v. 86, n. 3, pp. 175-183, 2000.
- MORGAN, R. P. C.; RICKSON, R. J. **Slope stabilization and erosion control: A bioengineering approach.** London: Chapman and Hall. 1995. 274 p
- MOUSAVI, A.; HOTTA, Y. Glycine-rich proteins: a class of novel proteins. **Applied Biochemistry and Biotechnology.** v.120, pp. 169-174, 2005.
- MOYA J.L.; PRIMO-MILLO, E.; TALON, M. Morphological factors determining salt tolerance in citrus seedlings: the shoot to root ratio modulates passive root uptake of chloride ions and their accumulation in leaves. **Plant Cell Environ.** v. 22, pp. 1425–1433, 1999.
- MTIMET, A. Soils of Tunisia. In: ZDRULI, P.; STEDUTO, P.; LACIRIGNOLA, C.; MONTANARELLA, L. (eds). **Soil resources of Southern and Eastern Mediterranean Countries.** Bari, Italy, 2001. pp 243–262.
- MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist.** v. 167, pp. 645–663, 2005.
- MUNNS, R.; TERMAAT, A. Whole-plant responses to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology.** v. 13, pp. 143–160, 1986.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology.** v. 59, pp. 651–681, 2008.
- MURATA, Y.; KATSURA, S.; OBI, I.; KAKUTANI, T. Alterations in Ca²⁺-Binding on Plasma Membrane after Adaptation to Salt Stress of Tobacco Cells in Suspension. **Plant Cell Physiol.** v. 41, n. 11, pp. 1286-1292, 2000.

- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**. v.22, p.1068-1072, 1981.
- NASRI, N.; SAÏDI, I.; KADDOUR, R.; LACHAÂL, M. Effect of Salinity on Germination, Seedling Growth and Acid Phosphatase Activity in Lettuce. **American Journal of Plant Sciences**. v. 6, pp. 57-63, 2015.
- NATHAWAT, N.S.; KUHAD, M.S.; GOSWAMI, C.L.; PATEL, A.L.; KUMAR, R. Nitrogen-metabolizing enzymes: effect of nitrogen sources and saline irrigation. **Journal of Plant Nutrition**. v. 28, p. 1089 – 1101, 2005.
- NAWAZ , K.; HUSSAIN, K.; MAJEED, A.; KHAN, F.; AFGHAN, S.; ALI, K. Fatality of salt stress to plants: Morphological, physiological and biochemical aspects. **African Journal of Biotechnology**. v. 9, n. 34, pp. 5475-5480, 2010.
- NEILL, S.; DESIKAN, R.; CLARKE, A.; HURST, R. D.; HANCOCK, J. T. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. **J. Exp. Bot.** v. 53, pp. 1237–1247, 2002.
- NEUBAUER, S. C.; FRANKLIN, R. B.; BERRIER, D. J. Saltwater intrusion into tidal freshwater marshes alters the biogeochemical processing of organic carbon. **Biogeosciences Discussion**. v. 10, pp.10685–10720, 2013.
- NGUYEN, G. N.; HAILSTONES, D. L.; WILKES, M.; SUTTON, B. G. Drought-induced oxidative conditions in rice anthers leading to a programmed cell death and pollen abortion. **Journal of Agronomy and Crop Science**. v.195, p.157-164, 2009.
- NIEVES, M.; NIEVES-CORDONES, M.; POOTER, H.; SIMÓN, M. D.; BALL, M. Leaf nitrogen productivity is the major factor behind the growth reduction induced by long-term salt stress. **Tree Physiol**. v. 31, n. 1, pp. 92-101, 2011.
- NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. **Annu. Rev. Plant Biol.** 49: 249–279, 1998.
- OGAWA, K.; SOUTOME, R.; HIROYAMA, K.; HAGIO, T.; IDA, S.; NAKAGAWA, H.; KOMAMINE, A. Co-regulation of nitrate reductase and nitrite reductase in cultured spinach cells. **Journal of Plant Physiology**. v. 157, n.3, p. 299-306, 2000.
- OLIVEIRA, A. B.; GOMES-FILHO, E.; ENÉAS-FILHO, J. O problema da salinidade na agricultura e as adaptações das plantas ao estresse salino. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**. v. 6, n.11, pp. 1 – 16, 2010.
- OVERMYER, K.; BROSCHE, M.; KANGASJÄRVI, J. Reactive oxygen species and hormonal control of cell death. **Trends Plant Sci**. v. 8, pp. 335–342, 2003.
- PAGE, A.; CHANG, A.; ADRIANO, D. Deficiencies and toxicities of trace elements. **Agric Salinity Assess Manage**. v. 71, pp. 138-160, 1990.

PENG, L.T.; JIANG, Y. M.; YANG, S. Z.; S.Y. PAN, S. Y. Accelerated senescence of fresh-cut Chinese water chestnut tissues in relation to hydrogen peroxide accumulation. **J. Plant Physiol. Mol. Biol.** v. 31, pp. 527–532, 2005.

PENNINGTON, R. T.; LAVIN, M.; OLIVEIRA FILHO, A. Woody plant diversity, evolution and ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.** v. 40, pp. 437 – 457, 2009.

PEREIRA, A.C.R.L.; OLIVEIRA, J.V.; JUNIOR, M.G.C.G.; CÂMARA, C.A.G. Atividade inseticidas de óleos essenciais e fixos sobre *Collosobruchus maculatus* (FABR, 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) walp). **Ciência e Agrotecnologia.** v.32, n.3, p.717-724. 2008.

POTTERS, G.; HOREMANS, N.; JANSEN, M. A K. The cellular redox state in plant stress biology - a charging concept. **Plant physiology and biochemistry: PPB/Société française de physiologie végétale**, v. 48, n. 5, p. 292-300, 2010.

PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura.** Fortaleza, INCT Sal, 2010. p. 472.

QADIR, M.; OSTER, J. D.; SCHUBERT, S.; NOBLE, A. D.; Sahrawat, K. L. Phytoremediation of sodic and saline-sodic soils. **Advances in Agronomy.** v. 96, p.197-247, 2007.

RAJAEI, S. M.; NIKNAM, V.; SEYEDI, S. M.; EBRAHIMZADEH, H.; RAZAVI, K. Contractile roots are the most sensitive organ in *Crocus sativus* to salt stress. **Biol Plant.** v. 53, pp. 523–529, 2009.

REINOSO, H.; SOSA, L.; RAMIREZ, L.; LUNA, V. Salt-induced changes in the vegetative anatomy of *Prosopis strombulifera* (Leguminosae). **Can. J. For. Res.** v. 82, pp. 618-628, 2004.

RIAZ, A.; YOUNIS, A.; HAMEED, M.; KIRAN, S. Morphological and biochemical responses of turf grasses to water deficit conditions. **Pakistan Journal of Botany.** v. 42, pp. 3441-3448, 2010.

RIBEIRO, M. R. Origem e classificação dos solos afetados por sais. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados.** Fortaleza: INCTsal, 2010. p. 11-19.

RIBEIRO, M. R.; et al. Química dos solos salinos e sódicos. In: MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. F. (ed.). **Química e mineralogia do solo. Parte II – Aplicações.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p. 449-484, 2009.

RICHARDS, L. A. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils.** Washington DC, US Department of Agriculture, 1954, 160p. USDA Agricultural Handbook, 60.

RIZZI, Y.; MONTEOLIVA, M. I.; FABRO, G.; GROSSO, C. L.; LARÓVERE, L. E.; ALVAREZ, M. E. P5CDH affects the pathways contributing to Pro synthesis after ProDH

activation by biotic and abiotic stress conditions. **Frontiers in Plant Science**. v. 6, pp. 1 – 11, 2015.

RODRIGUEZ-URIBE, HIGBIE, S. M.; STEWART, J. M.; WILKINS, T.; LINDEMANN, W.; SENGUPTA-GOPALAN, C.; ZHANG, J. Identification of salt responsive genes using comparative microarray analysis in Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Plant Sci**. v.180, n. 3, pp. 461-469, 2011.

ROSHANDEL, P.; FLOWERS, T. The ionic effects of NaCl on physiology and gene expression in rice genotypes differing in salt tolerance. **Plant and Soil**. v. 315, n. 1-2, pp. 135–147, 2009.

ROY, S.J.; NEGRAO, S.; TESTER, M. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 26, pp. 115–124, 2014.

SAGI, M.; FLUHR, R. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. **Plant Physiology**. v. 141, pp. 336–340, 2006.

SAGI, M.; SAVIDOV, N. A.; L'VOV, N. P.; LIPS, S. H. Nitrate reductase and molybdenum cofactor in annual ryegrass as affected by salinity and nitrogen source. **Physiol. Plant**. v. 99, pp. 546-553, 1997.

SAHI, C.; SINGH, A.; KUMAR, K.; BLUMWALD, E.; GROVER, A. Salt stress response in rice: genetics, molecular biology, and comparative genomics. **Funct Integr Genomics**. v. 6, p. 263-284, 2006.

SANTOS, R.V. et al. Interações salinidade-fertilidade do solo. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTsal, 2010. p.221-250.

SARMENTO, D. H. A. **Produção e evapotranspiração do girassol submetido a diferentes lâminas de irrigação e salinidade da água**. 2011. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró, 2011. 61f. il.

SCHUTZENDUBEL, A.; POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **J. Exp. Bot**. v. 53, n. 372, pp. 1351-1365, 2002.

SHABALA, S. N.; MACKAY, A. S. Ion transport in halophytes. **Adv. Bot. Res**. v. 57, pp. 151–187, 2011.

SHABALA, S. Salinity and programmed cell death: unravelling mechanisms for ion specific signaling. **J. Exp. Bot**. v. 60, pp. 709–712, 2009.

SHAO, H.B.; CHU, L. Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. X. Water deficient stress induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**. v. 331, pp. 215- 225, 2008.

SHARMA, S.; VILLAMOR, J. G.; VERSLUES, P. E. Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. **Plant Physiol**. v. 157, pp. 292–304, 2011.

SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**. v.53, p.1305-19, 2002.

SHIPLEY, B. Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis. **Functional Ecology**. v. 20, pp. 565 – 574, 2006.

SKORUPA-KLAPUT, M.; SZCZEPANEK, J.; KURNINK, K.; TRETYN, A.; TYBURSKI, J. The expression patterns of plasma membrane aquaporins in leaves of sugar beet and its halophyte relative, *Beta vulgaris* ssp. *maritima*, in response to salt stress. **Biologia**. v. 70, n. 4, pp. 467–477, 2015.

SLAMA, I.; ABDELLY, C.; BOUCHEREAU, A.; FLOWERS, T.; SAVOURE, A. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. **Ann. Bot.** v. 115, pp. 433–447, 2015.

SZALAI, G.; KELLOS, T.; GALIBA, G.; KOCSY, G. Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions. **J. Plant Growth Regul.** v. 28, pp. 66–80, 2009.

SZARKA, A.; TOMASSKOVICS, BÁNHEGYI, G. The Ascorbate-glutathione- α -tocopherol Triad in Abiotic Stress Response. **Int J Mol Sci**. v. 13, n. 4, pp. 4458–4483, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p

TAKAHASHI, T.; KAKEHI, J. I. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. **Ann. Bot.** v. 105, pp. 1–6, 2010.

TAKEDA, S.; GAPPER, C.; KAYA, H.; BELL, E.; KUCHITSU, K.; DOLAN, L. Local positive feedback regulation determines cell shape in root hair cells. **Science**. 319 1241–1244, 2008.

TATAGIBA, S. D.; MORAES, G. A. B. K.; NASCIMENTO, K. J. T.; PELOSO, A de F. Limitações fotossintéticas em folhas de plantas de tomateiro submetidas a crescentes concentrações salinas. **Engenharia na agricultura**. v. 22 n.2, pp. 138 – 149, 2014.

TAVAKKOLI, E.; RENGASAMY, P.; MCDONALD, G. K. High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. **J Exp Bot**. v. 61, n. 15, pp. 4449–4459, 2010.

TESTER, N.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**. v. 91, pp. 1–25, 2003.

TOZIN, L. R. S.; MARQUES, M. O. M.; RODRIGUES, T. M. Glandular trichome density and essential oil composition in leaves and inflorescences of *Lippia organoides* Kunth (Verbenaceae) in the Brazilian Cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v. 87, n. 2, pp. 943 – 953, 2015.

UEDA, A.; KATHIRESAN, A.; BENNETT, J.; TAKABE, T. Comparative transcriptome

analyses of barley and rice under salt stress. **Theor. Appl. Genet.** v. 112, pp. 1286–1294, 2006.

ULZURRUN, M.D.D. **Salinidad e alcalinidad del suelo em relación com el riego de drenaje.** In: V MÁSTER INTERNACIONAL DE RIEGO Y DRENAJE. Madrid: CENTERMAPYA, 2000. 161p.

UYGUR, V.; YETISIR, H. Phosphorous Uptake of Gourds Species and Watermelon under Different Salt Stress. **Journal of Agronomy.** v. 5, pp. 466-470, 2006.

UZILDAY, B.; OZGUR, R.; SEKMEN, A. H.; YILDIZTUGAY, E.; TURKAN, I. Changes in the alternative electron sinks and antioxidant defense in chloroplasts of the extreme halophyte *Eutrema parvulum* (*Thellungiella parvula*) under salinity. **Ann. Bot.** v. 115, pp. 449–463, 2015.

VANCE, C. P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D. L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytol.** v. 157, pp. 423–447, 2003.

VASANTHA, S.; VENKATARAMANA, S.; RAO, P. N. G.; GOMATHI, R. Long term salinity effect on growth, photosynthesis and osmotic characteristics in sugarcane. **Sugar Tech.** v. 12, n. 1, pp. 5 – 8, 2010.

VELLOSO, M. A. L.; ABREU, I. N.; MAZZAFERA, P. Indução de metabólitos secundários em plântulas de *Hypericum brasiliense* Choisy crescendo *in vitro*. **Acta Amazonica.** v. 39, n.2, p. 267 – 272, 2009.

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

VERSLUES, P. E.; SHARMA, S. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. Arabidopsis Book. **The American Society of Plant Biologists.** 8:e0140. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1199/tab.0140>

VIERSTRA, R. D. The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins. **Trends Plant Sci.** v. 8, pp. 135–142, 2003.

WALIA, H.; WILSON, C.; ZENG, L.; ISMAIL, A. M.; CONDAMINE, P.; CLOSE, T. J. Genome-wide transcriptional analysis of salinity stressed japonica and indica rice genotypes during panicle initiation stage. **Plant Mol. Biol.** v. 63, pp. 609–623, 2007.

WANG, S.; KUREPA, J.; HASHIMOTO, T.; SMALLE, J. A. Salt Stress–Induced Disassembly of *Arabidopsis* Cortical Microtubule Arrays Involves 26S Proteasome–Dependent Degradation of *SPIRAL1*. **The Plant Cell.** v. 23 n. 9, pp. 3412-3427, 2011.

WANG, X. C.; CHANG, L. L.; WANG, B. C.; WANG, D.; LI, P. H.; WANG, L.; YI, X. P.; HUANG, Q.; PENG, M.; GUO, A. Comparative proteomics of *Thellungiella halophila* leaves from plants subjected to salinity reveals the importance of chloroplastic starch and soluble sugars in halophyte salt tolerance. **Mol. Cell Proteomics.** v. 12, pp. 2174–2195, 2013.

