CINTIA MARIA TEIXEIRA LINS

POTENCIAL OSMÓTICO, TROCAS GASOSAS E CINÉTICA DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUA SALINA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo para obtenção do título *Magister Scientiae.*

RECIFE

PERNAMBUCO-BRASIL 2016

CINTIA MARIA TEIXEIRA LINS

POTENCIAL OSMÓTICO, TROCAS GASOSAS E CINÉTICA DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUA SALINA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo para obtenção do título *Magister Scientiae.*

Orientador

Prof. Edivan Rodrigues de Souza, Dr.

Co - orientador

Prof. Brivaldo Gomes de Almeida, Dr.

RECIFE

PERNAMBUCO-BRASIL 2016

Ficha catalográfica

CÍNTIA MARIA TEIXEIRA LINS

POTENCIAL OSMÓTICO, TROCAS GASOSAS E CINÉTICA DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUA SALINA

Dissertação defendida e aprovada em 07 de março de 2016 pela banca examinadora:

Orientador_____

Edivan Rodrigues de Souza

DEPA/UFRPE

Examinadores:_____

Ênio Farias de França e Silva

DEAGRI/UFRPE

_____

Hugo Rafael Bentzen Santos

DEPA/UFRPE

_____

Brivaldo Gomes de Almeida

(Suplente)

DEPA/UFRPE

RECIFE

PERNAMBUCO-BRASIL 2016

A educação é o ponto em que decidimos se amamos o mundo o bastante para assumirmos a responsabilidade sobre ele... (Hannah Arendt).

À sociedade por custear meus estudos;

Aos meus pais: Maria de Fatima Teixeira e Edmilson Alves Lins (*In Memorian*);

A minha irmã Érica Patrícia Teixeira Lins;

A todos que estiveram comigo nesta etapa.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A beleza contida em cada obrigada reside no reconhecimento da incapacidade de realizar coisas sozinha, sendo assim agradecer é um ato que ultrapassa gentilezas, é a virtude dos que valorizam o dever do não esquecer, e que reconhecem que os resultados alcançados não seriam possíveis sem a ajuda de outros.

Dessa maneira agradeço as forças da natureza que me impulsionaram a chegar até aqui, seja qual for o nome dado a ela nesse ou em outros continentes.

Agradeço a minha família, sobretudo a minha mãe Maria de Fatima pela coragem, força e dedicação de tocar uma família monoparental frente a todas as dificuldades impostas por uma sociedade extremamente patriarcal, meu muito obrigada, sem sua bravura nada teria sido possível.

A minha irmã Érica Lins, meu pequeno candelabro que irradia luz por onde quer que eu passe e por ter acreditado mais em mim do que eu mesma, meu eterno amor e gratidão.

Aos amigos da adolescência Pollianna Karla e Eduardo Morais, obrigado por ainda ser parte de minha vida.

As meninas da casa da estudante, Vilma Lima, Liliane Roque, Iana Sá e Cynara Moura pela convivência intensa e divertida!

Aos amigos de Jornada Monalisa dos Santos e Diego Melo pelas conversas, ensinamentos e pelo apoio oferecido.

Ao irmão que a vida me presenteou, Hidelblandi Melo muito obrigado por ser a pessoa incansável e sempre disposta a me ajudar, obrigada por sua alegria, seu carinho sincero e despretensioso, obrigada por ter feito dessa jornada bem menos pesada do que teria sido sem você.

A minha amiga de curso Magda Silva, a mais chata, birrenta, tagarela e querida (risos, sei que vai ficar brava). Obrigada estar sempre a meu lado, literalmente do início até o fim e por ser essa pessoa maravilhosa, adoro você!

Aos amigos de equipe, Danilo Rodrigues, Martha Paulino e Pablo Dourado, por toda ajuda prestada, pelas conversas, brincadeiras e motivação, vocês são demais!

Aos colegas de laboratório, Edivan Uchôa e Manú Vieira pela convivência diária e bem humorada.

Aos meninos da iniciação científica Lucas e Venâncio por toda a ajuda prestada, meu muito obrigada.

Agradeço imensamente a meu orientador Edivan Rodrigues de Souza, pelos ensinamentos, pela orientação, por estar sempre presente quando precisei, pela pessoa ética e tão rara de encontrar nos dias de hoje, meu muito obrigada.

Finalizo agradecendo inclusive a aqueles que não acreditaram e que me subestimaram, afinal o que seria da vida se não fossem os desafios?

Á plenitude de todas essas forças impulsionadoras, levarei comigo o dever de não esquecer!

BIOGRAFIA

CINTIA MARIA TEIXEIRA LINS, filha de Maria de Fatima Teixeira e Edmilson Alves Lins (*In Memorian*), nasceu em 30 de setembro de 1987.

Em Agosto de 2009 iniciou o curso de Agronomia, na Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde se graduou em março de 2014. Durante a graduação foi estagiária voluntária durante um ano no Laboratório de Química do Solo e posteriormente bolsista de iniciação científica CNPq e FACEPE, durante três e um ano respectivamente. Ainda enquanto bolsista atuou paralelamente como voluntária na biofábrica do CETENE por um ano.

Durante os referidos trabalhos atuou na área de química do solo (manejo e conservação de áreas degradadas pela salinidade), dinâmica da matéria orgânica em áreas da Caatinga e micropropagação *in vitru* de *Atriplex nummularia*.

Em março de 2014 ingressou no Programa de Pós-graduação em Ciências do Solo, na Universidade Federal Rural de Pernambuco, desenvolvendo atividades junto ao grupo Solo Água Planta (SAP) sob a coordenação e orientação do professor Edivan Rodrigues de Souza. Durante o citado período concentrou seus estudos na avaliação da performance fisiológica de plantas de *Atriplex nummularia* sob condições de estresse salino. A defesa da dissertação ocorreu em 07 de março de 2016.

SUMÁRIO

Lista de Figuras xi
Lista de Tabelas xiii
Lista de Abreviaturas e Símbolos xiv
Resumo xv
Abstract xvi
Introdução Geral 17
Capítulo I - Comparação de métodos para determinar o potencial osmótico em *Atriplex nummularia* Lindl. irrigada com água salina 19
Resumo 19
Abstract 20
Introdução 21
Material e Métodos 25
Resultados e Discussão 32
Conclusões 45
Referências 46
Capítulo II - Trocas gasosas em *Atriplex nummularia* Lindl. irrigada com água salina 51
Resumo 51
Abstract 52
Introdução 53
Material e Métodos 55
Resultados e Discussão 60
Conclusões 78
Referências 79
Capítulo III - Cinética da fluorescência da clorofila *a* e pigmentos fotossintéticos em *Atriplex nummularia* Lindl. Irrigada com águas de concentrações crescentes de NaCl 85
Resumo 85
Abstract 86
Introdução 87
Material e Métodos 89
Resultados e Discussão 93
Conclusões 103
Referências 104
Considerações Finais 109

LISTA DE FIGURAS

Capitulo I

Figura 1- Esquema da localização dos ramos utilizados para determinação do potencial hídrico, potencial osmótico e construção das curvas P-V. 30
Figura 2- Esquema de saturação e corte em bisel dos ramos de Atriplex. 30
Figura 3- Modelo hipotético de uma curva Pressão-Volume (P-V). 31
Figura 4- Efeitos de diferentes concentrações de NaCl na água de irrigação no teor relativo de água em folhas de *A. nummularia.* Valores médios não diferiram estatisticamente ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tuckey. 33
Figura 5- Potencial Hídrico (Ψw) de folhas de *Atriplex nummularia* irrigadas com água salina aos 92 dias após o transplantio. 35
Figura 6- Potencial osmótico (Ψo) em folhas de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 92 dias após o transplantio. 36
Figura 7- Potencial de Pressão (Ψp) de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 92 dias após o transplantio. Valores médios não diferiram estatisticamente ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tuckey. 39
Figura 8- Ajustamento Osmótico (AO) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 92 dias após o transplantio. 40
Figura 9- Curvas pressão volume obtidas a partir de ramos de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas. A- planta controle (0 mmol L-1 de NaCl); B- planta irrigada com água apresentando 50 mmol L-1 de NaCl; C- planta irrigada com água ap resentando 100 mmol L^{-1} de NaCl; D- planta irrigada com água apresentando 200 mmol L^{-1} de NaCl; E- planta irrigada com água apresentando 200 mmol L^{-1} de NaCl. 42

Capitulo II

Figura 1- Avaliação da taxa fotossintética em folha de *Atriplex nummularia* submetida a diferentes níveis de PAR incidente. 58
Figura 2- Esquema gráfico de uma curva de assimilação de CO2 em função de diferentes níveis de PAR incidente. As setas indicam a respiração no escuro, o ponto de compensação de luz e o ponto de assimilação máxima. 59
Figura 3- Assimilação fotossintética de CO2 (A) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 84 dias após o transplantio. 61
Figura 4- Valores de Condutividade elétrica do Solo ao final do experimento. 62
Figura 5- Correlação entre taxa fotossintética e condutância estomática em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas. 63
Figura 6- Condutância estomática (gs) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 84 dias após o tratamento salino. 64
Figura 7 – Correlação entre condutância estomática e transpiração em plantas de *Atriplex nummularia* irrigada com águas salinas. 66
Figura 8- Efeito da irrigação com água salina na Transpiração (E) de plantas de *A. nummularia* aos 84 dias após o tratamento salino. 67
Figura 9- Razão entre concentração interna e ambiente de CO2 (Ci/Ca) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 84 dias após o tratamento salino. 69
Figura 10 – Eficiência no uso da água (A/E) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 84 dias após o tratamento salino. 70

Figura 11 – Curvas de Assimilação de CO2 em função da intensidade de radiação fotossinteticamente ativa “photosynthetic active radiation intensity “ (PAR) em plantas de *Atriplex nummularia* submetidas a irrigação com águas apresentando diferentes concentr ações de NaCl. A- Plantas controle (0 mmol L^{-1} de NaCl);B-50 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;C-100 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;D-200 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;E-250 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;F-300 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação 15 dias após o início do tratamento salino. 73
Figura 12 – Curvas de Assimilação de CO2 em função da intensidade de radiação fotossinteticamente ativa “photosynthetic active radiation intensity “ (PAR) em plantas de *A*triplex nummularia submetidas a irrigação com águas apresentando diferentes concentrações de NaCl. A-Plantas controle (0 mmol L-1 de NaCl);B-50 mmol L-1 de NaCl na água de irrigação;C-100 mmol L-1 de NaCl na água de irrigação;D-200 mmol L-1 de NaCl na água de irrigação;E-250 mmol L-1 de NaCl na água de irrigação;F-300 mmol L-1 de NaCl na água de irrigação avaliado 84 dias após o início do tratamento salino. 74

Capitulo III

Figura 1- Aclimatação de folhas de *Atriplex nummularia* ao escuro. 91
Figura 2- Leitura dos pigmentos fotossintéticos em fotocolorímetro..... 92
Figura 3- Concentrações de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofilas totais (C) e carotenoides (D) em folhas de *Atriplex nummularia* submetidas à irrigação com concentrações crescentes de NaCl aos 82 dias após o tratamento salino. Valores médios seguidos de letras iguais não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey. 94
Figura 4- Fluorescência Inicial (F0) (A), fluorescência máxima (Fm) (B), fluorescência variável (Fv) (C), razão (Fv/F0) (D) e Eficiência quântica do Fotossistema II (Fv/Fm) (E) de plantas de *A. nummularia* submetidas à irrigação com diferentes concentrações de NaCl avaliadas aos 82 dias após o início do tratamento salino. 99

LISTA DE TABELAS

Capitulo I

Tabela 1. Valores médios (n=10) das características químicas do extrato de saturação e do complexo Sortivo do solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.. 26
Tabela 2. Valores médios (n=10) das características físicas solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade..... 26
Tabela 3- Análise de Variância (ANOVA) para oito variáveis avaliadas em planta e em solo aos 92 dias após o transplantio em resposta a seis concentrações de NaCl na água de irrigação..... 33
Tabela 4- Características químicas do solo ao final do experimento. 37
Tabela 5- Parâmetros Hídricos de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas a partir da utilização de osmômetro e da construção de curvas de pressão volume (P-V). 44

Capitulo II

Tabela 1. Valores médios (n=10) das características químicas do extrato de saturação e do complexo Sortivo do solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.. 56
Tabela 2. Valores médios (n=10) das características físicas solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade..... 56
Tabela 3 – Parâmetros obtidos a partir das equações geradas das curvas de Luz. 72
Tabela 4– Parâmetros obtidos a partir das equações geradas das curvas de Luz. 75
Tabela 5- Características químicas do solo ao final do experimento. 76

Capitulo III

Tabela 1. Valores médios (n=10) das características químicas do extrato de saturação e do complexo Sortivo do solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.. 90
Tabela 2. Valores médios (n=10) das características físicas solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade..... 90
Tabela 3- Análise de Variância (ANOVA) para oito variáveis avaliadas aos 82 dias após o tratamento salino em planta em resposta a seis concentrações de NaCl na água de irrigação. 93

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

TRA – Teor Relativo de Água

AO – Ajustamento Osmótico

BMF – Biomassa Fresca

BMS – Biomassa Seca

BMT – Biomassa Túrgida

P-V – Pressão-Volume

CE – Condutividade Elétrica

A – Fotossíntese

gs – Condutância Estomática

E – Transpiração

EUA – Eficiência do Uso de Água

Ci/Ca – Taxa de Carboxilação

RFA – Radiação Fotossinteticamente Ativa

Amáx – Fotossíntese Máxima

K – Constante de Saturação Luminosa

Pcl – Ponto de Compensação Luminoso

Rd – Respiração no Escuro

F0 - Fluorescência Inicial

Fm – Fluorescência máxima

Fv – Fluorescência variável

Chl *a* – Clorofila *a*

Chl *b* – Clorofila *b*

Car – Carotenoide

FSI – Fotossistema I

FSII – Fotossistema II

Ψm – Potencial mátrico

Ψo – Potencial osmótico

Ψp – Potencial de pressão

Ψo^{100} – Potencial Osmótico a Completo Turgor

Ψo^{0} – Potencial Osmótico a Turgor Zero

φ – Eficiência Fotossintética

RESUMO

A *Atriplex nummularia* é uma planta halófita que apresenta uma série de mecanismos fisiológicos e morfológicos que permitem seu desenvolvimento em solos que apresentam elevadas concentrações de sais. Mecanismos de tolerância devem ser investigados afim de melhor compreender de que maneira atuam na defesa das plantas. No presente estudo foram utilizadas três perspectivas de avaliação das plantas e todas se basearam em um delineamento experimental de blocos ao acaso constituído de 6 tratamentos (concentrações de 0,50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1} de NaCl) e cinco repetições. As mudas foram transplantadas aos 60 dias de idade para vasos com capacidade de 5L e durante a fase de aclimatação, período equivalente a 15 dias foram irrigadas apenas com água destilada. O solo durante todo o período de avaliação (92 dias) foi mantido a 80 % da capacidade de pote e a irrigação com as águas salinas foi realizada gradativamente a fim de evitar choque osmótico. No primeiro capítulo desse trabalho, com o objetivo de avaliar as relações hídricas da espécie, foram coletados dados no período de máximo turgor foliar utilizando a câmara de Scholander. Dados referentes ao potencial osmótico foram obtidos a partir da maceração do tecido foliar e por meio da construção de curvas de pressão volume. As informações obtidas a partir dos dados ratificaram a condição de mais estresse nas plantas irrigadas com maiores concentrações de NaCl e mostrou a sensibilidade dos diferentes métodos para estimar o potencial osmótico. No segundo capítulo, objetivou-se avaliar o efeito da salinidade sobre as trocas gasosas foliares entre as 8 e 12h utilizando-se o equipamento IRGA (IRGA Licor-6400) aos 84 dias após o transplantio. Também foram avaliadas respostas das plantas à variação da radiação incidente (PAR) por meio de curvas de luz. Apesar da tolerância da espécie foi possível notar diminuição da *A*, *gs* e *E*, no entanto foi possível observar aumento da eficiência do uso da água demonstrando a habilidade da espécie em se adaptar a condições adversas. No terceiro capítulo, com o objetivo de avaliar o comportamento fisiológico da espécie no que diz respeito a capacidade de captação da energia luminosa foram realizadas avaliações das concentrações de pigmentos fotossintetizantes (clorofila *a* , *b* e carotenoides) e medições da fluorescência da clorofila utilizando o equipamento FluorPen. Os resultados demonstraram que os parâmetros gerados a partir da fluorescência da clorofila são mais eficazes na identificação do estresse salino.

Palavras-chave: Ajustamento osmótico, Neossolo Flúvico, Semiárido, Halófita;

ABSTRACT

The Atriplex nummularia is a plant halophyte having a series of morphological and physiological mechanisms that allow development in soils with elevated salt concentrations. Tolerance mechanisms should be investigated in order to better understand how work in defense plants. The present study used three perspectives evaluation of plants and all were based on an experimental design of randomized blocks consisting of 6 treatments (concentrations of 0.50, 100, 200, 250 and 300 mmol L^{-1} NaCl) and five repetitions. Seedlings were transplanted at 60 days of age for vessels with 5L capacity and during the acclimatization phase, the equivalent of 15 days were irrigated only with distilled water. The soil throughout the evaluation period (92 days) was maintained at 80% of capacity and pot irrigation with saline waters was conducted gradually in order to avoid osmotic shock. In the first chapter of this work, in order to evaluate the water relations of the species, data were collected in the maximum leaf turgor period using the Scholander chamber. Data relating to the osmotic potential was obtained by maceration of the leaf tissue and by building pressure volume curves. The information obtained from the data ratified the condition more stress in plants irrigated with higher concentrations of NaCl and showed the sensitivity of different methods to estimate the osmotic potential. In the second chapter aimed to evaluate the effect of salinity on the leaf gas exchange between 8 and 12 hours using the equipment IRGA (IRGA liquor- 6400) at 84 days after transplanting. They evaluated responses of plants to the variation of the incident radiation (PAR) by means of light curves. Despite the tolerance of the species was noticeable decrease in *A*, *gs* and *E*, however it was observed increase in water use efficiency demonstrating the ability of the species to adapt to adverse conditions. In the third chapter, in order to evaluate the physiological behavior of the species regarding the ability to capture the light energy assessments were made of the concentrations of photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, *b* and carotenoids) and chlorophyll fluorescence measurements using FluorPen equipment . The results showed that the parameters generated from the chlorophyll fluorescence are more effective in identifying salt stress.

Keywords: Osmotic adjustment, Fluvic Neosoil, Semiarid, Halophyte.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A salinidade do solo é um dos principais estresses abióticos presente em climas de regiões áridas e semiáridas. O excesso de sais solúveis no solo é responsável por uma série de distúrbios nas plantas. Em geral esses distúrbios são resultados de efeitos osmóticos e/ou em virtude da presença de íons tóxicos como o sódio e o cloro.

Os efeitos do estresse salino são conhecidos por promover alterações nas relações hídricas, na absorção de elementos essenciais à nutrição da planta, e por promover danos no maquinário fotossintético devido à promoção da diminuição de pigmentos clorofilados.

A resposta das plantas à presença de sais pode variar em função do grau de tolerância da espécie, da severidade do estresse salino e do tempo de exposição. Plantas do gênero Atriplex têm se destacado devido a habilidade de tolerar elevados níveis de sais.

Espécies desse gênero, como é o caso da *Atriplex nummularia* são capazes de se desenvolver mesmo quando cultivadas na presença de elevadas concentrações de sais solúveis no solo. Tal feito é conseguido devido a habilidade da espécie em compartimentalizar sais no vacúolo ou pela excreção em estruturas especializadas denominadas tricomas vesiculares. Baseado no elevado potencial da espécie, vários parâmetros têm sido investigados visando obter o máximo de informações sobre os mecanismos de tolerância da halófita, objetivando seu emprego na recuperação de áreas degradadas pela salinidade.

No entanto, há uma carência de trabalhos relacionados aos efeitos de altas concentrações de sais sobre o maquinário fotossintético, bem como sobre a eficiência das trocas gasosas. Em geral a maioria dos trabalhos que avaliam esses parâmetros são realizados com as espécies *portulacoides*, *halimus* e *canescens* (Boughalleb & Denden, 2011; Benzarti et al., 2012; Belkheiri & Mulas, 2013; Benzarti et al., 2014; Nedjimi et al., 2014), gerando uma lacuna com relação a espécie *nummularia*.

