



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 EM CIÊNCIAS NATURAIS – MCN



**EFEITO DO ESTRESSE SALINO EM *Hyptis suaveolens* (LAMIACEAE)  
ASSOCIADA A FUNGOS MICORRÍZICOS**

MARÍLIA CRISTINA GOMES DE SOUZA

MOSSORÓ-RN

2018

MARÍLIA CRISTINA GOMES DE SOUZA

**EFEITO DO ESTRESSE SALINO EM *Hyptis suaveolens* (LAMIACEAE)  
ASSOCIADA A FUNGOS MICORRÍZICOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Naturais. Área de concentração: Recursos Naturais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque.

Co-orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Marciana Bizerra de Moraes

MOSSORÓ – RN

2018

© Todos os direitos estão reservados a Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do(a) autor(a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu(a) respectivo(a) autor(a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

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

S729e SOUZA, MARÍLIA CRISTINA GOMES DE  
EFEITO DO ESTRESSE SALINO EM *Hyptis suaveolens* (LAMIACEAE) ASSOCIADA A FUNGOS MICORRÍZICOS. / MARÍLIA CRISTINA GOMES DE SOUZA. - MOSSORÓ, 2018.  
60p.

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

Coorientador(a): Profa. Dra. Marciana Bizerra de Moraes.

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

1. Estresse abiótico. 2. Níveis salinos. 3. Colonização micorrízica. 4. Atividade antioxidante. I. Albuquerque, Cynthia Cavalcanti de. II. Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pela Diretoria de Informatização (DINF), sob orientação dos bibliotecários do SIB-UERN, para ser adaptado às necessidades da comunidade acadêmica UERN.

MARILIA CRISTINA GOMES DE SOUZA

**EFEITO DO ESTRESSE SALINO EM *Hyptis suaveolens* (LAMIACEAE)  
ASSOCIADA A FUNGOS MICORRÍZICOS**

BANCA EXAMINADORA

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte

---

Prof. ° Dr. Mayron Alves de Vasconcelos  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Dr. Miguel Ferreira Neto  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido

*A Deus, que me deu o dom da vida e forças para alcançar os meus objetivos. Sem Ele nada seria possível.*

**OFEREÇO**

**DEDICO**

*A minha família pelo apoio e compreensão na realização de mais um projeto de vida.*

## AGRADECIMENTOS

*Minha eterna gratidão, primeiramente a Deus, que durante a minha caminhada sempre me deu forças, coragem e sabedoria para alcançar os meus objetivos. Sou consciente que ainda há muitas vitórias por vir e ainda terei muitos obstáculos. Porém sempre terei a sua mão guia e sua proteção.*

*Ao meu cunhado, Costa Junior, pela orientação nos meus estudos, pela confiança a mim depositada e ensinamentos. Como também a minha irmã Conceição por está sempre me apoiando em minhas decisões e fornecendo as condições necessárias para que tudo ocorra de forma satisfatória. Aos meus sobrinhos Adriano, Alexandre e Costa Neto.*

*A minha orientadora, professora Dr. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque pelo apoio e confiança. Um exemplo de profissional. Sou muito grata por ela ter me aceitado como orientanda.*

*A minha co-orientadora, Marciana Bizerra de Moraes pela disponibilidade em me ajudar quando precisei. Sempre muito paciente comigo.*

*Aos meus amigos do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas (LFBP) pela imensa ajuda na realização de todas as etapas deste trabalho, em especial Clara, a minha “maceradora” oficial cujo pagamento de tais serviços foi oferecido em forma de coxinhas (rsrs); Marcos, pela grande ajuda. Esteve comigo em todos os momentos. Sempre disposto a me socorrer, e olha que eu perturbei. Te desejo todo o sucesso do mundo; a Auciélia Patrícia, uma pessoa com um enorme coração. Tenho uma grande admiração; ao meu companheiro de experimento Marcelo Andrade, pessoa humana, fraterna e amorosa. Dei muitas risadas com o seu jeito. Torço muito por seu sucesso. É merecedor; a Isabelli, menina dengosa (rsrsr); a Aline, uma capacidade em pessoa; a Lais, a Débora e a Virton que me ajudaram na fase de montagem dos experimentos.*

*Fabio Mesquita, técnico do Laboratório da Vern. Sempre que precisei de algo, estava disposto a me ajudar.*

*Aos docentes do programa, pelo aprendizado e por compartilharem seus conhecimentos e suas experiências de vida acadêmica.*

*Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais pela oportunidade para a realização de mais uma etapa de minha vida acadêmica.*

## RESUMO

Durante seu ciclo de vida, as plantas nem sempre encontram condições favoráveis ao seu crescimento e desenvolvimento. Sob condições naturais, estas são expostas a uma combinação variada de fatores abióticos e bióticos, os quais interagem fortemente, resultando em uma combinação múltipla de fatores adversos que afetam o crescimento, a fisiologia, o metabolismo e a produtividade. Dentre os estresses abióticos, o salino é considerado um dos mais importantes, em virtude de seu efeito osmótico e iônico. Sendo assim, a sobrevivência das plantas em ambientes salinos dependerá da ação de mecanismos adaptativos, que envolvem absorção, transporte e distribuição de íons nos vários órgãos vegetativos. Tendo em vista este contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar respostas fisiológicas desencadeadas em plantas de *Hyptis suaveolens* associada a fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) submetidas a diferentes níveis de salinidades. Para tanto, cerca de 1080 sementes de *H. suaveolens* foram germinadas diretamente em vasos de polietileno com capacidade para 8 L contendo como substrato areia lavada, solo natural e composto orgânico na proporção de 2:1:1, associado ou não com FMAs. Foram utilizadas duas espécies de fungos arbusculares: *Claroideoglossum etunicatum* (syn. *Glomus etunicatum*) e *Gigaspora albida*. Após 20 dias da semeadura, realizou-se o desbaste, ficando uma planta por vaso e iniciado os tratamentos com diferentes concentrações de salinidade (0,0; 35; 70 e 105 mM). O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4x3 perfazendo 12 tratamentos com três repetições cada. Ao final de 15 dias foram realizadas análises fisiológicas das plantas submetidas aos tratamentos salinos. As variáveis avaliadas foram: biomassa seca da parte aérea, da raiz, relação raiz/parte aérea; teor relativo de água (TRA); danos à membrana; determinação dos níveis de prolina nas folhas; peroxidação lipídica (MDA); teores açúcares redutores (AR); clorofila, teste de colonização dos fungos e avaliação da atividade antioxidante. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Verificou-se que as concentrações de sais afetaram todas as variáveis analisadas. O estresse salino reduziu o conteúdo de matéria seca da parte aérea, raiz e relação raiz/parte aérea. Embora as plantas tenham sido afetadas de forma negativa pelo sal, verificou-se que a associação destas com fungos micorrízicos proporcionaram um ganho de matéria em comparação com as plantas não associadas. Os níveis de TRA foram reduzidos com os níveis crescentes de salinidade com ou sem FMAs. A produção de clorofila foi reduzida com a salinidade. Mesmo em associação com os fungos, os níveis foram decrescentes. A salinidade promoveu aumento nos teores de açúcares redutores e prolina. Os níveis de amido reduziram sob condições salinas nos tratamentos com e sem FMAs. Os níveis de MDA e danos à membrana foram crescentes na presença dos fungos. Na avaliação da atividade antioxidante (%AA) de todos os tratamentos apresentaram atividade sequestradora do radical



DPPH superiores a 80%. As plantas de *H. suaveolens* colonizadas com as duas espécies de fungos apresentaram estruturas características da colonização micorrízica em todos os tratamentos independente da dose de sal.

**PALAVRAS-CHAVES:** Estresse abiótico, Níveis salinos, Colonização micorrízica, Atividade antioxidante.

## ABSTRACT

During their life cycle, plants do not always find favorable conditions for their growth and development. Under natural conditions, they are exposed to a varied combination of abiotic and biotic factors, which interact strongly, resulting in a multiple combination of adverse factors affecting growth, physiology, metabolism and productivity. Among the abiotic stresses, saline is considered one of the most important because of its osmotic and ionic effect. Thus, the survival of plants in saline environments will depend on the action of adaptive mechanisms, which involve absorption, transport and distribution of ions in the various vegetative organs. In this context, the present work aims to evaluate the physiological and biochemical responses of *Hyptis suaveolens* (LAMIACEAE) plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi (FMAs) submitted to different levels of salinity. To that end, about 1080 seeds of *H. suaveolens* were placed to germinate directly in polyethylene pots with capacity for 8L containing as substrate washed sand, natural soil and organic compound in the proportion of 2: 1: 1, associated or not with FMAs. Two species of arbuscular fungi were used: *Claroideoglomus etunicatum* (syn. *Glomus etunicatum*) and *Gigaspora albida*. After 20 days of sowing, thinning was performed, leaving one plant per pot and starting treatments with different concentrations of salinity (0.0, 35, 70 and 105 mM). The experimental design was a randomized complete block design in a 4x3 factorial scheme, comprising 12 treatments with three replicates each. At the end of 15 days, physiological analyzes of the plants submitted to saline treatments were carried out. The evaluated variables were: dry biomass of the aerial part, of the root, relation raiz / part area; relative water content (ORT); membrane damage; determination of proline levels in leaves; lipid peroxidation (MDA); reducing sugars (RA); chlorophyll, fungal colonization tests and evaluation of antioxidant activity. The data were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test at 5% probability. It was found that the salt concentrations affected all variables analyzed. Salt stress reduced the dry matter content of shoot, root and root / shoot ratio. Although the plants were negatively affected by salt, it was found that the association of these with mycorrhizal fungi provided a gain of matter compared to the non-associated plants. TRA levels were reduced with increasing salinity levels with or without FMAs. Chlorophyll production was reduced with salinity. Even in association with fungi, levels were decreasing. The salinity promoted increase in the contents of reducing sugars and proline. Starch levels reduced under saline conditions in treatments with and without FMAs. The levels of MDA and membrane damage were increasing in the presence of fungi. In the evaluation of the antioxidant activity (% AA) of all the treatments presented sequestering activity of the DPPH radical higher than 80%. The *H. suaveolens* plants colonized with the two species of

fungi presented structures characteristic of the mycorrhizal colonization in all treatments independent of the dose of salt.

**KEY WORDS:** Abiotic stress, Saline levels, FMAs, Mycorrhizal colonization, Antioxidant activity.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Plantas de *Hyptis suaveolens* ao final de 15 dias irrigadas com soluções salinas em diferentes concentrações em associação com fungos micorrízicos arbusculares (Fonte: Acervo pessoal, 2017) .....26
- Figura 2.** Comparativo entre as raízes de *Hyptis suaveolens* na ausência de sal e sem FMAs (A), sem FMAs e 105 mM de sal (B), inoculadas com *Gigaspora albida* e 105 mM de sal (C) e inoculadas com *Glomus etunicatum* e 105 mM de sal (D) (Fonte: Acervo pessoal, 2017).....28
- Figura 3.** Médias da produção de biomassa seca da parte aérea (A), da raiz (B) e da relação raiz/parte aérea (C) em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes concentrações salinas associadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs): *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o controle (sem FMAs). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de salinidades e as minúsculas as espécies de fungos.....29
- Figura 4.** Médias do Teor Relativo de Água (TRA) em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes concentrações salinas associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o controle (sem FMAs). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de salinidades e as minúsculas as espécies de fungos.....31
- Figura 5.** Teores de clorofila total (A), níveis de açúcares redutores (B) e prolina em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes concentrações salinas associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus. etunicatum* e o controle (sem FMAs). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de salinidades e as minúsculas as espécies de fungos.....33
- Figura 6.** Níveis de danos à membrana (DM) (A), peroxidação lipídica (MDA) (B) e Avaliação da capacidade antioxidante do extrato aquoso pelo método de redução do radical DPPH (C) nas folhas em plantas de *H. suaveolens* submetidas a diferentes concentrações salinas associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *G. albida*, *G. etunicatum* e o controle (sem FMAs). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de salinidades e as minúsculas as espécies de fungos.....35

**Figura 7.** Colonização micorrízica em plantas de *Hyptis suaveolens* em função da inoculação e diferentes concentrações salinas. Médias seguidas de mesmas letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey a 1%. Maiúsculas referem-se à salinidade e minúsculas aos fungos.....36

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Resumo das análises de variância das características avaliadas de biomassa seca da parte aérea (BSPA), biomassa seca da raiz (BSR) e relação raiz/ raiz parte aérea (R/PA) em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes concentrações salinas associadas a fungos micorrízicos.....27

**Tabela 2.** Resumo das análises de variância das características avaliadas de TRA (Teor Relativo de Água), DM (Danos á membrana) e MDA (Peroxidação lipídica) em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes concentrações salinas associadas a fungos micorrízicos.....30

**Tabela 3.** Resumo das análises de variância das características avaliadas de Clorofila, Prolina, AR (Açúcares Redutores), Colonização Micorrízica (CM) e Sequestro de DPPH em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes concentrações salinas associadas a fungos micorrízicos.....32

---

## SUMÁRIO

<b>CAPITULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>1</b>
<b>1-INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>2</b>
<b>2-OBJETIVOS.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1- Geral.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2- Específicos.....</b>	<b>4</b>
<b>3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>5</b>
<b>3.1-ESTRESSE ABIÓTICO: SALINIDADE .....</b>	<b>5</b>
<b>3.2- ESTRESSE OXIDATIVO, ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (EROs) E AJUSTAMENTO OSMÓTICO.....</b>	<b>6</b>
<b>3.3-IMPORTÂNCIA DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMAS).....</b>	<b>8</b>
<b>3.4- CARACTERIZAÇÃO ESPÉCIE EM ESTUDO .....</b>	<b>10</b>
<b>4-REFERÊNCIAS.....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 2- EFEITO DO ESTRESSE SALINO EM <i>Hyptis suaveolens</i> (LAMIACEAE) ASSOCIADA A FUNGOS MICORRÍZICOS.....</b>	<b>19</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>20</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>20</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>MATERIAS E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
<b>Multiplicação dos FMAs e Preparação do solo e coleta das sementes de <i>Hyptis suaveolens</i> .....</b>	<b>23</b>
<b>Delineamento estatístico e etapa experimental.....</b>	<b>24</b>
<b>Quantificação de Matéria de Seca da parte aérea, raiz e TRA .....</b>	<b>24</b>
<b>Teores de Prolina, Açúcares Redutores, Clorofila, Peroxidação e Danos à membrana .....</b>	<b>24</b>
<b>Atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH.....</b>	<b>25</b>
<b>Colonização Micorrízica (CM).....</b>	<b>26</b>

<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>26</b>
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>38</b>



## **CAPITULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 1- INTRODUÇÃO GERAL

O excesso de sais presentes nos solos, com conseqüente prejuízo às culturas, pode ocorrer naturalmente em virtude da sua constituição geológica, ou provocado pela ação do homem. Estima-se que há mais de 800 milhões de hectares de solo em todo mundo atingidos pela salinidade, cuja causa pode estar relacionada a uma série de fatores, tais como intemperismo físico e químico de rochas, baixo índice pluviométrico, bem como as intensas atividades humanas (RENGASAMY, 2010). A salinidade torna-se ainda mais agravante, em regiões áridas e semiáridas em virtude das técnicas de irrigação (HASANUZZAMAN et al., 2014).

O estresse salino é considerado um dos maiores problemas abióticos que causam diminuição na produção e rendimento da maioria das culturas vegetais por serem sensíveis a altas concentrações de sais no solo (PLAZEK et al, 2013; MUNNS; GILLIHAM, 2015). Segundo Zia et al (2011), a produtividade é reduzida em todos os estágios de desenvolvimento devido aos efeitos prejudiciais que os sais provocam nos processos fisiológicos das plantas. No entanto, a sobrevivência destas em ambientes salinos dependerá de mecanismos adaptativos, que envolvem absorção, transporte e distribuição de íons nos vários órgãos da planta (FARIAS et al., 2009).