WANG, J.; ZENG, Q.; ZHU, J.; LIU, G.; TANG, H. Dissimilarity of ascorbate–glutathione (AsA–GSH) cycle mechanism in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under experimental free-air ozone exposure. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 165, p. 39–49, 2013.

WILKINSON, S.; DAVIES, W. J. ABA-based chemical signaling: the co-ordination of responses to stress in plants. **Plant Cell Environ.** v. 25, pp. 195–210, 2002.

WILLEKENS, H.; CHAMNONGPOL, S.; DAVEY, M.; SCHRAUDNER, M.; LANGEBARTELS, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D.; VAN CAMP, W. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defense in C3 plants. **EMBO J.** v.10, pp.1723–1732, 1997.

WILLIAMSON, J. D.; JENNINGS, D. B.; GUO, W. W.; PHARR, D. M.; EHRENSHAFT, M. Sugar alcohols, salt stress, and fungal resistance: polyols—multifunctional plant protection? **J. Am. Soc. Hortic. Sci.** v. 127, pp. 467–473, 2002.

WITZEL, K.; WEIDNER, A.; SURABHI, G. K.; BÖRNER, A.; MOCK, H. P. Salt stress-induced alterations in the root proteome of barley genotypes with contrasting response towards salinity. **J. Exp. Bot.** v. 60, pp. 3545–3557, 2009.

WU, H.; SHABALA, L.; LIU, X.; AZZARELLO, E.; ZHOU, M.; PANDOLFI, C.; CHEN, Z. H.; BOSE, J.; MANCUSO, S.; SHABALA, S. Linking salinity stress tolerance with tissue-specific Na⁺ sequestration in wheat roots. **Front. Plant Sci.** v. 6, 71, 20 Feb, pp. 1 – 12, 2015. | <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.00071>

XIAO, H. J.; YIN, Y. X.; CHAI, W. G.; GONG, Z. H. Silencing of the CaCP Gene Delays Salt- and Osmotic-Induced Leaf Senescence in *Capsicum annuum* L. **Int. J. Mol. Sci.** v. 15, PP. 8316 – 8334, 2014.

XU, G.; MAGEN, H.; TARCHITZKY, J.; KAFKAFI, U. Advances in chloride nutrition of plants. **Advances in Agronomy.** v. 68, pp. 97–150, 1999.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A. J. 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. **Annual Review of Plant Biology.** v. 63, pp. 153–182, 2012.

YADAV, S.; IRFAN, M.; AHMAD, H.; HAYAT, S. Causes of salinity and plant manifestations salt stress: a review. **J Environ Biol.** v. 32, pp. 667 – 685, 2011.

YAO, J.; SHI, W. M.; XUA, W. F. Effects of Salt Stress on Expression of Nitrate Transporter and Assimilation-Related Genes in Tomato Roots. **Russian Journal of Plant Physiology.** v. 55, n. 2, pp. 232–240, 2008.

YILDIZTUGAY, E.; OZFIDAN-KONAKCI, C.; KUCUKODUK, M.; DURAN, Y. Variations in osmotic adjustment and water relations of *Sphaerophysa kotschyana*: Glycine betaine, proline and choline accumulation in response to salinity. **Botanical Studies.** v. 55, n. 6, pp. 1 – 9, 2014.

YOUSFI, S.; RABHI, M.; HESSINI, K.; ABDELLY, C.; GHARSALLI, M. Differences in efficient metabolite management and nutrient metabolic regulation between wild and cultivated barley grown at high salinity. **Plant Biology.** v. 12, pp. 650–658, 2010.

- YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 17, p. 145-156. 2005.
- YUAN, H.; LIU, D. Signaling components involved in plant responses to phosphate starvation. **J Integr Plant Biol**. v. 50, pp. 849–859, 2008.
- ZAGORCHEV, L.; KAMENOVA, P.; ODJAKOVA, M. The Role of Plant Cell Wall Proteins in Response to Salt Stress. **The Scientific World Journal**. V. 2014, pp. 1 – 9, 2014.
- ZANANDREA, I.; NASSI, F DE L.; TURCHETTO, A. C.; BRAGA, E. J. B.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A. Effect of salinity under fluorescence parameters in *Phaseolus vulgaris*. **R. Bras. Agrocência**. V. 12, n. 2, p. 157-161, 2006.
- ZAYED, B. A.; SALEM, A. K. M.; EL SHARKAWY, H. M. Effect of Different Micronutrient Treatments on Rice (*Oriza sativa* L.) Growth and Yield under Saline Soil Conditions. **World Journal of Agricultural Sciences**. v. 7, n. 2, pp. 179-184, 2011.
- ZECHMANN, B.; STUMPE, M.; MAUCH, F. Immunocytochemical determination of the subcellular distribution of ascorbate in plants. **Planta**, v. 233, n. 1, p. 1-12, 2011.
- ZHANG, L. A biological approach to salinized soil amelioration in arid Northwest China – Saline water irrigated trees and shrubs on saline sodic soil. In: PERSSON, K. M. (Ed). **Lars Bengtsson – a water resource**. Lund: Svensk Trycktjänst, 2011, p. 165 -181.
- ZHU, J. K. Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*. **Plant Physiol**. V. 124, pp. 941–948, 2000.
- ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Ann Rev Plant Biol**. v. 53, pp. 247–273, 2002.
- ZHU, J.K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Curr. Opin. Plant Biol**. v. 6, pp. 441- 445, 2003.
- ZOU, J.; LIU, A.; CHEN, X.; ZHOU, X.; GAO, G.; WANG, W.; ZHANG, X. Expression analysis of nine rice heat shock protein genes under abiotic stresses and ABA treatment. **Journal of Plant Physiology**. v. 166, no. 8, pp. 851–861, 2009.
- ZRIBI, O. T.; LABIDI, N.; SLAMA, I.; DEBEZ, A.; KSOURI, R.; RABHI, M.; SMAOUI, A.; ABDELLY, C. Alleviation of phosphorus deficiency stress by moderate salinity in the halophyte *Hordeum maritimum* L. **Plant Growth Regulation**. V. 66, n. 1, 75 – 85, 2012.
- ZUAZO, V. H. D.; MARTÍNEZ-RAYAL, A.; RUIZ, J. A.; TARIFA, D. F.; Impact of salinity on macro- and micronutrient uptake in mango (*Mangifera indica* L. cv. Osteen) with different rootstocks. **Spanish Journal of Agricultural Research**. v. 2, n. 1, pp. 121-133, 2004.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Estudar o comportamento de plantas de *Lippia gracilis* Schauer quando submetidas às condições de estresse salino, induzido pela água de irrigação, de modo a verificar os efeitos da interação salinidade-tempo de exposição ao estresse sobre parâmetros morfofisiológicos e distribuição de íons nos vários órgãos da espécie em questão.

4.2. Objetivos específicos

- Investigar, aos 25 e 50 dias após o estresse, os efeitos do estresse salino induzido por cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl₂) e cloreto de cálcio (CaCl₂) sobre as plantas de *L. gracilis* Schauer mediante a quantificação da área foliar total (AFT), área foliar unitária (AF_U), massa seca total (MST), massa seca das folhas (MSF), caules (MSC), raízes (MSR), altura (ALT_{plantas}), diâmetro do caule (Φ_{caule}), frações de alocação de biomassa (FAB), taxa de crescimento relativo (TCR), taxa de assimilação líquida (TAL), área foliar específica (AFE), razão de massa foliar (RMF), razão de área foliar (RAF), área foliar (AF) e índice de esclerofilia (IE);
- Determinar, aos 25 e 50 dias após o estresse, o teor de K, Cl, Na e razão [K⁺]:[Na⁺] nos órgãos vegetativos de *L. gracilis*;

CAPÍTULO II: CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DE *Lippia gracilis* SCHAUER EM RESPOSTA AO ESTRESSE SALINO E AO TEMPO DE EXPOSIÇÃO¹

¹ Artigo traduzido como “**Morphophysiological traits of *Lippia gracilis* Schauer in response to salt stress and exposure time**” submetido e apresentado nas normas do periódico Plant and Soil

5 Características morfofisiológicas de *L. gracilis* Schauer em resposta ao estresse salino e ao tempo de exposição

5.1 Resumo

Objetivos: Tem como objetivo investigar os efeitos subjacentes à utilização de água salinizada em plantas de *Lippia gracilis*, a fim de determinar a capacidade de acúmulo de íons e as alterações morfofisiológicas, em função da salinidade e tempo de exposição ao estresse.

Métodos: Plantas de *L. gracilis* foram irrigadas com água contendo diferentes concentrações de sais, durante 25 e 50 dias. As características morfofisiológicas avaliadas foram baseadas no acúmulo de biomassa e na área foliar, enquanto que o potássio e sódio foram quantificados por espectrofotometria de absorção atômica e o cloreto quantificado por argentometria.

Resultados: A interação salinidade versus tempo de exposição ao estresse afetou a maioria das características morfofisiológicas de *L. gracilis*. Da mesma forma, o acúmulo de íons também foi alterado em função da interação entre os dois fatores analisados, onde o sódio se acumulou de maneira contínua, em maior quantidade nas raízes, enquanto o cloreto não sofreu influência do tempo, se acumulando em maior magnitude nas folhas. O estresse salino também provocou reduções no conteúdo de potássio, embora as folhas tenham conseguido manter um equilíbrio positivo em relação ao conteúdo de sódio.

Conclusão: *L. gracilis* mostrou uma resposta variável ao estresse salino em função do tempo, tendo uma considerável capacidade de suportar uma carga crescente de íons tóxicos, sempre mantendo uma taxa de crescimento, levando-nos a considerar o uso da espécie em ambientes moderadamente salinos.

Palavras chave: *Lippia gracilis*, área foliar, alocação de biomassa, sódio, cloreto.

5.2 Abstract

Background and aims: This study aims to investigate the effects underlying the use of saline water in *Lippia gracilis* plants in order to determine the ion accumulation capacity and morphological and physiological changes, depending on the salinity and exposure to stress.

Methods: *L. gracilis* plants were irrigated with water containing different concentrations of salts for 25 and 50 days. The morphological and physiological characteristics were evaluated based on the accumulation of biomass and leaf area, while potassium and sodium were quantified by atomic absorption spectrophotometry and chloride quantified by argentimetry.

Results: The interaction between salt stress versus time of exposure affected the majority of morphological and physiological characteristics of *L. gracilis*. Similarly, the ion accumulation was also changed based on the interaction between the two analyzed factors, where the sodium has accumulated continuously, in greater quantities on the roots, while the chloride was not influenced by the time, accumulating in greater magnitude on the leaves. Salt stress also caused reductions in potassium content, even though the leaves have been able to maintain a positive equilibrium related to the sodium content.

Conclusions: *L. gracilis* showed a variable response to salt stress as a function of time. It showed a considerable capacity to support a growing amount of toxic ions while maintaining a growth rate, which lead us to consider the use of this species in moderately saline environments.

Key words: *Lippia gracilis*, leaf area, biomass allocation, sodium, chloride.

5.3 Introdução

A salinização do solo é atualmente uma das mais importantes causas de redução da produtividade das culturas (Paranychianakis e Chartzoulakis, 2005), principalmente nas regiões áridas e semiáridas, onde as práticas agrícolas exacerbam o processo de salinização secundária, através de alterações no equilíbrio hidrológico (Chaves et al., 2009). Mediante redução do potencial hídrico do substrato, os sais presentes no meio restringem a absorção de água e nutrientes, provocando desequilíbrio iônico e toxicidade (Houle et al., 2001) e modificando a partição de biomassa entre os diferentes órgãos, mediante alterações morfofisiológicas (Martin e Shaffer, 2005; Erice et al., 2010). Sob estresse salino, as plantas reduzem a taxa de crescimento exibindo uma resposta bifásica para esse tipo de estresse, onde primeiramente ocorre uma resposta rápida, devido ao aumento da pressão osmótica do meio externo (efeito osmótico) e uma resposta lenta devido ao acúmulo de íons tóxicos nas folhas (efeito íon-específico) (Munns e Tester, 2008).

As alterações na taxa de crescimento relativo das plantas sob estresse salino são decorrentes das modificações na taxa de assimilação líquida (componente fisiológico da TCR), cuja redução ocorre devido a uma diminuição na fotossíntese por unidade de área foliar ou a um aumento na concentração de carbono da planta (Poorter, 2002). Adicionalmente a redução da TCR é um fenômeno que muitas vezes contribui para reduzir o estresse hídrico induzido por altas concentrações de sais, através da diminuição da razão de área foliar (componente morfológico da TCR) (Jamil et al., 2007) e da vida útil das folhas (Suaréz e Medina, 2005) ou senescência prematura desses órgãos (Ibrahim, 2013). Apesar dos efeitos do estresse salino, em espécies cultivadas, sejam intensamente investigados, os efeitos da salinidade sobre o desenvolvimento de plantas medicinais são bastante escassos (Farahani et al., 2009; Mogahdam et al., 2014), embora sejam também de grande importância uma vez que essas espécies podem ser cultivadas em solos cuja salinidade impede o desenvolvimento de outras culturas (Muhammad e Hussain, 2010).

No Brasil o domínio do semiárido ocupa uma área de 1 milhão de km² e se concentra principalmente na região Nordeste, onde o Bioma Caatinga predomina (Leite e Sousa, 2012). Esse ambiente por vezes classificado como Savana-Estépica ou ainda mais corretamente como Floresta Tropical Sazonalmente Seca (Penington et al., 2009; IBGE, 2012) é extremamente rico em termos de biodiversidade com elevado grau de endemismos, sendo considerado um *hotspot* (Camardelli e Napoli, 2012). A Caatinga possui uma flora extremamente rica, principalmente em plantas medicinais, cujo potencial farmacológico é corroborado pela enorme diversidade de

fitoquímicos como mucilagens, ceras, látex, óleos fixos e, principalmente óleos essenciais (Giulietti et al., 2004). Dentre as espécies medicinais da Caatinga destaca-se a *Lippia gracilis*, endêmica, pertencente à família Verbenaceae, cujo óleo essencial, produzido em grande quantidade, apresenta elevado potencial farmacológico com comprovada atividade antimicrobiana (Albuquerque et al., 2006; Oliveira et al., 2008; Fernandes et al., 2015), larvicida (Pereira et al., 2008; Marreto et al., 2008), moluscicida, antioxidante (Lima et al., 2008), além de significativa ação antitumoral (Ferraz et al., 2013). Infelizmente, os trabalhos visando o cultivo dessa espécie são escassos (Ragagnin et al., 2014), principalmente aqueles que permitam fazer inferências sobre o comportamento da mesma em áreas salinizadas, pois uma vez adaptada a esse tipo de ambiente, tem-se a possibilidade de utilizá-la na recuperação de solos degradados e, ao mesmo tempo, fornecer matéria prima de interesse farmacêutico. Nesse contexto, o presente estudo focou-se em avaliar a influência da salinidade e o tempo de exposição ao estresse sobre os atributos morfofisiológicos de *L. gracilis* e a capacidade que a mesma possui de acumular íons tóxicos. Testamos se o aumento da salinidade modificaria o padrão de alocação de biomassa entre os diferentes órgãos da espécie, bem como se reduziria proporcionalmente o acúmulo de biomassa e/ou afetaria drasticamente a taxa de crescimento, observando se essa diminuição é devido a uma redução da taxa de assimilação líquida ou na razão de área foliar, sempre analisando essas alterações ao longo do tempo. Avaliamos também os efeitos da interação entre a salinidade e o tempo de exposição ao estresse sobre o acúmulo e partição de íons entre as folhas e raízes de *L. gracilis*.