Aspectos relacionados as relações hídricas também merecem ser avaliados a partir de outras metodologias, especialmente em plantas halófitas onde a contribuição da componente osmótica no status hídrico é fundamental para manutenção da absorção de água pelas plantas.

De maneira geral a avaliação desse parâmetro é realizada a partir da maceração de tecido foliar e leitura da osmolalidade em osmômetro. Os principais inconvenientes desta técnica, especialmente em relação a halófita objeto de estudo deste trabalho é a presença de uma alta densidade de tricomas vesiculares localizados na epiderme que quando macerados

contribuem para diminuição do potencial osmótico foliar podendo acarretar na geração de valores irreais.

A outra limitação está associada a utilização da equação de Vant'Hoff , devido a própria natureza da equação, que nesse caso foi desenvolvida para soluções ideais, ou seja, soluções diluídas o que não corresponde à realidade da concentração da seiva xilemática.

Levando em consideração esses entraves, a avaliação do potencial osmótico por meio de curvas de pressão-volume se configura como uma alternativa promissora na complementação do estudo de relações hídricas em plantas halófitas.

Dessa maneira o objetivo desse estudo foi avaliar em ambiente protegido, o potencial osmótico, aspectos fisiológicos relacionados ao status hídrico, trocas gasosas, captação da energia luminosa da halófita *Atriplex nummularia*, em resposta à irrigação com águas salinas. Para atingir tais objetivos, a dissertação será dividida em três capítulos, como segue abaixo:

Capítulo 1. POTENCIAL OSMÓTICO EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUA SALINA.

Capítulo 2. TROCAS GASOSAS EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUA SALINA.

Capítulo 3. CINÉTICA DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUAS DE CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE NaCl.

CAPÍTULO 1

POTENCIAL OSMÓTICO EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUA SALINA

RESUMO

Investigações sobre métodos de determinação de potenciais de água em plantas e solo são de grande relevância quando se estuda estresses abióticos, como seca e salinidade. Atualmente duas técnicas têm sido bastante relatadas no que diz respeito à determinação do potencial osmótico em plantas: a maceração do tecido foliar com posterior leitura em osmômetro, e as curvas de Pressão-Volume (P-V), sendo a última muito promissora na investigação do potencial osmótico em plantas que apresentam vesículas acumuladoras de sais na epiderme, como a *Atriplex nummularia*. O presente estudo foi conduzido em ambiente protegido localizado no Departamento de Agronomia (DEPA) da sede da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso, considerando seis tratamentos como concentrações de NaCl (0, 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1}) e cinco repetições. O objetivo do trabalho foi avaliar parâmetros hídricos de plantas de *Atriplex nummularia* cultivadas sob salinidade e avaliar a habilidade da espécie em se ajustar osmoticamente, bem como definir qual técnica é mais adequada para determinação do potencial osmótico foliar. Os resultados obtidos demonstraram que a espécie avaliada é capaz de realizar ajuste osmótico especialmente quando expostas a condições de alta salinidade. Foi possível observar que mesmo quando cultivada na presença de altas concentrações de NaCl as plantas mantiveram praticamente inalterado o teor relativo de água e exibiram potenciais osmóticos cada vez mais negativos à medida que aumentou a concentração de sais no solo. As curvas de pressão volume apresentaram valores de potencial osmótico semelhante ao método de maceração, apenas no tratamento controle. Entretanto, à medida que houve aumento da concentração de NaCl no solo, foram percebidas discrepâncias entre os valores de potencial osmótico obtidos a partir da maceração e leitura em osmômetro e os observados nas curvas P-V, possivelmente pela contribuição dos sais presentes nas vesículas acumuladoras de sais.

Palavras-chave: Ajustamento Osmótico, Osmômetro de Pressão de Vapor, Câmara de Scholander.

ABSTRACT

Research on methods of determining potential water in plants and soil are of great importance when studying abiotic stresses such as drought and salinity. Currently two techniques have been widely reported as regards the determination of the osmotic potential in plants: macerating leaf tissue with subsequent reading osmometer, and pressure-volume curves (PV), with a very promising last in potential Research osmotic in plants presenting vesicles accumulating salts on the skin, such as *Atriplex nummularia*. This study was conducted in protected environment located in the Department of Agronomy (DEPA) the headquarters of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). We used the design of randomized blocks considering six treatments as NaCl concentrations (0, 50, 100, 200, 250 and 300 mmol L^{-1}) and five repetitions. The objective was to evaluate water parameters of plant *Atriplex nummularia* grown under salinity and evaluate the ability of species to adjust osmotically and define which technique is best suited to determine the leaf osmotic potential. The results showed that the tested species is capable of osmotic adjustment especially when exposed to conditions of high salinity. It was observed that even when cultured in the presence of high concentrations of NaCl plants remained virtually unchanged the relative water content and osmotic potentials exhibited increasingly negative as increased salt concentrations in the soil. The pressure volume curves showed potential values osmotic similar to maceration method, only in the control treatment. However, as there was an increase of NaCl concentration in the soil, discrepancies were noted between the osmotic potential values obtained from the maceration and reading osmometer and observed in PV curves, possibly by the contribution of salts present in the accumulative vesicles salts .

Keywords: Osmotic Adjustment, Vapor Pressure Osmometer, Scholander Chamber.

1. INTRODUÇÃO

Em ambientes áridos e semiáridos as plantas halófitas apresentam potenciais de água mais negativos e maiores ajustes osmóticos, o que permite que sejam capazes de absorver água do solo em condições de déficit hídrico e salinidade. A manutenção do potencial de turgor é importante para manutenção da expansão celular e consequentemente para manutenção do crescimento (Benzarti et al., 2014).

Plantas halófitas são definidas como plantas que vivem em habitats naturalmente salinos ou que completam seu ciclo de vida em concentração salina igual ou superior a 200 mmol L^{-1} ~20 dS m^{-1} (Flowers et al., 2010).

Um grande número de espécies do gênero Atriplex pertencente ao grupo das plantas halófitas com importância ecológica e agronômica são frequentes em regiões áridas e semiáridas do mundo, particularmente nos habitats que combinam simultaneamente elevada salinidade do solo com aridez (Benzarti et al., 2013)

Plantas desse gênero são capazes de realizar compartimentalização vacuolar de sais, para equilibrar-se com o baixo potencial hídrico externo, garantindo, assim, a absorção de água (Ellouzi et al., 2011). Os efeitos da salinidade sobre as plantas variam de uma redução moderada do crescimento até a morte da planta inteira e a ocorrência desses eventos depende da tolerância à salinidade da espécie.

Em ambientes halomórficos, as plantas halófitas enfrentam um problema duplo: elas devem tolerar as altas concentrações de sal, e devem manter a absorção de água de uma solução do solo que apresenta um baixo potencial hídrico total. A fim de manter o equilíbrio osmótico no vacúolo citoplasmático, as halófitas sintetizam solutos não tóxicos no citoplasma para ajustar o potencial osmótico dos seus tecidos internos á salinidade externa (Flowers & Yelon, 1988).

A resposta fotossintética à salinidade em algumas plantas halófitas foi utilizada para investigar a tolerância ao estresse salino (Cambrollé et al., 2011). Comumente, a performance fotossintética das plantas é afetada pela salinidade, em geral os efeitos adversos da salinidade com implicações na fotossíntese está relacionada a baixa absorção de dióxido de carbono em função da diminuição da condutância estomática, atividade carboxilase da rubisco, e teor de clorofila (Rasouli & Kiani-Pouya de 2015).

A proteção das estruturas citosólicas e das biomoléculas em algumas espécies de Atriplex é assegurada devido ao sequestro e compartimentalização de íons salinos em

vacúolos de células especializadas, denominadas tricomas ou vesículas, as quais estão localizadas na epiderme foliar (Smaoui et al., 2010; De Souza et al., 2012). Estas células são eficientes na exclusão de íons tóxicos do citosol, bem como na contribuição para o ajustamento osmótico das plantas (Silveira et al., 2009).

O ajustamento osmótico (AO) é considerado um componente importante dos mecanismos de tolerância ao sal em plantas. Geralmente é definido como uma diminuição do potencial osmótico da seiva celular resultante de um aumento líquido da concentração de solutos orgânicos e inorgânicos intracelulares para prevenir a perda de água da célula.

Os solutos intracelulares acumulados incluem íons inorgânicos (principalmente absorvidos a partir do meio, tais como Na^{+}, Cl^{-}, K^{+}, Ca^{2+}) e / ou solutos orgânicos compatíveis (principalmente açúcares solúveis, aminoácidos livres e prolina) (Zhou & Yu, 2009). A prolina é um dos osmólitos compatíveis mais comuns em plantas estressadas, e não interfere nas reações bioquímicas normais tornando possível a sobrevivência de plantas sob condições de estresse (Sleimi et al., 2015).

De maneira geral o estado hídrico em uma planta é medido em termos de potencial hídrico, definido como a diferença entre o potencial químico da água em qualquer ponto de um sistema e o potencial da água pura em condições padrão (Guzman et al., 2013).

As relações hídricas de células, tecidos e órgãos vegetais são fundamentais para o entendimento da importância ecofisiológica da água. Na quantificação dessas relações, as variáveis comumente utilizadas são o volume de água e o potencial da água das células, tecidos ou órgãos (Angelocci, 2002).

Em estudos acerca dos potenciais de água na planta pode-se utilizar câmara de pressão e o osmômetro para determinação dos potencias hídrico e osmótico ou, pela avaliação de parâmetros hídricos a partir da construção de curvas de pressão-volume (Ben Hassine & Lutts, 2010; Benzarti et al., 2014).

A câmara de pressão descrita por Scholander e colaboradores (1965) é o equipamento mais popular utilizado na medição do potencial hídrico de plantas, superando inclusive o uso e a popularidade do psicrômetro, equipamento muito utilizado até a popularização da câmara.

A metodologia de medição consiste do incremento de pressão em volta do pecíolo foliar ou de um ramo até o aparecimento da seiva xilemática na superfície do corte do pecíolo ou ramo (Scholander et al., 1965).

A pressão necessária para expor a seiva à pressão atmosférica representa a pressão negativa existente no pecíolo intacto ou no ramo. Considera-se que a quantidade de pressão necessária para levar a água da célula até o xilema representa o potencial hídrico da água (Scholander et al., 1965).

Diferenças no potencial hídrico total, potencial osmótico, potencial de pressão e potencial gravitacional podem se desenvolver na água de uma parte da planta, por exemplo, na folha. Por esse motivo o potencial total da água na planta é representado como resultante da ação combinada de quatro componentes: a componente osmótica, a componente mátrica, a componente de pressão e a componente gravitacional (Kirkhan, 2005).

O termo potencial mátrico está associado à capilaridade ou a ação de forças de adsorção. Em estudos vegetais a contribuição das componentes mátrica e gravitacional são negligenciadas devido à sua atuação limitada em plantas, sendo a gravitacional importante apenas em plantas cuja altura supera 100 metros (Kirkhan, 2005).

Já o potencial osmótico refere-se à diminuição da energia livre da água em virtude da presença de osmólitos orgânicos e inorgânicos em compartimentos da planta. Na determinação do potencial osmótico dois métodos são comumente utilizados: o primeiro baseia-se no congelamento e maceração dos tecidos para determinação da osmolalidade em osmômetro (Kirkhan, 2005).

O segundo método empregado para determinação do potencial osmótico é a câmara de pressão de Scholander para criação das curvas de pressão-volume. Nessa segunda situação são incrementadas gradualmente no interior da câmara pressões crescentes e suficientes para exsudar seiva na superfície do corte. As pressões aplicadas são anotadas e o volume correspondente é medido via pesagem em balança analítica.

Com os valores obtidos é possível construir um gráfico, onde no eixo das ordenadas encontra-se o inverso da pressão aplicada, expresso em unidade de Megapascal e no eixo das abscissas encontra-se o volume exsudado ou o Teor Relativo de Água (TRA). O principal benefício dessa técnica reside no fato de poder determinar o potencial osmótico em plantas sem alterar sua estrutura.

Nos últimos 50 anos a câmara de pressão tem sido largamente empregada em estudos de fisiologia e ecologia de planta para caracterizar vários aspectos das relações hídricas (Roderick & Canny, 2005).

Com o uso desse equipamento é possível em uma única folha ou ramo, fazer inferências desde determinações de potencial hídrico até determinação do módulo de elasticidade celular.

A primeira interpretação da pressão de equilíbrio foi estabelecida por Dixon (1895), o inventor original da técnica da câmara de pressão, como forma de medir o potencial osmótico das folhas.

No entanto, foi a partir do trabalho de Scholander e colaboradores (1965) através de modificações no trabalho de Dixon (1985) que técnicas de avaliação de parâmetros hídricos, dependentes do uso da câmara tornaram-se populares. Uma das principais contribuições do autor diz respeito a aspectos fisiológicos da água na planta.

A partir de experimentos, Scholander chegou a conclusão que o estado da água em uma folha intacta é o mesmo que o estado da água em uma folha cortada e que a pressão de equilíbrio é uma pressão negativa da água do xilema em equilíbrio com o potencial osmótico das células foliares, ainda presente na folha cortada e mantida por aderência da água no xilema pelas paredes da extremidade dos vasos através dos quais a interface ar – água não pode ser ultrapassada.

Roderick & Canny (2005) previnem que plantas com paredes celulares mais rígidas são mais resistentes à pressão, ou seja, são exigidas o emprego de maiores pressões à medida que diminui o conteúdo interno de água, nesse caso o aumento da pressão é resultado da rigidez da parede celular e não do potencial hídrico da água na planta.

Os autores alertam ainda sobre aspectos térmicos da técnica não poder serem ignorados. Ao liberar o gás no interior da câmara há alteração no fluxo de calor e consequentemente na temperatura, isto irá alterar a energia interna e o potencial químico do material avaliado.

A manutenção da integridade dos tecidos vegetais é muito importante quando se trabalha com halófitas, em especial com as pertencentes à família Chenopodiacea como é o caso da *Atriplex nummularia*. Plantas pertencentes a esse grupo geralmente possuem vesículas acumuladoras de sais na epiderme foliar (De Souza et al., 2012)

Quando a avaliação do potencial osmótico é realizada por meio de congelamento e maceração do tecido as vesículas são rompidas e extravasam o conteúdo inorgânico armazenado, esses solutos passam então a contribuir com a diminuição do potencial osmótico foliar.

Outro efeito inconveniente da técnica reside no fato de que a maceração permite que água e osmólitos armazenados no espaço apoplástico passem a contribuir no potencial osmótico.

Dessa maneira, os parâmetros hídricos derivados das curvas de pressão-volume têm complementado estudos de morfologia, fisiologia e anatomia em diferentes espécies de plantas permitindo caracterizar a estratégia adotada em resposta ao estresse ambiental (Benzarti et al., 2014).

Assim, pretende-se com o presente estudo determinar o potencial osmótico a partir do uso de metodologia convencional (osmômetro) e a partir da construção de curvas de pressão-volume, bem como determinar parâmetros de ajustamento osmótico da espécie, quando esta é irrigada com água salina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Montagem do Experimento

O presente estudo foi desenvolvido em ambiente protegido localizado no departamento de agronomia (DEPA), situado na sede do campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Para condução do experimento foram utilizados vasos de polietileno com capacidade para 5L. Os vasos foram preenchidos com uma amostra de Neossolo Flúvico coletado no Município de Pesqueira – PE. O local está localizado na fazenda Nossa Senhora do Rosário, cujas coordenadas são 8° 34’11’’ latitude sul, 37°48’54’’ longitude oeste e situa-se a 630m acima do nível do mar.

De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é BSh (extremamente quente e semiárido), com uma precipitação média anual total de 730 mm e evapotranspiração média anual de referência de 1.683 milímetros. O solo foi coletado na camada de 0-30 cm, transportado para a UFRPE, seco, destorroado e passado em malha de 4 mm para preservação dos microagregados e posterior preenchimento dos vasos. Para caracterização química (Tabela 1) e física do solo (Tabela 2) coletaram-se dez amostras individuais do volume total do solo e peneirou-se em malha de 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). O valor da caracterização inicial refere-se a uma média de dez amostras.

Tabela 1. Valores médios (n=10) das características químicas do extrato de saturação e do complexo Sortivo do solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.

Extrato de Saturação[1/]							
pHes	CE (dS m^{-1})	Na^+ (mmol L^{-1})	K^+ (mmol L^{-1})	Ca^{+2} (mmol L^{-1})	Mg^{+2} (mmol L^{-1})	Cl^- (mmol $L^{-1)}$	RAS
7,77	2,17	13,26	1,83	3,15	1,36	14,37	8,5
Complexo Sortivo							
pH (1:2,5)	Na^+ ($cmol_c$ kg^{-1})	K^+($cmol_c$ kg^{-1})	Ca^{+2}($cmol_c$ kg^{-1})	Mg^{2+}($cmol_c$ kg^{-1})	SB ($cmol_c$ kg^{-1})	PST (%)	
6,85	1,645	3,7	7,78	1,73	14,85	11,07	

CEes= Condutividade Elétrica do extrato de saturação; SB= Soma de Bases; PST= Porcentagem de Sódio Trocável. n= 10.[1/] USSSLS (1954).

Tabela 2. Valores médios (n=10) das características físicas solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.

AF (g kg^{-1})	AG (g kg^{-1})	AT (g kg^{-1})	Silte (g kg^{-1})	Argila (g kg^{-1})	ADA (g cm^{-3})	Ds (g cm^{-3})	Dp (g cm^{-3})	IF (%)	ID (%)	PT (%)
329,79	143,15	433,09	466,04	100,87	50,4	1,51	2,63	50	50	42

AF= Areia fina; AG= Areia grossa; AT= Areia Total; ADA= Argila Dispersa em Água; IF= Índice de Floculação; ID= Índice de Dispersão; PT= Porosidade Total, (EMBRAPA, 1997).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso constando de cinco repetições. Os tratamentos aplicados foram águas de irrigação com seis diferentes concentrações de NaCl (0, 50,100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1}).

As plantas cultivadas foram reproduzidas assexuadamente a partir da técnica de estaquia, utilizando como matriz uma única planta, com o objetivo de minimizar a variabilidade genética. As mudas produzidas foram transplantadas para os vasos quando atingiram 60 dias de idade. Durante todo o período experimental as plantas foram cultivadas em solo com umidade referente a 80% da capacidade de pote que era de 0,27 cm^3cm^{-3} (referente a um potencial matricial de - 0,1 atm). A irrigação foi precedida sempre no final da tarde utilizando-se de uma balança digital, cuja reposição era baseada na água perdida por evapotranspiração. A irrigação com as águas salinas foi realizada gradativamente para evitar que as plantas sofressem choque osmótico. A adição de sais foi realizada adicionando 50 mmol L^{-1} de NaCl até que fosse atingida a concentração do respectivo tratamento.

2.2. Potencial Hídrico (Ψw)

Para determinação das relações hídricas foram avaliados os potencias hídrico, osmótico e de pressão. A determinação do potencial hídrico foliar ocorreu nas primeiras horas da madrugada, entre as 2h e 3h aos 92 dias após o tratamento salino.

Ramos do terço médio de cada planta foram selecionados e imediatamente acondicionados em caixa de isopor contendo gelo para evitar a perda de água. Na ocasião da leitura era feito um corte em bisel com auxílio de uma lâmina, para restabelecimento do equilíbrio hídrico do ramo e facilitar a visualização da extrusão da seiva, com auxílio de uma lente.

Imediatamente após o corte procederam-se as determinações utilizando uma câmara de pressão de Scholander (Scholander et al., 1965). Depois de posicionado na câmara, o ramo foi submetido a incrementos de pressão até visualização de gotas na superfície do corte.

2.3. Potencial osmótico (Ψo)

A determinação da osmolalidade total do tecido foliar, foi realizada nas folhas do ramo onde foi feita a determinação do potencial hídrico foliar. Folhas do ramo foram maceradas com nitrogênio líquido em almofariz com auxílio de pistilo.

A seiva obtida do tecido foi filtrada e centrifugada a 10.000 g por 15 min a 4ºC. Uma alíquota de 10 µL do sobrenadante foi utilizada para a determinação da osmolalidade do tecido, com um osmômetro de pressão de vapor (VAPRO WESCOR modelo 5600).