Na tentativa de amenizar os efeitos prejudiciais causados pelo sal, as plantas respondem através da produção de compostos que atuam em diversas funções dentre elas o ajuste osmótico, uma vez que altas concentrações de sal tendem a reduzir o potencial da água na planta, induzindo a diminuição da absorção e, conseqüentemente, deficiência de água. Estes compostos são conhecidos como osmólitos compatíveis, ou osmoprotetores, e entre eles está o aminoácido prolina (SZABADOS et al., 2011). Outra ação desencadeada pelo estresse salino por NaCl relaciona-se à toxicidade do íon  $\text{Na}^+$ . Este elemento é tóxico às plantas, pois ele irá competir fortemente com outros cátions, em especial o potássio (DEINLEIN et al., 2014), provocando em conseqüência, desequilíbrio nutricional desencadeado pelo excesso de sais (GANDONOU et al., 2011).

Tendo em vista os efeitos do excesso de sais no desenvolvimento de espécies vegetais, o uso de fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) tem sido retratado na literatura como uma alternativa mitigadora para essa problemática (YANO-MELO et al., 2003). Os FMAs tem como principal forma de ação proporcionar melhoria no *status* hídrico e nutricional às plantas, podendo contribuir para uma maior tolerância das mesmas às condições de estresse abiótico, em especial o salino (TANG et al., 2009; ASRAR E ELHINDI, 2011), resultando em crescimento mais rápido e com economia de insumos.

Dentre as espécies vegetais com importância biológica, *Hyptis suaveolens* destaca-se por apresentar propriedades medicinais em virtude de ser uma excelente produtora de óleo essencial. No

entanto, o estresse salino pode afetar o seu desenvolvimento e alterar as características, o rendimento e a produção de seus compostos (MARTINS, 2006).

A espécie *H. suaveolens* tem mostrado um alto grau de variabilidade em relação à constituição e quantificação de seu óleo essencial. Essa variação irá apresentar diferenças de acordo com as partes da planta, a origem geográfica, condições nutricionais, hídricas, salinas entre outros fatores ambientais (MOREIRA et al., 2010).

Neste sentido, avaliação de estresses abióticos e seus impactos ecológicos em plantas, em especial o estresse salino tem sido uma área de grande interesse nos últimos anos, tendo em vista à elaboração de novas estratégias para fitorremediação, e tolerância das plantas aos mesmos. Contudo, o presente trabalho de pesquisa objetiva avaliar respostas fisiológicas desencadeadas em plantas de *Hyptis suaveolens* associada a fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) submetidas a diferentes níveis de salinidade.

## 2-OBJETIVOS

### 2.1- Geral

- Avaliar respostas fisiológicas desencadeadas em plantas de *Hyptis suaveolens* associada a fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) submetidas a diferentes níveis de salinidades;

### 2.2- Específicos

- Quantificar a produção de biomassa seca da parte aérea, raiz e relação raiz/parte aérea. Além do teor relativo de água (TRA) em plantas em associação com as duas espécies de fungos submetidas a diferentes concentrações salinas;
- Quantificar os níveis de prolina, açúcares redutores e clorofila totais em plantas de *H. suaveolens* submetidas a estresse salinas associadas à FMAs;
- Avaliar os danos às membranas de *H. suaveolens* submetidas a estresse salino ao final de 15 dias em cultivadas em substratos contendo FMAs;
- Investigar os efeitos da colonização micorrízica nas plantas submetidas ao estresse salino;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato aquoso (%AA) nas plantas em associação com os fungos micorrízicos submetidas a diferentes níveis de NaCl.

### 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1- Estresse abiótico: salinidade

Durante seu ciclo de vida, as plantas nem sempre encontram condições favoráveis ao seu crescimento e desenvolvimento. Sob condições naturais, estas são expostas a uma combinação variada de fatores abióticos e bióticos, os quais interagem fortemente, resultando em uma combinação múltipla de fatores adversos que afetam o crescimento, a fisiologia, o metabolismo e a produtividade (SILVA, 2008, TAIZ; ZEIGER, 2013).

Estresse abiótico é todo e qualquer fator que se configura externo à planta, tendo como consequência a alteração em seu crescimento e desenvolvimento a níveis considerados abaixo do normal, conduzindo-a a perturbações em vários patamares funcionais (CRAMER et al., 2011). Dentre os estresses abióticos, o salino é considerado um dos mais importantes, em virtude de seu efeito osmótico e iônico (CRUZ, 2015).

A salinidade dos solos ocorre em virtude da acumulação de determinadas espécies iônicas, principalmente  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . A predominância dessas espécies iônicas no meio de crescimento, além de causar toxidez, quando acumuladas nos tecidos vegetais, acarreta mudança na capacidade da planta para absorver, transportar e utilizar os íons necessários ao seu crescimento (BOSCO et al., 2009).

Altas concentrações de sais são provenientes, na maioria das vezes, da água de irrigação que contém quantidades de cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ), de água do mar (MANSOUR, 2014) ou soluções salinas. Tal fato acaba por limitar a produção agrícola em regiões áridas e semiáridas, onde o conteúdo de sal do solo é considerado naturalmente alto e a precipitação não é suficiente para lixiviá-lo (ZHAO et al., 2007). Alguns autores consideram a salinidade do solo quando a condutividade elétrica é maior ou igual que  $4 \text{ dS m}^{-1}$ . No entanto, muitas espécies vegetais são menos resistentes sendo, portanto, afetadas por uma condutividade elétrica inferior a  $4 \text{ dS m}^{-1}$  (MUNNS; TESTER, 2008).

Em contato com o sal, a planta perde a habilidade de absorver água, acarretando em redução de seu crescimento, uma vez que as taxas de alongação e de divisão celular dependem diretamente do processo de extensibilidade da parede celular (ASHRAF; HARRIS, 2004). Portanto, a resposta imediata das plantas ao estresse salino é atrelada a uma forte diminuição na expansão foliar (PARIDA; DAS, 2005). Com a inibição da expansão foliar conseqüentemente ocorrerá uma redução da área destinada ao processo fotossintético, de forma que a planta não será capaz de suprir a necessidade de carboidratos das folhas jovens (TESTER; DAVENPORT, 2003). Tal processo é gerado pelo efeito osmótico, que ocasiona a deficiência no conteúdo de água promovida pela salinidade (CRUZ, 2015).

Como descrito anteriormente, os processos de crescimento são particularmente sensíveis ao efeito dos sais, de forma que avaliação do crescimento do sistema radicular é uma importante

ferramenta em plantas que são submetidas a grandes quantidades de sais, uma vez que as raízes estão em contato direto com o solo e são responsáveis pela absorção de água. Outras avaliações, tais como taxa de crescimento e biomassa seca, também podem servir como parâmetros para avaliar o efeito do estresse salino nas plantas (LARCHER, 2004; JAMIL et al., 2007).

À medida que os íons salinos passam a acumular-se no citosol das células das plantas, estes promovem problemas de toxicidade iônica, deficiências nutricionais ou ambos. Alguns trabalhos na literatura demonstram que a salinidade acarreta um aumento nos teores de sódio e cloreto, tanto em espécies glicófitas como em halófitas (BLANCO et al., 2008). A injúria provocada pelo acúmulo excessivo de íons tóxicos,  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , se manifesta como clorose nas margens das folhas como também causa o surgimento de zonas necróticas, tal fato contribui para aceleração dos processos de senescência e abscisão foliar (MUNNS, 2002). Comumente observa-se que em plantas que crescem em solos salinos, as células podem apresentar distúrbios na homeostase iônica não só devido ao aumento da concentração de  $\text{Na}^+$  como também pela diminuição da concentração de  $\text{K}^+$  no citosol, causando o conseqüente decréscimo da relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  (ZHU, 2003).

A razão existente entre K: Na é vital para ativar reações bioquímicas catalisadas por enzimas no citosol e manter o contínuo crescimento das plantas (WAKEEL, 2013). Entretanto, esta razão pode ser desfeita pela presença excessiva de  $\text{Na}^+$  no solo o qual dificulta a absorção de  $\text{K}^+$  e desencadeia a deficiência deste, além de desordens fisiológicas e metabólicas. Este problema acontece pelo fato do íon tóxico  $\text{Na}^+$  passa a competir com o  $\text{K}^+$  por meio de um mecanismo que envolve transportadores de membranas de baixa afinidade, com o agravante do  $\text{K}^+$  estar comumente em baixa concentração em solos salinizados, o que implica maior absorção do Na (SALISBURY; ROSS, 2012).

### **3.2- Estresse oxidativo, Espécies reativas de oxigênio (Eros) e Ajustamento osmótico**

O estresse salino tem como outra característica, desencadear estresse oxidativo através do aumento das espécies reativas de oxigênio (EROS), como o radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e o radical hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ) (PANDA, 2009). As EROs são prejudiciais, pois, contribuem para o aparecimento de lesões nas plantas (MOURATO; REIS; MARTINS, 2012) e promovem continuamente uma intensa oxidação das biomoléculas como: proteínas, promovendo sua desnaturação; lipídeos, através da peroxidação, ao qual contribui para a perda da integridade da membrana celular como também provoca danos as moléculas de DNA (JÚNIOR, 2007).

Para minimizar os danos oxidativos mediados por EROs, as plantas desenvolveram um complexo sistema de defesa, incluindo a homeostasia iônica, osmótica, enzimas antioxidantes e

metabólitos secundários. A homeostase iônica desempenha um papel importante na fisiologia de todas as células vivas, e a regulação dos fluxos de íons é importante para assegurar que a concentração de íons essenciais seja maior em relação à concentração de íons tóxicos, uma vez que uma situação inversa poderia criar um desequilíbrio iônico (HAJIBOLAND, 2012; NIEVES-CORDONES et al., 2012).

Sob estresse salino, algumas plantas também desenvolvem estratégias bioquímicas de acúmulo ou exclusão seletiva de íons, controle da entrada de íons pelas raízes e transporte para folhas, compartimentalização de íons em nível vacuolar e estrutural (folhas), síntese de osmólitos, alterações nas vias fotossintéticas, modificações na estrutura de membrana, indução de enzimas antioxidantes e hormônios (ESTEVES; SUZUKI, 2008). Esses mecanismos aliviam os efeitos negativos das concentrações elevadas de íons sobre as enzimas, proteínas estabilizadoras, complexos proteicos, membranas celulares, dentre outros (AHMED, 2010).

O ajustamento osmótico ou também denominado de osmorregulação caracteriza-se como um dos mecanismos de adaptação à seca e ao estresse oxidativo a nível celular. Trata-se da produção e/ou acúmulo de solutos osmoticamente ativos, os quais podem acumular-se em níveis relativamente altos, sem interferir no metabolismo celular, com intuito de proteger as células contra a desidratação em virtude de serem hidrofílicos. Por permitirem a conservação da integridade celular ocorre à continuidade das atividades vitais, o que contribui para o crescimento e desenvolvimento do vegetal (VOLLET, 2006).

A capacidade das plantas acumularem solutos compatíveis é uma resposta comum em organismos sob condições adversas, e vem sendo investigada, nos últimos anos, em diversas espécies vegetais (CHINNUSAMY; ZHU, 2004). Estes solutos compatíveis caracterizam-se como moléculas ou íons atóxicos que não interferem no metabolismo e se acumulam predominantemente no citoplasma, onde têm função de manter a turgescência celular, além de estabilizar proteínas e estruturas celulares nas condições subótimas dos fatores ambientais (BRAY *et al.*, 2001). Sob influências dos estresses ambientais, a síntese de proteínas pode ser inibida e a sua degradação pode ser acelerada, o que pode levar a um acúmulo de aminoácidos e aminas livres. Tal processo denomina-se como uma característica marcante de um distúrbio no metabolismo das proteínas (LARCHER, 2004).

Os solutos comumente acumulados são: aminoácidos (prolina), carboidratos (pinitol, frutose, sacarose e glicose) e compostos quaternários de amônia (glicina betaína). As enzimas envolvidas na síntese desses solutos compatíveis permitem um ajustamento osmótico ou acumulação líquida de solutos, resultando um decréscimo do potencial osmótico, o qual pode manter o fluxo de água em favor do gradiente de potencial hídrico, protegendo ainda a turgescência celular (GONÇALVES,

2008). Uma hipótese adicional é que, os solutos compatíveis estão envolvidos também na degradação de espécies reativas de oxigênio (HONG et al., 2000).

Dentre os solutos acumulados destaca-se a prolina, aminoácido amplamente distribuído como um osmólito compatível, cuja síntese, transporte, acumulação e degradação podem ser atribuídas como respostas adaptativas das plantas ao estresse hídrico (ASHARAF; HARRIS, 2004). O referido aminoácido que também ocorre em muitos outros organismos, além do papel de ajuste osmótico, possui outros papéis propostos para tecidos de planta osmoticamente estressados, tais como proteção da integridade da membrana plasmática, dissipador ou redutor de energia, fonte de carbono e eliminador de radicais hidroxil (HONG et al., 2000).

### **3.3-Importância dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)**

Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) tem sido caracterizados na literatura como fungos de solo, biotróficos obrigatórios e formadores da simbiose mutualista considerada de ocorrência mais comum na natureza, sendo assim denominada de micorriza arbuscular (MA). Esse tipo de associação ocorre nas raízes da maioria das plantas terrestres (cerca de 80%), promovendo melhorias no crescimento, desenvolvimento e aumento na tolerância e, ou, resistência das plantas a vários agentes ambientais adversos (FOLLI-PEREIRA et al., 2012).

Há fortes evidências de que os FMAs foram os grandes responsáveis pela conquista do ambiente terrestre pelas plantas (REDECKER et al., 2000). Mediante estudos bioquímicos e moleculares, estes fungos do solo foram incluídos no Filo Glomeromycota (SCHUSSLER et al., 2001) e tem como característica principal da associação, a formação de estruturas denominadas arbúsculos, que se estabelecem nas células do córtex radicular, constituindo o sítio de troca de nutrientes entre os simbiontes (SANTANA, 2012).

Os fungos pertencentes ao filo Glomeromycota, pertence à ordem Glomerales, a qual contém cinco famílias (Gigasporaceae, Glomeraceae, Acaulosporaceae, Paraglomaceae e Archaeosporaceae) (STÜRMER; SIQUEIRA, 2006), dentro das quais estão distribuídos sete gêneros (*Acaullospora*, *Archaeospora*, *Entrophospora*, *Glomus*, *Gigaspora*, *Paraglomus* e *Scutellospora*) (INVAM, 2012), com cerca de 140 espécies distribuídas entre eles.

As plantas ao estabelecerem relações de simbiose micorrízicas apresentam alterações em níveis bioquímicos, fisiológicos e moleculares relacionadas com o seu sistema de defesa o que favorece o estabelecimento do processo de simbiose (GARCIA-GARRIDO; OCAMPO, 2002). Essas respostas, entretanto, são limitadas, transientes e restritas a células específicas, porém as reações nas plantas têm



semelhanças, do ponto de vista fisiológico, com as mesmas reações que se observam durante o processo de infecção causada por patógenos (LAMBARIS et al., 2003). Sendo assim, os diferentes mecanismos de respostas das plantas a essa simbiose podem ser atribuídas à diversidade funcional das MAs, em função da interação FMA-planta-condições ambientais (FOLLI-PEREIRA, 2012).

Os FMAs são considerados organismos de extrema importância na nutrição das plantas, pois contribuem para aumentar a absorção radicular de nutrientes que apresentam baixa mobilidade no solo, como P, Zn e Cu (MIRANDA et al., 2008) e formas indispensáveis de nitrogênio, adquiridos pelas hifas estabelecidas no solo. Em troca, as plantas fornecem aos fungos carboidratos obtidos durante o processo da fotossíntese (SIQUEIRA et al., 2010).