5.4 Materiais e métodos

5.4.1 Caracterização da área de estudo

O trabalho foi realizado no município de Mossoró nas dependências da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte a qual está situada nas coordenadas geográficas de 5° 12' 18,25'' Sul, 37° 18' 53,10'' Oeste, onde o clima característico dessa região é semiárido de Köppen-Geiger, tipo BSW_h, registrando-se temperaturas médias em torno dos 27 °C, com mínimas de 18 °C e máximas de 39 °C. A precipitação pluviométrica é bastante irregular, no espaço e no tempo, sendo a média pluviométrica anual de 667,4 mm.ano⁻¹, com ocorrência de precipitação mínima registrada de 145,2 mm.ano⁻¹, variando até uma máxima de 2065,7 mm.ano⁻¹ (Jales, 2009).

5.4.2 Material vegetal, condições de crescimento e tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação coberta com filme de polietileno de 125 μm difusor de luz, onde as mudas, obtidas mediante processo de estaquia, foram cultivadas em recipientes com volume de 15 dm^3 (17,5 kg de solo), contendo solo proveniente da área onde as estacas foram coletadas, areia e composto orgânico simples na proporção de 1:3:1 (m/m). Após o enraizamento e uniformização em tamanho das plantas (40 dias, correspondente ao tempo zero) as mesmas foram submetidas a diferentes tratamentos com soluções salinas compostas, preparadas pela adição de diferentes quantidades de sais de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de cálcio diidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e cloreto de magnésio hexaidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), na proporção de 7:2:1, cujas concentrações finais foram: $S_2 = 30,53 \text{ mM}$ ($3,34 \text{ mS cm}^{-1}$), $S_3 = 61,06 \text{ mM}$ ($5,65 \text{ mS cm}^{-1}$), $S_4 = 91,59 \text{ mM}$ ($7,70 \text{ mS cm}^{-1}$) e $S_5 = 122,12 \text{ mM}$ ($9,9 \text{ mS cm}^{-1}$). O tratamento controle ($S_1 = 0 \text{ mM}$; $0,41 \text{ mS cm}^{-1}$) foi irrigado com água potável. Foram realizadas irrigações manuais, duas vezes ao dia, sendo o volume de água utilizado conforme a capacidade de campo dos vasos, adicionando-se uma fração de lixiviação entre 10 e 15% para que as soluções de irrigação percolassem, a fim de evitar o acúmulo excessivo de sais. As condições nutricionais do substrato foram mantidas mediante aplicação, em intervalos de oito dias, de solução nutritiva (Hoagland e Arnon, 1950), durante todo ciclo.

5.4.3 Análises dos parâmetros de crescimento e ecofisiológicos

As análises foram realizadas aos 25 e 50 dias após o estresse (DAE), sendo que, em cada época, realizou-se o corte e separação das frações botânicas (folha, caule/ramos e raízes), determinando-se a área foliar unitária (AF_U), através de um medidor a laser portátil de área foliar (CI-202, CID Bio-Science Inc., USA), assim como a altura das plantas ($\text{ALT}_{\text{plantas}}$) e diâmetro do caule (Φ_{caule}). Após isso, o material vegetal foi desidratado em estufa com circulação e renovação de ar (Modelo 298, De Leo e Cia Ltda, Porto Alegre, Brasil) a 65°C , por 72 horas, para a determinação do teor de matéria seca (expressa em g planta^{-1}) das folhas (MSF), caules/ramos (MSC) e raízes (MSR). A partir destes dados os seguintes parâmetros foram calculados: área foliar total (AF_T , $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$), fração de alocação de biomassa (FAB's, definidas como as proporções de biomassa dos componentes (hastes/caule, folhas, e raízes) em relação a biomassa total das plantas), taxa de crescimento relativo (TCR; incremento em matéria seca por peso de matéria seca já existente, num dado intervalo de tempo, $\text{mg g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$), taxa de assimilação líquida (TAL; aumento de matéria seca por unidade de superfície assimilatória por unidade de tempo, $\text{mg cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$), razão de massa foliar (RMF; biomassa de foliar por unidade

de massa vegetal, g g^{-1}), razão de área foliar (RAF; área foliar por unidade de massa vegetal, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) e área foliar específica (AFE; área foliar por unidade de massa foliar, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), conforme metodologias descritas por Evans (1972), Hunt (1982) e Pearcy et al., (1996). O índice de esclerofilia (IE; massa foliar por unidade de área, g m^{-2}) foi calculado conforme Groom e Lamont (1999).

5.4.4 Processo de digestão das amostras

Antes da análise das amostras, foi realizada uma digestão da massa vegetal em solução oxidante mista composta por ácido nítrico e peróxido de hidrogênio (Planck, 1992), onde aproximadamente 500 mg de folhas e raízes pulverizadas foram misturadas, em tubos de digestão, com 5 mL de ácido nítrico (68%, m/m) e aquecidas a 125 °C em bloco digestor (TE-007A, Tecnall, Brasil), durante 1 hora. Após o arrefecimento foram adicionados 2 mL de peróxido de hidrogênio (30%, m/m) e repetido o ciclo de aquecimento. Após o arrefecimento das amostras digeridas, foram devidamente diluídas e armazenadas a 4 °C.

5.4.5 Ensaio de espectroscopia de absorção atômica em chama

Após a digestão das amostras, as concentrações de sódio ($[\text{Na}^+]$) e potássio ($[\text{K}^+]$) foram determinadas por espectroscopia de absorção atômica, utilizando um espectrômetro de absorção/emissão atômica da Varian Inc., modelo SpectraAA-50 (USA), a partir de curvas analíticas construídas com um conjunto de soluções-padrão contendo um gradiente positivo de concentrações do analito. Em síntese, foram empregados os seguintes parâmetros operacionais: comprimento de onda de 766,5 nm para o potássio e de 589 nm para o sódio; corrente máxima das lâmpadas de 5 mA, estequiometria da chama de natureza oxidante e composta pela mistura ar/acetileno; fenda espectral de 1,0 nm para o potássio e de 0,5 nm para o sódio.

5.4.6 Processo de extração e quantificação de cloreto solúvel

A partir de 250 mg de folhas ou raízes pulverizadas, o cloreto ($[\text{Cl}^-]$) foi extraído com 30 mL de nitrato de cálcio ($0,085 \text{ mol L}^{-1}$), filtrado e determinado através do método argentométrico, utilizando-se cromato de potássio como indicador, sendo a concentração de Cl^- ($\text{g kg}^{-1} \text{ MS}$) calculada através da seguinte relação:

$$[\text{Cl}^-] = \frac{mL_{\text{AgNO}_3} \times M_{r \text{ AgNO}_3} \times MM_{\text{Cl}^-}}{m}$$

onde mL_{AgNO_3} é o volume do titulante (mL), $M_{r \text{ AgNO}_3}$ é a molaridade real (mmol mL⁻¹) do titulante; MM_{Cl^-} é a massa molar (mg mmol⁻¹) do Cl⁻ e m é a massa da amostra (gramas).

5.4.7 Design experimental e análises estatísticas

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, onde os tratamentos, com quatro repetições, foram dispostos em esquema fatorial 5x2 referentes à cinco concentrações de sais (condutividade elétrica da água de irrigação) e dois tempos de exposição ao estresse (25 e 50 dias). A análise de variância com três fatores (three way ANOVA), para a fração de alocação de biomassa, e com dois fatores (two way ANOVA), para as demais variáveis, seguida pelo teste de Tukey (HSD), foi realizada para detectar diferenças significativas ($p \leq 0,01$). A análise estatística foi realizada utilizando o *software* ASSISTAT®, versão 7.6 beta (Silva, 2015). Submetemos, ainda, os dados a análise multivariada de variância permutacional (*two way* PERMANOVA), baseando-se em valores de dissimilaridade de Bray-Curtis, para avaliar as mudanças provocadas pelo estresse salino ao longo do tempo, utilizando o *software* PAST™, versão 3.11 (Hammer et al., 2001). A análise dos componentes principais (PCA) foi utilizada para determinar a maior variância e correlação entre as variáveis quantitativas, mediante matriz de variância-covariância gerada a partir dos dados log-transformados.

5.5 Resultados

5.5.1 Efeitos da salinidade e do tempo de exposição sobre a produção de matéria seca, altura e diâmetro do caule de plantas de *L. gracilis*

A salinidade afetou todas as características de crescimento de plantas de *L. gracilis*, e a figura 1 mostra que a massa seca total (MST), matéria das folhas (MSF), caule (MSC), raízes (MSR), altura das plantas (ALT_{plantas}) e diâmetro do caule (Φ_{caule}) foram influenciadas significativamente pela concentração de sais ($p \leq 0,01$) e pelo tempo de exposição à salinidade ($p \leq 0,01$), evidenciando interação significativa entre os dois fatores ($p \leq 0,01$).

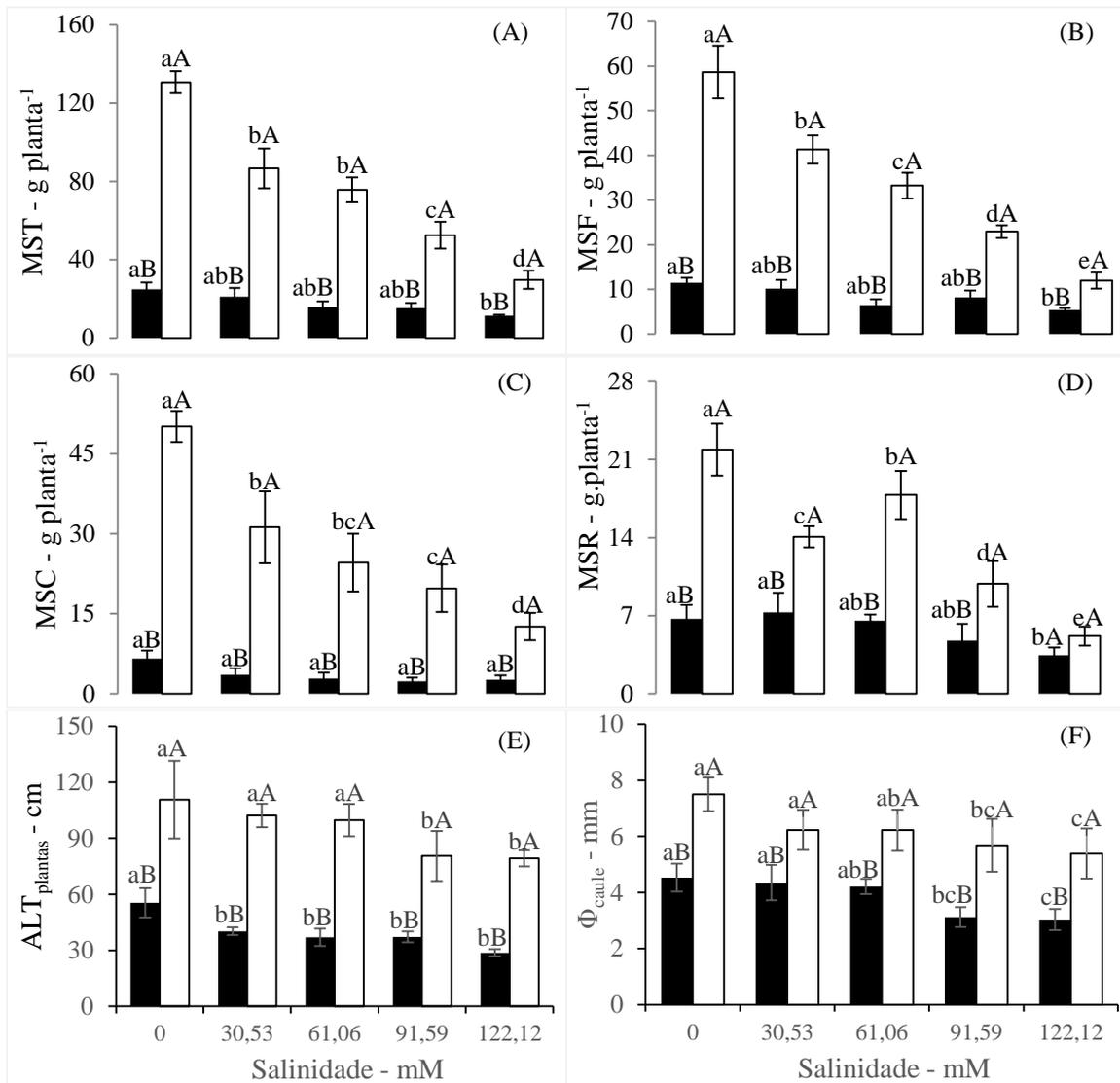


Figura 1 Matéria seca total (MST) (A), folhas (MSF) (B), caule (MSC) (C), raízes (MSR) (D), altura ($ALT_{plantas}$) (E) e diâmetro do caule (Φ_{caule}) (F) de plantas de *L. gracilis* em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (colunas preenchidas) e 50 (colunas não preenchidas) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n = 4$). As barras representam o desvio-padrão da média.

Analisando a influência da salinidade dentro do tempo de exposição verificamos que a mesma, aos 25 DAE, exerceu um impacto significativo sobre o crescimento da *L. gracilis*, cujo nível salino mais elevado (122,12 mM) reduziu dramaticamente a MST ($\downarrow 54,28\%$), MSF ($\downarrow 53,74$), MSC ($\downarrow 60,61\%$) e MSR ($\downarrow 48,66\%$), em relação ao tratamento controle (0 mM). De modo mais severo, aos 50 DAE, o estresse salino induzido pela água de irrigação afetou negativamente o acúmulo de MST, MSF, MSC e MSR, cujos decréscimos mais comprometedores ocorreram nos níveis salinos de 91,59 e 122,12 mM (Figs. 1A, B, C e D). Da mesma forma, o desdobramento para avaliar o efeito do tempo de exposição em cada nível de salinidade revelou um impacto bastante significativo, uma vez que, mesmo ocorrendo um

crescimento em todos os níveis salinos, as plantas do tratamento controle (0 mM), aos 50 DAE, tiveram os maiores incrementos na MST, MSF, MSC e MSR, quando comparadas aos demais níveis salinos, especialmente as concentrações de 91,59 e 122,12 mM de sais (Figs. 1A, B, C e D). Em relação aos efeitos da salinidade sobre a alturas das plantas ($ALT_{plantas}$), aos 25 DAE, todos tratamentos salinos tiveram decréscimos em relação ao controle, enquanto que aos 50 DAE, os maiores decréscimos se deram a partir da dose de 91,50 mM de sais (Fig. 1E). O tempo de exposição ao estresse influenciou positivamente a $ALT_{plantas}$, em função da recuperação das plantas submetidas a concentrações intermediárias de sais (30,53 e 61,06 mM), assim como pelos incrementos bastante significativos apresentados pelas plantas submetidas as doses mais elevadas de sais (91,59 e 122,12 mM) (Fig. 1E). O diâmetro do caule (Φ_{caule}), aos 25 e 50 DAE, sofreu interferência negativa somente dos maiores níveis salinos (91,59 e 122,12 mM), sendo que o tempo de exposição ao estresse também favoreceu a manutenção de incrementos positivos para essa variável (Fig. 1F).