Os valores obtidos em milimoles por quilograma foram convertidos em potencial osmótico, por meio da equação de Van’t Hoff, conforme Equação 1 (Souza et al., 2012).

$$\Psi o = - RTC \qquad \textbf{Equação (01)}$$

Em que:

R= Constante geral dos gases (0,00831 kg MPa mol^{-1} K^{-1})

T= Temperatura em Kelvin (K)

C= Concentração do soluto (mol kg^{-1})

2.4. Potencial de Pressão (Ψp)

A estimativa do potencial de pressão foi feita a partir dos valores obtidos nas determinações de potencial hídrico e potencial osmótico. Admitindo-se que o potencial hídrico é igual ao somatório do potencial osmótico e de pressão (Equação 2) é possível calcular o potencial de pressão a partir da equação 3.

$$\Psi t = (\Psi o) + (\Psi p) \qquad \textbf{Equação (2)}$$

Na qual, o Ψt é o potencial total de água na planta, Ψo é o potencial de solutos na planta e Ψp é a pressão hidrostática (Equação 3).

$$\Psi p = (\Psi t) - (\Psi o) \qquad \textbf{Equação (3)}$$

2.5. Ajustamento Osmótico (AO)

Por ocasião da coleta dos ramos para determinação do potencial hídrico, coletou- se em ramos próximos ao utilizado para determinação do potencial hídrico 5 folhas para realização do ajustamento osmótico. As folhas coletadas foram acondicionadas em isopor e transportadas para o laboratório, onde foram postas para saturar em placa de petri por 24h a 4ºC no escuro.

Após atingirem completo turgor as folhas foram secas com papel toalha e maceradas em almofariz com auxílio de pistilo. A seiva extraída foi filtrada, acondicionada em eppendorf e centrifugada a 10000 g por 15 minutos a 4ºC.

A leitura da osmolalidade foi realizada em osmômetro (VAPRO WESCOR modelo 5600) no sobrenadante remanescente da centrifugação. Uma alíquota de 10µL foi utilizada nas leituras.

Os resultados obtidos em mmol kg^{-1} foram convertidos a MPa partir da equação de Van't Hoff. O ajustamento osmótico foi obtido a partir da diferença entre potencial osmótico das plantas controle e das plantas estressadas (Equação 4) conforme descrito por Blum (1989).

$$AO_{tot} = \Psi o_c^{100} - \Psi o_s^{100} \qquad \textbf{Equação (4)}$$

Em que, AO_{tot} é o ajustamento osmótico total, Ψo_c^{100} é o potencial osmótico de plantas controle a pleno turgor e Ψo_s^{100} corresponde ao potencial osmótico de plantas estressadas a pleno turgor.

2.6. Teor Relativo de Água (TRA)

A determinação do teor relativo de água foi realizada em folhas coletadas em ramos próximos aos utilizados para determinação do potencial hídrico.

Cinco discos foliares de mesmo diâmetro foram recortados das folhas coletadas e pesados em balança analítica com quatro casas decimais obtendo-se a Biomassa Fresca (BMF) em grama.

Posterior à pesagem os discos foram postos para saturar por 24h até atingir pleno turgor. Os discos completamente saturados foram pesados obtendo-se o Peso da Biomassa Túrgida (BMT).

O Peso de Biomassa Seca (BMS) foi obtido após secagem dos discos a 80ºC em estufa de circulação forçada de ar por 48h. A determinação do TRA foi feita conforme proposto por Silveira et al. (2003) e calculado a partir da Equação (5).

$$TRA\ (\%) = [(BMF - BMS)/(BMT - BMS)] \times 100 \qquad \textbf{Equação (5)}$$

2.7. Curvas Pressão-volume (PV)

Para construção das curvas Pressão-volume foram selecionados ramos opostos aos coletados para determinação do potencial hídrico foliar (Figura 1).

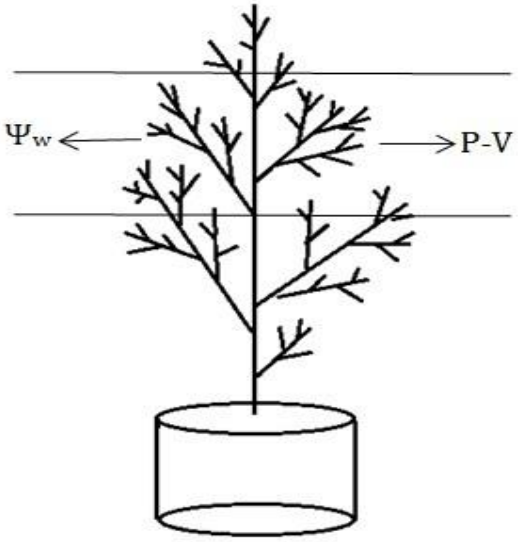

Figura 1- Esquema da localização dos ramos amostrados para determinação do potencial hídrico, potencial osmótico e construção das curvas P-V.

Os ramos selecionados foram cortados em situação de submersão completa com auxílio de uma tesoura, e imediatamente postos para saturar em proveta contendo água deionizada para minimizar os riscos de embolia. Os ramos ficaram sob saturação por 24h a temperatura ambiente (Figura 2).

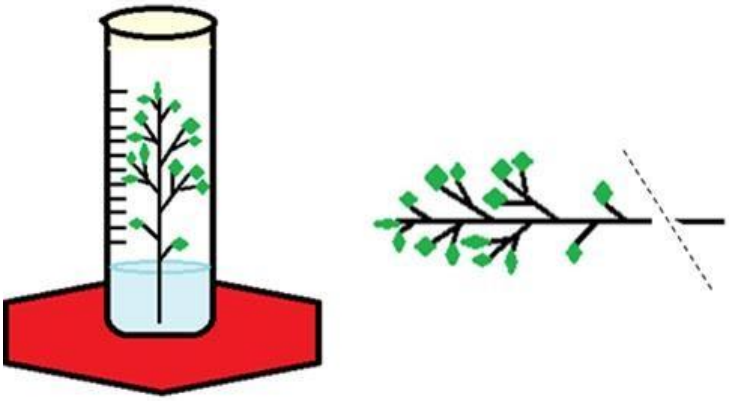

Figura 2- Esquema de saturação e corte em bisel dos ramos de Atriplex.

Após atingir a plena saturação cortou-se 1cm da extremidade do ramo para restabelecimento do equilíbrio hidrostático e posicionou-se o ramo na câmara de Scholander.

O fluxo de gás na câmara foi estabelecido a partir do ajuste da válvula que controla a velocidade de incremento de pressão no interior da câmara. A velocidade do fluxo de entrada

de pressão no interior da câmara foi de 100 kPa por minuto. A seiva liberada em cada pressão era coletada com auxílio de um papel filtro previamente pesado.

O volume de seiva coletado e a pressão correspondente eram anotados para construção das curvas pressão volume, conforme modelo abaixo (Figura 3). Os incrementos de pressão prosseguiram até o rompimento das células do pecíolo.

O volume de seiva coletado foi calculado admitindo que a densidade da água equivale a 1g cm^{-3}. Para construção do gráfico utilizou-se no eixo das abcissas o volume acumulado em cada tensão plotado contra o inverso do potencial no eixo das ordenadas. O potencial osmótico a pleno turgor (Ψo^{100}) foi estimado a partir do prolongamento da região linear da curva para o eixo das ordenadas.

O potencial osmótico a zero de turgor (Ψo^{0}) foi estimado a partir do prolongamento do ponto de inflexão da curva para o eixo das ordenadas. Tanto o ponto correspondente ao potencial osmótico a zero de turgor, quanto o correspondente ao potencial osmótico a pleno turgor foram determinados a partir da construção de regressões lineares, utilizando os últimos pontos da curva, o comportamento linear dos dados era observado com base no erro padrão da equação gerada para os três últimos pontos da curva de Pressão-Volume.

A metodologia adotada consistiu em adaptações das técnicas utilizadas por Fanjul y Barradas (1987) e Shackel (1997).

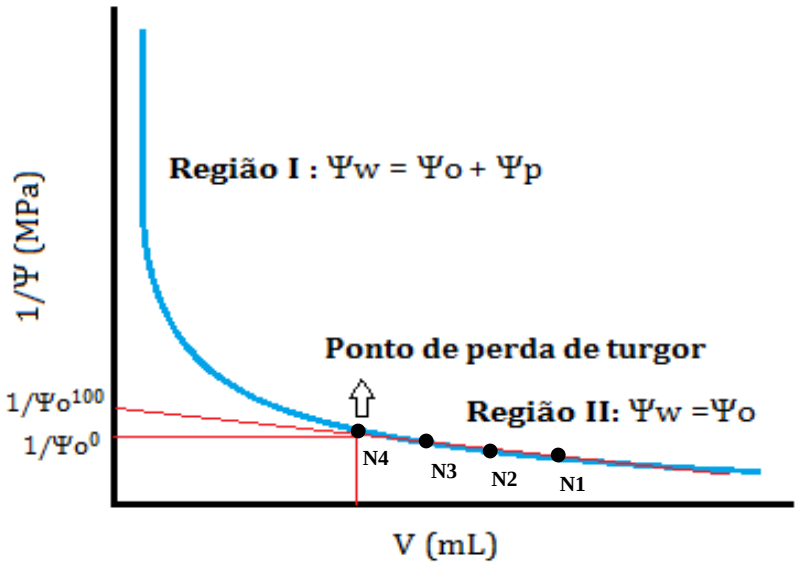

Figura 3- Modelo hipotético de uma curva Pressão-Volume (P-V).

2.7.1. Análise dos dados da Curva de Pressão-Volume (P-V)

A determinação do potencial osmótico a pleno turgor (Ψo^{100}) foi realizada a partir da geração de uma equação da reta para os três últimos pontos da curva de Pressão-Volume. A partir dessa equação foi feita uma estimativa dos pontos subsequentes levando em consideração o erro padrão da equação gerada e um erro padrão pré-estabelecido para os dados, em nosso estudo foi utilizado o erro de 0,06, visto que a avaliação a partir apenas do erro padrão da equação seria muito criteriosa e teria como consequência a exclusão de uma elevada quantidade de pontos.

Com base nessa equação gerou-se um y estimado, obtido a partir da substituição da variável x da equação pelo valor correspondente de x, que em nosso caso se tratava da seiva exsudada. Esse valor de y estimado foi comparado com o valor real de y (pressão aplicada para liberação do volume x de seiva) se estivesse dentro do erro padrão, admitia-se que o ponto era parte da reta, caso o ponto estivesse fora do erro padrão admitia-se que esse ponto não era parte da região linear e então era gerada uma nova equação do último ponto da curva até o ponto discrepante.

A partir da nova equação gerada a determinação do Ψo^{100} era estimada a partir da extrapolação da região linear para o ponto em y quando o valor de x da equação igualava-se a zero. O Ψo^{0} era o valor do y associado ao x do ponto que indicava a perda de turgor. A análise dos dados foi realizada com base no descrito por Sinclair & Venables (1983).

2.8. Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade através do software SAS version student 2.0 e os gráficos foram gerados no programa excel versão 2010.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da Análise de variância demonstraram que as variáveis Ajustamento Osmótico (AO), Na^{+}, K^{+}, Ca^{2+}, Mg^{2+} e Cl^{-} no solo apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. Para as variáveis Potencial de Pressão em planta e Teor Relativo de Água não foram verificadas diferenças significativas (Tabela 3).

Tabela 3- Análise de Variância (ANOVA) para oito variáveis avaliadas em planta e em solo aos 92 dias após o transplantio em resposta a seis concentrações de NaCl na água de irrigação.

Variável	CV (%)	Valor de F
Ψ_p	28,12	$1,84^{ns}$
AO	7,36	$28,69^{*}$
Ψw	1,92	$40,32^{*}$
Ψo	13,79	$19,37^{*}$
TRA	6,58	$0,97^{ns}$
Na^{+}	1,99	1^{*}
K^{+}	9,01	$28,62^{*}$
Ca^{2+}	4,01	$208,84^{*}$
Mg^{2+}	4,22	$286,97^{*}$
Cl^{-}	6,15	$460,78^{*}$

Valores significativos pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo, * significativo a 1%. Ψ_p= Potencial de Pressão; AO= Ajustamento Osmótico; TRA= Teor Relativo de Água.

3.1. Teor Relativo da Água (TRA)

A partir dos dados é possível observar que ao final do experimento, a variável Teor Relativo de Água não apresentou diferenças estatisticamente significativas independente da concentração de NaCl presente na água de irrigação (Figura 4).

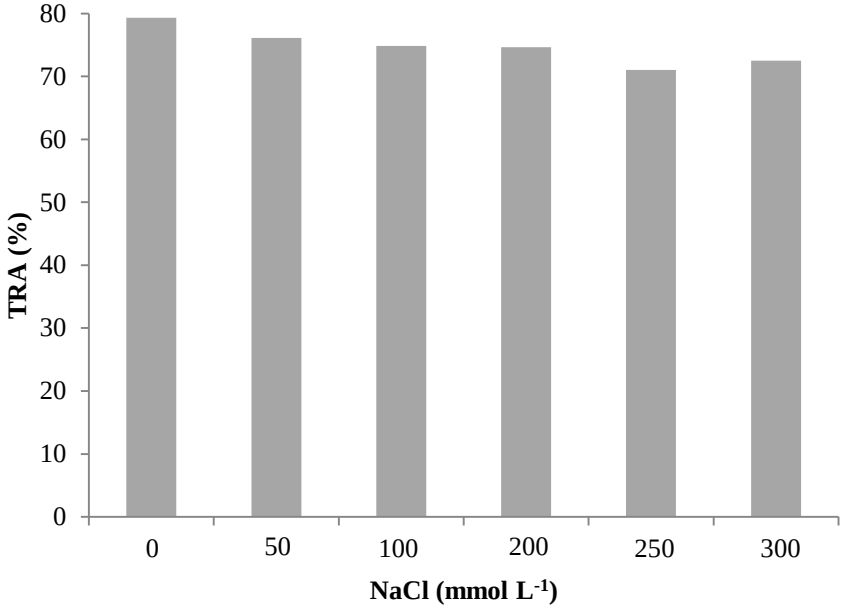

Figura 4- Teor relativo de água em folhas de *A. nummularia*. Valores médios não diferiram estatisticamente ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tuckey.

Maimaiti et al. (2014) avaliando o efeito do aumento da concentração de NaCl em plantas de Cinamomo (*Elaeagnus oxycarpa*), uma halófita endêmica da Ásia, observaram que o aumento da concentração de NaCl, não interferiu significativamente no TRA até a concentração de 200 mmol L^{-1}, sendo as reduções significativas visualizadas apenas nas plantas irrigadas com água contendo 300 mmol L^{-1} de NaCl.

Assim como Elaegnus, plantas de Atriplex do presente estudo não apresentaram reduções significativas no TRA foliar. A maior redução desse parâmetro foi percebida apenas em plantas irrigadas com soluções apresentando concentrações de NaCl de 250 mmol L^{-1} e equivaleu a 8,32%, no entanto essa redução não foi significativa.

A manutenção da pressão de turgor durante mudanças no status hídrico da planta é muito importante para manutenção e preservação de processos metabólicos, além de contribuir para continuidade do crescimento (Kramer & Boyer, 1995).

Araújo et al. (2006) trabalhando com *Atriplex nummularia* sob aplicação de níveis crescentes de NaCl também não observaram redução no TRA foliar e sim aumento da suculência com o incremento das concentrações de NaCl.

A habilidade dessa espécie em manter altos teores relativos de água, pode ajudar a minimizar o impacto do excesso da acumulação de íons tóxicos como Na^+ e Cl^- nos tecidos e pode ser o responsável pelo aumento da eficiência do uso da água pela espécie mesmo quando cultivada na presença de altas concentrações de NaCl (Araújo et al, 2006).

Os resultados do estudo evidenciam que *A. nummularia* têm um mecanismo adaptativo eficiente para evitar o estresse salino grave, demonstrado a partir dos valores de TRA que revelam um bom estado hídrico da folha comprovando a eficiência da espécie em se ajustar osmoticamente.

3.2. Potencial Hídrico Foliar (Ψw)

Na Figura 5 é representada a resposta do potencial hídrico foliar em função do incremento de NaCl na água de irrigação. Nessa figura é possível observar que os tratamentos permitiram ajuste a equação de regressão linear que refletiu a diminuição progressiva do potencial hídrico, porém maior na concentração equivalente a 50 mmol L^{-1} de NaCl.

O maior valor de potencial hídrico foi observado nas plantas controle em virtude da menor concentração de sais na solução do solo e consequentemente da maior energia livre da água disponível para realização de trabalho.

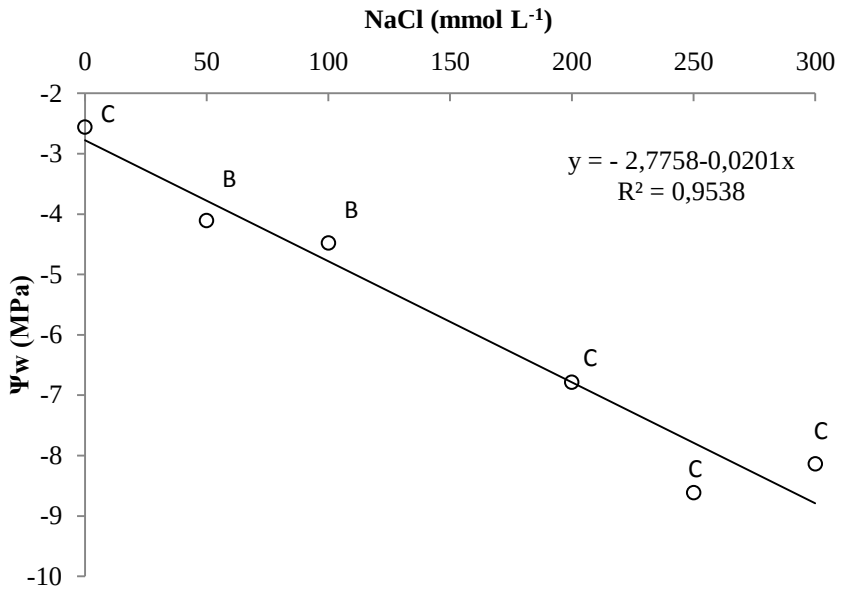

Figura 5- Potencial Hídrico (Ψw) de folhas de *Atriplex nummularia* irrigadas com água salina aos 92 dias após o transplantio. Valores médios seguidos de letras iguais não diferiram significativamente pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

Era esperada a observação do menor valor de potencial hídrico foliar nas plantas expostas as maiores concentrações de sais, nesse caso na concentração de 300 mmol L^{-1} de NaCl, no entanto esse resultado foi verificado nas plantas do tratamento 250 mmol L^{-1} de NaCl. Uma possível explicação desses menores na concentração de 250 mmol L^{-1}, pode ser atribuída a menor atividade do íon sódio no nível de 300 mmol L^{-1} em virtude da maior concentração de sais e formação de pares iônicos de baixa solubilidade na solução do solo.

Ben Hassine & Luts (2010) em estudo com *Atriplex halimus* observaram já no primeiro dia de avaliação redução do potencial hídrico de plantas tratadas com $NaCl^{-1}$.

Munns & Tester (2008) estabelecem que as plantas experimentam dois tipos de limitações de desenvolvimento quando cultivadas em condições de salinidade associadas a limitações osmóticas e a toxicidade iônica, sendo a primeira promovida já nos primeiros momentos de exposição à salinidade.

A diminuição do potencial hídrico foliar em resposta ao estresse é influenciada pela idade da folha e em nosso caso foi reflexo da diminuição do potencial osmótico. Como

esperado o potencial hídrico diminuiu gradualmente com o aumento da concentração do íon sódio na água de irrigação. O mesmo padrão foi observado para o potencial osmótico.

Para Munns (2002) a diminuição do potencial hídrico nas células vegetais é muito importante para que as plantas não sofram desidratação, segundo a autora a desidratação pode levar a lesões fisiológicas graves promovidas pelo aumento da concentração de íons tóxicos nas células.

Mesmo quando se desenvolvem em solo com boa reserva hídrica, como é o caso do presente estudo, nos quais as plantas foram cultivadas em solo a 80% da capacidade de campo, limitações osmóticas podem ser manifestadas em virtude do aumento de solutos inorgânicos na solução do solo, nesse caso devido à presença dos íons sódio e cloro presentes em altas concentrações.

3.3. Potencial Osmótico Foliar (Ψo)

Ao final do experimento foi possível notar uma redução progressiva e linear do potencial osmótico foliar à medida que aumentou a concentração de NaCl no solo (Figura 6).