Dessa forma, através do aumento da absorção de nutrientes minerais da planta, os fungos micorrízicos desempenham um papel fundamental no estabelecimento e na sobrevivência de espécies importantes, promovendo o crescimento das plantas e oferecendo proteção contra a seca e patógenos presentes no solo (AUGÉ, 2001; RODRÍGUEZ et al., 2009). Além disso, esses microrganismos simbióticos liberam estruturas denominadas de sideróforos, compostos voláteis e fitormônio, que podem atuar direta ou indiretamente no aumento do crescimento da planta, em função de uma maior oferta de nutrientes para o seu hospedeiro (HAAS, 2014).

Que a maioria das plantas superiores é colonizada por FMAs e que esses organismos beneficiam o crescimento vegetal já é do conhecimento da comunidade acadêmica (SMITH; READ, 2008). Contudo, os FMAs também são fundamentais no estabelecimento e adaptação das plantas em locais severamente perturbados (VALLINO et al., 2006), pois as associações micorrízicas resultam no aumento da tolerância das plantas a estresses ambientais (TANG et al., 2009), reduzindo as perdas por estresse (MUNIERLAMAY et al., 2007).

A fase de estabelecimento e funcionamento das micorrizas arbusculares durante as condições impostas pelo estresse direcionam a ativação de um complexo processo de reconhecimento e desenvolvimento, o que promove alterações bioquímicas, fisiológicas e moleculares em ambos os simbiontes (MOREIRA, 2006). Além disso, a colonização micorrízica das raízes tem impacto direto na expressão genica de diversas plantas que codificam proteínas envolvidas na tolerância ao estresse (PARNISKE, 2004).

Os FMAs alteram também as características físico-químicas do substrato e contribuem para a formação e manutenção da estrutura do solo, agregando as partículas do mesmo por meio de hifas extra radiculares e de seus exsudatos e resíduos. Além disso, os FMAs produzem e secretam a proteína glomalina (RILLIG, 2004), que desempenha papel fundamental na estabilidade do solo (BEDINI et al., 2009).

A colonização das raízes por FMAs envolve uma série de eventos morfofisiológicos e bioquímicos que são regulados pela interação de plantas e fungos, bem como por fatores ambientais (COSTA; LOVATO, 2011). Os mecanismos fisiológicos e bioquímicos que melhoram a tolerância de plantas micorrizadas ao estresse abiótico ainda não estão claros, embora a maior absorção de nutrientes possa ser uma das razões, pela melhoria do estado nutricional da planta (ASGHARI et al., 2005), o equilíbrio iônico (GIRI et al., 2007) e por protegerem a atividade de enzimas (RABIE; ALMADINI, 2005).

### 3.4- Caracterização da espécie em estudo

A família Lamiaceae é composta por aproximadamente 200 gêneros e cerca de 3200 espécies, sendo distribuída por todo o planeta (BOTREL et al., 2010). Os representantes desta família são compostos por ervas, arbustos ou árvores com caules geralmente em forma de quadrado (FALCÃO, MENEZES, 2003).

Esta família caracteriza-se por apresentar potencialidades econômicas em virtude da abundância de espécies aromáticas, medicinais e ornamentais, além de produzir óleo essencial amplamente utilizado em vários setores da indústria. Nas espécies de Lamiaceae, o óleo essencial geralmente é armazenado em estruturas secretoras, denominadas de tricomas glandulares (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

O gênero *Hyptis* inclui aproximadamente 400 espécies de ervas, subarbustos, arbustos ou árvores pequenas, ocorrentes desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina (FALCÃO; MENEZES 2003).

Várias espécies do gênero *Hyptis*, também tem ampla utilização na indústria alimentícia, pois são comercializadas como importantes condimentos na culinária de diversas regiões, sendo apreciadas pelo aroma e sabor que atribuem aos alimentos. Contudo, atualmente a maior importância econômica advém do elevado teor de óleos essenciais aromáticos, os quais são sendo comercializados em diversas regiões do mundo. Presentes em abundância nas folhas e inflorescências, as propriedades terapêuticas desses óleos já foram comprovadas e a composição básica dos mesmos é de monoterpenos e sesquiterpenos (FALCÃO; MENEZES, 2003).

As espécies de *Hyptis* são reconhecidas por apresentarem propriedades medicinais em virtude de seu potencial antioxidante que já foi comprovado em algumas espécies, como em *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth. (BOTREL et al., 2010) e em *Hyptis marrubioides* (BOTREL et al., 2009).

Conhecida popularmente no Brasil como mentrasto, alfavacão ou alfazema-de-cabo, *Hyptis suaveolens* (L.) Poit é uma espécie considerada uma erva daninha (VIJAY et al., 2011). Sua ocorrência é anual, desenvolvendo-se em solos agrícolas, beira de estradas e em terrenos baldios (ALMEIDA, 2002). Portanto, esta planta é encontrada em locais onde os solos foram drasticamente alterados por ação antrópica e está amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais (MARTINS, 2009).

A literatura cita *H. suaveolens* como produtora de óleo essencial cuja composição química é constituída principalmente de monoterpenos e sesquiterpenos, os quais são sintetizados nas células de tricomas glandulares e armazenados no interior de uma cápsula situada no ápice dessa célula (MARTINS, 2006). Em vários trabalhos, a ação do óleo essencial de *H. suaveolens* tem sido bastante estudada. Esses estudos vem demonstrando que a espécie tem apresentado um elevado potencial antifúngico, antibacteriano, anticarcinogênica e ação antisséptica (MALELE et al., 2003; MBATCHOU et al., 2010; MOREIRA et al., 2010), atividades nematicida e larvicida, devido à presença de D-limoneno e mentol (OLIVEIRA et al, 2005). Extratos de folhas de *H. suaveolens* apresentaram significativo efeito anti-hiperglicêmico (MISHRA et al., 2011).

O infuso das flores de *H. suaveolens* é indicado para aliviar as cólicas menstruais e os problemas digestivos. As flores e folhas secas, em forma de cigarro, são utilizadas nas odontalgias, e também no tratamento das cefaléias, sendo também indicadas contra gripes, febres e problemas respiratórios, em geral. Em alguns países, como El Salvador, o uso externo desta planta é referido como anti-séptico para ferimentos, e o uso interno no tratamento de distúrbios do sistema digestivo (BASÍLIO, 2006).

Determinados fatores como variabilidade genética intraespecífica, condições ambientais, épocas de colheita, condições de cultivo, tipo de solo e parte da planta analisada podem influenciar no teor e na composição química dos óleos essenciais (MARTINS, 2006). A espécie *H. suaveolens* tem mostrado um alto grau de variabilidade em relação à constituição e quantificação de seu óleo essencial, diferindo de acordo com as partes da planta, a origem geográfica, condições nutricionais, hídricas, salinas entre outros fatores ambientais (MOREIRA et al., 2010).

Neste sentido, avaliação dos estresses abióticos e seus impactos ecológicos em plantas tem sido uma área de interesse nos últimos anos com vistas à elaboração de novas estratégias para fitorremediação, e tolerância das plantas aos mesmos. 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-GOLEZANI, 2011).

A importância do estudo da fisiologia do estresse e seus efeitos no conteúdo de metabólitos secundários em plantas, em parte são explicados por querer se conhecer as possíveis adaptações que poderiam ocorrer no metabolismo desses compostos, aumentando a produção de constituintes ativos de

plantas medicinais (VELLOSO et al., 2009). Embora estejam evidentes as inúmeras alterações morfológicas e bioquímicas que as plantas ao serem submetidas à salinidade sofrem, mesmo assim, ainda são escassos os trabalhos a respeito da influência desse estresse na produção de metabólitos secundários. É nesse contexto que o cultivo de plantas medicinais e suas respostas às condições ambientais impostas nos meios de produção tornam-se fundamentais para assegurar o rendimento e produtividade vegetal.

#### 4-REFERÊNCIAS

- AHMAD, P. Growth and antioxidant responses in mustard (*Brassica juncea* L.) plants subjected to combined effect of gibberellic acid and salinity. **Arch Agron Soil Sci** 56: 575-588. 2010.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R.; ALBUQUERQUE, U. P. Check-list of the family Lamiaceae in Pernambuco. Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**; v. 45, n. 3, p. 343-353, 2002.
- ASGHARI, H.; MARSCHNER, P.; SMITH, S. & SMITH, F. Growth response of *Atriplex nummularia* to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi at different salinity levels. **Plant Soil**, 273:245-256, 2005.
- ASRAR, A.A., ELHINDI, K. M. Alleviation of drought stress of marigold (*Tagetes erecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. **Saudi J. Biol. Sci.**, 18: 93-98, 2011.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, n. 01, p. 3-16, 2004.
- AUGÉ R M. Water relations, drought and VA mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, v. 11, n. 3, p. 3-42, 2001.
- BASÍLIO, I. J. L. D. et al. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit e *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, vol. 25 n° 4, 2006.
- BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial. Curitiba: Layer Studio Gráfica e Editora Ltda, 2009. 160p.
- BEDINI, S.; PELLEGRINO, E.; AVIO, L.; PELLEGRINI, S.; BAZZOFFI, P.; ARGESE, E. & GIOVANNETTI, M. Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. **Soil Biol. Biochem.** 41: 1491-1496, 2009.
- BOSCO, M. R. O. et al. Influência do estresse salino na composição mineral da berinjela **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 40, n. 2, p. 157-164, 2009.
- BOTREL, P.P.; PINTO, J.E.B.P.; FIGUEIREDO, F.C.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FERRI, P.H. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epling (Lamiaceae) em diferentes genótipos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.11, n.2, p.164-169, 2009.
- BOTREL, P.P.; PINTO, J.E.B.; ARAÚJO, A.C.C.; BERTOLUCCI, S.K.V. Variações no teor e na composição volátil de *Hyptis marrubioides* Epl. cultivada no campo e em casa de vegetação. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 33-37, 2010.
- BLANCO, F. F. et al. Doses de N e K no tomateiro sob estresse salino: I. Concentração de nutrientes no solo e na planta. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.1, p.26-33, 2008.
- BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Ed. 3. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2001. p. 1158-1203.

CHINNUSAMY, V., ZHU, K. S. J. Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. **Journal of Experimental Botany**, Vol. 55, No. 395, Crosstalk in Plant Signal Transduction Special Issue, pp. 225-236, 2004.

COSTA, M.D. & LOVATO, P.E. Micorrizas arbusculares e a supressão de patógenos. In: KLAUBERG-FILHO, O.; MAFRA, A.L. & GATIBONI, L.C., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 6, p. 119-139, 2011.

CRAMER, G. R. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC Plant Biology**, 11:163, 2011.

CRUZ, F. J. R. Respostas bioquímicas e fisiológicas de plantas jovens de cana-de-açúcar sob diferentes concentrações de NaCl no solo. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015.

DEINLEIN, U.; STEPHAN, A. B., HORIE, T., LUO, W., XU, G., SCHROEDER, J. I. Plant salt-tolerance mechanisms. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, p. 371-9, 2014.

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

FALCÃO, D.Q. & MENEZES, F.S. Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. n. 84, p. 69-74, 2003.

FARIAS, G.G. et al. Estresse salino no crescimento inicial e nutrição mineral de gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Steud) em solução nutritiva. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, vol.33 n.5 Viçosa, 2009. *On-line version* ISSN 1806-9657.

FOLLI-PEREIRA, et al. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **R. Bras. Ci. Solo**, 36:1663-1679, 2012.

GANDONOU, C. B.; BADA, F., GNANCADJA; S. L., ABRINI, J.; SKALI-SENHAJI, N. Effects of NaCl on Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> and K<sup>+</sup> ions accumulation in two sugarcane (*Saccharum sp.*) cultivars differing in their salt tolerance. **International Journal of Plant Physiology and Biochemistry**, Ilhas Vitória, v. 3, p. 155-162, 2011.

GIRI, B.; KAPOOR, R. & MUKERJI, K.G. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. **Microbial Ecol.**, 54:753-760, 2007.

GONÇALVES, E. E. Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2008.

GHASSEMI-GOLEZANI, K., ZEHTAB-SALMASI, S. AND DASTBORHAN, S. Changes in essential oil content of dill (*Anethum graveolens*) organs under salinity stress Vol.5(14), pp. 3142-3145, July 2011. ISSN: 1996-0875

Hajiboland, R. Effect of micronutrient deficiencies on plants stress responses. In: AHMAD, P.; PRASAD, M.N.V. (Eds). Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability. **Springer, Science Business Media**, New York, pp. 283–329, 2012.

HASANUZZAMAN M., ALAM M. M., RAHMAN A., HASANUZZAMAN M., NAHAR K., FUJITA M. Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **BioMed Research Internatinal**, Juazeiro do Norte, v. 1, p. 1-17, 2014.

HAAS, H. Fungal siderophore metabolism with a focus on *Aspergillus fumigatus*. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 10, p. 1266–1276, 2014.

HONG, C. B. High temperature stress resistance of *Escherichia coli* induced by a tobacco class I low molecular weight heat-shock protein. **Molecules and Cells**, v. 10, n. 5, p. 519-524, 2000.

INVAM - International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fung. Disponível em: <http://invam.caf.wvu.edu>, 2012.

JAMIL, M. et al. Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish. **Scientia Agricola**. v.64, p.111-118, 2007.

LAMBAIS, M.R.; RIOS-RUIZ, W.F. & ANDRADE, R.M. Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytol**, 160:421-428, 2003.

LANCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: Rima, 2004, 531p.

MALELE, R.S.; MUTAYABARWA, C.K.; MWANGI, J.W.; THOITHI, G.N.; LOPEZ, A. G.; LUCINI, E. I, ZYGADLO, J.A. Essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. from Tanzania: composition and antifungal activity. **J Essent Oil Res**, n. 15: p.438-40, 2003.

MBATCHOU, V. C. ABDULLATIF, S.; GLOVER, R. Phytochemical Screening of Solvent Extracts from *Hyptis suaveolens* LAM for Fungal Growth Inhibition. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 9, n. 4, p. 358-361, 2010.

MANSOUR, M. M. F. The plasma membrane transport systems and adaptation to salinity. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 171, n. 18, p. 1787-1800, 2014.

MARTINS, F.T.; SANTOS, M.H.; POLO, M.; BARBOSA, L.C.A. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* sob condições de cultivo. **Quím Nova**: 29: 1203-9, 2006.

MARTINS, F. T.; POLO, M. Desenvolvimento reprodutivo de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.: relação entre fotoperíodo, densidade celular meristemática e padrão de expressão de um ortólogo putativo do gene LEAFY de *Arabidopsis*. **Revista Brasil. Bot.**, v.32, n.1, p.131-142, 2009.

MIRANDA, E. M.; JÚNIOR, O. J. S & SILVA, E. M.R. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para o amendoim forrageiro consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.43, n.9, p.1185-1191, 2008.

MISHRA, S. B.; VERMA, A.; MUKERJEE, A.; VIJAYAKUMAR; M. Anti-hyperglycemic activity of leaves extract of *Hyptis suaveolens* L. Poit in streptozotocin induced diabetic rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, n. 689-693, 2011.