5.5.2 Alocação de biomassa para folhas, caules e raízes

A alocação das frações de biomassa em plantas de *L. gracilis* depende da concentração de sais ($p \leq 0,01$), tempo de exposição ao estresse ($p \leq 0,01$) e do órgão considerado ($p \leq 0,01$). Aos 25 DAE, a alocação de biomassa para o sistema radicular no tratamento salino de 61,06 mM, foi significativamente maior do que nas demais concentrações de sais, embora esse aumento tenha provocado uma redução concomitante da biomassa alocada para o caule e folhas. Nesse mesmo período a biomassa alocada para o caule, nas concentrações de sais de 30,53 e 91,59 mM, também foram significativamente reduzidas, sem alterar, no entanto, a fração de biomassa alocada para os demais órgãos. Adicionalmente, aos 25 DAE, as frações de biomassa alocada foram similares para as raízes e caule, no tratamento controle (0 mM) e para as raízes e folhas, na dose de 61,06 mM, enquanto que nas demais concentrações de sais as frações foram maiores para as folhas, seguidas de raízes e depois, caule (Fig. 2).

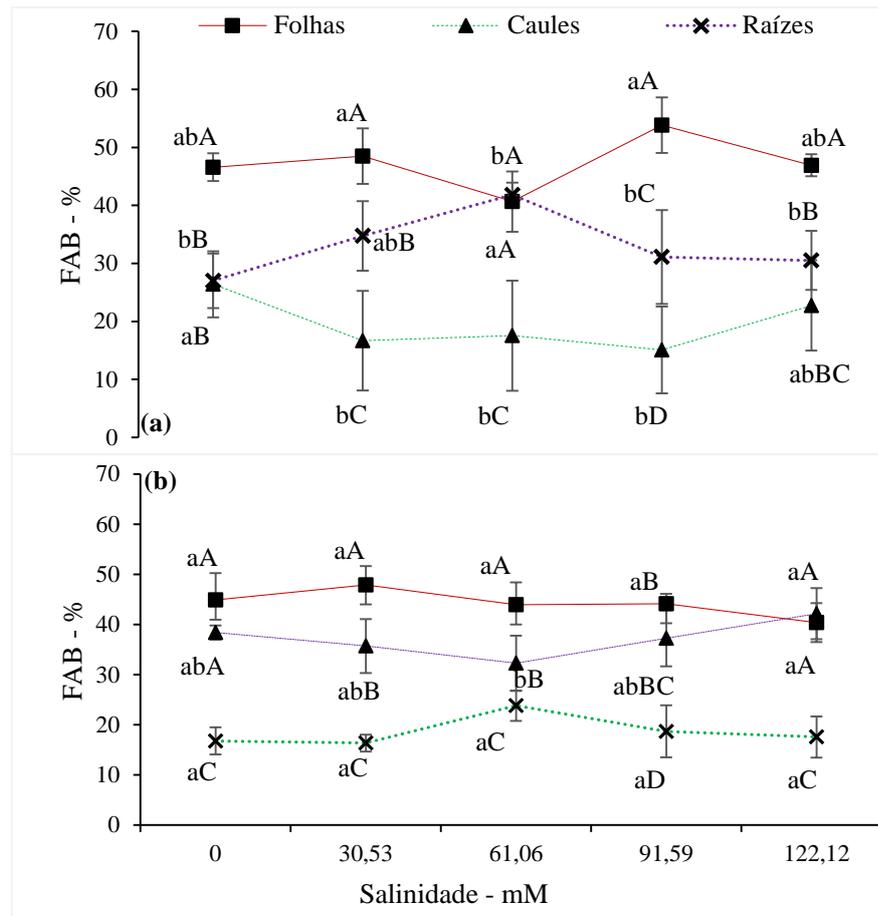


Figura 2 Frações de alocação de biomassa (FAB) entre folhas, caules e raízes em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (a) e 50 (b) dias após o estresse (DAE). Os dados (media \pm DP, %) foram submetidos a análise de variância, ANOVA *three-way* (salinidade *versus* tempo *versus* órgão), seguido pelo teste *post hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n = 4$), onde médias seguidas da mesma letra, minúscula para salinidade (comparações na direção horizontal) e maiúscula para tempo e órgão (comparação na direção vertical), não diferem estatisticamente entre si. As barras representam o desvio-padrão da média.

Aos 50 DAE, alocação de biomassa para os diferentes órgãos de *L. gracilis* não foram influenciadas pela presença de sais, exceto a fração de biomassa alocada para o caule das plantas submetidas à concentração de 61,06 mM de sais. Nesse mesmo período, as frações de biomassa alocadas entre os órgãos, independente da concentração de sais, foram estatisticamente diferentes entre si, sendo que as maiores frações de biomassa foram para as folhas, seguidas de caule e depois, raízes (Fig. 2). Adicionalmente, a fração de biomassa alocada para as folhas, aos 25 e 50 DAE, foram similares, independente das concentrações de sais, e estatisticamente diferente para as raízes e caule. Quando analisamos os diferentes órgãos entre si, em relação ao tempo de exposição, as frações de biomassa alocada para o caule, aos 25 DAE, foi estatisticamente similar à alocação de biomassa para as raízes, aos 50 DAE, exceto no tratamento controle. Além disso, a biomassa alocada para as folhas, aos 25 DAE, semelhante às frações de alocação para o caule, aos 50 DAE (Fig. 2).

5.5.3 Respostas morfológicas, a nível foliar, de plantas de *L. gracilis* submetidas a diferentes concentrações de sais em função do tempo de exposição

A área foliar unitária (AF_U), a área foliar total (AF_T) de *L. gracilis* foram significativamente ($p \leq 0,01$) afetadas pela salinidade e tempo de exposição, sendo que a interação da salinidade e tempo de exposição ($S \times TE$), também afetou significativamente ($p \leq 0,01$) as variáveis em questão (Fig. 3A, B).

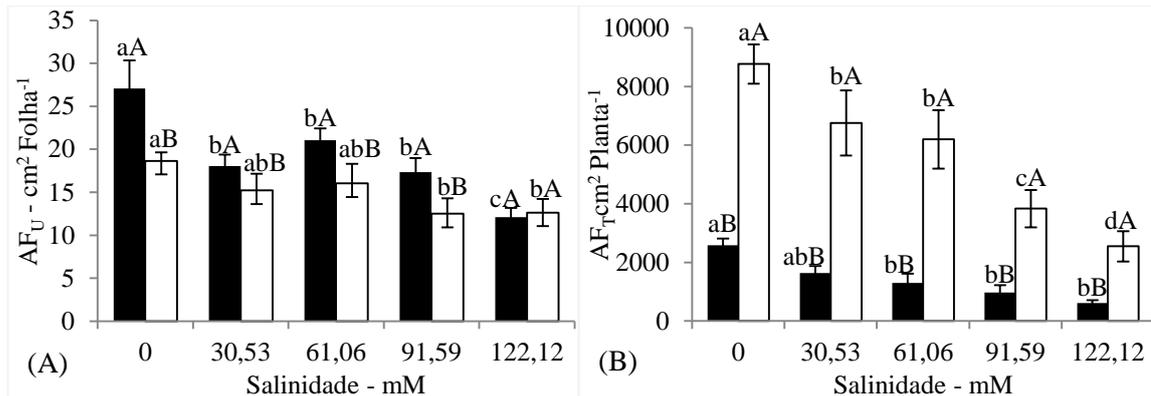


Figura 3 Área foliar unitária (AF_U) (A) e área foliar total (AF_T) (B), em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (colunas preenchidas) e 50 (colunas não preenchidas) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.

Os níveis de salinidade, aos 25 DAE, reduziram a AF_U em 33,31% (30,53 mM), 22,27% (61,06 mM), 39,70% (91,59 mM) e 55,28% (122,12 mM), em relação ao controle (0 mM) (Fig. 3A), enquanto que os a AF_T sofreu decréscimos de 37%, 49,94%, 66,04%, 76,51% (Fig. 3B). Por outro lado, aos 50 DAE, somente os níveis de salinidade de 91,59 mM e 122,12 mM afetaram a AF_U , provocando decréscimos de 32,89% e 32,28%, respectivamente (Fig. 3A). Nesse mesmo período de avaliação (50 DAE), a AF_T sofreu reduções significativas em todos os níveis salinos, em relação ao tratamento controle, sendo que os níveis salinos de 91,59 mM e 122,12 mM provocaram decréscimos de 56,29% e 70,98%, respectivamente (Fig. 3B). Em relação ao tempo de exposição, a AF_U foi reduzida significativamente no tratamento controle (0 mM; $\downarrow 31,13\%$) e nas doses de 30,53 mM ($\downarrow 15,82\%$), 61,06 mM ($\downarrow 23,85\%$) e 91,59 mM ($\downarrow 23,52\%$), mas permanecendo estatisticamente inalterada na dose de 122,12 mM (Fig. 3A). Alternativamente, o desdobramento do efeito do tempo de exposição em cada nível salino revelou que, mesmo ocorrendo interferência negativa do excesso de sais sobre a AF_T , esta, independentemente da salinidade, aumento significativamente (Fig. 3B).

5.5.4 A salinidade e o tempo de exposição modulam a taxa de crescimento relativo e seus componentes em plantas de *L. gracilis*

A taxa de crescimento relativo (TCR) (Fig. 4A), área foliar específica (AFE) (Fig. 4C), razão de área foliar (RAF) (Fig. 4D), razão de massa foliar (RMF) (Fig. 4E) e índice de esclerofilia (IE) (Fig. 4F) foram influenciadas significativamente pelos diferentes níveis de salinidades ($p \leq 0,01$), exceto a taxa de assimilação líquida (TAL) (Fig. 4B) ($p > 0,05$). Somente a RAF e a AFE não sofreram influência significativa ($p > 0,05$) do tempo de exposição ao estresse. Todas as variáveis citadas foram influenciadas significativamente ($p \leq 0,01$) pela interação entre os dois fatores, exceto a TCR ($p > 0,05$).

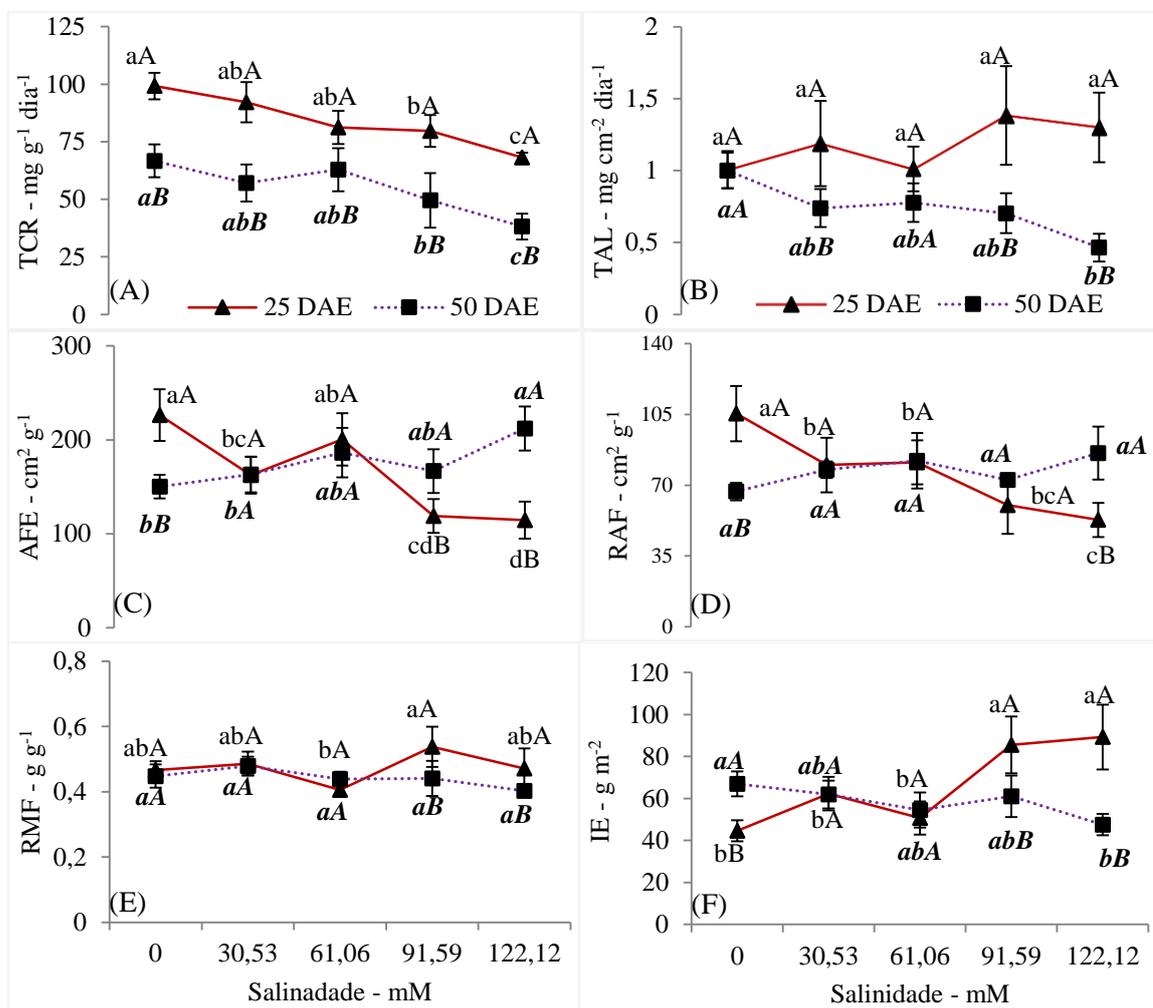


Figura 4 Taxa de crescimento relativo (TCR) (A), taxa de assimilação líquida (TAL) (B), área foliar específica (AFE) (C), razão de área foliar (RAF) (D), razão de massa foliar (RMF) (E) e índice de esclerofilia (IE) (F), em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (marcador em forma de pirâmide) e 50 (marcador em forma de quadrado e letras em negrito/itálico) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.

A taxa de crescimento relativo (TCR) de *L. gracilis* mostrou que a salinidade provoca efeitos significativos somente nas concentrações de 91,59 e 122,12 mM, cujos respectivos

decréscimos foram de 19,66 e 31,25% (aos 25 DAE) e 25,64 e 42,73% (50 DAE) (Fig. 4A). Em relação ao tempo de exposição a TCR decresceu significativamente, aos 50 DAE, independentemente dos níveis de salinidade (Fig. 4A). Por outro lado, a taxa de assimilação líquida (TAL) de *L. gracilis*, aos 25 DAE, não sofreu influência do estresse salino, enquanto que aos 50 DAE, o decréscimo mais drástico ocorreu no nível salino de 122,12 mM ($\downarrow 60,39\%$) (Fig. 4B). Em relação ao tempo de exposição, a TAL foi reduzida em 50,57% (30,53 mM), 34,48% (61,06 mM), 55,49% (91,59 mM) e 73,17% (122,12 mM) (Fig. 4B). A área foliar específica (AFE), aos 25 DAE, diminuiu significativamente com o aumento da salinidade, onde os maiores decréscimos, em relação ao controle (0 mM), foram de 47,41% (91,59 mM) e 49,38% (122,12 mM), enquanto que, aos 50 DAE, a variável em questão teve um aumento de 41,24% no maior nível salino (122,12 mM) (Fig. 4C). Da mesma forma, aos 25 DAE, a RAF foi significativamente reduzida, em função do aumento da concentração de sais, onde os menores valores foram observados nos níveis salinos de 91,59 mM ($60,16 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$) e 122,12 mM ($52,88 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$) (Fig. 4D). O tempo de exposição ao estresse afetou negativamente a AFE somente do controle (0 mM, $\downarrow 63,36\%$), promovendo aumentos significativos nos níveis salinos de 91,59 mM ($\uparrow 40,07\%$) e 122,12 mM ($\uparrow 85,15\%$) (Fig. 4C). A RAF apresentou um comportamento bastante similar a AFE, ocorrendo uma diminuição (36,30%) no controle (0 mM) e um aumento nos níveis salinos de 91,59 mM ($\uparrow 20,74\%$) e 122,12 mM ($\uparrow 62,40\%$) (Fig. 4D). O estresse salino, aos 25 DAE, provocou uma redução de 12,87% na RMF somente na concentração de 61,06 mM, enquanto que aos 50 DAE, não houve diferenças significativas entre os níveis salinos. Em relação à influência do tempo de exposição, a RMF foi negativamente influenciada somente nos níveis salinos de 91,59 mM ($\downarrow 18,03\%$) e 122,12 mM ($\downarrow 14,44\%$).