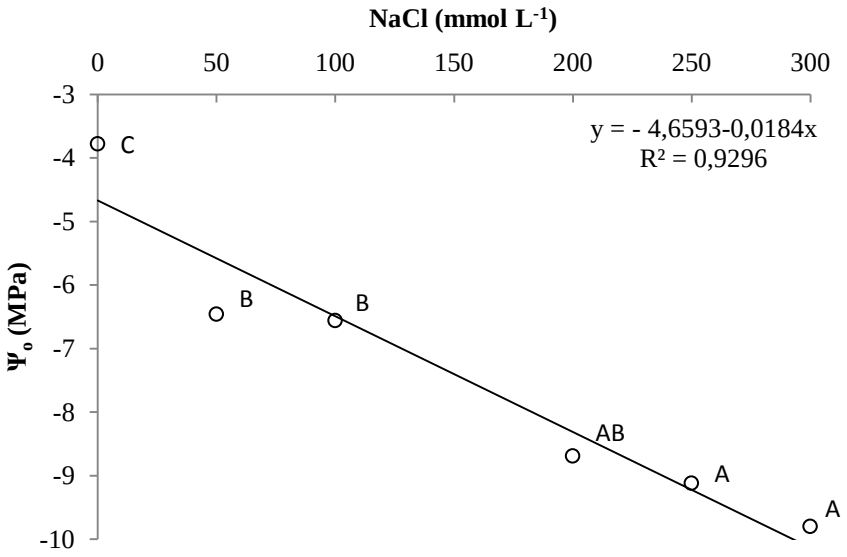

Figura 6- Potencial osmótico (Ψo) em folhas de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 92 dias após o transplantio. Valores médios seguidos de letras iguais não diferiram significativamente pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

É possível observar que a regressão linear se ajustou aos valores médios observados em cada tratamento, visto que o modelo foi capaz de explicar cerca de 93% do comportamento dos dados (R^2 = 0,929), (Figura 6).

Como esperado, o maior valor médio de potencial osmótico foi observado nas plantas do tratamento controle (0 mmol L^{-1}) e o menor valor médio foi observado nas plantas expostas a maior concentração de NaCl (300 mmol L^{-1}). Ben Hassine & Luts (2010) observaram diminuições do potencial osmótico foliar à medida que houve incremento da concentração de NaCl no solo.

De acordo com Silveira (2009) o gênero Atriplex contém muitas espécies capazes de completar seu ciclo de vida em condições ambientais extremas como seca e salinidade. No presente estudo plantas de *Atriplex nummularia* mesmo sob altas condições de salinidade no final do experimento, com presença de altas concentrações na solução de íons tóxicos como Na^+ (1132,17 mmol L^{-1}) e Cl^- (1575 mmol L^{-1}) permaneceram vivas e não apresentaram sintomas marcante de toxicidade como clorose e necrose foliar (Tabela 4).

A redução observada no potencial osmótico foliar na turgescência máxima das plantas com o aumento da salinidade demonstra o processo de ajuste osmótico que ocorre nestas condições. A *A. nummularia* apresenta compartimentalização de sais tanto no vacúolo celular quanto em células especializadas denominadas tricomas, esse acúmulo no vacúolo pode ser utilizado para promover a redução do potencial osmótico foliar necessário para manutenção da turgescência, resultados semelhantes foram notados por Álvarez et al. (2012).

Tabela 4- Características químicas do solo ao final do experimento.

				Extrato de Saturação				
Tratamento	**CE**	**pH**	**Ψo**	**Na^+**	**K^+**	**Ca^{2+}**	**Mg^{2+}**	**Cl^-**
NaCl (**mmol $_c$ L^{-1}**)	**(dS m^{-1})**		**(MPa)**	**(mmol $_c$ L^{-1})**	**(mmol $_c$ L^{-1})**	**(mmol $_c$ L^{-1})**	**(mmol $_c$ L^{-1})**	**(mmol $_c$ L^{-1})**
0	1,18	7,624	-0,71	14,23 A	0,42 C	6,80 A	4,42 C	14,16 F
50	36,03	6,638	-24,85	581,49 C	2,18 B	43,49 B	87,69B	682,50 E
100	40,17	6,584	-30,06	768,02 D	2,03 B	84,15 A	118,52 A	840,63 D
200	46,11	6,29	-41,91	998,72 A	3,24 B	80,11 A	116,15 AB	1143,75 BC
250	47,95	6,246	-44,96	1147,42 A	4,12 AB	89,92 A	116,84 AB	1241,67 B
300	51,23	6,244	-51,41	1132,17 A	3,80 AB	86,80 A	120,12 A	1575,00 A

*Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade entre os tratamentos.

De acordo com Touchette et al. (2009) plantas que apresentam diminuição do potencial osmótico como resposta ao aumento das concentrações de sais no solo, são capazes de manter o fluxo de água através da planta sem apresentar perda significativa do conteúdo relativo de água e dessa maneira são capazes de manter praticamente inalterada a pressão de turgor, assegurando a manutenção de processos fundamentais para o crescimento da planta, como o elongamento celular.

Nesse estudo foi possível observar potenciais osmóticos foliares muito negativos, especialmente em plantas irrigadas com águas apresentando as maiores concentrações de NaCl (Figura 6). Essa redução acentuada do potencial osmótico das plantas submetidas aos maiores estresses salinos proporcionou a absorção de água pelas plantas evidenciada por pequenas reduções do TRA (Figura 4) mesmo quando o solo apresentou alta salinidade (Tabela 3).

Para De Souza et al. (2012) este mecanismo revela a habilidade que a planta apresenta em se desenvolver na presença de estresse salino, por exemplo, em ambientes com solos afetados por sais, demonstrando que essa espécie pode ser muito promissora nesse tipo de ambiente.

As altas concentrações de sais encontrados em ambientes halomórficos altera o potencial osmótico, um dos principais componentes do potencial total da água no solo. Comumente em ambientes que não apresentam limitações associadas à presença de sais, a contribuição deste potencial é desprezada por não influenciar na energia livre da água. No entanto, em ambientes salinos a avaliação do potencial osmótico é de grande importância por estar diretamente relacionado com a absorção de água pela planta (De Souza et al, 2012).

3.4. Potencial de pressão (Ψp)

Os valores médios do potencial de pressão em folhas de Atriplex variaram de 0,50 MPa na concentração de 250 mmol L^{-1} de NaCl a 2,35 MPa na concentração equivalente a 50 mmol L^{-1} de NaCl.

Como esse parâmetro resulta da atuação da componente osmótica e do potencial total da água no solo, os valores médios variaram conforme oscilação desses dois parâmetros (Figuras 5, 6 e 7) e não demonstraram um comportamento linear. É possível notar também que o comportamento da pressão de turgidez acompanhou as mudanças no TRA nas folhas (Figuras 4 e 7).

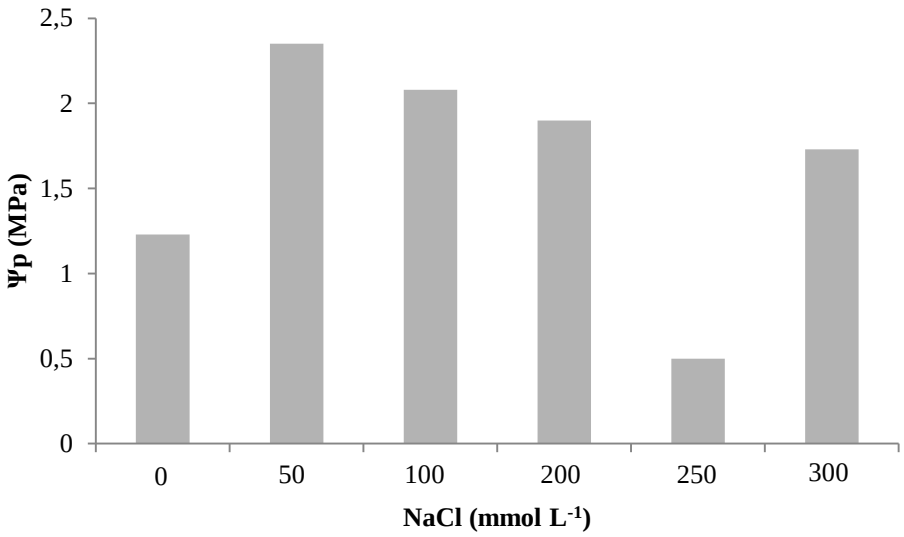

Figura 7- Potencial de Pressão (Ψp) de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 92 dias após o transplantio. Valores médios não diferiram estatisticamente ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tuckey.

De acordo com Benzarti et al. (2014) a manutenção do turgor durante mudanças na condição hídrica da planta atua na preservação dos processos metabólicos da planta e contribui para a manutenção do crescimento.

A manutenção da pressão de turgor em plantas que se desenvolvem na presença de estresse osmótico é crucial para o funcionamento das plantas seja devido à atuação na minimização de efeitos tóxicos de íons como o sódio e o cloro ou por sua marcante atuação no crescimento da planta.

Em condições de salinidade a presença dos sais reduz a energia livre da água e aumenta a tensão com a qual a água é retida pelos coloides do solo contribuindo para diminuição da disponibilidade da água para as plantas (Kirkhan, 2005).

No entanto, plantas capazes de realizar ajustamento osmótico a partir do acúmulo de íons inorgânicos no vacúolo celular, como é o caso *Atriplex nummularia* conseguem manter a pressão hidrostática celular (turgescência) garantindo dessa maneira seu desenvolvimento em ambientes que apresentam altas concentrações de sais.

Sendo assim, pela sua rusticidade e capacidade de adaptação a alterações ambientais, a Atriplex é passível de mudar seu metabolismo bioquímico para melhor suprir suas necessidades metabólicas. De acordo com Hussin et al. (2013), maiores potenciais de pressão nas células fornecem as forças expansivas nas células indispensáveis para a extensão da parede celular.

Quando as células das plantas experimentam déficit hídrico, ocorre desidratação celular, promovendo a diminuição da pressão de turgor celular (Ψp) e do volume celular. Os efeitos do déficit hídrico estão presumivelmente envolvidos em mudanças estruturais complexas da parede celular, e uma vez que essas estruturas quando alteradas não podem ser facilmente revertidas depois de aliviado o déficit hídrico (Taiz & Zeiger, 2013).

3.5. Ajustamento Osmótico (AO)

O incremento de sais no solo promoveu o aumento do ajuste osmótico das plantas. Os valores de ajustamento variaram de 1,14 nas plantas irrigadas com águas contendo 50 mmol L^{-1} de $NaCl^{-1}$ a 5,16 nas plantas irrigadas com águas contendo 300 mmol L^{-1} de $NaCl^{-1}$ (Figura 8).

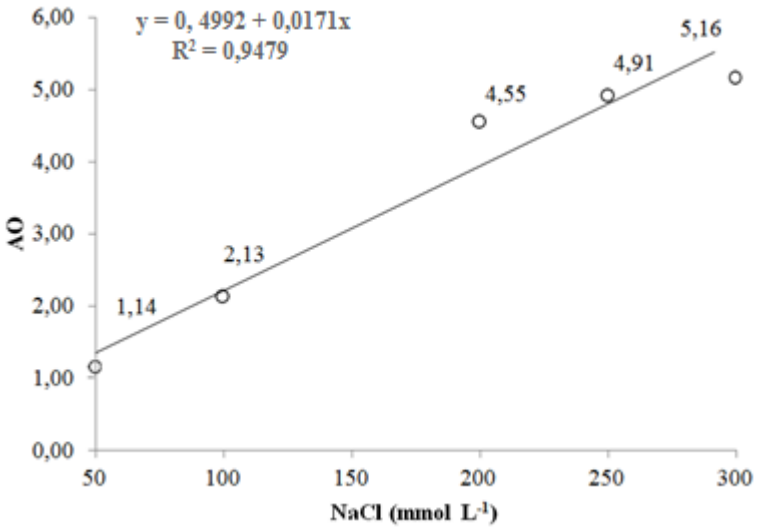

Figura 8- Ajustamento Osmótico (AO) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 92 dias após o transplantio.

O Ajustamento Osmótico (AO) é considerado um componente importante dos mecanismos de tolerância ao sal nas plantas. Geralmente é definido como a diminuição do potencial osmótico da seiva celular resultante do aumento líquido intracelular de solutos orgânicos e inorgânicos para prevenir a perda de água da célula (Benzarti et al, 2014).

A ocorrência de mecanismos de ajuste osmótico em *A. nummularia* neste estudo é reforçada também a partir da análise dos dados da curva pressão volume (P-V). Quando submetidas a irrigações com águas apresentando maiores concentrações de NaCl o ajustamento foi notado a partir da diminuição do potencial osmótico a pleno turgor (Ψo^{100}) e

do potencial osmótico a zero de turgor (Ψo^0) das plantas estressadas em comparação ao observado nas plantas controle (Figura 9).

O aumento do AO em função da diminuição do Ψo (Figuras 8 e 6) , provavelmente favoreceu a manutenção de um gradiente de potencial de absorção de água que possibilitou a existência de um potencial de turgor positivo (Figura 4) em todos os tratamentos de NaCl.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Benzarti et al. (2014) e revela que apesar de baixos potenciais hídricos ocasionados pela presença de elevados teores de sais na rizosfera, as plantas de Atriplex conseguem manter a pressão de turgescência nas células devido a habilidade que essa espécie tem em se ajustar osmoticamente.

O aumento da concentração de sais na solução do solo diminuiu a energia livre da água, conforme determinado por Kirkhan (2005), causando um efeito semelhante ao promovido pelo déficit hídrico. Assim como definido por Hasegawa et al.(2000) e Aslam et al. (2011), ambos os estresses hídricos e salinos, aumentam a energia de retenção da água no solo, diminuindo o volume de água disponível ás plantas sendo essa carência refletida na quantidade de água absorvida.

Os mecanismos fisiológicos e de desenvolvimento que permitem uma espécie tolerar períodos prolongados de salinidade pode envolver vários atributos. Uma forma de aumentar a tolerância á salinidade é a partir do acúmulo de solutos osmoticamente ativos, de modo que o turgor e os processos dependentes dele possam ser mantidos durante episódios de estresse salino (Silva et al., 2010).

Como consequência o potencial osmótico da célula é diminuído, o que por sua vez favorece o fluxo de água para o interior da célula mantendo a pressão de turgescência (Pérez-Pérez et al., 2009).

3.6. Curvas de Pressão-Volume (P-V)

Tanto o potencial osmótico a pleno turgor quanto o potencial osmótico a zero de turgor das plantas avaliadas decresceram à medida que foi incrementado NaCl na água de irrigação.

Os valores de potencial osmótico a pleno turgor variaram de -2,13 MPa nas plantas controle a -4,1 MPa em plantas irrigadas com água apresentando 300 mmol L^{-1} de NaCl (Figura 9). Já o potencial osmótico a zero de turgor apresentou valor máximo de -2,34 MPa

nas plantas controle e mínimo de - 4,27 MPa nas plantas mais estressadas 300 mmol L^{-1} de NaCl (Figura 9).

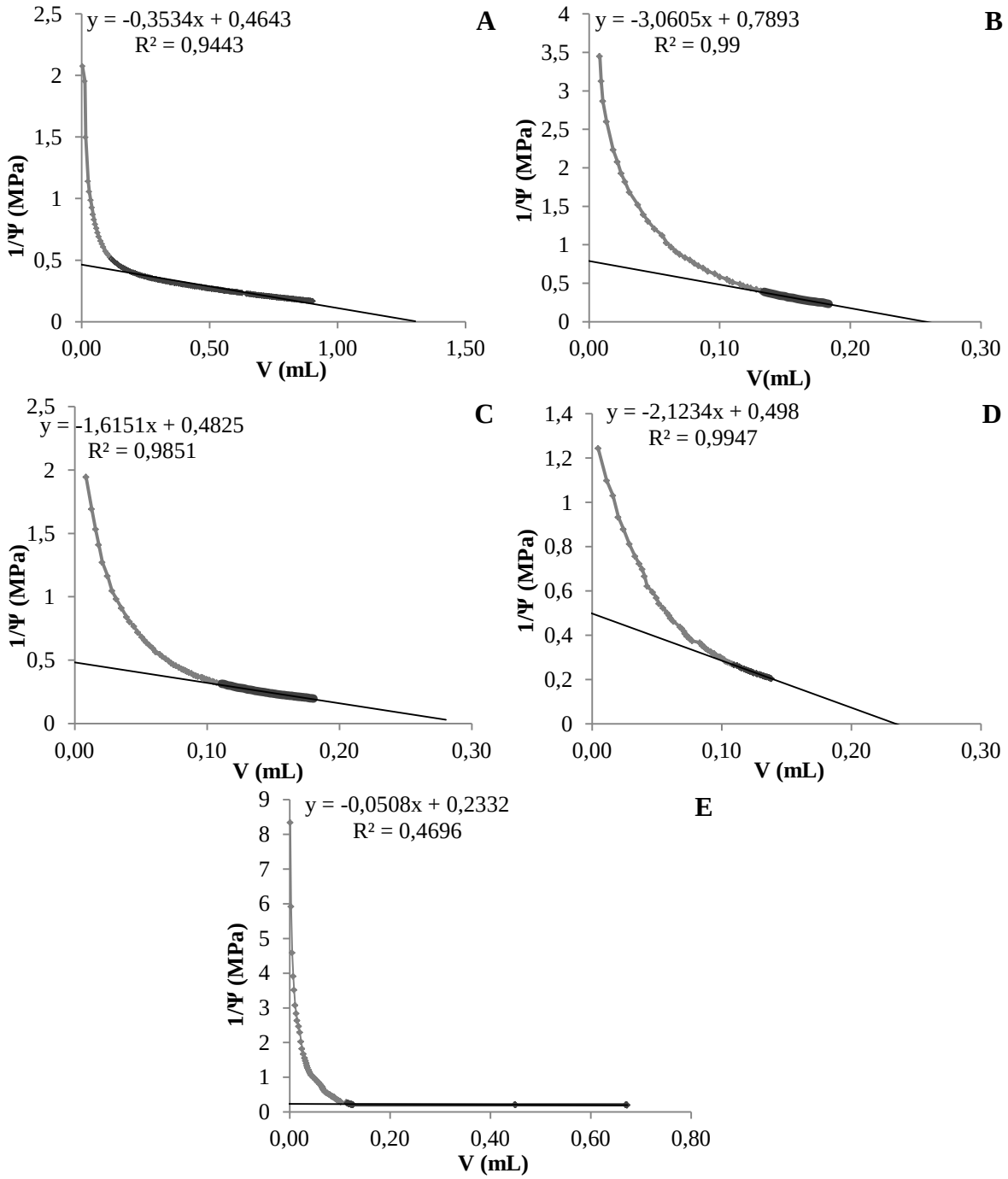

Figura 9- Curvas pressão volume obtidas a partir de ramos de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas. A- planta do tratamento controle (0 mmol L-1 de NaCl); B- planta irrigada com água apresentando 50 mmol L^{-1} de NaCl; C- planta irrigada com água apresentando 100 mmol L^{-1} de NaCl; D- planta irrigada com água apresentando 200 mmol L^{-1} de NaCl; E- planta irrigada com água apresentando 300 mmol L^{-1} de NaCl.

Não foi possível a construção de curva P-V em plantas submetidas ao tratamento de 250 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação. De maneira geral, as tentativas de construção de curvas nas plantas submetidas a esse tratamento resultou em um conjunto de dados que quando submetidos à dispersão para análise de regressão não se ajustava a nenhum modelo matemático que pudesse explicar o comportamento dos dados observados.

Acredita-se que o tratamento salino imposto resultou em um maior estresse nas plantas submetidas a esse tratamento, apesar desse não ter sido o tratamento com maior incremento de NaCl. No entanto, os resultados de TRA (Figura 4), Potencial hídrico (Figura 5) e especialmente potencial de pressão (Figura 7), assim como parâmetros não apresentados nesse capítulo como trocas gasosas, revelam que as plantas cultivadas sob esse regime salino apresentaram maiores indícios da percepção de estresse do que as plantas submetidas a maior concentração de sal.

Dessa maneira, é provável que em virtude da maior energia com a qual a água estava retida nas plantas desse tratamento houve explosão precoce do pecíolo antes que pudesse ser estabelecida uma pressão de equilíbrio, limitando dessa maneira a construção de curvas.