- MOREIRA, F.M.S. SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2 ed. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.
- MOREIRA, A. C. P.; LIMA, E de O.; WANDERLEY, P. A.; CARMO, E. S.; SOUZA, E. L de. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves essential oil against *Aspergillus species*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n.1, p. 28-33, 2010.
- MOURATO, M.; REIS, R.; MARTINS, L. L. Characterization of plant antioxidative system in response to abiotic stresses: a focus on heavy metal toxicity. In: MONTANARO, G.; DICHIO, B. (Eds). **Advances in Selected Plant Physiology Aspects**. InTech. 2012. 388p. ISBN 978-953-51-0557-2.
- MUNIER-LAMY, C.; DENEUX-MUSTIN, S.; MUSTIN, C.; MERLET, D.; BERTHELIN, J. & LEYVAL, C. Selenium bioavailability and uptake as affected by four different plants in a loamy clay soil with particular attention to mycorrhizae inoculated ryegrass. **J. Environ. Radioactiv**, 97:148-158, 2007.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell and Environment**, v. 25, n. 02, p. 239-250, 2002.
- MUNNS, R. & TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology** 59: 651-681, 2008.
- MUNNS, R.; GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops – what is the cost. **New Phytologist**, Cambridge, v. 208, p. 668-673, 2015.
- NIEVES-CORDONES, M.; ALEMÁN, F.; FON, M.; MARTÍNEZ, V.; RUBIO, F. K<sup>+</sup> nutrition, uptake, and its role in environmental stress in plants. In: Ahmad P, Prasad MNV (Eds). Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change. **Springer, Science + Business Media**, New York. Pp. 85–112, 2012.
- OLIVEIRA, M. J. et al. Influence of growth phase on the essential oil composition of de *Hyptis suaveolens*. **Biochemical Systematics and Ecology**. Volume 33, Issue 3, pages 275-285, 2005.
- PANDA, S. K.; BALUSKA, F.; MATSUMOTO, H. Aluminum stress signaling in plants. **Plant Signaling Behavior**. v. 4, n. 7, pp. 592 – 597, 2009.
- PARNISKE, M. Molecular genetics of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Curr. Opin. Plant Biol.**, 7:414-421, 2004.
- PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Saafey**, v.60, n. 03, p. 324-349, 2005.
- PLAŻEK, A., TATRZAŃSKA, M., MACIEJEWSKI, M., KOŚCIELNIAK, J., GONDEK, K., BOJARCZUK, J., DUBERT, F. Investigation of the salt tolerance of new Polish bread and durum wheat cultivars. **Acta Physiologiae Plantarum**, Krakow, v. 35, n. 8, p. 2513-2523, 2013.
- RABIE, G.H. & ALMADINI, A.M. Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants. **Afr. J. Biotechnol.**, 4:210-222, 2005.



- REDECKER, D.; KODNER, R. & GRAHAM, L.E. Glomalean fungi from the Ordovician. **Sci.**, 289:1920-1921, 2000.
- RENGASAMY, P. Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 37, p. 613–620, 2010.
- RILLIG, M.C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil quality. **Can. J. Soil Sci.**, 84:355-363, 2004.
- RODRÍGUEZ, E. S.; CRISÓSTOMO, J. A.; NABAIS, C.; FREITAS, H. Belowground mutualists and the invasive ability of *Acacia longifolia* in coastal dunes of Portugal. **Biological Invasions**, v.11, n. 3, p. 651-661, 2009.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. Fisiologia do estresse. In: (Ed.). Fisiologia das plantas. São Paulo: **Cengage Learning**, 2012. p. 616-651.
- SANTANA, A. S. Eficiência micorrízica em espécies de plantas medicinais da caatinga em diferentes substratos. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Pernambuco, 2012. URI: <http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/10329>.
- SCHUSSLER, A.; SCHWARZOTT, D. & WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycol. Res.**, 105:1413-1421, 2001.
- SILVA, S. L. F. Mecanismos de proteção oxidativa contra estresses isolados e combinados de seca, salinidade e temperatura elevada em cajueiro. **Tese (Doutorado em Bioquímica)**. Universidade Federal do Ceará, 2008.
- SIQUEIRA, J. O. et al. Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil. Lavras: UFLA, 2010. 716p.
- SMITH, S.E. & READ, D.J. Mycorrhizal symbiosis. 3.ed. London, **Academic Press**, 2008. 785p.
- SZABADOS, L. KOVA, H.; ZILBERSTEIN, A. Z.; BOUCHEREAU, A. Plants in Extreme Environments: Importance of Protective Compounds in Stress Tolerance. **Advances in Botanical Research**, New York, v. 57, p. 105-150, 2011.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. In: Respostas e adaptações ao estresse abiótico. Porto Alegre: **Artmed**, cap.26, p. 753-780, 2013.
- TANG, J.; XU, L.; CHEN, X. & HU, S. Interaction between C4 barnyard grass and C3 upland rice under elevated CO<sup>2</sup>: Impact of mycorrhizae. **Acta Oecol.**, 35:227-235, 2009.
- TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, p. 503-527, 2003.
- VALLINO, M.; MASSA, N.; LUMINI, E.; BIANCIOTTO, V.; BERTA, G. & BONFANTE, P. Assessment of arbuscular mycorrhizal fungal diversity in roots of *Solidago gigantea* growing in a polluted soil in Northern Italy. **Appl. Environ. Microbiol.**, 8:971-983, 2006.
- VELLOSO, A. L. et al, Indução de metabólitos secundários em plântulas de *Hypericum brasiliense* Choisy crescendo in vitro. **Revista: Acta Amazônica**. VOL 39(2): 267–272, 2009.

VIJAY RAJ, PANDIYARAJAN V, PETCHIMUTHU K. Comparison of chemical composition of the essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves from different regions of Tamil Nadu. *IJPSR*; 2: 612-614, 2011.

VOLLET, V. C. Teores de glicina betaína no sistema radicular de genótipos de guandu sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006.

WAKEEL, A. Potassium-sodium interactions in soil and plant under saline-sodic conditions. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, n. 3, p. 344-354, 2013.

YANO-MELO, A. M. et al. Tolerance of mycorrhized banana (*Musa* sp. cv. Pacovan) plantlets to saline stress. **Elsevier: Agriculture, Ecosystems & Environment**. Volume 95, Issue 1, Pages 343-348, 2003.

ZIA, A.; GUO, B.; ULLAH, I.; AHMAD, R.; KHAN, M. A.; ABBASI, B. H.; WEI, Y. Salinity tolerance and site of  $K^+$  accumulation in four maize varieties grown in khyber pakhtoonkhwa region of pakistan. **Journal of Medicinal Plants Research**, Nsukka, v. 5, n. 25, p. 6040-6047, 2011.

ZHAO, J.; W. REN, D. ZHI, L. WANG; G. XIA. Arabidopsis DREB1A/CBF3 bestowed transgenic tall rescue increased tolerance to drought stress. **Plant Cell Reports**, Heidelberg, v. 26, n. 9, p. 1521-1528, 2007.

ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 06, n. 05, p. 441-445, 2003.

**CAPÍTULO 2- EFEITO DO ESTRESSE SALINO EM *Hyptis suaveolens*  
(LAMIACEAE) ASSOCIADA A FUNGOS MICORRÍZICOS**



34 were placed to germinate in polyethylene vessels containing substrate associated or not to FMAs.  
35 After the establishment of the plants, the treatments with different concentrations of salts  
36 werestarted. The experimental design was a randomized complete block design in a 4x3 factorial  
37 scheme, comprising 12 treatments with three replicates each. At the end of the experiment,  
38 physiological responses were evaluated in the plants under study. Data were submitted to analysis  
39 of variance and the means were compared by Tukey test at 5% probability. Salt concentrations  
40 affected all analyzed variables and stress promoted reduction in dry matter content. Although the  
41 plants were negatively affected by salt, it was verified that the association of these with AMF  
42 presented a dry matter gain in relation to the non-associated ones. The levels of TRA and  
43 chlorophyll were reduced in the presence of salt, on the other hand an increase was observed in the  
44 contents of reducing sugars and proline, which act like osmoregulators. The levels of MDA and  
45 membrane damage were increasing in the presence of fungi. In the evaluation of the antioxidant  
46 activity (% AA), all the treatments showed a sequestering activity of the DPPH radical higher than  
47 80%. The *H. suaveolens* plants colonized with the two species of fungi presented structures  
48 characteristic of the mycorrhizal colonization in all treatments independent of the dose of salt.

49

50 **Key-words:** Abiotic stress, Saline levels, Mycorrhizal colonization, Antioxidant activity.

51

52

## 53 INTRODUÇÃO

54 Denominada popularmente no Brasil como “mentrasto”, “alfavacão” ou “alfazema-de-  
55 cabo”, *Hyptis suaveolens* (L.) Poit é uma espécie considerada daninha (VIJAY et al., 2011). Sua  
56 ocorrência é anual, desenvolvendo-se em solos agrícolas, beira de estradas e em terrenos baldios.  
57 Logo, esta planta é encontrada em locais onde os solos foram drasticamente alterados por ação  
58 antrópica e está amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais (SAKTHIVADIVEL et  
59 al., 2015).

60 *H. suaveolens* é como produtora de óleo essencial cuja composição química é constituída  
61 principalmente de monoterpenos, sesquiterpenos, alcanos, benzotiazol, diterpenos, triterpenos e  
62 esteróides (FALCÃO; MENEZES, 2003; MARTINS, 2006). Em vários trabalhos, a ação do óleo  
63 essencial dessa espécie já foi estudada, sendo comprovada, atividade antifúngica, antibacteriana,  
64 anticarcinogênica e antisséptica (MBATCHOU et al., 2010; CHATRI et al., 2014); Também foi  
65 relatada atividade no extrato de folhas dessa espécie, evidenciando efeito anti-hiperglicêmico  
66 (MISHRA et al., 2011).

67 Outras atividades medicinais da espécie em estudo foram comprovadas, a exemplo dos  
68 recentes estudos realizados por Jesus et al. (2013). Neste trabalho verificou-se que o extrato  
69 alcoólico de *H. suaveolens* aplicado em ratos via oral, mostrou-se eficaz no tratamento de úlceras  
70 gástricas intestinais. As atividades antioxidantes (AGARWAL, VARMA, 2013;  
71 PRIYADHARSHINI, 2013; NAYAK, KAR, NAYAK 2014;), e neuroprotetora da espécie também  
72 foram comprovadas. Esta última função foi verificada em células de ratos com neurotoxicidade  
73 oxidativa induzida sob condições de estresse (GHAFFARI et al., 2014).

74 A problemática da salinidade nos solos está frequentemente associada ao manejo  
75 inadequado da água disponibilizada para irrigação, a qual contém teores de sais. Para maioria das  
76 espécies vegetais, a salinidade causa grandes distúrbios, provocando restrição de crescimento e  
77 perda de produtividade (ENDO et al., 2011). Considera-se que o crescimento das plantas sob  
78 estresse salino é bastante complexo, pois a forma como o mesmo é afetado não é completamente  
79 entendida, uma vez que as respostas das plantas à salinidade excessiva mostram-se variadas  
80 envolvendo mudanças na morfologia, fisiologia e no metabolismo das plantas (MAHBOOBEH;  
81 AKBAR, 2013).

82 Excessos de sais direcionam a uma condição estressante que provoca alterações metabólicas  
83 nas plantas e acarreta aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (EROS). Para tanto, as  
84 plantas desenvolveram mecanismos de defesa a partir da ativação de complexo sistema  
85 antioxidativo composto por enzimas e metabólitos capazes de regular o nível de EROS (KIM;  
86 KWAK, 2010), que podem atuar como sinalizadoras ou, quando em excesso, provocar danos  
87 celulares.

88 Tendo em vista, os efeitos impactantes do excesso de sais nos vegetais, torna-se necessário à  
89 utilização de alternativas que visem o estabelecimento de mecanismos de tolerância à condição  
90 estressante imposta pelo ambiente. Corrigir os efeitos negativos pelos métodos convencionais é  
91 muitas vezes caro e demanda tempo e, na maioria das vezes não surtir o efeito desejado  
92 (TAVARES, 2012). Portanto, o uso de microrganismos pode representar uma saída para inclusão de  
93 áreas salinas ao processo produtivo como também agir como um atenuador dos efeitos gerados pela  
94 salinidade. Sendo assim, os fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) tem sido caracterizados como  
95 uma excelente alternativa para esta problemática. A associação de fungos arbusculares às raízes das  
96 plantas sob condições de estresses ambientais, em especial o estresse salino, minimizam os danos e  
97 promovem um desenvolvimento mais adequado ao vegetal mediante mecanismos de  
98 tolerância/resistência (FOLLI-PEREIRA et al., 2012).

99 A simbiose garante ao vegetal melhor estado nutricional, disponibilizando elementos de  
100 baixa mobilidade como o fósforo (RAMOS, 2012). Além disso, os FMAs possuem a capacidade de

101 penetrarem nas raízes das plantas, e as redes de hifas expandem-se no solo, promovendo aumento  
102 considerável da área de absorção de água (BONFANTE; DESIRÓ, 2015). Diante deste contexto, o  
103 presente trabalho visa avaliar o efeito do estresse salino em *H. suaveolens* associada a fungos  
104 micorrizicos de modo a verificar respostas da interação salinidade *versus* fungo sobre parâmetros  
105 fisiológicos da espécie.

106

## 107 **MATERIAS E MÉTODOS**

108

109 O trabalho foi realizado na casa de vegetação da Universidade do Estado do Rio Grande do  
110 Norte – UERN, durante os meses de abril a maio de 2017. Durante o período experimental, a  
111 temperatura média da casa de vegetação foi de 35,5 °C e umidade relativa do ar de 69,4 %. O solo  
112 utilizado no experimento foi coletado da camada superficial, no mesmo local de ocorrência da  
113 espécie estudada em uma área rural do município de Mossoró/RN, localizada a aproximadamente 8  
114 km do Campus Central da UERN.

115

### 116 **Multiplicação dos FMAs e Preparação do solo e coleta das sementes de *Hyptis suaveolens***

117

118 As espécies de FMAs estudadas foram *Claroideoglomus etunicatum* (syn. *Glomus*  
119 *etunicatum*) e *Gigaspora albida*, cujos inóculos foram cedidos pela Universidade Federal Rural de  
120 Pernambuco (UFRPE). Para multiplicação dos fungos, foram utilizados solo natural (local de  
121 ocorrência da espécie estudada) e areia lavada na proporção 3:1. O substrato preparado foi  
122 previamente esterilizado em autoclave a 121° C, 1 ATM por 1h e colocada em estufa de circulação  
123 forçada de ar a 70 °C durante dois dias.

124 Em casa de vegetação, o substrato foi distribuído em vasos de polietileno com capacidade  
125 para 8L nos quais foram postos para germinar sementes de *Panicum milaceum* (painço), planta que  
126 é utilizada como hospedeira dos FMAs, para promover a multiplicação dos mesmos. Após 60 dias,  
127 porções de 1,5 kg do solo contendo fragmentos de raízes de *P. milaceum*, colonizadas com os  
128 fungos foram coletados e armazenados em sacos plásticos sob refrigeração para uso posterior.

129 O substrato utilizado no experimento foi resultante de uma mistura de areia lavada, solo  
130 natural e adubo orgânico na proporção 2: 1: 1, que em seguida foi esterilizado, obedecendo ao  
131 mesmo critério supracitado. Após a esterilização o solo foi armazenado em vasos de polietileno  
132 com capacidade para 8 L, os quais foram pesados para padronização da massa.

133 Sementes de *H. suaveolens* foram coletadas e levadas ao laboratório, onde foram  
134 selecionadas e submetidas ao tratamento de quebra de dormência através de escarificação química  
135 com óxido de cálcio (CaO). Em seguida, 1080 sementes foram semeadas nos vasos e 30 dias após a  
136 semeadura, realizou-se o desbaste, deixando uma planta por vaso.

137

### 138 **Delineamento estatístico e etapa experimental**

139

140 O delineamento estatístico experimental foi desenvolvido em esquema fatorial de 4x3  
141 (quatro níveis de NaCl e duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) mais o controle  
142 sem fungo), perfazendo doze tratamentos. Cada tratamento conteve três repetições, sendo cada uma  
143 composta por uma planta. Os níveis de cloreto de sódio avaliados foram: 0,0; 35; 70 e 105 mM,  
144 correspondendo respectivamente as seguintes condutividades elétricas: 0,41; 2,41; 5,76 e 8,47 mS  
145  $\text{cm}^{-1}$ . As soluções salinas foram aplicadas diariamente durante 15 dias e a cada cinco dias as plantas  
146 foram suplementadas com solução de Hoagland & Arnon (1950). Após esse período o experimento  
147 foi desmontando e foram avaliadas variáveis de crescimento e bioquímicas, no Laboratório de  
148 Fisiologia e Bioquímica de Plantas – UERN, Mossoró - RN e no Laboratório de Produtos Naturais  
149 Marinhos (PROMAR) - DEP/UFC, Fortaleza – CE.