O índice de esclerofilia (IE) de *L. gracilis*, aos 25 DAE, aumentou significativamente somente nos níveis salinos de 91,59 mM ($85,52 \text{ g m}^{-2}$) e 122,12 mM ($89,25 \text{ g m}^{-2}$), enquanto que aos 50 DAE a concentração de 122,22 mM de sais influenciou negativamente a variável em questão (Fig. 4F). O IE, em função tempo de exposição ao estresse aumentou ($\uparrow 49,99\%$) no tratamento controle e diminuiu nos níveis salinos de 91,59 mM ($\downarrow 28,66\%$) e 122,12 mM ($\downarrow 46,71\%$) (Fig. 4F).

5.5.5 Concentração de íons em folhas e raízes

A salinidade e o tempo de exposição, assim como a interação entre ambos afetaram significativamente o conteúdo de Na^+ ($p \leq 0,01$), em folhas (Fig. 5A) e raízes (Fig. 5B) de *L.*

gracilis, sendo que a concentração desse cátion nas folhas ($[Na^+]_{foliar}$), em função dos níveis de salinidade, acumulou-se excessivamente, aos 25 e 50 DAE, sendo este proporcional ao aumento das doses de sais chegando respectivamente a 2131,64% e 3655,08% na dose mais elevada de sais (122,12 mM) (Fig. 5A). Por outro lado, em relação ao tempo de exposição percebemos que, a capacidade de retenção de Na^+ no tecido foliar, resultante do estresse, não apresentou diferenças significativas, exceto para o nível de salinidade de 122,12 mM, com um incremento de 14,50% (Fig. 5A).

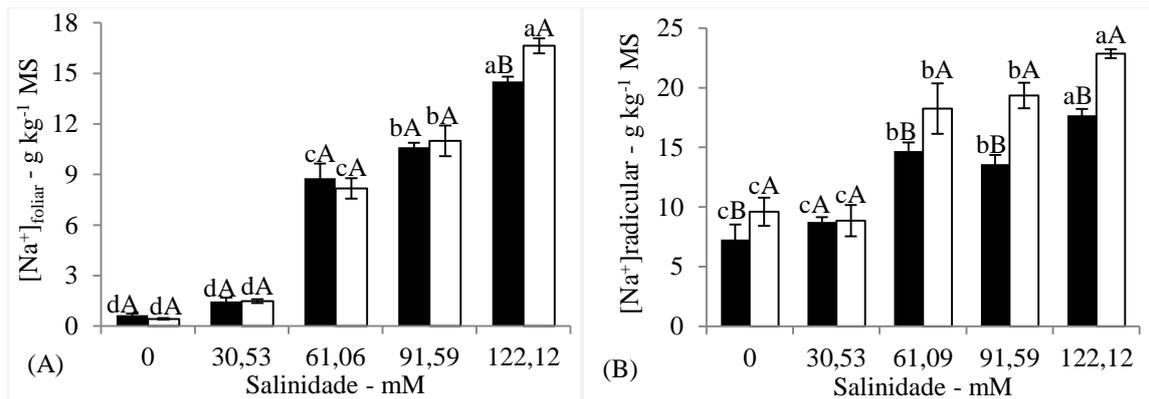


Figura 5 Teor de sódio em folhas (A) e raízes (B) de *L. gracilis*, em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 e 50 dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.

Em relação ao acúmulo de sódio nas raízes, ($[Na^+]_{radicular}$), de *L. gracilis*, em função da salinidade, os dados mostram claramente que o nível de salinidade de 122,12 mM, aos 25 DAE, incrementou o teor de sódio em 142,87% em relação ao tratamento controle. O nível de salinidade de 30,53 mM não diferiu do tratamento controle e os níveis de 61,06 mM e 90,59 mm, não diferiram entre si, com teores de sódio de 14,689 e 13,360 $g \cdot kg^{-1}$ MS, respectivamente. Em relação ao tempo de exposição, a $[Na^+]_{radicular}$ foi estatisticamente semelhante apenas na concentração de 30,53 mM, ocorrendo incrementos bastante significativos nas demais concentrações salinas, inclusive no controle (0 mM) (Fig. 5B).

O conteúdo de K^+ em plantas de *L. gracilis* também foi afetado significativamente pela salinidade ($p \leq 0,01$) e tempo de exposição ($p \leq 0,01$), assim como a interação entre ambos os fatores ($p \leq 0,01$) (Figs. 6A, B). Inversamente a tendência observada para o Na^+ , o conteúdo de K^+ nas folhas, ($[K^+]_{foliar}$), em função dos níveis salinos, aos 25 DAE, foi reduzido significativamente a partir do nível salino de 61,06 mM, enquanto que, aos 50 DAE, ocorreram incrementos estatisticamente significativos nos tratamentos de 91,59 ($\uparrow 30,24\%$) e 122,12 mM ($\uparrow 63,60\%$), em relação ao controle (Fig. 6A). Para o conteúdo de potássio nas raízes ($[K^+]_{radicular}$), os dados demonstram que, aos 25 DAE, houve um aumento do mesmo nos níveis

de salinos de 30,53 mM ($\uparrow 16,31\%$) e 61,06 mM ($\uparrow 9,04\%$) e uma redução nas plantas submetidas as demais concentrações de sais, em relação ao controle (Fig. 6B). Por outro lado, aos 50 DAE, houve um decréscimo na $[K^+]_{\text{radicular}}$ das plantas cultivadas nos níveis salinos de 61,06 mM ($\downarrow 27,90\%$), 91,59 mM ($\downarrow 34,88\%$) e 122,12 mM ($\downarrow 48,19\%$), mostrando dessa forma, alta taxa de efluxo de íons K^+ (Fig. 6B).

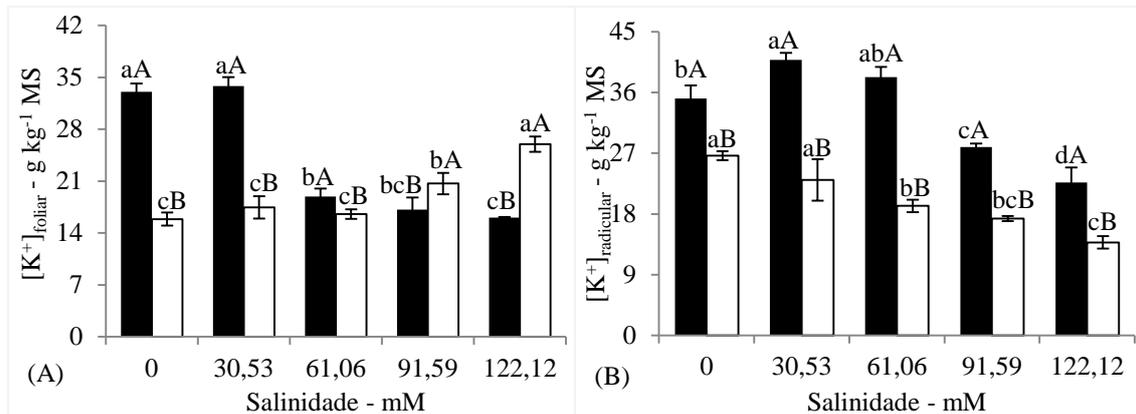


Figura 6 Teor de potássio em folhas (A) e raízes (B) de *L. gracilis*, em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (colunas preenchidas) e 50 (colunas não preenchidas) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.

Em relação ao tempo de exposição, a $[K^+]_{\text{foliar}}$ diminuiu significativamente nas doses de 0 mM ($\downarrow 51,93\%$), 30,53 mM ($\downarrow 48,35\%$) e 61,06 mM ($\downarrow 12,53\%$) e aumentou nas doses de 91,59 mM ($\uparrow 20,60\%$) e 122,12 mM ($\uparrow 61,70\%$) (Fig. 6A). Por outro lado, as $[K^+]_{\text{radicular}}$ foram reduzidas significativamente, em função do tempo de exposição ao estresse (Fig. 6B).

A análise de variância para a razão $[K^+]:[Na^+]$, em folhas (Fig. 7A) e raízes (Fig. 7B) de *L. gracilis*, mostrou que houve interação significativa entre os fatores concentração de sais ($p \leq 0,01$) e tempo de exposição ($p \leq 0,01$), assim como para ambos os fatores isoladamente ($p \leq 0,01$), sendo que com o aumento dos níveis de salinidade nos órgãos estudados, houve redução do teor de K^+ e aumento do teor de Na^+ , em resposta ao aumento da concentração de NaCl, havendo conseqüentemente uma redução na razão $[K^+]:[Na^+]$ (Figs. 7A, B), sendo esta mais severa no tecido radicular em função da maior quantidade de sódio retido nesse órgão, principalmente a partir da concentração de 91,59 mM de sais.

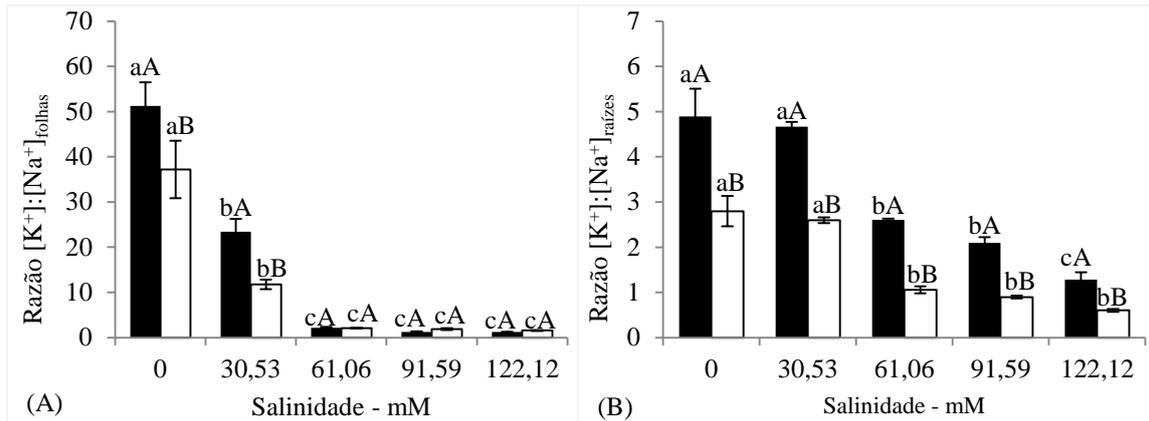


Figura 7 Razão $[K^+]:[Na^+]$ em folhas (A) e raízes (B) de *L. gracilis*, em função de diferentes níveis de salinidade, aos 25 (colunas preenchidas) e 50 (colunas não preenchidas) dias após o estresse (DAE). Médias seguidas de mesma letra, minúscula para salinidade e maiúscula para tempo, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p \leq 0,01$, $n=4$). As barras representam o desvio-padrão da média.

A diminuição da razão $[K^+]:[Na^+]$ em folhas de *L. gracilis* em função dos níveis de salinidade e tempo de exposição ao estresse, mostra que aos 25 e 50 DAE, respectivamente, a absorção de potássio estava aumentada a uma razão de 51,23 $[K^+]:[Na^+]$ e 37,22 $[K^+]:[Na^+]$, no tratamento controle, diminuindo significativamente, de forma exponencial, em função do aumento dos níveis de sais, tendo alcançado uma razão de 1,20 $[K^+]:[Na^+]$, na concentração de 122,12 mM (Fig. 7A). Por outro lado, em função do tempo de exposição ao estresse, diferenças significativas somente foram observadas no tratamento controle (0 mM) e no nível de 30,53 mM, apresentando decréscimos de 27,35% e 49,62%, respectivamente (Fig. 07A, B). Por outro lado a razão $[K^+]:[Na^+]$ nas raízes, somente foram afetadas a partir da dose de 61,06 mM, aos 25 e 50 DAE, embora o tempo de exposição tenha influenciado negativamente esse variável, sendo que os decréscimos mais acentuados tenham ocorrido no tratamento controle (0 mM) e na dose de 30,53 mM de sais (Fig. 7B).

Os resultados da análise de variância mostram que o acúmulo de cloreto em folhas ($[Cl^-]_{\text{foliar}}$) de *L. gracilis* foi significativamente influenciado pela salinidade ($p \leq 0,01$), mas não pelo tempo de estresse ($p > 0,05$) e interação entre os fatores ($p > 0,05$), indicando que a variável se comporta de forma diferente em relação aos dois fatores analisados (Fig. 8A). Por outro lado, o conteúdo de cloreto nas raízes ($[Cl^-]_{\text{radicular}}$) foi significativamente influenciado pela salinidade ($p \leq 0,01$), tempo de exposição ao estresse ($p \leq 0,01$) e interação entre os fatores ($p \leq 0,01$) (Fig. 8B).

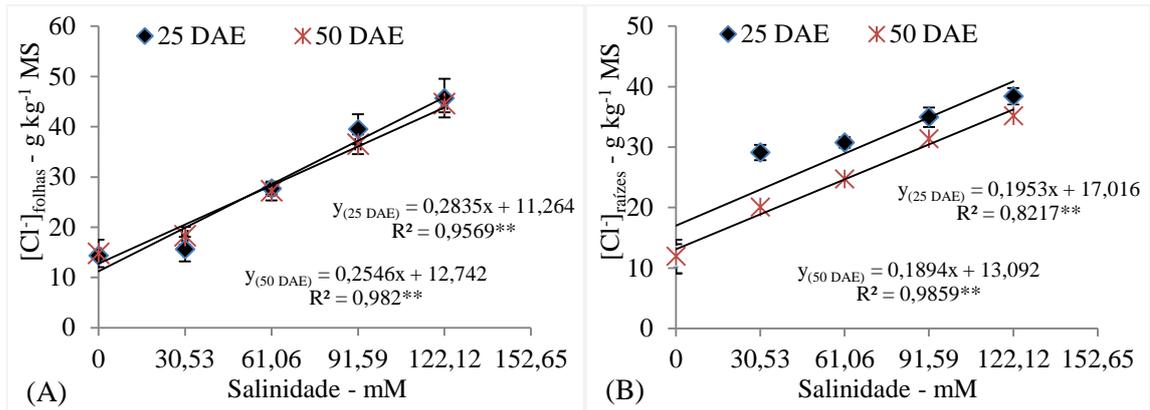


Figura 8 Concentração de cloreto em folhas (A) e raízes (B) de *L. gracilis*, sob diferentes níveis de salinidade, aos 25 e 50 DAE. A linha contínua representa a curva ajustada pelo modelo e os pontos representam os valores originais de cada tratamento (n = 3). ** significativo pelo teste *pos hoc* de Tukey (HSD) ($p < 0,01$, $n = 4$). As barras representam o desvio-padrão da média.