A impossibilidade de realização da curva das plantas submetidas à irrigação com águas apresentando concentração de 250 mmol L^{-1} também pode ter sido decorrente do aumento da energia com a qual a água foi retida nas plantas submetidas a esse tratamento, possivelmente esse fato contribuiu para perda da água apoplástica por cavitação. No entanto Cochard et al (1992) adverte que essa hipótese não pode ser garantida, pois não há relatos de que algum pesquisador conseguiu avaliar quantitativamente o impacto da cavitação em curvas de pressão volume.

A partir dessas evidências sugere-se que parâmetros hídricos de plantas submetidas a altos estresses salinos, resultando em alta energia de retenção da água com os tecidos das plantas não podem ser preditos com segurança a partir da construção de curvas de pressão volume.

Durante a experimentação que resultou na construção das curvas, algumas limitações da aplicação da técnica a espécies halófitas, em especial a halófitas lenhosas como é o caso da *Atriplex nummularia* foram percebidas.

Ramos de Atriplex quando submetidos à pressão apresentam extrusão da seiva em formato de microgotas que se assemelhavam mais a uma espécie de espuma, possivelmente em virtude da alta concentração de sais na seiva xilemática, essa forma incomum de extrusão

de seiva, sem a formação de gotas impediu que fosse determinado com segurança o volume de seiva liberado na pressão aplicada.

Possivelmente a alta condição de estresse salino, a qual as plantas estavam submetidas foi responsável pelo ajuste incomum das curvas de Atriplex, especialmente quando comparadas ao comportamento de curvas de pressão volume em outras espécies, tal como as construídas por Parker & Pallardy (1982) em estudos com Quercus e as observadas por Sinclair & Venables (1983).

Com relação ao ajustamento osmótico obtido a partir do osmômetro foi possível observar que as plantas se ajustaram osmoticamente (Tabela 5).

Tabela 5- Parâmetros Hídricos de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas a partir da utilização de osmômetro e da construção de curvas de pressão volume (P-V).

NaCl (mmol L^{-1})	TRA (%)	Ψ_o^{100} (osmômetro)	Ψ_o^{100} P-V	Ψ_o^{0} P-V	AO (osmômetro)
0	82	-2,43	-2,13	-2,34	-
50	73	-3,89	-1,26	-2,63	1,23
100	70	-4,7	-2,06	-3,29	1,94
200	81	-6,75	-2	-3,76	4,56
300	79	-7,6	-4,1	-4,27	4,94

Ψo^{100} = Potencial osmótico a pleno turgor; Ψo^{0} = Potencial osmótico a zero de turgor; AO= Ajustamento Osmótico.

As plantas controle exibiram valores de potencial osmótico a turgor pleno semelhante ao obtido a partir da curva pressão-volume (Tabela 5), no entanto à medida que aumentou a concentração de NaCl foram observadas discrepâncias cada vez maiores ao observado nas curvas de pressão volume.

De acordo com De Souza et al.(2012) plantas de Atriplex são capazes de acumular sais inorgânicos em tricomas vesiculares localizados na epiderme foliar. Parte das discrepâncias observadas pode ser atribuída à contribuição dos saís presentes nas vesículas que por ocasião da maceração para extração da seiva são liberados e contribui para a diminuição acentuada do potencial osmótico da seiva.

Apesar das limitações da técnica, os resultados obtidos não foram diferentes do observado por Benzarti et al. (2014) em estudos com *Atriplex portulacoides* submetidas á irrigação com água contendo NaCl. Avaliando o efeito do NaCl na água de irrigação sobre o ajustamento osmótico de *A. portulacoides* os autores observaram valores de potencial

osmótico a pleno turgor de - 2,52 ; -3,68 e - 4,54 MPa nos tratamentos 0, 200 e 400 mmol L^{-1} de NaCl, respectivamente. Os autores também observaram a partir das curvas P-V valores de - 3,13,- 4,1 e -5,26 MPa correspondente ao potencial osmótico a zero de turgor nos tratamentos 0, 200 e 400 mmol L^{-1} de NaCl , respectivamente.

4. CONCLUSÕES

1- O aumento da concentração de NaCl no solo não promoveu redução acentuada do TRA das plantas.
2- O aumento da concentração de NaCl no solo resultou em diminuições do potencial hídrico e do potencial osmótico foliar.
3- Plantas expostas as maiores concentrações de NaCl no solo apresentaram os maiores valores de ajustamento osmótico.
4- As curvas de Pressão-Volume (P-V) se mostraram eficientes na determinação do potencial osmótico das plantas de *Atriplex nummularia* por não levar em consideração os sais armazenados nas vesículas, promovendo dessa maneira a obtenção de valores mais realísticos dessa variável em espécies vegetais.

5. REFERÊNCIAS

Álvarez, S.; Gómez-Bellot, M.J.; Castillo, M.; Bañón, S.; Sánchez-Blanco, M.J. Osmotic and saline effect on growth, water relations, and ion uptake and translocation in *Phlomis purpurea* plants. Environmental and Experimental Botany, v.78, p. 138–145, 2012.

Angelocci, L.R. Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera. Piaracicaba, 268 p., 2002.

Araújo, S.A.M. ; Silveira, J.A.G.; Almeida, T.D.; Rocha, I.M.A. ; Morais, D.L.; Viégas, R.A. Salinity tolerance in the halophyte *Atriplex nummularia* Lind. Grown under increasing NaCl levels. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 10, p. 848–854, 2006.

Aslam, R.; Bostan, N.; Amen, N.; Maleeha, M.; Safdar, W . A critical review on halophytes: Salt tolerant plants. Journal of Medicinal Plants Research, v. 5, n.33, p. 7108-7118, 2011.

Ben Hassine , A. Lutts,S. Differential responses of saltbush *Atriplex halimus L.* exposed to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene.Journal of Plant Physiology, v.167, n.17, p.1448-1456, 2010.

Benzarti,M.; Rejeb,K.B.; Messedi,D.; Mna, A.B.; Hessini,K.; Ksontini,M.; Abdelly,C.; Debez,A. Effect of high salinity on *Atriplex portulacoides*: Growth, leaf water relations and solute accumulation in relation with osmotic adjustment. South African Journal of Botany, v. 95, p.70–77, 2014.

Benzarti, M.; Ben Rejeb, K.; Debez, A.; Abdelly, C.Environmental and economical opportunities for the valorisation of the genus Atriplex: new insights Hakeem (Ed.), et al., Crop Improvement, New Approaches and Modern Techniques, p. 441–457, 2013.

Blum, A. Osmotic adjustment and growth of barley cultivars tation to water deficit in chickpea breeding lines by osmoregulation, under drought stress. Crop Sci., v. 29, p. 230–233, 1989.

Cambrollé, J.; Redondo-Gómez, E.; Mateos-Naranjo, T.; Luque, M.E.F. Physiological responses to salinity in the yellow-horned poppy, *Glaucium flavum*. Plant Physiol. Biochem., v.49, p. 186–194, 2011.

Cochard, H.; Cruiziat, P.; Tyree, M.T. Use of positive pressures to establish vulnerability curves. Further support for the air-seeding hypothesis and implications for pressure-volume analysis. Plant Physiology, v.100, p.205–209, 1992.

De Souza, E. R.; Freire, M. B. G. S.; Cunha, K. P. V. da C.; Nascimento, W. A. H.; Ruiz, A.; Lins, C. M. T. "Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress" . Environmental and Experimental Botany, v. 82, p. 20–27, 2012.

Dixon , H. H. , and J. Joly . 1895 . On the ascent of sap. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B, Biological Sciences 186 : 563 – 576 .

Ellouzi, H. ; Ben Hamed, K. ; Cela, J. ; Munné-Bosch, S. ; Abdelly, C.Early effects of salt stress on the physiological and oxidative status of *Cakile maritime* (halophyte) and Arabidopsis thaliana (glycophyte).Physiol. Plant, v.142 , p. 128–143, 2011.

Fanjul, L.; Barradas, V. Diurnal and seasonal variation in thewater relations of same deciduous and evergreen trees in a decidous dry forest of the western Mexico. Jour. of Appl.Ecol.v. 24, p. 289-303, 1987.

Flowers, T.J. ; YeoIon , A.R. Relation of salt tolerance in Baker, J.L. ; Hall, J.L. (Eds.), Solute Transport in Plant Cells and Tissues, Longman Scientific and Technical, Harlow, p. 392–413, 1988.

Flowers, T.J.; Galal, H.K.; Bromham, L. Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants. Functional Plant Biology, v.37, p. 604–612, 2010.

Hasegawa, P.M.; Bressan, R.A.; Zhu, J.K.; Bohnert, H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., v.51, p.463-499, 2000.

Hussin, S.; Geissler, N.; Koyro, H.W. Effect of NaCl salinity on *Atriplex nummularia*(L.) with special emphasis on carbon and nitrogen metabolism. Acta Physiologiae Plantarum, v.35, n.4, p. 1025-1038, 2013.

Kirkhan, M.B. Principles of soil and plant water relations. Boston: Elsevier Academic Press, 2005. 500 p.

Kramer PJ, Boyer JS. Water relations of plants and soils. San Diego: Academic Press.1995, 495p.

Maimaiti, A.; Qiman, Y.; Fumiko, I.; Nobuhiro, M.; Kiyoshi, T.; Norikazu, Y.Effects of salinity on growth, photosynthesis, inorganic and organic osmolyte accumulation in *Elaeagnus oxycarpa* seedling. Acta Physiol Plant, v. 36, p.881–892, 2014.

Munns, R. & Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, v. 59, p.651–681, 2008.

Munns, R. Comparative physiology of salt and water stress.Plant Cell Environ., v.25, p. 239–250, 2002.

Parker, W.C. & Pallardy, S.G.; Hinckley, T.M.; Teskey, R.O. Seasonal changes in tissue water relations of three woody species of the *Quercus-carya* forest type. Ecology, v.63, p.1259-1267, 1982.

Pérez-Pérez, J.G.; Robles, J.C.; Botía, T.P. Response to drought and salt stress of lemon 'Fino 49' under field conditions: water relations, osmotic adjustment and gas exchange. Sci. Hortic., v.122, p. 83–90, 2009.

Rasouli, A. & Kiani-Pouya. Photosynthesis capacity and enzymatic defense system as bioindicators of salt tolerance in triticale genotypes. Flora, v.214, p. 34–43, 2015.

Roderick, M.L.; Canny, M.J. A mechanical interpretation of pressure chamber measurements – what does the strength of the squeeze tell us? Plant Physiology and Biochemistry, v. 43, p.323–336, 2005.

Schollander, R. F.; Hamell. H. T.; Bradstreet, E. D. & Hemmingsen, E. A. Sap pressure in vascular plants. Science, 148: 339-346, 1965.

Silveira, J. A. G.; Viégas, R. A.; Rocha, I. M. A.; Moreira, A. C. D. M.; Oliveira, J. T. A. Proline accumulation and glutamine synthetase activity are increased by salt-induced proteolysis in cashew leaves. J. Plant Physiol., v. 160, p. 115-123, 2003.

Shackel, K. Plant water status as an index of irrigation need in deciduous fruit trees. HortTechnology, v.,n.1, p. 23-29, 1997.

Silva, E.N.; Ferreira-Silva, S.L.; Viégas,R.A.; Silveira, J.A.G. The role of organic and inorganic solutes in the osmotic adjustment of drought-stressed *Jatropha curcas* plants. Environmental and Experimental Botany, v.69, n.3, p. 279–285, 2010.

Silveira, J.A.G. ; Araujo, S.A.M.; Lima, J.P.M.S. ; Viegas, R.A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. Environmental and Experimental Botany, v.66 , p. 1–8, 2009.

Sinclair, R.; Venables, W. N. An alternative method for analyzing pressure–volume curves produced with the pressure chamber. Plant Cell Environ, v. 6, p. 211–217, 1983.

Sleimi, N.; Guerfali, S.; Bankaji, I. Biochemical indicators of salt stress in *Plantago maritima*: implications for environmental stress assessment. Ecol. Indic., v. 48, p. 570–577, 2015.

Smaoui, A.; Barhoumi, Z.; Rabhi, M.; Abdelly, C. Localization of potential ion transport pathways in vesicular trichome cells of *Atriplex halimus* L. Protoplasma, v.248 , p. 363– 372, 2010.

Souza, M. S., Alves, S. S. V., Dombroski, J. L. D., Freitas, J. D. B.; Aroucha, E. M. M. Comparação de métodos de mensuração de área foliar para a cultura da melancia. Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v. 42, n. 2, p. 241-245, 2012.

Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

Touchette, B. W., Smith, G.A.; Rhodes, K.L.; Poole, M. Tolerance and avoidance: Two contrasting physiological responses to salt stress in mature marsh halophytes *Juncus roemerianus* Scheele and *Spartina alterniflora* Loisel. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v. 380, p. 106-112, 2009.

Zhou, Q. & Yu, B.J. Accumulation of inorganic and organic osmolytes and their role in osmotic adjustment in NaCl-stressed vetiver grass seedlings. Russian Journal of Plant Physiology, v. 56, p. 678–685, 2009.

CAPÍTULO 2

TROCAS GASOSAS EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUA SALINA

RESUMO

Investigações sobre trocas gasosas em plantas halófitas apresentam importância devido à habilidade dessas plantas em tolerar estresses salino e hídrico e servirem como modelo para entender os mecanismos envolvidos na tolerância. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a fotossíntese líquida (*A*), condutância estomática (*gs*), transpiração (*E*), Eficiência do uso da água (*EUA*) e razão *Ci/Ca* em *Atriplex nummularia* cultivada em ambiente protegido e irrigada com água salina elaborada com concentrações crescentes de cloreto de sódio: 0, 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1}. Ao final do experimento – 84 dias após o tratamento salino foram realizadas avaliações das trocas gasosas utilizando o equipamento portátil Infra Red Gas Analyzer (IRGA) Li-6400. Avaliou-se ainda a influência da irrigação com água salina por meios de curvas de resposta à variação na intensidade do PAR aos 15 dias após o tratamento salino e aos 84 dias após o tratamento salino para identificar a influência da salinidade na saturação de luz. Ao final do experimento as plantas apresentaram redução nos valores de *A*, *gs*, *E* e na razão *Ci/Ca* quando irrigadas com águas contendo diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1}). A taxa de fotossíntese das plantas diminuiu à medida que aumentou a concentração de sais no solo, no entanto não foram obtidas diferenças significativas entre as plantas expostas aos níveis de 250 e 300 mmol L^{-1} de NaCl. A diminuição da assimilação de CO_2 foi acompanhada pela diminuição da *gs* até o nível de 200 mmol L^{-1} de NaCl. Também foi possível observar que o aumento da salinidade promoveu reduções na taxa de fotossíntese máxima, constante de saturação luminosa, respiração no escuro, ponto de compensação luminoso e eficiência da fotossíntese. Plantas expostas as condições de maior estresse salino demonstraram variação da eficiência do uso da água em razão da variação da concentração de NaCl na água de irrigação, podendo esse ser considerado um mecanismo de tolerância da espécie.

Palavras-chave: Fotossíntese, Condutância estomática, Eficiência do uso da água.

ABSTRACT

Investigations on gas exchange in halophytes have importance due to the ability of these plants to tolerate salt and water stress and serve as a model to understand the mechanisms involved in tolerance. The objective of this research was to evaluate the net photosynthesis (*A*), stomatal conductance (*gs*), transpiration (*E*), water use efficiency (USA) and Ci / Ca in *Atriplex nummularia* grown in protected and irrigated environment with elaborate saline water with increasing concentrations of sodium chloride 0, 50, 100, 200, 250 and 300 mmol L^{-1}. At the end of the experiment - 84 days after saline treatment were conducted assessments of gas exchange using portable equipment Infra Red Gas Analyzer (IRGA) Li-6400. It was also evaluated the influence of irrigation with saline water by means of response curves of the variation in intensity of the PAR 15 days after the salt treatment and after 84 days of salt treatment to identify the influence of salinity on the saturation of light. At the end of the experiment the plants showed a reduction in the values of *A*, *gs*, *E* and Ci / Ca when irrigated with water containing different concentrations of NaCl (0, 50, 100, 200, 250 and 300 mmol L^{-1}). The rate of photosynthesis of plants decreased as increased the concentration of salts in the soil, however no significant differences were found between the plants exposed to levels of 250 and 300 mmol L^{-1} NaCl. The reduction of CO_2 assimilation was accompanied by decrease of gas to the level of 200 mmol L^{-1} NaCl. It was also observed that the increase in salinity promoted reductions in the maximum rate of photosynthesis, constant light saturation, respiration in the dark, light compensation point and photosynthesis efficiency. Plants exposed the conditions of greater salinity stress showed variation in the efficiency of water use due to the variation of the concentration of NaCl in the irrigation water, can this be considered a kind of tolerance mechanism.

Keywords: Photosynthesis, Stomatal Conductance, Water Use Efficiency.

1. INTRODUÇÃO

A diminuição da capacidade fotossintética é muito comum em plantas estressadas (Hussin et al., 2013) principalmente devido a um baixo potencial osmótico da solução do solo (estresse osmótico), e aos efeitos de íons específicos (estresse salino), desequilíbrios nutricionais ou mais comumente, a uma combinação desses fatores (Finkelstein, 2010).

Embora o crescimento da planta seja controlado por uma multiplicidade de processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares, a fotossíntese é um fenômeno chave, que contribui substancialmente para o crescimento e desenvolvimento das plantas. A energia química utilizada nos processos metabólicos é derivada da fotossíntese a partir da conversão da energia luminosa em uma forma química utilizável de energia (Pan et al., 2011; Taiz & Zeiger, 2013).

No entanto, ambientes estressantes, que apresentam limitações associadas à seca e a salinidade, bem como temperaturas extremas, podem interferir consideravelmente no processo de fotossíntese, por promover danos em estruturas de organelas como o cloroplasto e, consequentemente reduzir a concentração de pigmentos fotossintetizantes causando efeitos na fotossíntese (Pan et al., 2011).

Outra consequência fisiológica da exposição das plantas a estresses abióticos está relacionada à diminuição da regulação estomática, que contribui para a redução da atividade fotossintética (Pan et al., 2011).

No processo da fotossíntese dois eventos chaves ocorrem obrigatoriamente: as reações na presença de luz, na qual a energia luminosa é convertida em ATP e NADPH com liberação do oxigênio, e as reações na ausência de luz em que o CO_2 é fixado em hidratos de carbono, utilizando os produtos de reações luminosa ATP e NADPH (Dulai et al., 2011; Taiz & Zeiger, 2013).

O crescimento e diferentes processos de desenvolvimento em plantas dependem da interação de uma série de organelas celulares. O cloroplasto é o local chave para a ocorrência da fotossíntese, no qual tanto reações na presença ou ausência de luz ocorrem (Saravanavel et al., 2011).

No entanto, esta organela é altamente sensível á pressões abióticas, como salinidade do solo, seca, temperaturas extremas, inundações, variação na intensidade da luz, radiação UV, todas estas situações desempenham um papel importante na modulação das respostas ao estresse (Saravanavel et al., 2011).

A regulação da condutância estomática foliar (*gs*) é vital tanto para a prevenção da desidratação quanto para a aquisição de CO_2 (Medici et al., 2007). O fechamento dos estômatos em resposta a seca e ao estresse salino geralmente ocorre devido à diminuição da turgescência foliar, juntamente com sinais químicos gerados pelas raízes (Chaves et al., 2009).

Alterações na taxa fotossintética em virtude da presença em alta concentração de íons tóxicos como cloro e sódio, também podem ser desencadeados. Alguns autores observaram que membranas celulares podem ser muito sensíveis ao estresse salino, quando acumulados nos cloroplastos esses íons podem danificar a membrana dos tilacoides, por exemplo (Omoto et al.,2010; Tayefi & Nasrabadi et al ., 2011).

Mittal et al. (2012) observaram que o transporte de elétrons e a fosforilação são processos que podem ser afetados rápida e irreversivelmente por alta concentração de sais .

As alterações induzidas pela salinidade no conteúdo de clorofila podem estar associadas á diminuição da biossíntese do pigmento associado à degradação acelerada do pigmento, no entanto, durante o processo de degradação da clorofila, a clorofila *b* pode ser convertida em clorofila *a*, resultando assim no aumento do conteúdo de clorofila total (Akram & Ashraf, 2011).