150

### 151 **Quantificação de Matéria de Seca da parte aérea, raiz e TRA**

152

153 Para quantificação da biomassa seca de parte aérea e raiz, o material vegetal foi seco em  
154 estufa de circulação forçada de ar a 70 °C e após apresentarem peso constante deram-se início as  
155 quantificações. Baseado nos valores de biomassa seca de raiz e parte aérea, calculou-se a relação  
156 raiz/parte aérea (R/PA), de acordo com Benincasa (1988). O TRA foi quantificado através da  
157 metodologia proposta por Slavick (1979).

158

### 159 **Teores de Prolina, Açúcares Redutores, Clorofila, Peroxidação Lipídica e Danos à membrana** 160 **(DM)**

161

162 Os teores de prolina foram determinados por espectrofotometria a 520 nm, a partir do  
163 sobrenadante (BATES et al, 1973). A concentração de prolina foi determinada a partir de uma curva  
164 padrão e calculada com base na matéria seca. Para a determinação do teor de açúcares redutores, foi  
165 utilizado o método colorimétrico do 3,5-Dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller (1959).



166 As concentrações de pigmentos foram mensuradas pelo método de WELBURN (1994). A  
167 peroxidação lipídica foi determinada de acordo com Heath e Packer (1968), com modificações. A  
168 reação foi determinada através da produção de malondialdeído (MDA), um metabólito reativo ao  
169 ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). Amostras de folhas foram maceradas em ácido tricloroacético (TCA)  
170 a 0,1% na proporção de 1:10 (g mL<sup>-1</sup>). Após homogeneização, a amostra foi centrifugada a 10.000g  
171 durante 5 min e após a centrifugação, 0,25 mL do sobrenadante foi transferido para outro tubo  
172 juntamente com 1,0 mL de solução contendo 20% de TCA e 0,5% de TBA. A mistura foi mantida  
173 em banho-maria a 95°C durante 30 min e em seguida foi submetida a rápido resfriamento por 10  
174 min, sendo posteriormente centrifugada por mais 10 min a 10.000g. A leitura das amostras foi em  
175 espectrofotômetro a 535 e 600 nm.

176 O grau de danos às membranas celulares (DM) das folhas também foi estimado pelo  
177 vazamento de eletrólitos (%VE), e foi mensurado de forma indireta, através da condutividade de  
178 eletrólitos de acordo com Blum e Ebercon (1980).

179

#### 180 **Atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH**

181

182 A atividade antioxidante, medida pela capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2- difenil-  
183 1-picril-hidrazila- Sigma D9132) foi determinada segundo Duan et al. (2006), com algumas  
184 modificações. Nos tubos denominados amostras, foram adicionados 10 µL dos extratos aquosos de  
185 *H. suaveolens* na concentração de 1: 20 e 190 µL da solução metanólica de DPPH (D9132 Sigma) a  
186 78 µM. Os tubos denominados branco da amostra foram preparados com 10 µL dos extratos  
187 aquosos de folhas de *H. suaveolens* na concentração de 1:20 e 190 µL de metanol. Nos tubos  
188 denominados controle da amostra (controle negativo) foram adicionados 190 µL da solução  
189 metanólica de DPPH a 78 µM e 10 µL de metanol. O *L*-ácido ascórbico (Sigma A5960), um  
190 flavonoide natural, foi utilizado como controle positivo, nas concentrações 2.000, 1.500, 1.000, 500,  
191 250, 100, 50 e 25 µg mL<sup>-1</sup>, e sendo tratado de forma idêntica.

192 Todos os tubos (amostra, branco da amostra, controle da amostra e controle positivo) foram  
193 agitados e incubados à temperatura ambiente por 30 minutos no escuro. As absorvâncias foram  
194 lidas em leitora de microplaca (marca Asys modelo UVM 340), em 517 nm. As análises foram  
195 realizadas em triplicata para cada tratamento. Para expressar os resultados em µg mL<sup>-1</sup> foi  
196 construída uma curva de calibração utilizando soluções de ácido ascórbico nas concentrações de 25,  
197 50, 100, 250, 500, 1000, 1500 e 2000 µg/mL<sup>-1</sup>. A partir da equação da reta obtida  $y = 8,625x +$   
198  $0,587$  ( $r = 0,99995$  /  $n = 3$ ) realizou-se o cálculo de sequestro de radicais livres de DPPH, expresso

199 em  $\mu\text{g}$  de equivalentes de ácido ascórbico/mL do extrato. A partir de 250 até 2.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  a  
200 capacidade de sequestro do radical DPPH foi essencialmente 100% (platô).

201

### 202 **Teste de Colonização Micorrízica (CM)**

203

204 Para avaliação da porcentagem de colonização micorrízica utilizou-se a metodologia de  
205 Phillips & Hayman, (1970) com modificações, onde raízes finas foram diafanizadas em KOH 2% a  
206 90 °C em banho-maria durante 20 minutos, acidificadas em HCl 1% em banho-maria por 4 min e  
207 em seguida coloridas com azul de trypan 0,05% em lactoglicerol a 90°C em banho maria por 10  
208 minutos. A taxa de colonização foi estimada segundo método de Giovanetti & Mosse (1980).

209 Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e suas médias comparadas pelo Teste de  
210 Tukey a 5 % de significância com o auxílio do Software estatístico Assistat® versão 7.7.

211

## 212 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

213 Sintomas visuais caracterizados por clorose seguidas de necrose foram observados em folhas  
214 basais e medianas de *H. suaveolens* em consequência da toxicidade causada pelo estresse salino.  
215 Esses sintomas apresentados nas folhas das plantas sob estresse ocorreu, provavelmente, em virtude  
216 do estresse iônico ocasionado por níveis tóxicos de íons salinos no tecido vegetal foliar (Figura 1).



217

218 **Figura 1.** Plantas de *Hyptis suaveolens* ao final de 15 dias irrigadas com soluções salinas em diferentes concentrações  
219 em associação com fungos micorrízicos arbusculares (Fonte: Acervo pessoal, 2017).

220

221 De acordo com análise estatística houve interação significativa entre os fatores estudados  
 222 para as variáveis biomassa seca de parte aérea, biomassa seca de raiz e relação R/PA ( $p < 0,01$ )  
 223 (Tabela 1).

224 Ao serem submetidas a diferentes níveis de salinidades, as plantas de *H. suaveolens*  
 225 apresentaram acentuadas reduções em relação a sua produção de biomassa. Embora as plantas  
 226 tenham sido afetadas de forma negativa pelo sal, verificou-se que a associação destas com fungos  
 227 micorrízicos proporcionaram um ganho de matéria seca em comparação com as plantas não  
 228 associadas, sobretudo nas concentrações mais elevadas de sais (Figura 3).

229

230

231 **Tabela 1.** Resumo das análises de variância das características avaliadas de biomassa seca da parte aérea (BSPA),  
 232 biomassa seca da raiz (BSR) e relação raiz/ raiz parte aérea (R/PA) em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a  
 233 diferentes concentrações salinas associadas a fungos micorrízicos.

Valores de F				
FV	GL	BSPA (g)	BSR(g)	R/PA
Fungos (F1)	2	76.3959 **	29.4694 **	15.2949 **
Salinidade (F2)	3	623.2078 **	680.5532 **	19.4823 **
F1xF2	6	83.7608 **	31.2306 **	15.6909 **
Tratamentos	11	229.5436 **	207.9983 **	16.6529 **
Blocos	2	0.6319 <sup>ns</sup>	0.5116 <sup>ns</sup>	2.0248 <sup>ns</sup>
<b>CV %</b>		<b>5.33</b>	<b>6.15</b>	<b>13.00</b>

242 \*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ) \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 = < p <$   
 243  $0,05$ ), <sup>ns</sup> não significativo ( $p \geq 0,05$ ).

244

245

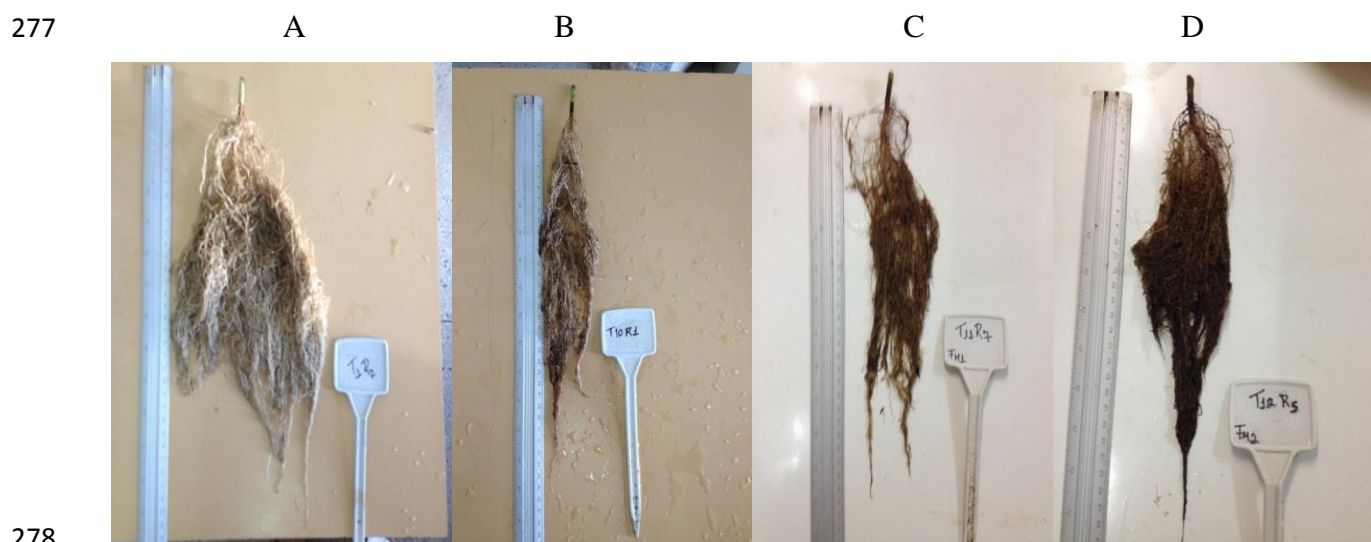
246 As plantas inoculadas com as duas espécies de fungos apresentaram um aumento na  
 247 produção de biomassa seca da parte aérea quando comparadas com as plantas não inoculadas com  
 248 fungos. Os fungos micorrízicos proporcionaram aumento na biomassa seca da parte aérea,  
 249 diferenciando-se significativamente em relação às plantas não micorrizadas a nível de 1% de  
 250 probabilidade (Figura 3A).

251 Ao serem submetidas às diferentes concentrações de sais, observou-se uma redução na  
 252 biomassa em relação ao tratamento controle, independentemente da presença ou ausência de  
 253 micorriza. A partir da concentração de 35 mM, as plantas micorrizadas apresentaram declínio no  
 254 desenvolvimento de biomassa seca, porém, nos níveis mais elevados de sais, 70 mM e 105 mM as  
 255 plantas associadas a *G. etunicatum* apresentaram maior biomassa em relação às não inoculadas e às  
 256 inoculadas com *G. albida*, tanto na parte aérea quanto na raiz (Figura 3B). Ao analisar a  
 257 concentração mais elevada de sal (105 mM), nota-se uma redução de quase 50% em comparação  
 258 aos tratamentos sem sal. Os benefícios gerados pelos FMAs podem estar relacionados à maior

259 disponibilidade de nutrientes às plantas, e ainda à compartimentalização do íon  $\text{Na}^+$  nas hifas, que  
 260 pode amenizar os danos causados pelo excesso de sais (TAVARES et al., 2012).

261 Estudos com plantas jovens de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) e meloeiro (*Cucumis melo*)  
 262 ao serem submetidas a concentrações elevadas de sais apresentaram reduções nos teores de  
 263 biomassa seca da parte aérea (TAVARES, 2007; LÚCIO, 2008). No entanto, os autores  
 264 observaram que ao serem inoculadas com FMAs, as plantas apresentaram incremento nos teores de  
 265 matéria seca, apesar do sal. Ao trabalhar com a bananeira, Yano-Melo et al. (2003) também  
 266 verificaram que a inoculação de FMAs proporcionou um aumento de 83% na matéria seca da parte  
 267 aérea quando comparada com as plantas não inoculadas sob condições de estresse salino. Uma vez  
 268 dentro da raiz, os FMAs desenvolvem estruturas altamente ramificadas dentro das células corticais,  
 269 os arbúsculos, os quais facilitam a transferência de nutrientes para a planta (GUTJAHR;  
 270 PARNISKE, 2013).

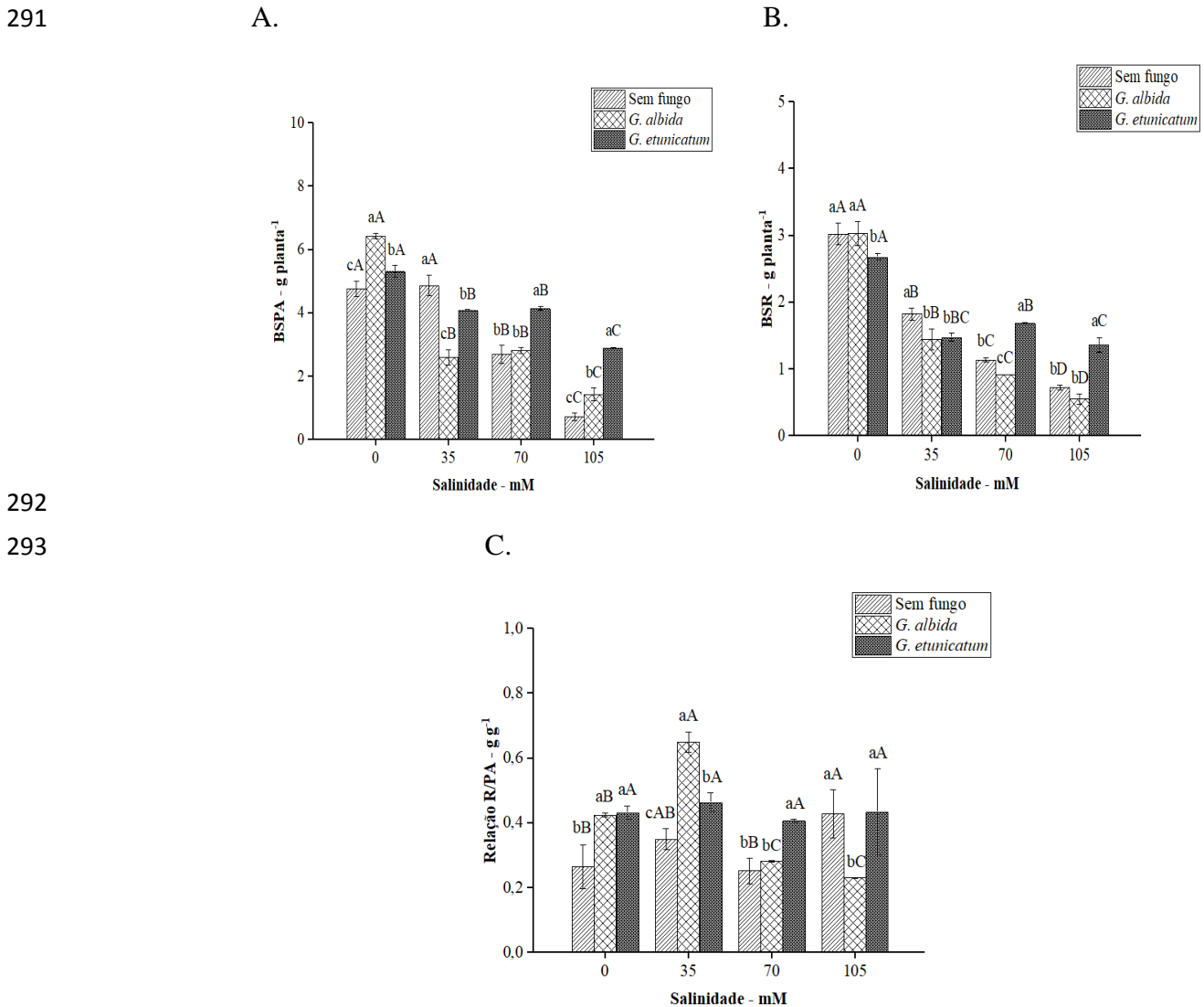
271 A presença do sal afetou mais fortemente o desenvolvimento de biomassa de raiz que o da  
 272 parte aérea (Figura 3), provavelmente em função do contato mais direto desse órgão com o sal no  
 273 solo. Resultados semelhantes foram observados por Ragagnin et al (2014), ao trabalharem com  
 274 plantas de *Lippia gracilis* submetidas ao estresse salino com NaCl. Esse fato se refletiu na relação  
 275 R/PA, cujos resultados mostram valores inferiores a 1 (Figura 3C), confirmando maior incremento  
 276 de biomassa na parte aérea.