As análises revelam, em ambos os órgãos analisados, que o cloreto aumentou de forma linear, sob tratamento salino. No caso das folhas, os teores de cloreto, aos 25 DAE, no tratamento salino de 30,53 mM não diferiu estatisticamente do controle (0 mM), embora os níveis salinos de 61,06 mM, 91,59 mM e 122,12 mM tenham incrementado o conteúdo de cloreto em torno de 193,27%, 275,46% e 318,64%, respectivamente. Ainda para o tecido foliar, o comportamento do acúmulo de cloreto, aos 50 DAE, foi estatisticamente similar aos 25 DAE. Da mesma forma, a $[Cl^-]_{radicular}$ acumulou-se de forma linear, como o aumento das concentrações de sais na água de irrigação, variando entre 11,51 $g\ kg^{-1}$ (0 mM) e 38,40 $g\ kg^{-1}$ (122,12 mM) aos 25 DAE, enquanto que aos 50 DAE, as médias de acúmulo variaram entre 11,92 $g\ kg^{-1}$ (0 mM) e 35,18 $g\ kg^{-1}$ (122,12 mM). A $[Cl^-]_{radicular}$ diminuiu em função do tempo de exposição ao estresse com decréscimos de 31% (30,53 mM), 19,61% (61,06 mM), 10,23% (91,59 mM) e 8,40% (122,12 mM).

5.5.6 Análise multivariada

Os resultados da PERMANOVA revelaram um efeito significativo da salinidade ($F_{4,30} = 18,225$, $p < 0,0001$), do tempo de exposição ao estresse ($F_{1,30} = 82,055$, $p < 0,0001$), bem como uma interação significativa entre os dois fatores ($F_{4,30} = 17,339$, $p < 0,0001$) (Fig. 9), mostrando que o desenvolvimento de *L. gracilis* sofre interferência não somente de um gradiente salino, mais também de outros fatores, que atuando ao longo do tempo, modificam o padrão de desenvolvimento da espécie.

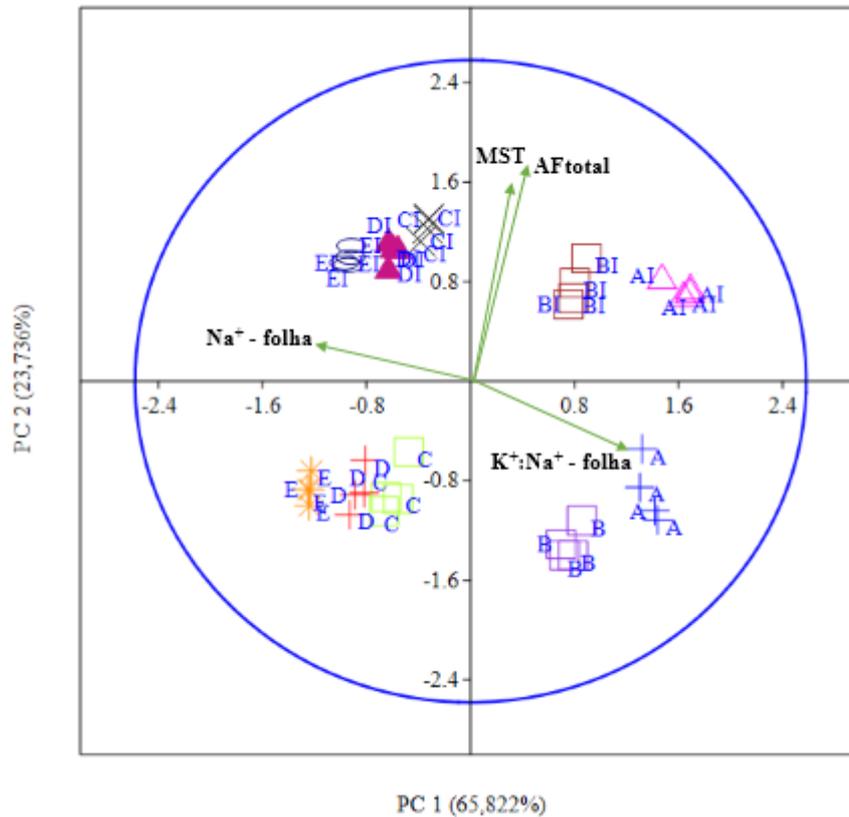


Figura 9 Análise de componentes principais (ACP) de 22 variáveis obtidas após a irrigação de *L. gracilis* com diferentes concentrações de sais, ao longo do tempo. A ACP resultante de uma matriz de variância-covariância, mostra dois eixos dos componentes principais (PC1, representado por $[\text{Na}^+]_{\text{foliar}}$ e razão $\text{K}^+:\text{Na}^+$ nas folhas; e PC2, representado por MST e AF_{total}), onde as setas indicam os eigenvetores que representam a força (dado pelo comprimento do vetor) e a direção relativa da correlação entre a característica e os dois primeiros componentes principais (PC1, PC2). **A** = 0 mM, 25 DAE; **B** = 31,53 mM, 25 DAE; **C** = 61,06 mM, 25 DAE; **D** = 91,59 mM, 25 DAE; **E** = 122, 12 mM, 25 DAE. **AI** = 0 mM, 50 DAE; **BI** = 30,53 mM, 50 DAE; **CI** = 61,06 mM, 50 DAE; **DI** = 91,59 mM, 50 DAE; **EI** = 122,12 mM, 50 DAE.

A análise dos componentes principais (APC) evidenciou, com base nas características avaliadas, a distinção entre os níveis de salinidade e tempos de exposição (Fig. 9). A APC indicou ainda que a PC 1, representado principalmente pela $[\text{Na}^+]_{\text{foliar}}$ e razão $\text{K}^+:\text{Na}^+$ nas folhas, explicou 65,822% da variância total, enquanto a PC 2, representado a massa seca total e área foliar total, explicou 23,736% da variância, sendo que, juntos, PC 1 e PC2, respondem por 89,558% da variância dos dados estudados. Nesta APC, as observações obtidas a partir de plantas individuais expostas ao tratamento controle (0 mM) e aqueles a partir de plantas cultivadas na presença de sal (30,53; 61,06; 91,59 e 122,12 mM) são discriminadas ao longo do eixo PC1, indicando que este está principalmente associada com a variância do conteúdo de íons (efeito iônico), devido à exposição das plantas a elevados teores de sais. Neste caso, a $[\text{Na}^+]_{\text{foliar}}$ e razão $\text{K}^+:\text{Na}^+$ nas folhas estão inversamente correlacionadas. Por outro lado, o eixo

PC2 está associado com a variância devido à exposição das plantas à salinidade ao longo do tempo (Fig. 9).

5.6 Discussão

O estresse salino afeta negativamente o crescimento e desenvolvimento de, praticamente, todas as culturas em maior ou menor extensão, sendo que as reduções no crescimento da planta e acúmulo de matéria seca, devido à salinidade foram descritas em diversas espécies (Ashraf et al., 2010; Dolatabadian et al., 2011; Cassaniti et al., 2012), embora a reação exata ao estresse salino varie amplamente entre as espécies e até mesmo entre variedades (Cassaniti et al., 2009; Ventura et al., 2014). A salinidade e o tempo de exposição afetaram significativamente a produção de matéria seca total (MST), das folhas (MSF), caules (MSC), raízes (MSR), altura ($ALT_{plantas}$) e diâmetro do caule (Φ_{caule}) de plantas de *L. gracilis*, onde os maiores decréscimos se deram nas concentrações salinas de 91,59 mM e 122,12 mM, aos 50 DAE (Figs. 1A, B, C, D, E e F), embora a espécie tenha mantido incrementos positivos na produção de biomassa ao longo do tempo. A influência da salinidade sobre o acúmulo de biomassa em *L. gracilis* também foi estudada por Ragagnin et al. (2014), onde mostraram que o estresse induzido por NaCl provoca uma redução linear no acúmulo de matéria seca, tanto na parte aérea como nas raízes, embora estas sofram maior influência em comparação àquelas. Enquanto espécie glicófito, *L. gracilis* manteve uma performance bastante positiva em relação ao estresse salino, uma vez que a redução da biomassa como uma resposta a esse tipo de estresse, também é bastante comum em halófitas (Ungar, 1996; Houle et al., 2001).

A alocação de biomassa entre os diferentes órgãos das plantas é considerada um forte indicador de que estas são capazes de se adaptar a determinadas condições ambientais (Luo et al., 2013), sendo que os modelos baseados no crescimento funcional assumem que os recursos são alocados preferencialmente para os órgãos que se encontram em condições limitantes do crescimento (Shipley e Meziane, 2002), ou seja, para o sistema radicular em caso de salinidade (Perica et al., 2008). No entanto, nosso estudo mostrou (Fig. 2) que o percentual de biomassa alocada para o sistema radicular da *L. gracilis*, independentemente da salinidade, foi menor que a biomassa alocada para a parte aérea (caule + folhas), nos dois tempos considerados. As frações de alocação de biomassa não foram afetadas pelo aumento nas concentrações de sais (Fig. 2), embora tenha ocorrido uma interação significativa desse fator com o tempo de exposição que reduziu significativamente a alocação de biomassa para as raízes, aumentando, concomitante, e proporcionalmente a biomassa do caule. Do ponto de vista fisiológico, *L. gracilis* aumenta a

parte aérea, mediante um incremento da alocação para produção de tecidos de suporte (caule e ramos), com o declínio do sistema radicular, refletindo um investimento diferencial de fotossintatos entre a parte aérea e as raízes. Alguns autores relatam que sob altos níveis salinos a proporção de biomassa alocada para as raízes diminui em função do tempo, na mesma proporção que aumenta a alocação de biomassa do caule (Peters et al., 2014), sendo que isso se reflete em uma diminuição da razão raízes/parte aérea, em função da necessidade de restringir a absorção de íons tóxicos para a parte aérea, mantendo alto nível de turgescência e uma taxa de crescimento positiva em espécies tolerantes (Maggio et al., 2001; García e Medina, 2010; Vaario et al., 2011). Por outro lado, outros autores (Lovelli et al., 2012) afirmam que o estresse salino induz um aumento na razão raiz/parte aérea. Nossos resultados mostram, entretanto, que a trajetória de desenvolvimento e, portanto, a alocação de biomassa entre os diferentes órgãos de *L. gracilis*, não é influenciada pela salinidade, visto que em todos os níveis salinos, inclusive no tratamento controle (0 mM), a alocação de biomassa foi superior na parte aérea, levando-nos a considerar que as mudanças alométricas detectadas, em função do tempo, seja uma resposta coordenada da espécie, mediante mudanças ontogenéticas, ante a necessidade de investimento em estruturas de suporte (Niinemets, 2004), devido a um aumento na altura das plantas e uma maior biomassa foliar acumulada (Vanninen e Mäkelä, 2000; Valladares et al., 2002).

A área foliar unitária (AF_U) e a área foliar total (AF_T) da *L. gracilis*, assim como as variáveis de biomassa, sofreram reduções bastante significativas, principalmente nas concentrações de sais de 91,59 e 122,12 mM, independentemente do tempo de exposição (Figs. 2A, B). Essa diminuição da área foliar, em função do aumento das concentrações de sais, é um reflexo da diminuição na captação de água e assimilação de nutrientes pelas plantas, como discutido por Carter e Nippert (2012). Além disso, Aroca et al. (2011) relatam que, quando a água absorvida possui uma grande quantidade de sais, ocorre um desequilíbrio nutricional, em função dos efeitos tóxicos e osmóticos, provocando um desequilíbrio que interfere na síntese de fotossintatos vitais dentre os quais açúcares solúveis totais e proteínas, como apresentado por Silva et al. (2009) após submeterem plantas de *Jatropha curcas* L. à irrigação com águas salinas. Interessantemente, as plantas cultivadas no maior nível salino (122,12 mM) apresentaram a mesma área foliar, nos dois tempos considerados (25 e 50 DAE), mostrando que, um aumento linear nas concentrações de sais leva a um decréscimo proporcional na área foliar individual, somente durante certo intervalo de tempo.

A redução da área foliar individual (AF_U) de *L. gracilis*, ao longo do tempo, aparentemente, não se correlaciona com o aumento nas concentrações de sais, uma vez que as

plantas cultivadas no tratamento controle (0 mM) apresentaram uma AF_U média de $27,08 \text{ cm}^2 \text{ folha}^{-1}$, aos 25 DAE, enquanto que aos 50 DAE, essa média foi de $18,65 \text{ cm}^2 \text{ folha}^{-1}$, representando a maior redução (31,14%), quando comparada com os decréscimos ocorridos nas demais concentrações de sais, mostrando que o estresse salino torna mais precoce e severa a redução de área foliar, mas não é o único responsável pela indução de microfilia em *L. gracilis*.

Estamos inclinados a considerar que a redução da área foliar unitária (AF_U) de *L. gracilis*, ao longo do tempo, seja reflexo de um *trade-off* entre a redução do tamanho das folhas individuais e um aumento na área foliar total (AF_T , $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$), uma vez que, embora tenha ocorrido uma redução linear na AF_T , (Fig. 2B) com o aumento da salinidade, aos 25 e 50 DAE, quando analisamos a influência do tempo de exposição sobre essa variável percebe-se que, independentemente do nível salino, a mesma aumentou significativamente, principalmente no tratamento controle (0 mM). Isso mostra que a salinidade, indubitavelmente, influencia de forma negativa a AF_U e a AF_T , no entanto não explica a redução da AF_U ao longo do tempo. Essa aparente contradição (menor AF_U , maior AF_T) é plenamente compreendida quando analisamos as relações entre o tamanho das folhas e a “*leafing intensity*” (número de folhas por massa/unidade de caule), conforme sugere Kleiman e Aarssen (2007). Segundo esses autores, a variação no tamanho das folhas possui uma correlação forte e isometricamente negativa com a “*leafing intensity*”, onde folhas menores são selecionadas indiretamente, porque uma alta “*leafing intensity*” é mais favorável a espécie (Yang et al., 2008; Xiang et al., 2010).

Os resultados desse estudo mostram que, ao longo do tempo, o aumento na concentração de sais na água de irrigação provoca reduções significativas na TCR de *L. gracilis* (Fig. 4A). Funcionalmente a TCR pode variar tanto em função do seu componente fisiológico (TAL, o ganho de massa seca por unidade de área foliar por dia), como do seu componente morfológico (RAF, que é o produto da AFE pela RMF) (Shiple, 2002; Lambers e Poorter, 2004). De fato, aos 25 DAE, o decréscimo da TCR não foi ocasionado por uma redução na taxa de assimilação líquida, uma vez que esta, nesse período, se manteve praticamente constante (Figura 4B), mostrando que esse declínio ocorreu em função da RAF, especificamente através de uma diminuição da AFE (Fig. 4C), uma vez que a RMF não sofreu interferência do estresse salino (Fig. 4E). Isso indica que a espessura das folhas, e não a alocação de biomassa às mesmas, é o fator determinante nas alterações morfológicas sofridas pela *L. gracilis*. Diferentemente, aos 50 DAE, a redução da TCR da espécie, em função do estresse salino, é explicada pelo seu componente fisiológico, uma vez que nesse período houve uma correlação positiva entre a taxa de crescimento e a TAL, ambos correlacionados negativamente com a RAF (Figs. 4A, B e C). Esse fato indica que longos períodos de estresse salino, provocam danos que incidem

diretamente sobre a maquinaria fotossintética por unidade de área foliar (TAL), mediante reduções na eficiência fotoquímica/supressão da atividade do fotossistema II (PSII) (Mehta et al., 2010), e na condutância estomática, provocando uma depressão metabólica nos processos de captação de carbono (Saleem et al., 2011).