Embora o estresse salino possa reduzir o teor de clorofila, a extensão da redução depende da tolerância ao sal pela planta. Espécies tolerantes podem apresentar aumento no conteúdo de clorofila quando expostas a condições salinas. O aumento do acúmulo de clorofila em plantas cultivadas sob estresse salino tem sido utilizado como marcador bioquímico que indica a tolerância da espécie ao sal (Akram & Ashraf , 2011).

As respostas evidenciadas em plantas pelo estresse salino, muitas vezes é atribuída ao desempenho reduzido da fotossíntese, no entanto os mecanismos de desenvolvimento dessas respostas ainda não foram totalmente elucidados. Entender como esses mecanismos se desenvolvem é fundamental uma vez que o fotossistema II é conhecido por desempenhar um importante papel em termos de resposta a adversidades ambientais (Xu et al., 2010; Akram & Ashraf, 2011).

Plantas do grupo das halófitas podem apresentar aumento da taxa fotossintética quando cultivadas em condições salinas, mas mesmo dentro desse grupo ocorrem espécies que apresentam respostas diferentes à presença de sais (Rabhi et al., 2010). Nesse caso, a avaliação de diferentes espécies é de fundamental importância para o entendimento dessas diferenças.

A *Atriplex nummularia*, por exemplo, é capaz de acumular altos níveis de Na^+ nos tecidos sem apresentar comprometimento da produtividade, podendo ainda ser estimulada por concentrações moderadas de sais (Belkheiri & Mulas, 2013).

As características peculiares dessa espécie tem despertado o interesse de pesquisadores devido à capacidade que essa planta apresenta em se adaptar a condições de seca e salinidade o que a torna uma espécie particularmente valiosa para o uso na reabilitação de áreas degradadas pela salinidade.

No entanto, o uso efetivo dessa espécie na recuperação de áreas degradadas requer um conhecimento profundo de suas características e da capacidade de adaptação. O maior conhecimento dos efeitos da salinidade sobre sistemas importantes da planta como o aparato fotossintético é útil na predição de respostas das plantas à salinidade, tais como assimilação de carbono, regulação estomática e transpiração.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a fotossíntese líquida (*A*), condutância estomática (*gs*), transpiração (*E*), razão *Ci/Ca*, eficiência do uso da água (A/E) e curvas de resposta de luz em *Atriplex nummularia* Lindl. irrigada com água salina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido em ambiente protegido localizado no departamento de agronomia (DEPA), situado na sede do campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Para condução do experimento foram utilizados vasos de polietileno com capacidade para 5L. Os vasos foram preenchidos com uma amostra de Neossolo Flúvico coletado no município de Pesqueira – PE. O local está localizado na fazenda Nossa Senhora do Rosário, cujas coordenadas são 8° 34’11’’ latitude sul e 37°48’54’’ longitude oeste e situa-se a 630 m acima do nível do mar.

De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é BSh (extremamente quente e semiárido), com uma precipitação média anual total de 730 mm e evapotranspiração média anual de referência de 1.683 milímetros. O solo foi coletado na camada de 0-30 cm, transportado para a UFRPE, seco, destorroado e passado em malha de 4 mm para preservação dos microagregados e posterior preenchimento dos vasos. Para caracterização química (Tabela 1) e física do solo (Tabela 2) coletaram-se dez amostras individuais do volume total

do solo e peneirou-se em malha de 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). O valor da caracterização inicial refere-se a uma média de dez amostras.

Tabela 1. Valores médios (n=10) das características químicas do extrato de saturação e do complexo Sortivo do solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.

Extrato de Saturação[1/]							
pH_{es}	CE (dS m^{-1})	Na^+ (mmol L^{-1})	K^+ (mmol L^{-1})	Ca^{+2} (mmol L^{-1})	Mg^{+2} (mmol L^{-1})	Cl^- (mmol $L^{-1)}$	RAS
7,77	2,17	13,26	1,83	3,15	1,36	14,37	8,5
Complexo Sortivo							
pH (1:2,5)	Na^+ ($cmol_c$ kg^{-1})	K^+($cmol_c$ kg^{-1})	Ca^{+2}($cmol_c$ kg^{-1})	Mg^{2+}($cmol_c$ kg^{-1})	SB ($cmol_c$ kg^{-1})	PST (%)	
6,85	1,645	3,7	7,78	1,73	14,85	11,07	

CEes= Condutividade Elétrica do extrato de saturação; SB= Soma de Bases; PST= Porcentagem de Sódio Trocável. n= 10.[1/]USSLS (1954).

Tabela 2. Valores médios (n=10) das características físicas solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.

AF (g kg^{-1})	AG (g kg^{-1})	AT (g kg^{-1})	Silte (g kg^{-1})	Argila (g kg^{-1})	ADA (g cm^{-3})	Ds (g cm^{-3})	Dp (g cm^{-3})	IF (%)	ID (%)	PT (%)
329,79	143,15	433,09	466,04	100,87	50,4	1,51	2,63	50	50	42

ADA= Argila Dispersa em Água; IF= Índice de Floculação; ID= Índice de Dispersão; PT= Porosidade Total. EMBRAPA (1997).

A avaliação da solução do solo foi realizada mediante determinação da condutividade elétrica do extrato de saturação (CE_{es}). Para tal fim foi preparada a pasta de saturação para obtenção do extrato de saturação. No extrato determinou-se o pH, a (CE_{es}) e a osmolalidade. Os valores de osmolalidade obtidos no osmômetro foram convertidos a potencial osmótico (Ψo) a partir do emprego da equação de Van't Hoff (Equação 1) :

$$\Psi_o = - RTC \qquad \textbf{Equação (01)}$$

Onde:

R= Constante geral dos gases (0,00831 kg Mpa mol L^{-1} K^{-1})

T= Temperatura em Kelvin (K)

C= Concentração do soluto (mol kg^{-1})

Ainda no extrato foram determinados os íons solúveis Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} e Cl^-, sendo Na^+ e K^+ determinados por fotometria de emissão de chama, Ca^{2+} e Mg^{2+} por espectrofotometria de absorção atômica e C-Cl^- por titulometria (Embrapa, 1997). A Relação de Adsorção de Sódio (RAS) foi calculada a partir da equação 2:

$$RAS\ (mmol_c\ L^{-1}) = Na^+ / [(Ca^{2+}\ e\ Mg^{2+})/2]\ 0,5 \qquad \textbf{Equação (2)}$$

Para caracterização química do complexo sortivo, foi determinado o pH em água (1:2,5), e os cátions Na^+, K^+, Ca^{2+} e Mg^{2+} extraídos pelo método do acetato de amônio 1 mol L^{-1} a pH 7,0 conforme descrito por Thomas (1982). O sódio e potássio foram determinados por fotometria de emissão de chama e o cálcio e magnésio por espectrofotometria de absorção atômica (USSL & Staff, 1954).

A Capacidade de Troca Catiônica (CTC) foi realizada pelo método acetato de sódio/acetato de amônio. A Percentagem de Sódio Trocável do solo (PST) foi calculada de acordo com a equação 3 de acordo com USSL & Staff (1954).

$$PST = (Na^+/CTC) \times 100 \qquad \textbf{Equação (3)}$$

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso constando de cinco repetições. Os tratamentos aplicados foram águas de irrigação com seis diferentes concentrações de NaCl (0, 50,100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1}).

As plantas cultivadas foram reproduzidas assexuadamente a partir da técnica de estaquia, utilizando como matriz uma única planta, com o objetivo de minimizar a variabilidade genética. As mudas produzidas foram transplantadas para os vasos quando atingiram a idade de dois meses. Durante um período de quinze dias, fase de aclimatação das plantas, a irrigação diária para manutenção da umidade a 80 % da capacidade de pote (θv_{cc} = 0,27 $cm^3 cm^{-3}$), foi administrada com água destilada. O solo contido nos vasos de cada unidade experimental foi mantido durante todo o experimento a 80% da Capacidade de Pote (CP), o que corresponde a 0,27 $cm^3 cm^{-3}$ (referente a um potencial matricial de - 0,1 atm). A irrigação foi precedida sempre no final da tarde utilizando-se de uma balança digital, cuja reposição era

baseada na água perdida por evapotranspiração. A irrigação com as águas salinas foi realizada gradativamente para evitar que as plantas sofressem choque osmótico. A adição de sais foi realizada adicionando 50 mmol L^{-1} de NaCl até que fosse atingida a concentração do respectivo tratamento.

A avaliação da performance ecofisiológica das plantas de *Atriplex nummularia* foi realizada medindo-se a condutância estomática (*gs*), a taxa fotossintética líquida (*A*), a transpiração (*E*), a razão (*Ci/Ca*), e a Eficiência do Uso da Água (*A/E*) por meio de um Analisador Portátil de Gás Infravermelho (IRGA), modelo LICOR Li- 6400 aos 84 dias após o transplantio (DAT). As avaliações das trocas gasosas foram realizadas entre as 8h e 12h.

O sistema foi ajustado para fornecer uma *RFA* de 1200 μmol m^{-2} s^{-1}, temperatura do bloco de 27ºC, umidade relativa do ar de referência variável na faixa de 50 a 60% e a concentração de CO_2 do ar de referência de 400 μmol m^2s^{-1}, a fim de padronizar as condições de leitura.

Também foram avaliadas respostas de assimilação de carbono das plantas quando submetidas a diferentes níveis de *RFA* incidente na superfície foliar. Para isso foi empregada uma variação de *RFA* entre 0 e 2000 μmol fótons m^{-2} s^{-1} (0, 5, 10, 15,25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 1750, 2000) (Figura 1). Essa avaliação foi realizada aos 15 e aos 84 DAT utilizando o mesmo equipamento descrito acima.

Figura 1- Avaliação da taxa fotossintética em folha de *Atriplex nummularia* submetida a diferentes níveis de *RFA* incidente.

Antes da incidência do maior *RFA* a folha foi submetida á aclimatação luminosa a 500 µmol fótons m^{-2} s^{-1} por 5 minutos. A concentração de CO_2, a temperatura do bloco e a umidade relativa do ar empregada foram exatamente as mesmas utilizadas nas medições das trocas gasosas.

Para a construção das curvas de saturação de luz foram selecionadas as plantas mais representativas de cada tratamento. Foram realizadas leituras nas folhas sadias e totalmente expandidas do terço médio. Os valores de *A* foram registrados após o coeficiente de variação apresentar-se menor ou igual a 0,3%, para cada variação de *RFA*. A análise da curva de luz permitiu a determinação da taxa de fotossíntese máxima (*Amáx*), constante de saturação luminosa (*K*), respiração no escuro (*Rd*), ponto de compensação luminoso (*Pcl*), e eficiência da fotossíntese (φ). (Figura 2) (Lambers et al., 1998).

Os valores da taxa de respiração no escuro (*Rd*) utilizados para ajuste da curva foram obtidos quando o *RFA* foi de 0,0 µmol m^{-2} s^{-1}.

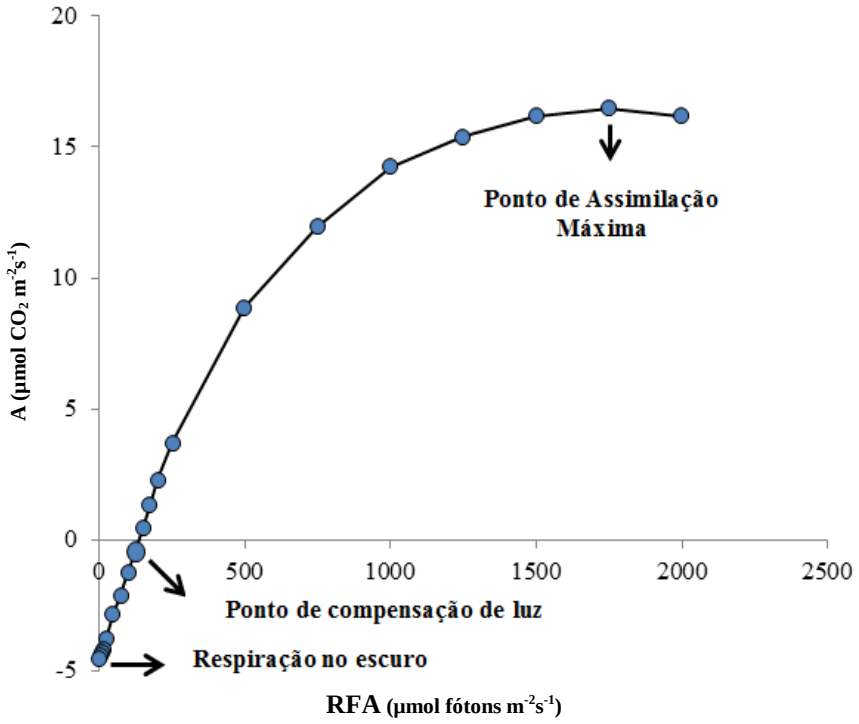

Figura 2- Esquema gráfico de uma curva de assimilação de CO_2 em função de diferentes níveis de *RFA* incidente. As setas indicam a respiração no escuro, o ponto de compensação de luz e o ponto de assimilação máxima.

A análise dos dados da curva foi realizada a partir do Software Statistix 9.0 com os

dados ajustados por meio do modelo de Michaelis-Menten (1913) (Equação 4).

$$A = \frac{Asat\ RFA}{K+RFA} - Rd \qquad \textbf{Equação (4)}$$

Onde:

A= Fotossíntese líquida

Asat = *a* = Taxa fotossintética a máxima saturação por luz (A máx)

K= *b* = Constante de saturação por luz (Definida como ½ do *RFA* saturante)

Rd= *c* = Taxa de respiração

O ponto de compensação luminosa (*Pcl*) foi calculado a partir da (Equação 5):

$$Pcl = \frac{bxc}{a-c} \qquad \textbf{Equação (5)}$$

Para estimar a Eficiência da fotossíntese foi construída uma regressão linear com os pontos correspondentes as taxas fotossintéticas entre 0 e 150 µmol $m^{-2}s^{-1}$, o coeficiente correspondente a variável *RFA* é a inflexão da linha e corresponde a eficiência da fotossíntese (φ).

2.1. Análise de Dados

Os dados de trocas gasosas foram submetidos à análise de regressão. Os parâmetros derivados das curvas de luz foram estimados a partir de equações quadráticas geradas a partir do ajuste dos dados ao modelo Michaelis-Menten utilizando o software Statistix 9.0. Os resultados dos dados de solo foram submetidos à análise de variância (ANAVA). O efeito das variáveis, quando significativos, foram avaliados por meio de ajustes de equações de regressão e teste de comparação de médias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2. Dinâmica das Trocas Gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas, como a fotossíntese, transpiração, condutância estomática e a razão de carboxilação foram fortemente influenciados pelos tratamentos salinos, principalmente nas plantas irrigadas com águas contendo as maiores concentrações de

NaCl.

A assimilação fotossintética das plantas de *A. nummularia* irrigadas com diferentes concentrações de sais proporcionou a observação de um padrão de resposta quadrático das plantas quando expostas a níveis crescentes de NaCl (Figura 3).

Os maiores valores médios observados de assimilação fotossintética de CO_2 foi de 5,15 µmol CO_2 m^2s^{-1} nas plantas controle (0 mmol L^{-1} NaCl). Já os menores valores médios 1,16 µmol m^2s^{-1} foram observados em plantas expostas a maior concentração de NaCl (300 mmol L^{-1}) (Figura 3).

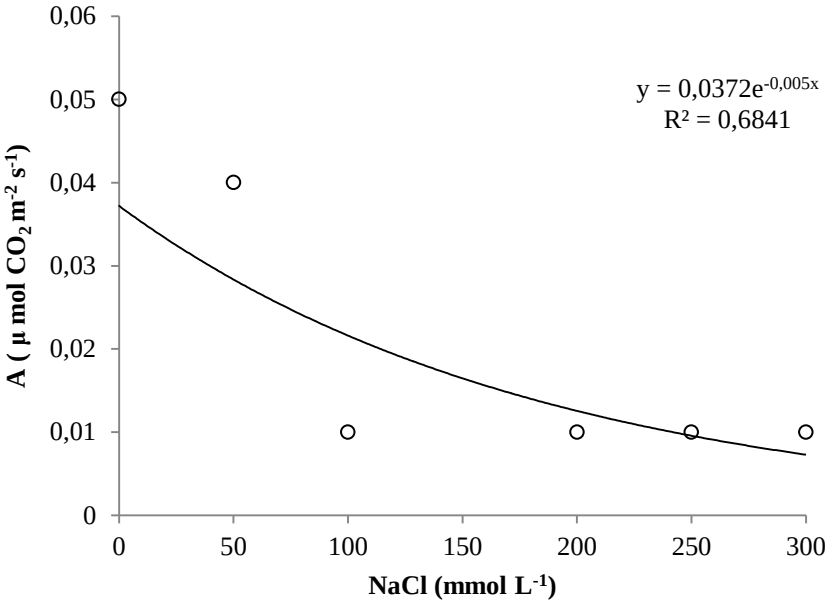

Figura 3- Assimilação fotossintética de CO_2 (A) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 84 dias após o transplantio.

De maneira geral não foram observados altos valores de fotossíntese (Figura 3). Nobel (1991) estabelece que plantas dicotiledôneas de metabolismo C4, quando cultivadas sob condições edafoclimáticas favoráveis (temperaturas amenas, incidência luminosa adequada, disponibilidade de água e nutrientes) e encontram-se fitossanitariamente sadias apresentam taxa fotossintética média equivalente a 17,5 µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$.

Os baixos valores de fotossíntese observados podem ser decorrentes da exposição das plantas a altas concentrações de NaCl (300 mmol L^{-1}) por um tempo relativamente longo (84 DAT) que resultou ao final do experimento em uma condutividade elétrica do extrato de saturação bem superior a da água de irrigação aplicada (Figura 4).

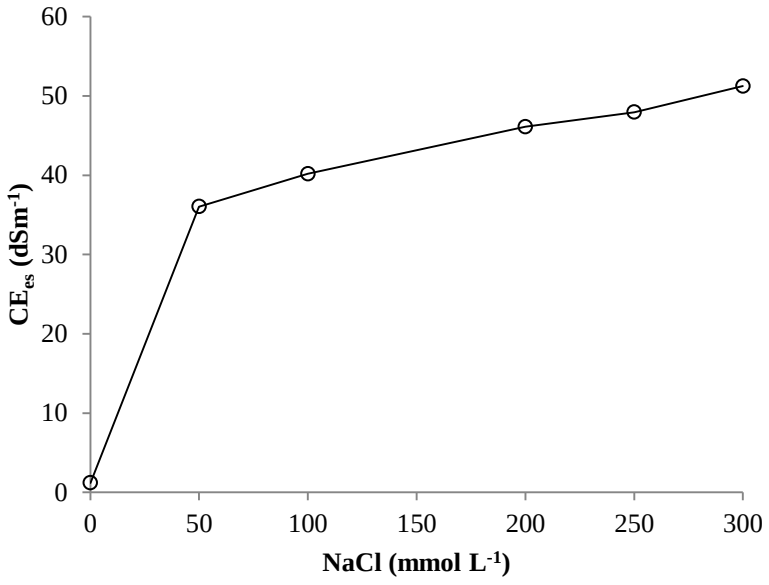

Figura 4- Valores de Condutividade elétrica do extrato de saturação ao final do experimento.

Com relação às plantas controle foram observadas reduções na fotossíntese equivalentes a 41,36 %, 60,58%, 67,38 %, 76,89 % e 77,46 % nos níveis 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1} de NaCl, respectivamente (Figura 3).

Bazihizina et al. (2012) observaram que plantas de *A. nummularia* submetidas a irrigação com água salina e apresentando salinidade uniforme na zona radicular apresentaram diminuição da taxa de fotossíntese líquida, quando a concentração de NaCl no solo foi equivalente a 1500 mmol L^{-1}.

Redução das taxas fotossintéticas em virtude do aumento da salinidade provavelmente é uma consequência do fechamento dos estômatos, levando a uma redução substancial na difusão de CO_2 para os sítios de carboxilação (Geissler et al. 2009). Esta interpretação é apoiada pela correlação linear entre fotossíntese líquida (*A*) e a condutância estomática (*gs*) Figura 5.