278  
 279 **Figura 2.** Comparativo entre as raízes de *Hyptis suaveolens* na ausência de sal e sem FMAs (A), sem FMAs e 105 mM  
 280 de sal (B), inoculadas com *Gisgaspora albida* e 105 mM de sal (C) e inoculadas com *Glomus etunicatum* e 105 mM de  
 281 de sal (D) (Fonte: Acervo pessoal, 2017).  
 282  
 283

284 Quando as plantas são submetidas a condições de estresse salino, processos importantes, a  
 285 exemplo da fotossíntese, são afetados, de modo que uma das causas da redução na taxa de

286 crescimento das plantas é atribuída a restrições na taxa fotossintética, devido a menor condutância  
 287 estomática e a consequente limitação na capacidade de absorção de CO<sub>2</sub> (PRISCO E FILHO, 2010).  
 288 Além disso, o estresse pode inibir diretamente a divisão e expansão celular, promovendo uma  
 289 supressão do desenvolvimento vegetal. Resultando dessa forma menor crescimento em virtude de  
 290 menores taxas fotossintéticas (SILVEIRA, 2010).



294

295 **Figura 3.** Médias da produção de biomassa seca da parte aérea (A), da raiz (B) e da relação raiz/parte aérea (C) em  
 296 plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes concentrações salinas associadas com fungos micorrízicos  
 297 arbusculares (FMAs): *Gisgaporá albida*, *Glomus etunicatum* e o controle (sem FMAs). Letras maiúsculas referem-se  
 298 aos níveis de salinidades e as minúsculas as espécies de fungos.

299

300 O decréscimo imediato na taxa de crescimento da parte aérea, promovido pela redução da  
 301 capacidade de absorção de água, é resultante de sinais hormonais produzidos pelas raízes para a  
 302 parte aérea, onde haveria um provável papel do ácido abscísico (MUNNS, 2002). Altas  
 303 concentrações de sais de sódio interferem negativamente na homeostase celular, promovendo

304 interações iônicas, que podem causar alterações osmóticas e nutricionais deletérias às plantas (TAIZ  
305 & ZEIGER, 2009).

306 O estabelecimento de associações micorrízicas tem resultado no aumento da tolerância das  
307 plantas a estresses ambientais (TANG et al., 2009). Sendo assim, plantas associadas aos FMAs têm  
308 frequentemente maior resistência ao estresse promovido pelo excesso de sais, talvez com maior  
309 consistência do que ao estresse devido à restrição hídrica. É relatado na literatura que os FMAs  
310 apresentam a capacidade de aumentar a tolerância das plantas ao estresse salino (JAHROMI *et al.*,  
311 2008; HAJIBOLAND et al., 2010) por melhorarem a absorção de água e nutrientes pelas plantas  
312 (ASGHARI et al., 2005), promove o equilíbrio iônico (GIRI et al., 2007) e por permitir a proteção  
313 das atividades enzimáticas (RABIE & ALMADINI, 2005).

314 O quadro resumo da análise de variância expressa na Tabela 2 mostra que houve interação  
315 para os fatores investigados em relação às variáveis teor relativo de água (TRA), danos a membrana  
316 (DM) e peroxidação lipídica (MDA) sendo significativo ao nível de 1% de probabilidade.

317  
318

319 **Tabela 2.** Resumo das análises de variância das características avaliadas de TRA (Teor Relativo de Água), DM (Danos  
320 à membrana) e MDA (Peroxidação lipídica) em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes concentrações  
321 salinas associadas a fungos micorrízicos.

Valores de F				
FV	GL	TRA	DM	MDA
Fungos (F1)	2	65.9664 **	31.9030 **	7.2507 **
Salinidade (F2)	3	121.0669 **	103.2551 **	68.8380 **
F1xF2	6	16.5420 **	14.5952 **	35.4415 **
Tratamentos	11	54.0350 **	41.9221 **	39.4240 **
Blocos	2	0.0028 **	0.3094 <sup>ns</sup>	0.2197 <sup>ns</sup>
<b>CV %</b>		<b>3.17</b>	<b>6.87</b>	<b>9.44</b>

329 \*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ) \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 = < p <$   
330  $0,05$ ), <sup>ns</sup> não significativo ( $p \geq 0,05$ ).

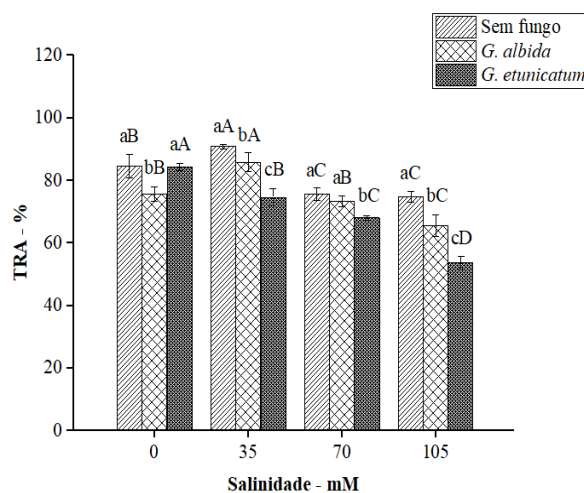
331  
332

334 O teor relativo de água está inteiramente associado à capacidade de retenção de água na  
335 planta, e quanto maior esse valor no tecido vegetal, mais hidratado ele está. Ao analisar essa  
336 variável, verificou-se que a salinidade afetou a retenção de água pelos tecidos foliares, mais  
337 fortemente a partir das concentrações de 70 e 105 mM, tanto nas plantas micorrizadas quanto nas  
338 não micorrizadas, porém, com exceção das plantas em simbiose com *G. etunicatum* e submetidas a  
339 105 mM de sal, todos os demais tratamentos apresentaram TRA superior a 70%. Em todos os níveis  
340 de salinidade, as plantas controle e associadas a *G. albida* apresentaram TRA mais elevado, sendo  
341 estatisticamente superiores às inoculadas com *G. etunicatum*, o qual apresentou TRA inferior a 60%

342 (Figura 4). Na concentração de 35 mM, o TRA foi superior, inclusive com relação às plantas  
343 cultivadas sem sal.

344 Em estudos realizados com goiabeira verificou-se que os valores de TRA foram reduzidos  
345 com os pinhão-manso (*Jatropha curcas*) também comprovou decréscimos nos percentuais de água  
346 retidos nos tecidos foliares ao serem submetidas a condições de salinidade (MATOS et al, 2013).  
347 Tais resultados foram semelhantes ao observado em *H. suaveolens*. Por outro lado, estudos com em  
348 plantas inoculadas com FMA mantem teor relativo de água relativamente maior em comparação  
349 com plantas não inoculadas (COLLA et al., 2008; JAHROMI et al., 2008; SHENG et al., 2008).

350 Levando em consideração os mecanismos fisiológicos dos fungos, estes podem ter sidos  
351 afetados pela condição estressante imposta. Tal fato comprometeu o efeito benéfico dos fungos  
352 sobre as plantas. Dependendo da severidade do estresse, a salinidade afeta negativamente o  
353 desenvolvimento dos FMAs (AGGARWAL et al., 2012).



354 **Figura 4.** Médias do Teor Relativo de Água (TRA) em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a diferentes  
355 concentrações salinas associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o  
356 controle (sem FMAs). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de salinidades e as minúsculas as espécies de fungos.  
357

358  
359 A análise de variância expressa na Tabela 3 mostra interação significativa a nível 1% de  
360 probabilidade ( $p < 0,01$ ) entre os fatores fungos (F1) versus salinidade (F2) para as variáveis:  
361 clorofila, prolina e açúcares redutores. Ao analisar os fatores isolados, prolina diferiu  
362 estatisticamente a nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ) e para os açúcares redutores não  
363 houve diferença significativa. Não houve interação significativa entre os fatores para a variável  
364 colonização micorrízica. Em relação à atividade antioxidante (sequestro de DPPH), os resultados  
365 mostraram não haver diferenças para os fatores isolados e em interação.  
366

367 **Tabela 3.** Resumo das análises de variância das características avaliadas de Clorofila, Prolina, AR (Açúcares  
368 Redutores), Colonização Micorrízica (CM) e Sequestro de DPPH em plantas de *Hyptis suaveolens* submetidas a  
369 diferentes concentrações salinas associadas a fungos micorrizicos.

Valores de F						
FV	GL	Clorofila	Prolina	AR	CM	Sequestro de DPPH
Fungos (F1)	2	66.6869 **	3.9264 *	2.1139 <sup>ns</sup>	5.71902**	2.4526 <sup>ns</sup>
Salinidade (F2)	3	395.5366 **	45.1061 **	256.2117 **	4.8166*	2.3582 <sup>ns</sup>
F1xF2	6	60.1661 **	4.8889 **	4.9066 **	3.758301 <sup>ns</sup>	0.7905 <sup>ns</sup>
Tratamentos	11	152.8163 **	15.6822 **	72.9366 **	3.1837**	1.5288 <sup>ns</sup>
Blocos	2	0.3977 <sup>ns</sup>	1.2144 <sup>ns</sup>	0.5231 <sup>ns</sup>	5.7190 <sup>ns</sup>	-
<b>CV %</b>		<b>3.47</b>	<b>29.26</b>	<b>8.83</b>	<b>21.79</b>	<b>12.28</b>

377 \*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ) \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p <$   
378  $0,05$ ), <sup>ns</sup> não significativo ( $p \geq 0,05$ ).

379  
380

381 A salinidade nos níveis de 70 e 105 mM afetaram a produção de clorofilas totais nas plantas  
382 micorrizadas. Na dose de 35 mM, a simbiose com *G. albida* favoreceu a produção de clorofila,  
383 porém a partir dessa dose, as plantas mesmo micorrizadas apresentaram declínio na produção desse  
384 pigmento. A concentração de 105 mM de sal promoveu quedas mais acentuadas, tanto nas plantas  
385 micorrizadas quanto as não micorrizadas (Figura 5 A). O nível de clorofila é um dos parâmetros  
386 mais utilizados como indicativo de deficiência nutricional em plantas cultivadas (GODOY et al.,  
387 2008) e de possíveis alterações nos processos de fotoassimilação, que interferem diretamente no  
388 desenvolvimento e crescimento vegetal. Trabalho realizado por Aragão et al. (2009) comprovou que  
389 aumento dos níveis de sais no solo influenciou negativamente para a produção de clorofila nas  
390 plantas de melão (*Cucumis melo* L.) e segundo os autores, esse fato contribuiu para diminuição na  
391 produção de matéria fresca e seca das plantas.

392 Os carboidratos podem ser um indicativo de osmorregulação e de acordo com os dados  
393 analisados, verificou-se que os níveis de açúcares redutores em *H. suaveolens* aumentaram  
394 conforme níveis maiores das concentrações salinas (70 mM e 105 mM) (Figura 5 B). Analisando-se  
395 o tratamento sem e com 35 mM de sal, verifica-se que não houve diferença estatística entre plantas  
396 sem e com FMAs. Na maior dose de sal (105 mM), observou-se incremento na produção de  
397 açúcares redutores pelas plantas inoculadas com *G. albida*. Essa estratégia pode explicar o porquê  
398 da redução da biomassa seca nesse tratamento. Muito provavelmente, a energia que deveria ser  
399 utilizada para produção de biomassa, foi desviada para osmorregulação.

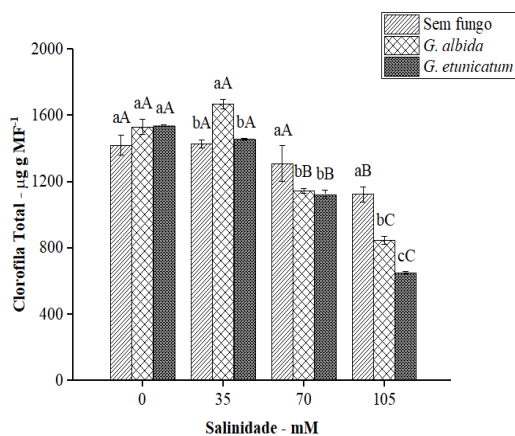
400 As plantas inoculadas com *G. etunicatum* apresentaram nível de açúcares redutores  
401 estatisticamente semelhante a plantas inoculadas com *G. albida* (Figura 5B), sugerindo, portanto,  
402 que os FMAs podem contribuir com a osmorregulação das plantas. É importante salientar também  
403 que os níveis de açúcares redutores em altas concentrações na célula atuam estabilizando algumas



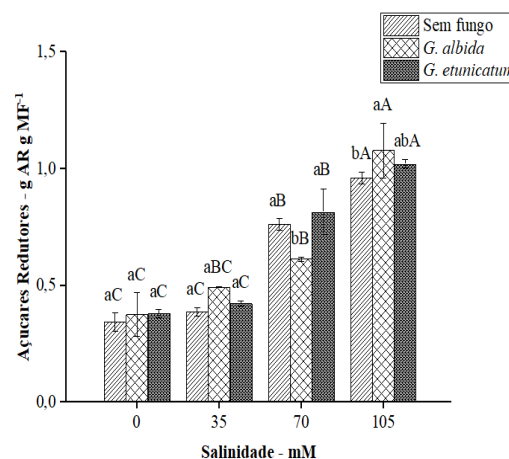
404 estruturas macromoleculares, o que contribui para restabelecer a integridade da membrana  
 405 plasmática. Dos vários osmólitos orgânicos, os açúcares contribuem com cerca de 50% ou mais  
 406 para o potencial osmótico total das glicófitas sob estresses abióticos, além de prevenir contra a  
 407 desidratação e são fonte de energia para células ativas sob condições de estresse  
 408 ELAVUMOOTIL et al, 2003).

409

A.



B.

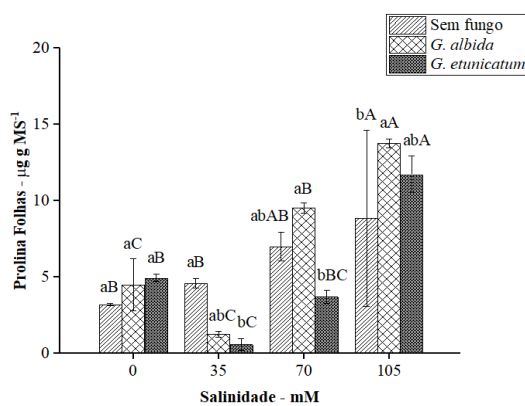


410

411

412

C.



413

414 **Figura 5.** Teores de clorofila total (A), níveis de açúcares redutores (B) e prolina em plantas de *Hyptis suaveolens*  
 415 submetidas a diferentes concentrações salinas associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*,  
 416 *Glomus. etunicatum* e o controle (sem FMAs). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de salinidades e as minúsculas  
 417 as espécies de fungos.

418

419 As estruturas das membranas celulares são afetadas pelo estresse salino em condições  
 420 típicas de ambiente semiárido. O grau de danos às membranas pode ser avaliado através da  
 421 condutividade elétrica, que mede o vazamento de eletrólitos das células para a solução aquosa  
 422 (MUNNS e TESTER, 2008).