Em relação à ação do tempo de exposição ao estresse sobre a TCR de *L. gracilis* observamos que, independentemente da presença ou ausência de sais na água de irrigação, ocorreram decréscimos bastante significativos (Fig. 4A), mostrando que outros fatores, além do estresse salino, atuam sobre o crescimento da espécie em questão. Alguns autores consideram que a redução no crescimento de plantas em condições controladas está diretamente relacionada às limitações físicas impostas pelos recipientes nos quais o experimento foi conduzido, mediante restrições físicas que afetam diversos processos morfofisiológicos como o crescimento radicular, as trocas gasosas e aquisição de nutrientes (Ray e Sinclair 1998; Ronchi et al., 2006; Tanyaradzwa et al., 2015). Por outro lado, a redução da taxa de crescimento relativo pode variar também em função das condições nutricionais (Brouillette e Donovan, 2011), deciduidade (Tomlinson et al., 2013), sombreamento (Garcia-Serrano et al., 2005), sazonalidade (Sletvold, 2005) e trajetória ontogenética (Useche e Shipley, 2010).

O tempo de exposição também afetou o componente morfológico da TCR, através de uma redução da RAF (e AFE) no tratamento controle e o seu aumento nos maiores níveis salinos – 91,59 e 122,12 mM, sendo que a diminuição do componente morfológico está negativamente correlacionada com o grau de esclerofilia apresentado nesses tratamentos (Fig. 4F). A esclerofilia é intensificada em função do aumento vida útil das folhas e do acúmulo de fitomassa foliar, uma vez que estes dois parâmetros geralmente são inversamente correlacionados com a AFE (Warren e Adams, 2000; Read et al., 2006). Adicionalmente, a diminuição da esclerofilia e o aumento da RAF/AFE nos maiores níveis salinos, aos 50 DAE, ocorreram devido à remobilização de nutrientes, disponibilizados para a formação de folhas novas, em função da senescência foliar precoce (dados não mostrados) induzida pelo grande acúmulo de Na^+ e Cl^- (Figs. 5A, B e 8A, B). Diversos autores mostraram que altas concentrações de Na^+ e Cl^- desencadeiam aumento da síntese de etileno e da produção de espécies reativas de oxigênio levando a um aumento da senescência (Allu et al., 2014), que por sua vez, é compensada por aumento na taxa de assimilação de carbono e eficiência no uso dos nutrientes, nas folhas mais jovens (Bielenberg et al., 2002; Avicé e Etienne, 2014; Maillard et al., 2015).

Os teores de Na^+ e Cl^- na parte aérea e radicular aumentaram em função do incremento de sais na água de irrigação (Figs. 5A, B e 8A, B). No entanto, esses íons seguem padrões distintos entre si em relação ao acúmulo ao longo do tempo, assim como a distribuição dentro

da planta, onde a $[Na^+]$ é maior no sistema radicular (Fig. 6B), enquanto o Cl^- se concentrou substancialmente nas folhas (Fig. 8A), possivelmente pelo fato desse ânion possuir uma alta mobilidade, sendo facilmente carregado pelo fluxo de água e acumulado na parte aérea (Kafkafi et al., 2001; Souza, 2006) ou ainda, ser utilizado como soluto osmoticamente ativo no vacúolo (Franco-Navarro et al., 2015). Além disso, o Na^+ apresentou um acúmulo contínuo nas raízes (e nas folhas na concentração de 122,12 mM de sais) com o tempo de exposição (Figs. 5A, B), enquanto que o Cl^- permaneceu praticamente inalterado no tecido foliar, decrescendo nas raízes (Figs. 8A, B), sugerindo que a *L. gracilis* não apresenta mecanismo efetivo de exclusão de Na^+ após sua absorção mediante o antiporte Na^+/H^+ na membrana plasmática das células radiculares, nem tampouco mecanismos que evitem o transporte desse íon para a parte aérea, o que resultou em um acúmulo dose-dependente nas raízes e, conseqüentemente, sua translocação para a parte aérea, provocando o surgimento de necroses, clorose e senescência prematura nas folhas (dados não mostrados), nas concentrações de sais mais elevadas (91,59 e 122,12 mM). Por outro lado, a tendência de estabilização nas concentrações de cloreto nas folhas sugere a saturação dos mecanismos de retenção desse íon (Silva et al., 2008), enquanto que sua redução nas raízes, possivelmente está relacionada ao efluxo desse ânion, em função do aumento da atividade dos transportadores de Cl^- na membrana plasmática (Yamashita e Matsumoto, 1996). Aparentemente, *L. gracilis* apresenta um mecanismo de compartimentalização no sistema radicular, reduzindo a translocação de Na^+ para a parte aérea, e isso se constitui em uma vantagem ante o estresse salino, uma vez que níveis mais elevados de Na^+ no sistema radicular atuam de forma a manter a homeostase osmótica, impedindo que esse íon seja transportado e acumule-se excessivamente nas folhas (Munns e Tester, de 2008; Xue et al, 2013).

Nosso estudo mostrou ainda, que aos 25 DAE, a $[K^+]_{foliar}$ na espécie citada foi inversamente correlacionada com a as concentrações de Na^+ e Cl^- , sendo reduzida a partir do nível salino de 30,53 mM, enquanto que aos 50 DAE, a $[K^+]_{foliar}$ aumentou nos níveis salinos mais elevados (Fig. 6A). Em contrapartida, o conteúdo de K^+ , nas raízes, decresceu com o aumento da salinidade, nos dois tempos considerados (Fig. 6B). Aparentemente, essa redução do conteúdo de potássio foliar, aos 50 DAE, entre os níveis salinos de 0 a 61,06 mM, está relacionada com o “efeito de diluição” que ocorre com crescimento da parte aérea e a conseqüente redistribuição desse nutriente (Oloff et al., 2002; Nachtigall e Dechen, 2006), enquanto o seu aumento nos demais níveis (91,59 e 122,12 mM) esta correlacionado com a remobilização desse cátion para as folhas mais jovens, em função da senescência foliar prematura (Fisher, 2007; Maillard et al., 2015) ocasionada pelo acúmulo excessivo de sais. Existe ainda a possibilidade de que esse aumento concomitante de K^+ e Na^+ aos 50 DAE, seja

devido à ausência de competição direta no transporte de ambos os cátions (Mickelbar et al., 2007), possivelmente devido a mecanismos independentes envolvidos no influxo de sódio (Essah et al., 2003), tais como os canais catiônicos não seletivos (NSCC's), responsáveis pelo influxo tóxico de Na^+ em raízes de *Arabidopsis thaliana* (Demidchik e Tester, 2002). Em geral, a absorção e o conteúdo de Na^+ aumentam, enquanto o potássio diminui aos 25 DAE e aumenta aos 50 DAE, mostrando, em parte, um antagonismo entre esses dois íons, sendo o reflexo, a redução na razão $[\text{K}^+]:[\text{Na}^+]$ (Figs. 7A, B). A espécie em questão manteve a absorção de potássio, de forma a atingir um mínimo necessário à manutenção da homeostase (Maathuis e Amtmann, 1999), e essa capacidade de manter a absorção de potássio em níveis razoáveis, associado à ausência de senescência foliar, nas concentrações intermediárias de sais, sugere um caráter moderadamente tolerante da espécie ao estresse salino (Hauser e Horie, 2010; Jaarsma et al., 2013).

5.7 Conclusão

A introdução de plantações de espécies lenhosas pode ser uma opção viável na recuperação de áreas salinizadas, embora exija conhecimento a respeito da espécie. Com base nos resultados obtidos para *L. gracilis*, podemos concluir que o estresse salino, em função do tempo, induz a um aumento nas concentrações de sódio, nas folhas e raízes, com uma redução concomitante dos teores de potássio. Por outro lado, o conteúdo de cloreto, nas folhas e raízes, não sofre influência do tempo de exposição ao estresse, embora se acumule mais intensamente nas folhas. Em função do acúmulo de íons tóxicos (Na^+ e Cl^-) a área foliar é precocemente reduzida, não obstante a espécie entre em processo de microfilia naturalmente. A biomassa de *L. gracilis* é significativamente reduzida em todos os órgãos, embora a espécie mantenha um crescimento bastante considerável. A alocação de biomassa varia isometricamente, entre as raízes e o caule/ramos, permanecendo constante para as folhas. A taxa de assimilação líquida e a razão de área foliar, dependendo do tempo de exposição, influencia a taxa de crescimento relativa da espécie, embora esta sofra um processo de decréscimo natural, se tornando mais severo nas maiores concentrações de sais.

Temos que concluir ainda que estudos de curta duração (somente um período de tempo), não podem capturar alterações morfofisiológicas naturais ou decorrentes de algum estresse aplicado em *L. gracilis*, sendo necessário, portanto, mais de uma medição ao longo do tempo para capturar mudanças em relação a alteração da TCR, TAL, RAF, área foliar e acúmulo de íons, de modo que sejam observadas as tendências a longo prazo. Os resultados indicam a

existência de potencial para tolerância ao sal na *L. gracilis*, cultivadas em solos cuja salinidade seja de até 61,06 mM (5,65 mS cm⁻¹). Com base no crescimento e produção de biomassa da espécie, sugere-se que a mesma seja moderadamente resistente ao estresse salino, podendo ser utilizada em ambientes salinizados, sem prejuízo na produção de metabolitos secundários.

5.8 Referências Bibliográficas

Albuquerque CC, Câmara TR, Mariano RLR, Willadino L, Marcelino Júnior C, Ulisses C (2006) Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer. Braz Arch Biol Technol. 49(4): 527-535.

Allu AD, Soja AM, Wu A, Szymanski J, Balazadeh S (2014) Salt stress and senescence: identification of cross-talk regulatory components. J Exp Bot. 65(14): 3993-4008. doi: 10.1093/jxb/eru173.

Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM (2012) Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. J Exp Bot. 63(1): 43 – 57. doi: 10.1093/jxb/err266

Ashraf R, Ahmad R, Bhatti AS, Afzal M, Sarwar A, Maqsood MA, Kanwal S (2010) Amelioration of salt stress in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) by supplying potassium and silicon in hydroponics. Pedosphere. 20(2):153–162. doi:10.1016/S1002-0160(10)60003-3

Avice JC, Etienne P (2014) Leaf senescence and nitrogen remobilization efficiency in oilseed rape (*Brassica napus* L.). J Exp Bot. 65(14): 3813–3824. doi: 10.1093/jxb/eru177.

Ayers RS, Westcot DW (1994) Water Quality for agriculture. 3rd. ed. Rome: FAO. 174 p. (FAO. Irrigation and Drainage Paper, 29).

Bielenberg DG, Lynch JP, Pell EJ (2002) Nitrogen dynamics during O₃-induced accelerated senescence in hybrid poplar. Plant Cell Environ. 25(4): 501–512. doi: 10.1046/j.1365-3040.2002.00828.x

Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) (2012) Technical Manual of the Brazilian Vegetation. Rio de Janeiro. 323p.

Brouillette LC, Donovan LA (2011) Relative Growth Rate and Functional Traits of a Hybrid Species Reflect Adaptation to a Low-Fertility Habitat. Int J Plant Sci (Chicago). 172(4): 509-520.

Camardelli M, Napoli MF (2012) Amphibian conservation in the Caatinga biome and semiarid region of Brazil. Herpetologica. 68(1): 31- 47. doi: <http://dx.doi.org/10.1655/HERPETOLOGICA-D-10-00033.1>

Carter JM, Nippert JB (2012) Leaf-level physiological responses of *Tamarix ramosissima* to increasing salinity. J Arid Environ. 77: 17 – 24. doi:10.1016/j.jaridenv.2011.10.007

Cassaniti C, Romano D, Flowers TJ (2012) The response of ornamental plants to saline irrigation water. In: I. García-Garizábal (Eds.), *Irrigation-Water Management, Pollution and Alternative Strategies*, Inc., InTech, pp.132-158. doi: 10.5772/31787

Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *J Exp Bot.* 103(4): 551–560. doi: 10.1093/aob/mcn125

Demidchik V, Tester M (2002) Sodium fluxes through nonselective cation channels in the plasma membrane of protoplasts from *Arabidopsis* roots. *J Plant Physiol.* 128(2): 379 – 387. doi: [10.1104/pp.010524](https://doi.org/10.1104/pp.010524)

Dolatabadian A, Modarressanavy SAM, Ghanati F (2011) Effect of salinity on growth, xylem structure and anatomical characteristics of soybean. *Not Sci Biol.* v. 3(1): 41–45.

Erice G, Louahlia S, Irigoyen JJ, Sanchez-Diaz M, Avice JC (2010) Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *J Plant Physiol.* 167(2): 114–120. doi: 10.1016/j.jplph.2009.07.016

Essah PA, Davenport R, Tester, M (2003) Sodium Influx and Accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 133(1): 307–318. doi: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.103.022178>

Evans GC (1972) *The quantitative analysis of plant growth. Studies in ecology.* University of California Press, Berkeley and Los Angeles. 734p.

Farahani HA, Valadabadi SA, Daneshian J, Shiranirad AH, Khalvati MA (2009) Medicinal and aromatic plants farming under drought conditions. *Journal of Horticulture and Forestry.* 1(6): 086 – 092.

Fernandes LCB, Albuquerque CC, Sales Júnior R, Mesquita-Oliveira FF, Gurgel EP, Mesquita MV, Silva MDS (2015) Fungitoxicity of plant extracts and essential oil of *Lippia gracilis* Schauer on the fungus *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker. *Summa phytopathol.* 41(2): 153-155. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/1978>

Ferraz RPC, Bomfim DS, Carvalho NC, Soares MBP, Silva TB, Machado WJ, Prata APN, Costa EV, Moraes VRS, Nogueira PCL, Bezerra DP (2013) Cytotoxic effect of leaf essential oil *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae). *Phytomedicine.* 20(7): 615-621. doi: 10.1016/j.phymed.2013.01.015.

Fischer AM (2007) Nutrient remobilization during leaf senescence In.: Gan S (ed), *Senescence Processes in Plants. Annual Plant Reviews* v. 26. New York, Blackwell Publishing, pp 87-107. doi: 10.1002/9780470988855.ch5

Franco-Navarro JD, Brumós J, Rosales MA, Cubero-Font P, Talón M, Colmenero-Flores JM (2016) Chloride regulates leaf cell size and water relations in tobacco plants. *J Exp Bot.* 67(3): 873-891. doi: 10.1093/jxb/erv502.

García M, Medina E (2010) Growth and root morphology in two sugar cane (*Saccharum* spp.) genotypes subject to salinization with simple salts or calcium supply salts. *Rev Fac Agron.* 27(1): 17-38.