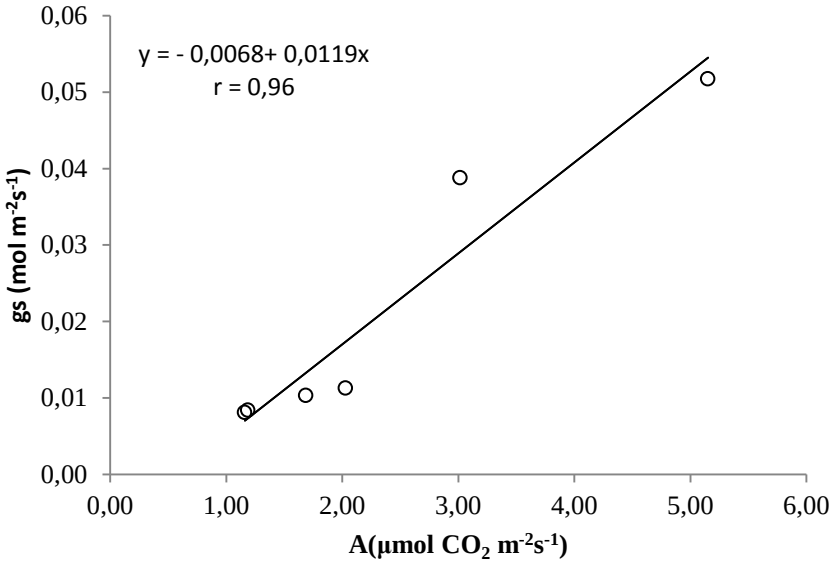

Figura 5- Correlação entre taxa fotossintética e condutância estomática em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas.

A diminuição da fotossíntese em altas salinidades pode também prejudicar a capacidade bioquímica e fotoquímica das folhas (Sobrado, 2005). Isto pode ocorrer devido a uma inibição (síntese ou atividade) de várias enzimas relacionadas com a fotossíntese, tais como a Rubisco (Rivelli et al., 2002).

Esse tipo de alteração também pode ser explicada por desequilíbrios iônicos provocados pelo excesso de íons Na^+ e Cl^- nas células que pode levar à carência de íons, como o potássio e à promoção de fitotoxidez por íons fitotóxicos (Abogadallah, 2010).

Finkelstein (2010) ressalta que a carência do íon potássio, promovida por desequilíbrios iônicos decorrentes do excesso de íons Na^+ e Cl^-, pode levar a planta a demonstrar distúrbios no maquinário fotossintético visto que esse elemento é reconhecido como um cofator essencial para a ativação de muitas enzimas e por desempenhar um importante papel na manutenção da turgescência e no controle da abertura estomática.

Limitações na condutância estomática, com subsequente redução das taxas de fotossíntese e de transpiração podem ser consideradas como mecanismos de adaptação da planta para lidar com o estresse salino imposto (Benzarti et al., 2012).

Condições de alta salinidade afetam fortemente a fotossíntese líquida, a condutância estomática, transpiração e eficiência do uso da água (Koyro, 2006; Naidoo et al., 2011) .

A diminuição da atividade fotossintética com o aumento da salinidade também foi

observada em várias outras plantas halófitas, por exemplo, A. *portulacoides*, *Halimione* e *Sarcornia fruticosa*, *Glaucium flavum*, *R. marina*, tal deficiência leva ao acúmulo de energia e, consequentemente à produção de espécies reativas do oxigênio (Cambrollé et al.,2011; Naidoo et al., 2011; Duarte et al., 2013).

Algumas espécies também podem apresentar diminuição na concentração de pigmentos fotossintéticos em função do aumento da salinidade (Cambrollé et al., 2011). A atividade fotossintética foliar depende de algumas características fisiológicas, tais como o teor de clorofila, a atividade enzimática e a eficiência do fotossistema II (Bowes, 1991). Estes parâmetros, no entanto, mostram respostas diferentes em plantas expostas à salinidade, e variam de acordo com a espécie, a concentração de sal aplicada, e a duração do período de tratamento.

O maior impacto da salinidade sobre a fotossíntese parece ter sido promovido devido ao aumento da regulação estomática, repercutindo em baixas concentrações de CO_2 no interior das células (Figura 6). Esses resultados estão coerentes com o observado por Benzarti et al (2014).

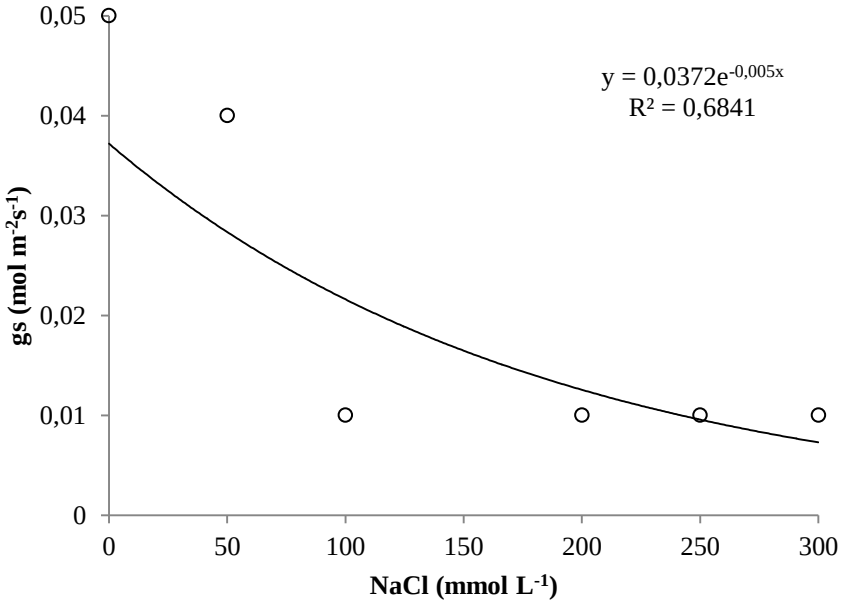

Figura 6- Condutância estomática (gs) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 84 dias após o tratamento salino.

A condutância estomática (Figura 6), assim como a assimilação de carbono apresentou redução à medida que houve incremento de NaCl no solo. Os valores médios oscilaram entre 0,052 mol $m^{-2}s^{-1}$ e 0,01 mol $m^{-2}s^{-1}$, correspondendo as plantas controles e as expostas as concentrações de 200, 250 e 300 mmol L^{-1} de NaCl (Figura 6). Foram observadas

reduções equivalentes a 36,54%, 80,76%, 82,7% e 86,54%, nas plantas expostas aos tratamentos 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1} de NaCl quando comparadas às plantas controle (0 mmol L^{-1}), respectivamente (Figura 6).

Reduções na condutância estomática com maior eficiência do uso da água podem ser decorrentes também da diminuição da densidade estomática em plantas submetidas à salinidade conforme observado por Orsini et al. (2011) e Shabala et al. (2012).

Resultados semelhantes foram obtidos por Benzarti et al.(2012) em estudos com plantas de *A. portulacoides* submetidas a irrigação com águas salinas. Para concentrações de 700 mmol L^{-1} os autores observaram condutância equivalente a 0, 05 mol $m^{-2}s^{-1}$. A redução da condutância estomática em plantas expostas as maiores concentrações salinas, sugere que as plantas acionam o fechamento estomático para evitar a desidratação.

Bazihizina et al. (2012) avaliando o efeito da salinidade heterogênea na zona radicular de plantas de *A. nummularia* também notaram redução na condutância estomática das plantas quando estas foram expostas a condições uniformes de salinidade no solo.

Eisa et al. (2012) avaliando mecanismos de tolerância à salinidade na halófita (*Chenopodium quinoa* Wild), observaram que plantas irrigadas com água apresentando concentração de 500 mmol L^{-1} de NaCl apresentaram redução na condutância estomática, que foi acompanhada por redução na taxa transpiratória.

A comprovação do fechamento estomático foi observada pelos autores a partir da micrografia eletrônica de varredura. A partir das imagens era possível ver claramente que as plantas controle apresentam a cavidade estomática aberta, ao passo que as plantas submetidas à irrigação com água contendo 500 mmol L^{-1} apresentaram oclusão praticamente total do ostíolo, demonstrando o quão impactante pode ser o estresse salino no metabolismo das plantas.

Hussin et al. (2013) também observaram diminuição da condutância estomática com o aumento do NaCl na água de irrigação, no entanto em proporções bem menores a observada nesse estudo. Possivelmente as diferenças tenham sido em função das diferentes condições de temperatura durante a condução dos experimentos.

No presente estudo foi verificada uma alta correlação linear (r = 0,99) entre os decréscimos da condutância estomática e os da transpiração (Figura 7) demonstrando que esses eventos ocorrem de maneira coordenada.

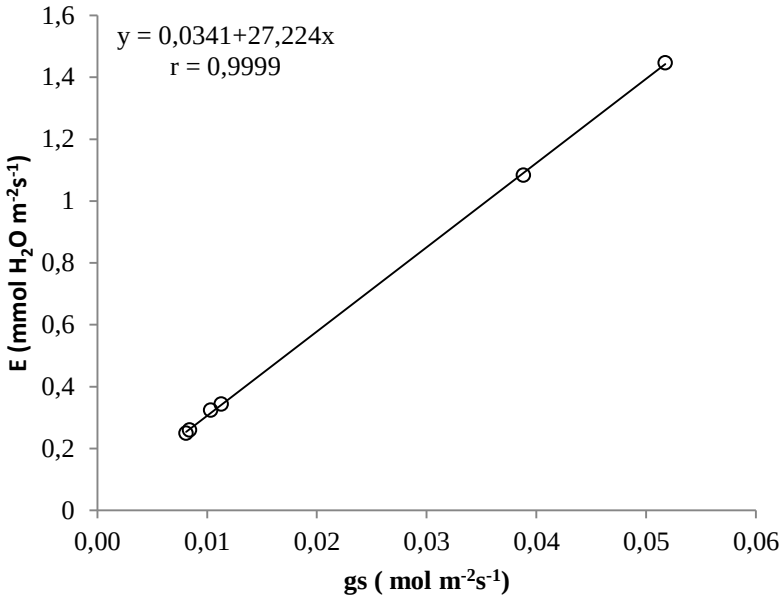

Figura 7 – Correlação entre condutância estomática e transpiração em plantas de *Atriplex nummularia* irrigada com águas salinas.

Sabra et al. (2012) avaliando o efeito do estresse salino na condutância estomática de plantas de *Echinacea pallida* perceberam que o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação promoveu diminuição da condutância estomática. Os autores observaram no tratamento de 100 mmol L^{-1} de NaCl condutância equivalente a 0,05 mol $m^{-2}s^{-1}$. Resultados semelhantes de condutância estomática foram observadas no presente trabalho em plantas de Atriplex, nesse caso os valores oscilaram de 0,05 mol $m^{-2}s^{-1}$ nas plantas controle a 0,01 mol $m^{-2}s^{-1}$ nos demais tratamentos (Figura 6).

Rhabi at al. (2012) avaliando a resposta de *Tecticonia indica* à salinidade observaram que quando as plantas eram irrigadas com água apresentando 400 mmol L^{-1} de NaCl as plantas exibiam menores valores de fotossíntese (2 μ mol CO_2 m^{-2} s^{-1}), condutância estomática (0,02 mol H_2O $m^{-2}s^{-1}$) e maior eficiência do uso da água (3). Resultados semelhantes foram obtidos em *A. nummularia* no referido estudo (Figuras 3, 6 e 10).

Para o parâmetro transpiração, de maneira geral, observou-se redução com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação (Figura 8).

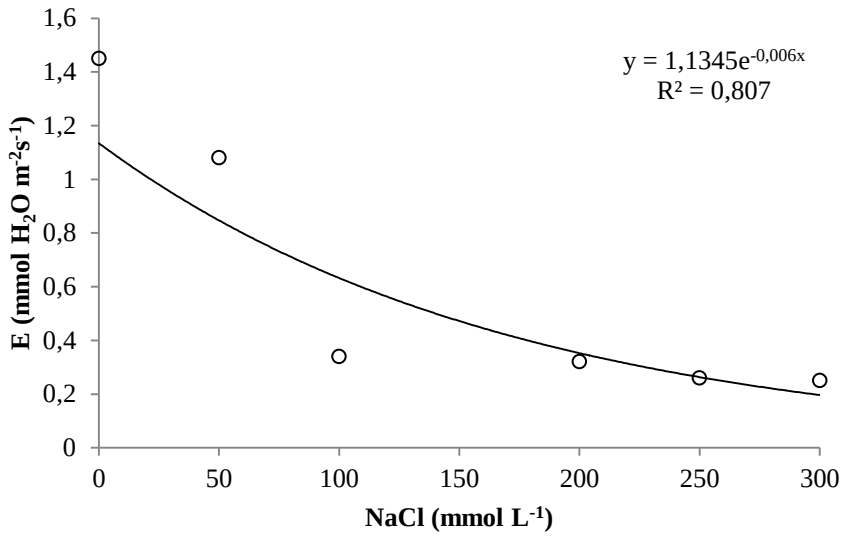

Figura 8- Efeito da irrigação com água salina na Transpiração (E) de plantas de *A. nummularia* aos 84 dias após o tratamento salino.

A diminuição da transpiração em plantas de *Atriplex nummularia* acompanhou a redução da condutância estomática (Figura 6).

Boyer et al. (1997) observaram que uma quantidade substancial de água (aproximadamente 28%) é evaporada na folha a partir da cutícula. Essa transpiração cuticular é concentrada em volta dos estômatos em virtude do maior tamanho e número de poros cuticulares.

Respostas de plantas que evidenciam a minimização da perda de água por transpiração é um mecanismo típico observado em espécies de plantas resistentes à salinidade (Naidoo, 2010).

A diminuição da transpiração em plantas que se desenvolvem em ambientes que apresentam altas concentrações é importante por evitar a desidratação foliar causada pelo efeito osmótico da salinidade (Davies et al., 2005).

Quando plantas são submetidas a condições de estresse salino uma resposta imediata para impedir o acúmulo em níveis tóxicos de elementos como o sódio na célula é a redução do fluxo transpiratório, no entanto, tal evento pode afetar negativamente a fotossíntese em virtude da diminuição de fotoassimilados, sendo esse fato resultado do fechamento estomático (Praxedes et al., 2010).

De acordo com Sinclair & Ludlow (1986), condições ambientais que possam levar as plantas à desidratação, seja por restrição hídrica causada pelo volume restrito de água ou em virtude da diminuição do volume disponível decorrente do aumento da pressão osmótica,

podem levar a planta a atravessar três estágios durante o período de desidratação.

No primeiro estágio a planta mantém a taxa transpiratória até haver uma redução de 50 % no volume de água requerido. Já no segundo estágio as plantas acionam o fechamento estomático devido a redução do volume de água disponível. No terceiro estágio as plantas já estão seriamente afetadas pelo déficit hídrico e acionam o fechamento completo dos estômatos.

Hussin et al. (2013) sugerem que devido a rusticidade da *A. nummularia* e a capacidade da espécie de resistir a alterações ambientais é possível que essas halófitas possam alterar seu metabolismo fotossintético afim de melhor suprir suas necessidades metabólicas. As plantas podem diminuir a transpiração por meio da ativação do fechamento estomático. Esta resposta estomática pode ser regulada pela raiz, via sinalização celular à medida que diminui a energia livre da água devido à presença de sais (Davies et al., 2005).

Benzarti et al. (2012) avaliando a resposta de plantas de *A. portulacoides à* salinidade observaram que a taxa de fotossíntese, condutância e transpiração declinou significativamente em concentrações de sais superiores a 200 mmol L^{-1} de NaCl.

Para os autores a redução da abertura estomática em resposta ao aumento da salinidade pode evitar a perda de água por meio da transpiração podendo ser um mecanismo adaptativo da espécie ao invés de uma mera consequência da salinidade.

Para Benzarti et al. (2012), a regulação na taxa de transpiração tem um papel importante no controle do acúmulo de íons na parte aérea visto que o transporte de sais ocorre por meio de fluxo transpiratório.

Huang at al. (2014) trabalhando com plantas de Rami (*Boehmeria nivea* L) também observaram diminuição gradativa da fotossíntese, transpiração e condutância estomática em relação às plantas controle em plantas irrigadas com água apresentando maiores concentrações de NaCl.

Com relação a razão entre a concentração interna e a concentração ambiente de CO_2 foi possível observar que esse parâmetro oscilou entre 0, 28 μmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$ a 0,58 μmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$ nas concentrações 100 e 0 mmol L^{-1} de NaCl, respectivamente (Figura 9).

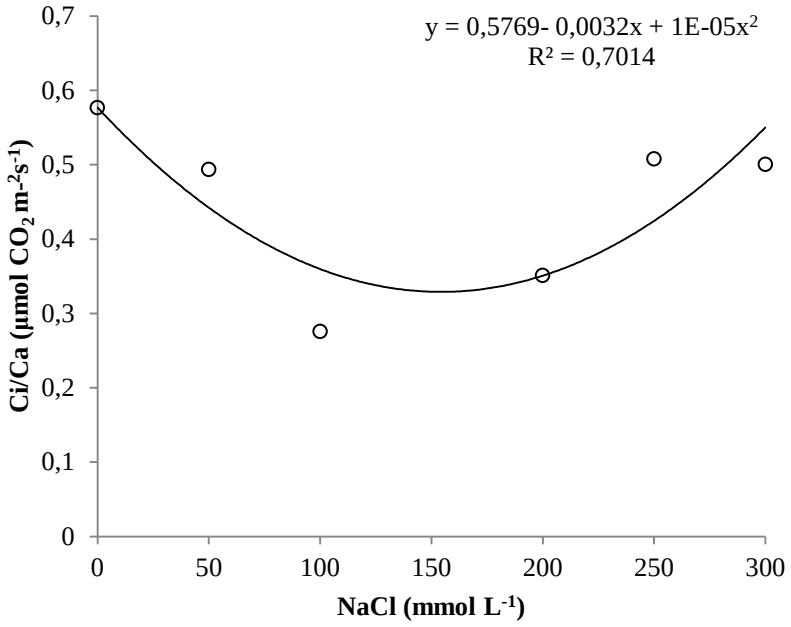

Figura 9- Razão entre concentração interna e ambiente de CO2 (Ci/Ca) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 84 dias após o tratamento salino.

Os valores médios dessa variável decresceram até a concentração de 100 mmol L^{-1} de NaCl, e posteriormente com o aumento da concentração de NaCl no solo voltou a crescer até a concentração máxima de 300 mmol L^{-1} onde atingiu o valor médio equivalente a 0,58 µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$ (Figura 9).

Resultados similares de razão *Ci/Ca* foram observados por Hussin et al. (2013) em plantas de *A. nummularia*. Os autores observaram queda de 0,50 µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$ nas plantas controle para 0, 22 µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$ nas plantas irrigadas com água contendo 750 mmol L^{-1} de NaCl.

Eisa et al. (2012) também observaram respostas semelhantes em plantas de Quinoa irrigadas com águas salinas. Os resultados observados pelos autores variaram de 0, 60 µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$ nas plantas controle a 0,18 µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$ nas plantas irrigadas com águas salinas apresentando 500 mmol L^{-1} de NaCl.

Segundo Ashraf (2001), a redução na relação *Ci/Ca* é normal em populações arbóreas submetidas a condições de estresse. Baixos valores de *Ci/Ca* implicam em grandes limitações estomáticas da fotossíntese e maior conservação da planta em relação ao uso da água (Rehem, 2006). Considera-se que a relação *Ci/Ca* seja um indicador apropriado para a avaliação da limitação estomática da fotossíntese (Farquhar & Sharkey, 1982).

Noreen et al. (2012), avaliando a tolerância à salinidade em cultivares de rabanete

irrigados com águas contendo 0, 80 e 160 mmol L^{-1} de NaCl também notaram redução da razão *Ci/Ca*. Na investigação conduzida pelos autores observou-se redução linear desse parâmetro até o tratamento 100 mmol de NaCl na água de irrigação, no entanto plantas irrigadas com águas apresentando concentração superior a essa concentração apresentaram razão *Ci/Ca* maiores.

Díaz-López et al. (2012) avaliando o efeito de doses de 0 a 150 mmol L^{-1} de NaCl em plantas de *J. curcas* observaram que nas concentrações mais baixas houve decréscimo na razão *Ci/Ca* e que a medida que aumentou a exposição das plantas aos sais houve aumento do parâmetro, semelhante ao observado nessa pesquisa com *Atriplex nummularia.*

Huang et al. (2014) também observaram aumento na eficiência do uso da água, como também notaram que o CO_2 intercelular diminuiu até as concentrações moderadas de sais e aumentou nas maiores concentrações de NaCl.