423           Analisando os percentuais de danos causados à membrana, foi possível observar que os  
424 maiores níveis de salinidade promoveram maiores danos nas plantas e que a associação com os  
425 FMAs não contribuiu para o alívio desse estresse. Em média as plantas inoculadas com FMAs  
426 apresentaram danos maiores que as plantas controle submetidas ou não as concentrações de sais  
427 (Figura 6A). Na dose mais elevada de sal (105 mM), danos ocasionados à membrana foram  
428 maiores em plantas na ausência de fungos. Nessa concentração foi possível perceber que as plantas  
429 inoculadas com *G. etunicatum* diferiram do controle, apresentando uma relativa redução do dano, o  
430 que pode indicar menor estresse oxidativo nas plantas colonizadas.

431           O vazamento de eletrólitos em *H. suaveolens* pode estar relacionado ao estresse iônico,  
432 pois o excesso de Na<sup>+</sup> e principalmente o excesso de Cl<sup>-</sup> no protoplasma causam elevados níveis de  
433 toxicidade e ocasionam distúrbios em relação ao balanço iônico, provocando alterações na estrutura  
434 e estabilidade das membranas celulares (SHABALA et al., 2012). Outro fator associado aos níveis  
435 crescentes de danos à membrana observados neste trabalho pode está relacionado às altas  
436 temperaturas as quais as plantas foram impostas durante o seu cultivo.

437           Os danos causados às membranas celulares ocorrem em função da peroxidação dos  
438 lipídios, gerada pelo estresse salino a que as plantas foram submetidas e esses danos são aferidos  
439 pelos níveis de malondialdeído (MDA).

440           De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar que a salinidade contribuiu para  
441 peroxidação, logo os fungos não influenciaram positivamente para minimizar o estresse (Figura  
442 6B). Verificou-se que os níveis de MDA variaram nos diferentes tratamentos. Embora as plantas  
443 não estivessem sob condições salinas, quando em associação com *G. etunicatum* diferiram  
444 estatisticamente das plantas não inoculadas e das inoculadas com a outra espécie de fungo. Sob  
445 condições salinas, nas doses de 35mM e 70 mM, as plantas em associação com *G. albida*  
446 apresentaram aumento significativo de MDA em relação ao controle e às associadas a outra espécie  
447 de micorriza. Na dose mais elevada de sal, as plantas inoculadas com *G. etunicatum* diferiram  
448 estaticamente dos demais tratamentos.

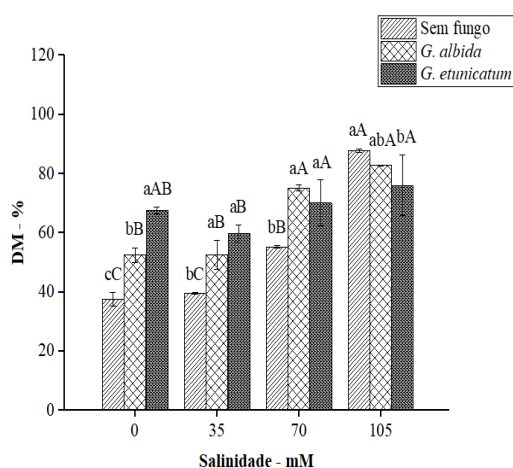
449           Em plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L) inoculadas com a espécie de *Glomus*  
450 *mosseae* e cultivadas em solo com 0,50 e 100 mM de sal mostraram resultados contrários aos  
451 obtidos nesse trabalho. A análise dos resultados indicou que a inoculação com FMAs causou  
452 redução no teor de MDA em comparação com plantas salinizadas, indicando menor dano oxidativo  
453 nas plantas colonizadas (LATEF, 2011).

454           Ao analisar os níveis de prolina acumulada nas folhas, foi possível observar maior acúmulo  
455 nas concentrações mais elevadas de NaCl nas plantas sem os fungos e em simbiose. Na ausência de  
456 sal, verificou-se que as plantas inoculadas não diferiram estatisticamente das plantas sem fungos.

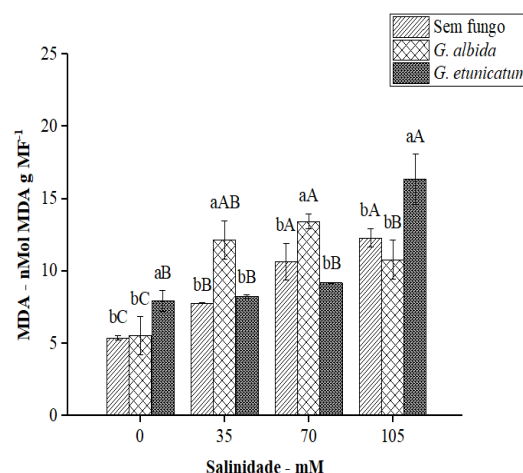
457 Nessas dosagens de sais, as plantas associadas ao *G. albida* apresentaram maiores acúmulos de  
 458 prolina nas folhas quando comparado a todos os tratamentos com ou sem sal, associado ou não as  
 459 duas espécies de fungos (Figura 5C). O aumento de prolina em plantas micorrizadas também foi  
 460 observada em trabalhos com plantas de pinhão-manso (OLIVEIRA, 2016) e *Brassica juncea*  
 461 (SARWAT et al., 2016) submetidas a diferentes níveis de salinidade.

462

A.



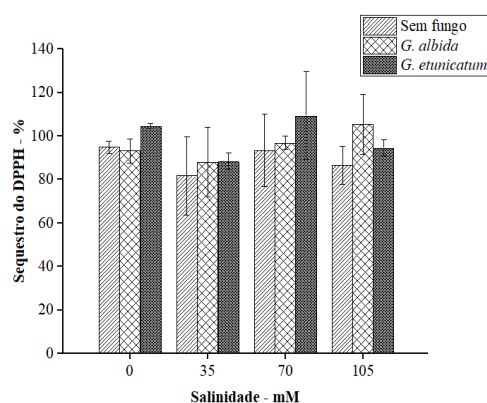
B.



463

464

C.



465

466

467 **Figura 6.** Níveis de danos à membrana (DM) (A), peroxidação lipídica (MDA) (B) e Avaliação da capacidade  
 468 antioxidante do extrato aquoso pelo método de redução do radical DPPH (C) nas folhas em plantas de *H. suaveolens*  
 469 submetidas a diferentes concentrações salinas associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *G. albida*, *G.*  
 470 *etunicatum* e o controle (sem FMAs). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de salinidades e as minúsculas as  
 471 espécies de fungos.

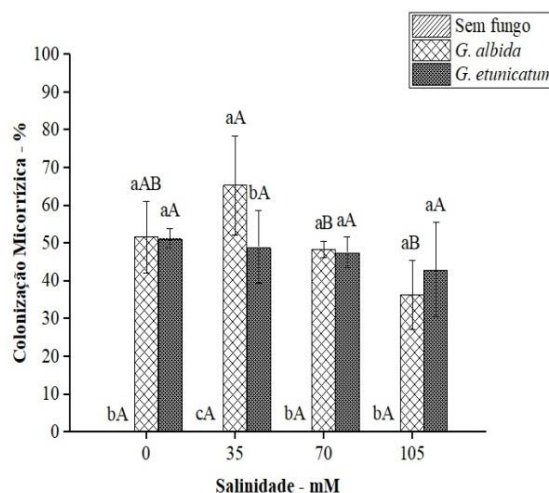
471

472 As plantas ao serem submetidas a excesso de sais desencadeiam mecanismos de ajuste  
 473 osmótico para manter a turgidez de suas células, o que ocasionará o crescimento lento das plantas  
 474 estressadas. O acúmulo desse soluto é um índice fisiológico sensível de plantas em responder ao sal  
 475 e outros estresses (GUERZONI et al., 2014). Além de promover o ajuste osmótico, como citado  
 476 anteriormente, essa molécula apresenta outras funções nos tecidos de plantas que estão sob

477 condições de estresse, tais como manter e proteger a integridade da membrana plasmática  
478 (ASHRAF et al., 2011; MARIJUAN & BOSCH, 2013).

479 As plantas de *H. suaveolens* colonizadas com as duas espécies de fungos apresentaram  
480 estruturas características da colonização micorrízica em todos os tratamentos independente da dose  
481 de sal. Foram encontrados arbúsculos, hifas e vesículas no material analisado. As plantas não  
482 inoculadas a colonização foi nula, evidenciando que o método de esterilização do solo foi eficaz.

483 Os resultados expressos na figura 7 mostram que houve diferença estatística a nível de 1%  
484 de probabilidade ( $p < 0,01$ ) entre os fungos na dose mais baixa de sal (35mM). Nos demais  
485 tratamentos não houve diferenças significativas entre os tratamentos para o fator fungo. Ao  
486 levarmos em consideração o fator salinidade, houve diferença estatística ao nível de 5% de  
487 probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ) na concentração 70 e 105 mM nas plantas inoculadas com *G.*  
488 *albida*.



489 **Figura 7.** Colonização micorrízica em plantas de *Hyptis suaveolens* em função da inoculação e diferentes  
490 concentrações salinas. Médias seguidas de mesmas letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey a 1%. Maiúsculas  
491 referem-se à salinidade e minúsculas aos fungos.

492  
493  
494 O grau de toxicidade gerado pela salinidade é um problema mundial agrícola e ambiental.  
495 Na literatura, muitos trabalhos mostram que os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem  
496 aumentar a tolerância à salinidade de muitas espécies vegetais e algumas mudanças fisiológicas  
497 ocorrem na simbiose dos fungos micorrízicos sob condições de estresse salino. No entanto, nesse  
498 trabalho, pode-se constatar que mesmo havendo a colonização das raízes de *H. suaveolens*, os  
499 fungos não aliviaram eficientemente os efeitos da salinidade. Provavelmente, os pontos necróticos  
500 visualizados nas plantas tratadas com NaCl podem estar relacionados com a acumulação de íons, já  
501 que estes em excesso apresentam alterações morfológicas (folhas menores, menor número de  
502 folhas) e até mesmo a morte celular. Tal fato caracteriza estresse iônico (SOUZA et al., 2011).

503 Os resultados referentes à avaliação da atividade antioxidante (%AA) do extrato aquoso das  
504 folhas de *H. suaveolens*, determinada pelo ensaio do DPPH, estão apresentados na Figura 6,  
505 mostrando que todos os tratamentos apresentaram atividade sequestradora do radical DPPH. O  
506 sequestro do DPPH foi superior a 80% (Figura 6 C). *H. suaveolens* apresentou, independentemente  
507 do fator salinidade e da espécie de fungo ao quais as plantas foram associadas, considerável  
508 atividade antioxidante.

509 As condições ambientais impostas às plantas induzem a superprodução de espécies reativas  
510 de oxigênio (EROs). Estas espécies reativas promovem danos às estruturas celulares, que  
511 dependendo da severidade podem acarretar a morte da planta. As respostas bioquímicas e  
512 fisiológicas desencadeadas pelas plantas superiores ao estresse oxidativo incluem um eficiente  
513 sistema de defesa antioxidante, que envolve a atividade de enzimas e metabólitos não enzimáticos,  
514 que, de forma conjunta, atuam na eliminação das EROs e na redução de danos proveniente do  
515 estresse oxidativo (BARBOSA et al, 2014).

516 Em resposta a vários estresses, tanto bióticos quanto abióticos, as plantas apresentam a  
517 capacidade de sintetizar e acumular compostos secundários. Variação acima ou abaixo do ótimo em  
518 relação a elementos essenciais também tem mostrado forte influência no metabolismo de compostos  
519 secundários, como nos flavonoides (VELLOSO, 2009). A atividade antioxidante de extratos  
520 vegetais tem sido correlacionada com a presença dos flavonoides, classe de compostos naturais de  
521 considerável interesse científico e terapêutico. (NASCIMENTO et al., 2011). Segundo Velloso  
522 (2009), de modo geral o estresse salino contribui para aumentar os níveis de flavonoides, enquanto  
523 a variação da temperatura pode influenciar de forma diferenciada em outros grupos de metabólitos.

524 Os carotenoides também desempenham um papel fundamental nas plantas. O conteúdo de  
525 carotenoides no vegetal está associado a mecanismos de adaptação aos estresses ambientais  
526 enfrentados, visto que os carotenoides apresentam propriedades antioxidantes (MORAIS, 2006),  
527 protegendo as células de danos oxidativos provocados por EROs, como o singlete ( $^1O_2$ ), (SHAMI;  
528 MOREIRA, 2004). Em trabalho realizado por Lima et al. (2004), o teor de carotenoides totais em  
529 dois genótipos de arroz inoculadas com FMAs não foi alterada pela concentração salina,  
530 mostrando, portanto, que a produção de pigmentos fotossintéticos pode estar condicionada ao  
531 genótipo ou a alguns fatores de proteção, como fungos micorrízicos, por exemplo.

532 Atualmente o interesse no estudo dos compostos químicos tem aumentado muito, devido  
533 principalmente à habilidade antioxidante destas substâncias em sequestrar radicais livres, os quais  
534 são prejudiciais à saúde humana (ALVES et al., 2007; NEVES et al., 2008).

535 Através do estudo *in vitro*, utilizando os extratos aquosos das folhas, percebeu-se que todos  
536 os tratamentos apresentaram atividade sequestradora do radical DPPH. Tal fato pode ser atribuído a

537 compostos enzimáticos e não enzimáticos. Embora, a espécie em estudo apresente atividade  
538 antioxidante, esta não foi suficiente para evitar a peroxidação e os danos ocasionados à membrana  
539 nos extratos foliares. As plantas estavam expostas a condições de altas temperaturas, típicas do  
540 semiárido e, portanto, desfavoráveis ao seu desenvolvimento ótimo, e esse fato, pode ter induzido as  
541 plantas a uma superprodução de espécies reativas de oxigênio, estando eles em quantidades  
542 superiores aos compostos secundários produzidos pela *H. suaveolens*.

543 Levando em consideração as propriedades antioxidantes dos extratos, tornam-se necessários  
544 novos trabalhos para identificar quais são esses compostos secundários. Contudo, a espécie em  
545 estudo não mostrou-se tolerante a salinidade imposta, porém se adapta satisfatoriamente as  
546 temperaturas do características do semiárido. Tal fato estimula a produção de compostos de  
547 relevância farmacológica que precisam ser investigadas.

548

## 549 CONCLUSÕES

550 O aumento nos níveis de salinidade interferiu negativamente no desenvolvimento de *H.*  
551 *suaveolens*. A associação destas com fungos micorrízicos proporcionaram um ganho de matéria  
552 seca em comparação com as plantas não associadas, sobretudo nas concentrações mais elevadas de  
553 sais.

554 Em doses elevadas de NaCl, as plantas micorrizadas acumularam mais prolina quando  
555 comparada quando as plantas sem FMAs.

556 Altas doses de sais favoreceram aumento dos teores de açúcares redutores.

557 *H. suaveolens* apresentou, independentemente do fator salinidade e da espécie de fungo,  
558 considerável atividade antioxidante. No entanto, não foi suficiente para evitar a peroxidação e os  
559 danos ocasionados à membrana nos extratos foliares.

560 As plantas de *H. suaveolens* colonizadas com as duas espécies de fungos apresentaram  
561 estruturas características da colonização micorrízica em todos os tratamentos independente da dose  
562 de sal.

563

## 564 REFERÊNCIAS

565  
566 AGARWAL, K.; VARMA, R. Antioxidant activity and Phytochemical analysis of *Hyptis*  
567 *suaveolens* (L.) Poit. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research**, v. 3, n. 4, p. 541-  
568 549, 2013.