Giulietti AM, Bocage Neta AL, Castro AAJF, Gamarra-Rojas CFL, Sampaio EVSB, Virginio JF, Queiroz LP, Figueiredo MA, Rodal MJN, Barbosa MRV, Harley RM (2004) Diagnosis of native vegetation of the Caatinga biome. In: Silva JMC, Tabarelli M, Fonseca MT, Lins LV (eds) Biodiversity's Caatinga: priority areas and actions for conservation. Ministry of Environment, Brasilia. pp 47-90.

Groom PK, Lamont BB (1999) Which common indices of sclerophylly best reflect differences in leaf structure? *Ecoscience.* 6(3): 471–474.

Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST 2.12: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica.*

Hauser F, Horie TA (2010) A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K^+/Na^+ ratio in leaves during salinity stress. *Plant Cell Environ.* 33(4): 552–565. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02056.x.

Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water culture method for growing plants without soils. California Agricultural Experimental Station, Berkeley. 347p.

Houle G, Morel L, Reynolds CE, Siégl J (2001) The effect of salinity on different developmental stages of an endemic annual plant, *Aster laurentianus* (Asteraceae). *Am J Bot.* 88(1): 62-67.

HUNT R (1982) Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis. E. Arnold, London. 248 p.

Ibrahim AH (2013) Tolerance and avoidance responses to salinity and water stresses in *Calotropis procera* and *Suaeda aegyptiaca*. *Turk J Agric For.* 37(3): 352-360. doi: 10.3906/tar-1202-62

Jaarsma R, De Vries RSM, De Boer AH (2013) Effect of Salt Stress on Growth, Na^+ Accumulation and Proline Metabolism in Potato (*Solanum tuberosum*) Cultivars. *PLoS One.* 8(3): e60183. doi: [10.1371/journal.pone.0060183](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060183).

Jales AG. de O (2009) Cultivo da alface em sistemas hidropônicos utilizando rejeito da dessalinização da água. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró.

Jamil M, Rehman US, Lee KJ, Kim MJ, Kim HS, Rha ES (2007) Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish. *Sci agric.* 64(2): 111-118. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162007000200002>

Kafkafi U, Xu G, Imas P, Magen H, Tarchitzky J (2001) Potassium and chloride in crops and soils: the role of potassium chloride fertilizer in crop nutrition. International Potash Institute. Basel. 220 p.

- Kleiman D, Aarssen LW (2007) The leaf size/number trade-off in trees. *J Ecol.* 95(2): 376–382. doi: 10.1111/j.1365-2745.2006.01205.x
- Lambers H, Poorter H (2004) Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecology consequences. *Adv Ecol Res.* 34: 283-362. doi:10.1016/S0065-2504(03)34004-8
- Leite JCF, Souza KL (2012) New Profile of the Brazilian Northeast in Census 2010. Fortaleza: Brazilian Northeast Bank. 106 p.
- Lima MCL, Lemos TLG, Pessoa ODL, Santiago GMP, Matos FJA, Arriaga AMC, Oliveira JPP, Santana AEG (2008) Composition and biological activities of *Lippia* aff. *Gracilis* essential oil. *Chem Nat Compd.* 44(2): 254-256.
- Lovelli S, Scopa A, Perniola M, Di Tommaso T, Sofo A (2012) Abscisic acid root and leaf concentration in relation to biomass partitioning in salinized tomato plants. *J Plant Physiol.* 169(3): 226 – 233. doi: 10.1016/j.jplph.2011.09.009.
- Luo W, Jiang Y, Lü X, Wang X, Li MH, Bai E, Han X, Xu Z (2013) Patterns of Plant Biomass Allocation in Temperate Grasslands across a 2500 km Transect in Northern China. *PLoS One.* 8(8): e71749. doi:10.1371/journal.pone.0071749
- Maathuis FJM, Amtmann A (1999) K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: the basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. *Ann Bot.* 84(2): 123–133. doi: 10.1006/anbo.1999.0912
- Maggio A, Hasegawa PM, Bressan RA, Consiglio MF, Joly RJ (2001) Unravelling the functional relationship between root anatomy and stress tolerance. *Austral J Plant Physiol.* 28(10): 999-1004. doi:10.1071/PP01099
- Maillard A, Diquélou S, Billard V, Laîné P, Garnica MP, Garcia-Mina JM, Yvin JC, Ourry A (2015) Leaf mineral nutrient remobilization during leaf senescence and modulation by nutrient deficiency. *Front Plant Sci.* 6: 317. doi: 10.3389/fpls.2015.00317
- Marreto RN, Almeida EECV, Alves PB, Niculau ES, Nunes RS, Matos CRS, Araújo AAS (2008) Thermal analyses and gás chromatography coupled mass spectrometry analyses of hidroxipropylmetry analyses of hidroxipropyl-β-cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. *Thermochim Acta.* 475(1-2): 53-58. doi:10.1016/j.tca.2008.06.015
- Martin SB, Shaffer GP (2005) *Sagittaria* Biomass Partitioning relative to Salinity, Hydrologic Regime, and Substrate Type: Implications for Plant Distribution Patterns in Coastal Louisiana, United States. *J Coastal Res.* 21(1): 167–174. doi: <http://dx.doi.org/10.2112/02110.1>
- Mehta P, Jajoo A, Mathur S, Bharti S (2010) Chlorophyll-a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiol Biochem.* 48(1): 16–20. doi:10.1016/j.plaphy.2009.10.006
- Mickelbart MV, Melser S, Arpaia ML (2007) Salinity-Induced Changes in Ion Concentrations of ‘Hass’ Avocado Trees on Three Rootstocks. *J Plant Nutr.* 30(1): 105–122. doi: 10.1080/01904160601055137

- Mogahdam A, Fathi A, Lofti M, Asadi K, Amouzadeh A (2014) The Analysis of the Effects of Salinity and Ascorbic Acid on Growth Properties of German Chamomile (*Chamomilla Recutita* L). Intl Res J Appl Basic Sci. 8(11): 1982-1987.
- Muhammad Z, Hussain F (2010) Vegetative growth performance of five medicinal plants under NaCl salt stress. Pak J Bot. 42(1): 303-316.
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annu Rev Plant Biol. 59: 651–681. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
- Nachtigall GR, Dechen AR (2006) Seasonality of nutrients in leaves and fruits of apple trees. Sci agric. 63(5): 493-501. doi: 10.1590/S0103-90162006000500012
- Niinemets U (2004) Adaptive adjustments to light in foliage and whole-plant characteristics depend on relative age in the perennial herb *Leontodon hispidus*. New Phytol. 162(3): 683–696. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01071.x
- Olf H, Ritchie ME, Prins HHT (2002) Global environmental controls of diversity in large herbivores. Nature. v. 415, pp. 901–04. doi:10.1038/415901a
- Oliveira GL, Figueiredo LS, Martins ER, Costa CA (2008) Rooting in *Lippia sidoides* Cham. using different types of cuttings, substrates and indolebutyric acid concentrations. Braz J Med Plants. 10(4): 12 – 17.
- Paranychianakis NV, Chartzoulakis KS (2005) Irrigation of Mediterranean crops with saline water: from physiology to management practices. Agr Ecosyst Environ. 106(2-3) 171–187. doi:10.1016/j.agee.2004.10.006
- Pearcy RW, Ehleringer JR, Mooney HA, Rundel PW (1996) Plant physiological ecology: Field methods and instrumentation, London: Chapman and Hall. 457 pages.
- Pennington RT, Lavin M, Oliveira Filho A (2009) Woody plant diversity, evolution and ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests. Annu Rev Ecol Evol Syst. 40: 437 – 457. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.110308.120327
- Pereira ACRL, Oliveira JV, Gondim-Junior MGC, Câmara CAG (2008) Insecticide activity of essential and fixed oils in *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) in cowpea grains [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. Science and Agrotechnology. 32(3): 717-724. doi: 10.1590/S1413-70542008000300003
- Perica S, Goleta S, Vuletin G (2008) Growth, biomass allocation and leaf ion concentration of seven olive (*Olea europaea* L.) cultivars under increased salinity. Sci Hortic (Amsterdam). 117(2): 123–129. doi:10.1016/j.scienta.2008.03.020
- Peters R, Vovides AG, Luna S, Grütters U, Berger U (2014) Changes in allometric relations of mangrove trees due to resource availability – A new mechanistic modelling approach. Ecol Modell. 283: 53 – 61. doi:10.1016/j.ecolmodel.2014.04.001
- Plank CO (Ed) (1992). Plant analysis reference procedures for the Southern region of the United States. Southern Cooperative Series Bulletin 368. 83 p.

Poorter H (2002) Plant Growth and Carbon Economy. Encyclopaedia of Life Sciences. Macmillan Publishers Ltd./Nature Publishing Group, pp. 1–6.

Ragagnin RCG, Albuquerque CC, Mesquita-Oliveira FF, Santos RG, Gurgel EP, DINIZ JC, Rocha SAS, Viana FA (2014) Effect of salt stress on the growth of *Lippia gracilis* Schauer and on the quality of its essential oil. Acta Bot Bras. 28(3): 346-351. doi: 10.1590/s0102-33062014abb3369

Ray JD, Sinclair TR (1998) The effect of pot size on growth and transpiration of maize and soybean during water deficit stress. J Exp Bot. 49(325): 1381-1386. doi: 10.1093/jxb/49.325.1381

Read C, Wright IJ, Westoby M (2006) Scaling-up from leaf to canopy-aggregate properties in sclerophyll shrub species. Austral Ecology. 31(3): 310 – 316. doi: 10.1111/j.1442-9993.2006.01559.x

Repková J, Brestič M, Olšovská K (2009) Leaf growth under temperature and light control. Plant Soil Environ. 55(12): 551–557.

Richards RA, Rebetzke GJ, Condon AG, Van Herwaarden AF (2002) Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. Crop Sci. 42(1): 111–121. doi: 10.2135/cropsci2002.0111

Ronchi CP, Damatta FM, Batista KD, Moraes G, Loureiro ME, Ducatti C (2006) Growth and photosynthetic down-regulation in *Coffea arabica* in response to restricted root volume. Funct Plant Biol. 33(11): 1013-1023. doi: 10.1071/FP06147

Saleem M, Ashraf M, Akram NA (2011) Salt (NaCl) induced modulation in some key physio-biochemical attributes in okra (*Abelmoschus esculentus* L.). J Agron Crop Sci. 197(3): 202–213. doi: 10.1111/j.1439-037X.2010.00453.x

Shiple B (2002) Trade-offs between net assimilation rate and specific leaf area in determining relative growth rate: relationship with daily irradiance. Funct Ecol. 16(5): 682–689. doi: 10.1046/j.1365-2435.2002.00672.x

Shiple B, Meziane D (2002) The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. Funct Ecol. 16(3): 326-331. doi: 10.1046/j.1365-2435.2002.00626.x

Silva EC, Nogueira RJMC, Araújo FP, Melo NF, Azevedo-Neto AD (2008) Physiological responses to salt stress in young umbu plants. Environ Exp Bot. 63(1-3): 147–157. doi:10.1016/j.envexpbot.2007.11.010

Silva EM, Silveira JAG, Fernandes CRR, Dutra ATB, Aragão RM (2009) Ion uptake and growth of physic nut under different salinity levels. Rev. Ciênc. Agron. 40(2): 240-246.

Silva, FAS (2015) ASSISTAT version 7.6 beta. Campina Grande-PB: Assistance Statistics, Department of Agricultural Engineering CTRN - Federal University of Campina Grande, Campina Grande Campus. < <http://www.assistat.com/index.html>>. Accessed 20 october 2015.

- Sletvold N (2005) Density-dependent growth and survival in a natural population of the facultative biennial *Digitalis purpurea*. *J Ecol.* 93(4): 727–736, 2005. doi: 10.1111/j.1365-2745.2005.01008.x
- Souza RA (2006) Effects of salinity and ionic composition of irrigation water on the development of cowpea plants cv. Pitiúba. Dissertation, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil.
- Suarez N, Medina E (2005) Salinity effect on plant growth and leaf demography of the mangrove, *Avicennia germinans* L. *Trees.* 19(6): 722–728. doi: 10.1007/s00468-005-0001-y
- Tanyaradzwa LZ, Tuarira M, Moses M, Jefta T (2015) Effects of planting depth and variety on container produced potatoes. *J Glob Innov Agric Soc Sci.* 3(1): 1 – 7. doi: 10.17957/JGIASS/3.1.675
- Tomlinson KW, Pooter L, Sterck FJ, Borghetti F, Ward D, De Bie S, Langevelde FV (2013) Leaf adaptations of evergreen and deciduous trees of semi-arid and humid savannas on three continents. *J Ecol.* 101(2): 430 – 440. doi: 10.1111/1365-2745.12056
- Ungar IA (1996) Effect of salinity on seed germination, growth, and ion accumulation of *Atriplex patula* (Chenopodiaceae). *Am J Bot.* v. 83(5): 604–607.
- Useche A, Shipley B (2010) Interspecific correlates of plasticity in relative growth rate following a decrease in nitrogen availability. *Ann Bot.* 105(2): 333–339. doi: 10.1093/aob/mcp284
- Vaario LM, Yrjälä K, Rousi M, Sipilä T, Pulkkinen P (2011) Leaf number indicates salt tolerance of young seedling families of European Aspen (*Populus tremula* L.) growing in different soils. *Silva Fenn.* 45(1): 19–33. doi: dx.doi.org/10.14214/sf.28
- Valladares F, Skillman JB, Pearcy, RW (2002) Convergence in light capture efficiencies among tropical forest understory plants with contrasting crown architectures: a case of morphological compensation. *Am J Bot.* 89: 1275–1284. doi: 10.3732/ajb.89.8.1275.
- Vanninen P, Mäkelä A (2000) Allocation of growth between needle and stemwood production in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees of different age, size, and competition. *Tree Physiol.* 8: 527–533, 2000.
- Ventura Y, Myrzabayeva M, Alikulov Z, Omarov R, Goldberg IK, Sagi M (2014) Effects of salinity on flowering, morphology, biomass accumulation and leaf metabolites in an edible halophyte. *AoB PLANTS.* v. 6, pp. 1 – 14; plu053; 2014. doi:10.1093/aobpla/plu053
- Warren CR, Adams MA (2000) Trade-offs between the persistence of foliage and productivity in two *Pinus* species. *Oecologia.* 124(4): 487–94.
- Xiang S, Wu N, Sun S (2010) Testing the generality of the ‘leafing intensity premium’ hypothesis in temperate broad-leaved forests: a survey of variation in leaf size within and between habitats. *Evol Ecol.* 24(4): pp. 685–701. doi: 10.1007/s10682-009-9325-1

Xue Z, Zhao S, Gao H, Sun S (2013) The salt resistance of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc. ZYD 03262) under NaCl stress is mainly determined by Na⁺ distribution in the plant. *Acta Physiol Plant.* 36(1): 61–70. doi: 10.1007/s11738-013-1386-7

Yamashita K, Matsumoto H (1996) Salt stress-induced enhancement of anion efflux and anion transport activity in plasma membrane of barley roots. *Soil Sci Plant Nutr. (Abingdon).* 42(1): 209-213. doi: 10.1080/00380768.1996.10414706

Yang JL, Li YY, Zhang SS, Wu P, Zheng SJ (2008) Cell wall polysaccharides are specifically involved in the exclusion of aluminum from the rice root apex. *Plant Physiol.* 146(2): 602 – 611. doi: [10.1104/pp.107.111989](https://doi.org/10.1104/pp.107.111989)