569

- 570 AGGARWAL, A. *et al.* Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of salinity stress.  
571 **Journal of Applied and Natural Science**, v.4, n. 1, p.144-155, 2012.
- 572 ALVES C.Q. *et al.* Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. **Diálogos e ciência** –  
573 Revista da rede ensino FTC, 5(12): 7- 8, 2007.
- 574 ARAGÃO, C.A. *et al.* Avaliação de cultivares de melão sob condições de estresse salino. **Revista**  
575 **Caatinga**, v.22, n.2, p.161-169, 2009.
- 576  
577 ASGHARI, H.; MARSCHNER, P.; SMITH, S. & SMITH, F. Growth response of *Atriplex*  
578 *nummularia* to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi at different salinity levels. **Plant Soil**,  
579 273:245-256, 2005.
- 580  
581 ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M.R. Drought tolerance: roles of  
582 organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v.111,  
583 p.249-296, 2011. DOI: 10.1016/B978-0-12-387689-8.00002-3
- 584  
585 BARBOSA, M. R., ARAÚJO, M. M., WILLADINO, S. L., ULISSES, C., CAMARA, T. R.  
586 Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas *Ciência Rural*,  
587 Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, mar, 2014. ISSN 0103-8478.
- 588  
589 BATES, L.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress  
590 studies. **Plant and Soil**. V. 39, p. 205-207, 1973.
- 591  
592 BENINCASA, M.M.P. **Análise do crescimento de plantas**. Jaboticabal: FUNEP, 1988. 42p.
- 593  
594 BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in  
595 wheat. **Crop Science**. v.21, p.43–47, 1980.
- 596  
597 BONFANTE, P. DESIRÓ, A. Arbuscular mycorrhizas: the lives of beneficial fungi and their plant  
598 hosts. In: Lugtenberg B (ed) *Principles of plant-microbe interactions*. Springer Cham, Heidelberg,  
599 pp 235–245, 2015.
- 600  
601 CHATRI, M.; BAKTIAR, A.; ADNADI, P. Chemical Components of Essential Oils of the Leaves  
602 of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit from Indonesia. **American Journal of Research Communication**,  
603 v. 2, n. 10, p. 30–38, 2014.
- 604  
605 COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; CARDARELLI, M.; TULLIO, M.; RIVERA, C. M.; REA, E.  
606 Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high  
607 phosphorus concentration. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, p. 501-509, 2008.
- 608  
609 DUAN, X.J. *et al.* Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red  
610 alga, *Polysiphonia urceolata*. **Food Chemistry**, v. 95, p. 37-43, 2006.
- 611  
612 ENDO, T. *et al.* Status and Causes of Soil Salinization of Irrigated Agricultural Lands in Southern Baja  
613 California, Mexico. **Applied and Environmental Soil Science**. 2011. 12 p.
- 614  
615 ELAVUMOOTIL, O.C; MARTIN, J.P; MORENO, M.L. Changes in sugars, sucrose synthase  
616 activity and proteins in salinity tolerant callus and cells suspension cultures of *Brassica oleraceae* L.  
617 **Biology Plant**. v.46, p.7-12, 2003.
- 618

- 619 FALCÃO, D.Q. & MENEZES, F.S. Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do  
620 gênero *Hyptis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. n. 84, p. 69-74, 2003.  
621
- 622 FOLLI-PEREIRA, M. S., MEIRA-HADDAD, L. S., BAZZOLLI, D. M. S. & KASUYA, M. C. M.  
623 Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **R. Bras. Ci. Solo**, 36:1663-1679, 2012.  
624
- 625 GARCIA-GARRIDO, J.M. & OCAMPO, J.A. Regulation of the plant defence response in arbuscular  
626 mycorrhizal symbiosis. **J. Exper. Bot.**, 53:1377-1386, 2002.  
627
- 628 GHAFFARI, H. et al. Antioxidant and Neuroprotective Activities of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.  
629 Against Oxidative Stress-Induced Neurotoxicity. **Cell Mol Neurobiol**, p. 323–331, 2014.  
630
- 631 GIOVANETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular  
632 mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, 84, 489-500,1980.  
633
- 634 GIRI, B.; KAPOOR, R. & MUKERJI, K.G. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by  
635 arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root  
636 and shoot tissues. **Microbial Ecol.**, 54:753-760, 2007.  
637
- 638 GODOY, L.J.G. et al. Índice relativo de clorofila e o estado nutricional em nitrogênio durante o  
639 ciclo do cafeeiro fertirrigado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.32, p.217-226, 2008.  
640
- 641 GUERZONI, J. T. S., BELINTANI, N. G., MOREIRA, R. M. P., HOSHINO, A. A.,  
642 DOMINGUES, D. S., BESPALHOKFILHO, J. C., VIEIRA, L. G. E. Stressinduced D1-pyrroline-  
643 5-carboxylate synthetase (P5CS) gene confers tolerance to salt stress in transgenic sugarcane. **Acta**  
644 **Physiologiae Plantarum**, Krakow, v. 36, p. 309–2319, 2014.  
645
- 646 GUTJAHR C, PARNISKE M. Cell and developmental biology of arbuscular mycorrhiza symbiosis.  
647 **Annu Rev Cell Dev Biol.**; 29:593-617. Doi: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122413, 2013.  
648
- 649 HAJIBOLAND, R.; ALIASGHARZADEH, A.; LAIEGH, S.F. & POSCHENRIEDER, C.  
650 Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improve salinity tolerance of tomato (*Solanum*  
651 *lycopersicum* L.) plants. **Plant Soil**, 331:313-327, 2010.  
652
- 653 HAJIBOLAND, R. Effect of micronutrient deficiencies on plants stress responses. In: AHMAD, P.;  
654 PRASAD, M.N.V. (Eds). Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and  
655 sustainability. **Springer, Science Business Media**, New York. 2012. pp. 283–329.  
656
- 657 HEATH, R. L, PACKER, L. Photoperoxidation in isolated Chloroplasts. I. Kinetics and  
658 stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Arch Biochem Biophys**. 1968; 125: 189–198.  
659
- 660 HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soils.  
661 **Berkeley: California Agricultural Experimental Station**, 347p., 1950.  
662
- 663 JESUS, N.Z.T.; FALCÃO, H.S.; LIMA, G.R.M.; CALDAS FILHO, M.R.D.; SALES, I.R.P.;  
664 GOMES, I.F.; SANTOS, S.G.; TAVARES, J.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; BATISTA, L.M. *Hyptis*  
665 *suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae), a medicinal plant protects the stomach against several gastric  
666 ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 3, p. 982–988, 2013.  
667



- 668 JAHROMI, F.; AROCA, R.; PORCEL, R. & RUIZ-LOZANO, J.M. Influence of salinity on the in  
669 vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses  
670 of mycorrhizal lettuce plants. **Microbial Ecol.**, 55:45-53, 2008.  
671
- 672 LATEF, A. A. H. A.; CHAOXING, H. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral  
673 nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress.  
674 **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 127, n. 3, p. 228-233, 2011.  
675
- 676 LÚCIO, W. S. Respostas fisiológicas bioquímicas em meloeiro (*Cucumis melo* L.) inoculados com  
677 fungos micorrizicos arbusculares sob estresse salino. (Dissertação-Mestrado). Universidade Federal  
678 do Ceará. Fortaleza, 2008.
- 679 LIMA, M.G.S. *et al.* Effect of salt stress on pigments and proline concentrations in leaves of rice.  
680 **Bragantia**. 63:335-340. 2004.
- 681 KIM, Y.H.; KWAK, S.S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA,  
682 S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. **Enfi eld: Science Publishers**,  
683 2010. p.129-150.  
684
- 685 MAHBOOBEH, R.; AKBAR, E. A. Effect of salinity on growth, chlorophyll, carbohydrate and  
686 protein contents of transgenic *Nicotiana plumbaginifolia* over expressing P5CS gene. **Journal of**  
687 **Environmental Research and Management**. v. 4, pp. 163–170, 2013.  
688
- 689 MARTINS, F.T.; SANTOS, M.H.; POLO, M.; BARBOSA, L.C.A. Variação química do óleo essencial  
690 de *Hyptis suaveolens* sob condições de cultivo. **Quím Nova**: 29: 1203-9, 2006.  
691
- 692 MARIJUAN, M. P.; BOSCH, S. M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and  
693 antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, p.660-666, 2013.  
694
- 695 MATOS, F. S., ROCHA, E. C., CRUVINEL, C. K. L., RIBEIRO , R. A., RIBEIRO, R. P. &  
696 TINOCO, C. F. Desenvolvimento de mudas de pinhão-mansão irrigadas com água salina. **R. Bras.**  
697 **Ci. Solo**, 37:947-954, 2013.  
698
- 699 MBATCHOU, V. C. ABDULLATIF, S.; GLOVER, R. Phytochemical Screening of Solvent Extracts  
700 from *Hyptis suaveolens* LAM for Fungal Growth Inhibition. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 9, n. 4,  
701 p. 358-361, 2010.  
702
- 703 MILLER GL. Use of dinitrosalicylle acid for determination of reducing sugar. **Anal Chem**. 1959;  
704 11: 426–428.  
705
- 706 MISHRA, S. B.; VERMA A.; MUKERJEE, A.; VIJAYAKUMAR, M. Antihyperglycemic activity  
707 of leaves extract of *Hyptis suaveolens* L. Poit in streptozotocin induced diabetic rats. **Asian Pac. J.**  
708 **Trop. Med**, v. 4, p. 689-693, 2011.
- 709 MORAIS, F. L. **Carotenóides - características biológicas e químicas**. Tese (Doutorado) -  
710 Universidade de Brasília, 2006.
- 711 MOREIRA ACP, LIMA EO, WANDERLEY PA, CARMO ES, SOUZA EL. Chemical  
712 composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves essential oil against  
713 *Aspergillus species*. **Braz J Microbiol**, 2010; 41: 28-33. doi: 10.1590/S1517-83822010000100006.  
714

- 715 MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell and Environment**, v. 25,  
716 n. 02, p. 239-250, 2002.
- 717
- 718 MUNNS, R. & TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**  
719 59: 651-681, 2008.
- 720
- 721 NAYAK, P.; KAR, D. M.; NAYAK, S. In Vitro  $\alpha$ -Amylase Inhibition and Antioxidant potential of  
722 Chloroform Fraction of Hydroalcoholic Extract Obtained from *Hyptis Suaveolens*. **Journal of**  
723 **Applied Pharmaceutical Science**. v. 9. p. 046-051, 2014.
- 724 NASCIMENTO, J.C. et al. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e  
725 doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista**  
726 **Brasileira de Farmácia**, 92: 327-332. 2011.
- 727 NEVES, L.C.; ALENCAR, S. M.; CARPES, S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor  
728 de compostos fenólicos e flavonóides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellífera*. **Braz. J.**  
729 **Food Technol.** 2(15), 2008.
- 730 PHILLIPS, J. M., HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearingf roots and staining parasitic  
731 and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of**  
732 **British Mycological Society**, 55, 158-161,1970.
- 733
- 734 OLIVEIRA, D. F. B. Micorrização aumenta a tolerância de mudas de *Jatrophas curcas* L. à  
735 salinidade. (Dissertação-Mestrado) - Universidade de Alagoas, 2016.
- 736
- 737 PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In:  
738 GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (ed.) **Manejo da salinidade na agricultura:**  
739 **Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza. INCT. 2010. Cap.10. p. 147-164.
- 740
- 741 PRIYADHARSHINI, S.; SUJATHA, V. Antioxidant and cytotoxic studies on two known  
742 compounds isolated from *Hyptis suaveolens* leaves. **International Journal of Pharmacy and**  
743 **Pharmaceutical Sciences**. v.5, 2013.
- 744
- 745 RABIE, G.H. & ALMADINI, A.M. Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia*  
746 *faba* plants. **Afr. J. Biotechnol.**, 4:210-222, 2005.
- 750 RAGAGNIN, R. C. G., ALBUQUERQUE, C. C., OLIVEIRA, F. F. M., SANTOS, R. G.,  
751 GURGEL, E. P., DINIZ, J. C., ROCHA, S. A. S., VIANA, F. A. Effect of salt stress on the growth  
752 of *Lippia gracilis* Schauer and on the quality of its essential oil. **Acta Botânica Brasílica** 28(3):  
753 346-351. 2014. Doi: 10.1590/0102-33062014abb3369.
- 754 RAMOS, M. L. G.; KONRAD, M. L. F.; SILVA, D. E.; RIBEIRO JÚNIOR, W. Q.; BATISTA, L.  
755 M. T. Diversidade de fungos micorrízicos e colonização radicular, em forrageiras solteiras e em  
756 consórcio com milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 2, p. 235-244, 2012.
- 757 SAKTHIVADIVEL, M. et al. Mosquito larvicidal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit  
758 (Lamiaceae ) aerial extracts against the filarial vector *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera:  
759 Culicidae ). v. 3, n. 4, p. 1–5, 2015.

- 760 SARWAT, M. et al. Mitigation of nacl stress by arbuscular mycorrhizal fungi through the  
761 modulation of osmolytes, antioxidants and secondary metabolites in mustard (*Brassica juncea* L.)  
762 plants. **Front Plant Sci.** 2016.
- 763 SILVEIRA, J.A.G.; SILVA, S.L.F.; SILVA, E.N.; VIEGAS, R.A. Mecanismos biomoleculares  
764 envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.;  
765 LACERDA, C.F. (Eds.). **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados.**  
766 Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, 2010. p. 161-179.  
767
- 768 SHABALA, L.; MACKAY, A.; TIAN, Y.; JACOBSEN, S.; ZHOU, D.; SHABALA, S. Oxidative  
769 stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa  
770 (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia Plantarum**, n.1, p.1-13, 2012.
- 771 SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista Nutrição**,  
772 Campinas, vol.17, nº 2, p. 227-236, 2004.
- 773 SHENG M.; TANG M.; CHAN H.; YANG B.; ZHANG F.; HUANG Y. Influence of arbuscular  
774 mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. **Mycorrhiza**, v.  
775 18, p.287-296, 2008.
- 776 SLAVICK, B. Methods of studying plant water relations. **Springer Verlag**, p. 449, 1979.  
777
- 778 STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversidade de Fungos Micorrízicos Arbusculares em  
779 Ecossistemas Brasileiros. In: Moreira, F.M.S.; Siqueira, J.O.; Brussaard, L. (Orgs.). **Biodiversidade**  
780 **do Solo em Ecossistemas Brasileiros.** Editora UFLA, Lavras, p. 537-583, 2008..  
781
- 782 SOUZA, R. P. *et al.* Fotossíntese e acúmulo de solutos em feijoeiro caupi submetido à salinidade.  
783 **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.587-592, 2011.  
784
- 785 TANG, J.; XU, L.; CHEN, X. & HU, S. Interaction between C4 barnyard grass and C3 upland rice  
786 under elevated CO<sup>2</sup>: Impact of mycorrhizae. **Acta Oecol.**, 35: 227-235, 2009.  
787
- 788 TAVARES, R. C Efeito da inoculação com fungo micorrízico arbuscular e da adubação orgânica no  
789 desenvolvimento de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.), sob estresse salino.  
790 Dissertação de Mestrado, Fortaleza, Universidade Federal do Ceará, 67p, 2007.  
791
- 792 TAVARES, R. C., FILHO, P. F. M., LACERDA, C. F., SILVA, J. Colonização micorrízica e  
793 nodulação radicular em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) sob diferentes níveis de  
794 salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 409-416, 2012. ISSN 1806-6690  
795
- 796 TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre, Atmed, 2009.
- 797 VELLOSO, M.A.L.; ABREU, I. N; MAZZAFERA, P. Indução de metabólitos secundários em  
798 plântulas de *Hypericum brasiliense* Choisy crescendo *in vitro*. **Acta Amazonica.** 39(2):267-272.  
799 2009.
- 800 VIJAY RAJ, PANDIYARAJAN V, PETCHIMUTHU K. Comparison of chemical composition of  
801 the essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves from different regions of Tamil Nadu. **IJPSR.**  
802 2011; 2: 2822-4. Doi:1http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.2(11).2822-24  
803

804 WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total  
805 carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of**  
806 **Plant Physiology**. Volume 144, Issue 3, September 1994, Pages 307-313.

807  
808 YANO-MELO, A. M. et al. Tolerance of mycorrhized banana (*Musa* sp. cv. Pacovan) plantlets to  
809 saline stress. **Elsevier: Agriculture, Ecosystems & Environment**. Volume 95, Issue 1, Pages 343-  
810 348, 2003.