A eficiência do uso da água é obtida a partir da razão entre a taxa de assimilação de CO_2 e a transpiração, e é definida como a quantidade de água evapotranspirada pela planta para a produção de matéria seca. Nas avaliações realizadas ao final do experimento (84 DAT) foi possível observar que a eficiência do uso da água aumentou até a concentração 100 mmol L^{-1} de NaCl e depois apresentou queda, no entanto o valor médio correspondente ao maior nível de salinidade foi superior ao observado nas plantas controle (Figura 10).

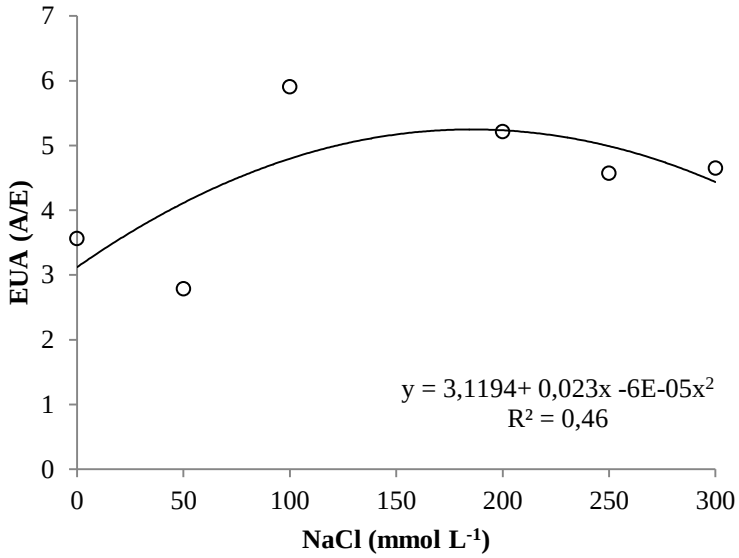

Figura 10 – Eficiência no uso da água (A/E) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas salinas aos 84 dias após o tratamento salino.

Os valores médios variaram de 2,78 nas plantas irrigadas com água contendo 50 mmol L^{-1} de NaCl para 5,91 nas plantas irrigadas com soluções cuja concentração de NaCl

era equivalente a 100 mmol L^{-1} (Figura 10).

A Figura 10 mostra que a eficiência no uso da água foi alterada a partir do incremento das concentrações de NaCl na água de irrigação e que os valores médios apresentam um comportamento quadrático.

É possível notar que a eficiência no uso da água aumenta até o tratamento 100 mmol de NaCl, e a partir da concentração 200 mmol L^{-1} de NaCl volta a cair a medida que aumenta a concentração de NaCl na água de irrigação (Figura 10).

Benzarti et al.(2014) obteve resultados semelhantes em avaliações com plantas de *A. portulacoides*, para o autor o maior impacto da salinidade parece ser causado em virtude da regulação da condutância estomática e suas implicações na concentração interna de CO_2.

Hussin et al.(2013) avaliando o efeito da salinidade em planta de *A. nummularia* observaram valor máximo de 6,75 nas plantas irrigadas com água apresentando 750 mmol L^{-1} de NaCl e 3,26 nas plantas controle. Em nosso trabalho observamos no tratamento 300 mmol L^{-1} de NaCl *EUA* de 4,65, sendo o maior valor (5,91) observado em plantas irrigadas com água apresentando 100 mmol L^{-1} de NaCl e o menor (2,78) observado em plantas irrigadas com água apresentando 50 mmol L^{-1} de NaCl (˜ 321, 34 mmol L^{-1} de NaCl).

Eisa et al. (2012) ao estudar o efeito de diferentes concentrações de NaCl na água de irrigação sobre o maquinário fotossintético de plantas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) observaram que o aumento da salinidade aumentou a *EUA*. Os menores valores observados (3,16) pelos autores foram nas plantas irrigadas com água apresentando 200 mmol L^{-1} de NaCl e os maiores (6,34) foram observados em plantas irrigadas com água contendo 500 mmol L^{-1} de NaCl.

A diminuição na condutância estomática (Figura 6) pode ter resultado na melhor eficiência do uso da água, que segundo (Maimaiti et al., 2014) é frequentemente associada a capacidade que a espécie apresenta de resistir a altas salinidades, se configurando dessa maneira como um indicador de resistência.

A produção de biomassa em condições de salinidade depende, principalmente, da capacidade da planta em manter alta a fotossíntese líquida com perda mínima da eficiência do uso da água (*EUA*) e do consumo de energia (Naidoo et al., 2011; Álvarez et al., 2012).

Um ponto crítico para a planta é alcançado se a fixação de CO_2 for inferior à liberação de CO_2 (ponto de compensação), portanto, é necessário estudar a relação entre a redução do crescimento e a fotossíntese líquida (Häusler et al., 1999; Schulte et al., 2003; Campbell et al., 2005).

3.3. Curvas de Luz

A avaliação das respostas do aparato fotossintético obtidas por meio de curvas de luz realizadas nas plantas aos 15 DAT demonstraram que apesar do pouco tempo de exposição ao estresse as concentrações de NaCl foram altas o suficiente para promover reduções na fotossíntese máxima, na constante de saturação luminosa, na respiração no escuro e no ponto de compensação luminoso (Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros obtidos a partir das equações geradas das curvas de Luz.

NaCl (mmol L^{-1})	Amáx (µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)	K (µmol $m^{-2}s^{-1}$)	Rd (µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)	Pcl (µmol $m^{-2}s^{-1}$)	φ (µmol $m^{-2}s^{-1}$)
0	38,723	691,89	5,9905	126,625	0,03548
50	29,263	512,18	4,8685	102,22	0,03339
100	29,005	562,28	5,1810	122,28	0,03350
200	22,668	284,42	5,5197	91,48	0,03993
250	16,27	242,16	4,566	94,47	0,03184
300	20,955	293,36	3,938	67,89	0,03834

A máx= Fotossíntese máxima; K= Constante de saturação luminosa; Rd= Taxa de respiração; Pcl= Ponto de compensação luminosa; φ = Eficiência da fotossíntese correspondente a avaliação 15 dias após o início do tratamento salino.

As respostas das plantas à variação de diferentes níveis de *RFA*, avaliadas aos 15 dias após o início da irrigação com águas salinas permitiu observar que independente da disponibilidade de luz em que se encontravam as plantas, houve uma queda acentuada da fotossíntese máxima (*A máx*) a partir do tratamento 200 mmol L^{-1} de NaCl (Figura 11).

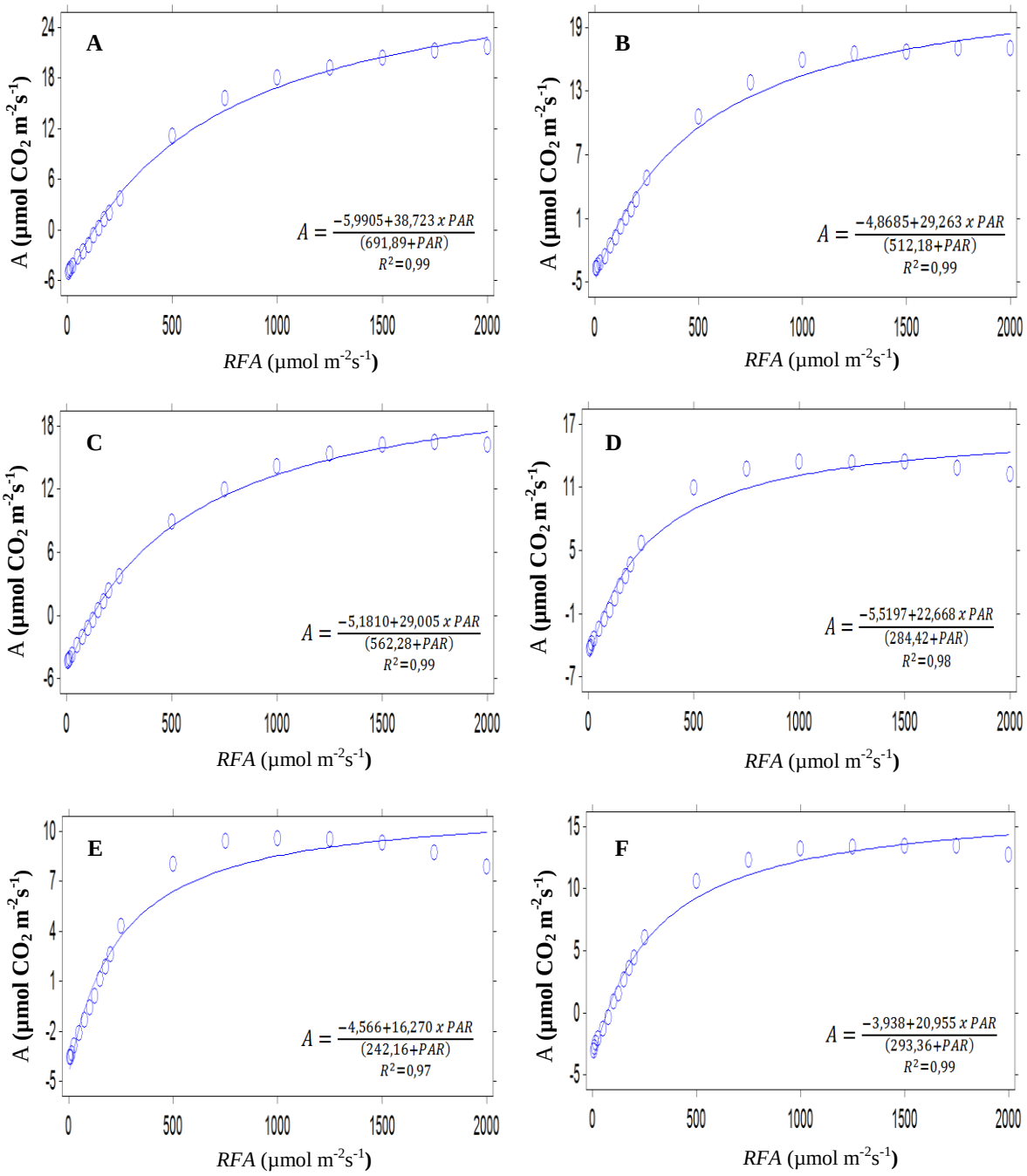

Figura 11 – Curvas de Assimilação de CO2 em função da intensidade de Radiação Fotossinteticamente Ativa (*RFA*) em plantas de *Atriplex nummularia* submetidas a irrigação com águas apresentando diferentes concentr ações de NaCl. A- Plantas controle (0 mmol L^{-1} de NaCl);B-50 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;C-100 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;D-200 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;E-250 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;F-300 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação 15 dias após o início do tratamento salino.

Já as plantas submetidas ao estresse prolongado de 84 DAT, demonstraram redução

acentuada da *A máx* em plantas irrigadas como águas apresentando concentração de NaCl equivalente a 50 mmol L^{-1} (Figura 12)

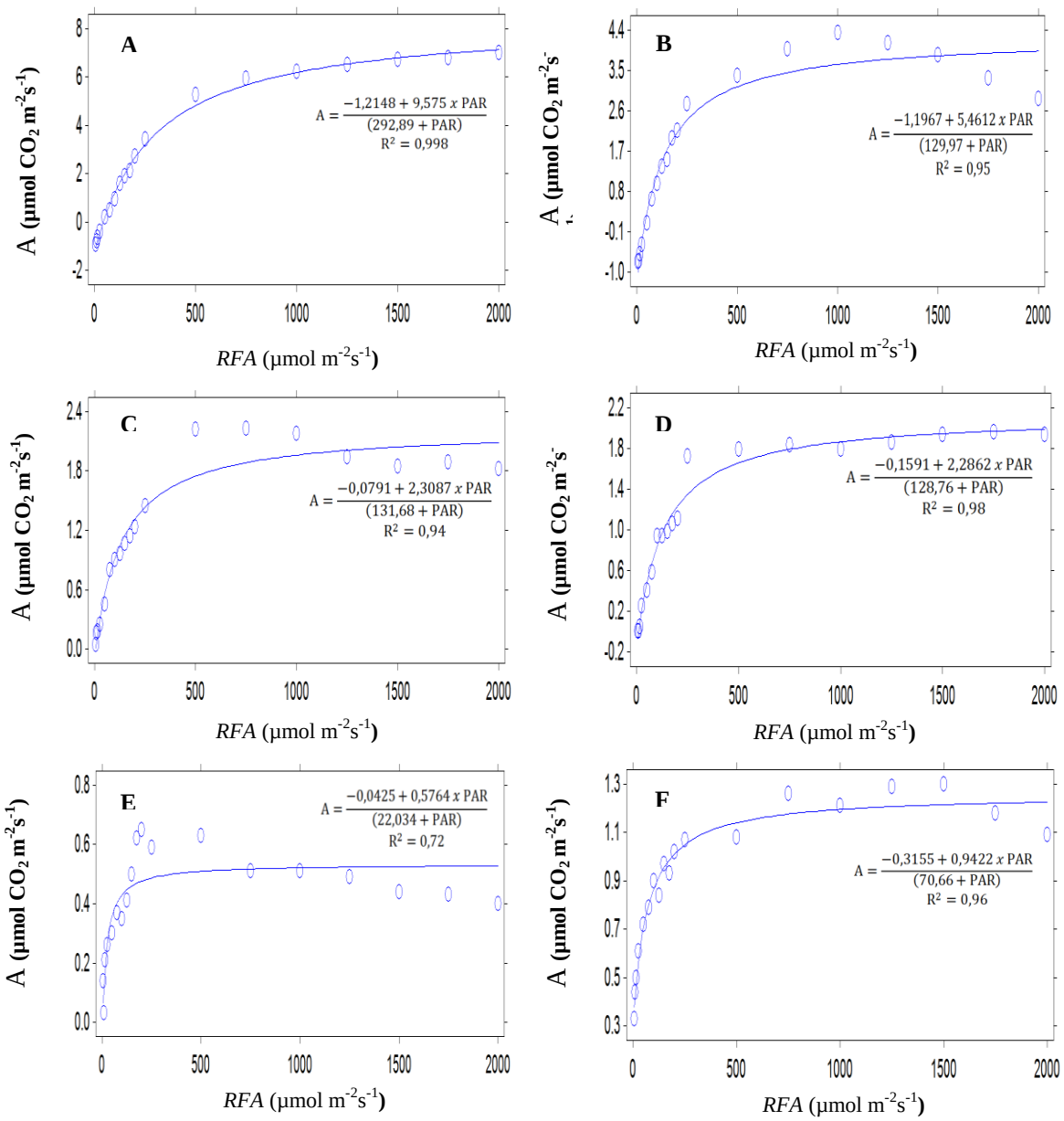

Figura 12 – Curvas de Assimilação de CO2 em função da intensidade de Radiação Fotossinteticamente Ativa (*RFA*) em plantas de *Atriplex nummularia* submetidas a irrigação com águas apresentando diferentes concentrações de NaCl.A-Plantas controle (0 mmol L^{-1} de NaCl);B-50 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;C-100 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;D-200 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;E-250 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação;F-300 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação avaliado 84 dias após o início do tratamento salino.

Murchie & Niyogi (2011), alertam que nem sempre uma redução em *A máx* será decorrente da fotoinibição do fotossistema II, na verdade muitas reduções dessa variável podem ser promovidas por processos que não estão diretamente associados ao FSII, como o fechamento dos estômatos ou a inativação da rubisco.

Em condições ambientais as plantas estão sujeitas a uma enorme variedade de fatores que limitam a taxa fotossintética, como resultado direto a luz pode ser frequentemente superior ao necessário para assimilação de CO_2 implicando em respostas fotoprotetoras para evitar a fotoinibição grave (Murchie & Niyogi, 2011).

Com relação à respiração das plantas no escuro, notou-se que as plantas avaliadas aos 15 DAT experimentaram pouca ou nenhuma redução desse parâmetro. No entanto quando avaliadas aos 84 DAT esse parâmetro exibiu uma grande redução já a partir da concentração 50 mmol L^{-1} (Tabelas 3 e 4).

Tabela 4– Parâmetros obtidos a partir das equações geradas das curvas de Luz.

NaCl (mmol L^{-1})	Amáx (µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)	K (µmol $m^{-2}s^{-1}$)	Rd (µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)	Pcl (µmol $m^{-2}s^{-1}$)	φ (µmol $m^{-2}s^{-1}$)
0	9,57	292,89	1,21	42,56	0,02
50	5,46	129,97	1,196	36,47	0,0168
100	2,3	131,68	0,079	4,67	0,0078
200	2,29	128,76	0,159	9,63	0,0075
250	0,58	22,034	0,0425	1,75	0,000245
300	0,94	70,66	0,3155	35,57	0,00427

Amáx= Fotossíntese máxima; K= Constante de saturação luminosa; Rd= Taxa de respiração; Pcl= Ponto de compensação luminosa; φ = Eficiência da fotossíntese correspondente avaliados aos 84 dias após início do tratamento salino.

Os valores individuais da fotossíntese líquida (*A*) de cada planta se ajustam muito bem ao modelo matemático hiperbólico, com cerca de 90 % da variação observada podendo ser explicada pelo modelo (R^2> 0,9) em todas as plantas avaliadas aos 15 DAT. Uma ligeira diminuição no coeficiente de determinação foi visualizada apenas na planta irrigada com água apresentando concentração de 250 mmol L^{-1} de NaCl avaliada aos 84 DAT (R^2=0,72) (Figuras 10 e 11).

Plantas irrigadas com águas contendo altas concentrações de sais exibiram menor constante de saturação luminosa e os valores variaram de 691,89 µmol $m^{-2}s^{-1}$ nas plantas controle a 242,16 µmol $m^{-2}s^{-1}$ nas plantas irrigadas com água contendo 250 mmol L^{-1} de NaCl. Esses valores foram percebidos na avaliação realizada nas plantas aos 15 DAT (Tabela 3). Valores bem inferiores foram observados na avaliação aos 84 DAT, sendo o maior valor

observado nas plantas controle 42.56 µmol $m^{-2}s^{-1}$ e o menor 1,75 µmol $m^{-2}s^{-1}$ observado nas plantas irrigadas com água contendo 250 mmol L^{-1} de NaCl (Tabela 4).

Em ambos os casos os resultados demonstram claramente que a taxa de fotossíntese independe do pulso de luz saturante incidente na superfície foliar e que as respostas de desempenho fotossintético resultam do aumento da concentração de NaCl na água de irrigação.

Os resultados demonstram que o excesso de sódio na água de irrigação pode ter sido o responsável pela degradação da membrana dos tilacoides refletida na diminuição da clorofila, resultados semelhantes foram observados por Geissler et al. (2009).

Eisa et al. (2012) avaliando o efeito de diferentes concentrações de NaCl (0, 100, 200, 300, 400 e 500 mmol L^{-1}) em plantas de Quinoa observaram que a redução da concentração da clorofila *b* foi acompanhado pelo aumento da clorofila *a* e resultou e resultou em uma diminuição da eficiência da fotossíntese em plantas estressadas.

Nas avaliações aos 15 DAT as plantas não demonstraram diminuição na eficiência da fotossíntese, no entanto a exposição prolongada das plantas à irrigação observada aos 84 DAT levou a diminuição da eficiência da fotossíntese inclusive nas plantas controle, demonstrando que a diminuição desse parâmetro pode ter sido provocada por outros fatores, como as altas temperaturas do ambiente protegido ou em virtude do tamanho do vaso que pode ter atuado como um fator de estresse. Outro fato que pode ter levado à redução da eficiência fotossintética nas plantas foi o aumento da condutividade elétrica do extrato de saturação (Tabela 5).

Tabela 5- Características químicas do solo ao final do experimento.

	Extrato de Saturação							
	CE	**pH**	**Ψo**	**Na+**	**K^+**	**Ca^{2+}**	**Mg^{2+}**	**Cl^-**
	--dS m^{-1}--		**--MPa--**	**----------mmol $_c$ L^{-1}----------**				
NaCl (mmol L^{-1})								
0	1,18	7,624	-0,71	14,23 A	0,42 C	6,80 A	4,42 C	14,16 F
50	36,03	6,638	-24,85	581,49 C	2,18 B	43,49 B	87,69B	682,50 E
100	40,17	6,584	-30,06	768,02 D	2,03 B	84,15 A	118,52 A	840,63 D
200	46,11	6,29	-41,91	998,72 A	3,24 B	80,11 A	116,15 AB	1143,75 BC
250	47,95	6,246	-44,96	1147,42 A	4,12 AB	89,92 A	116,84 AB	1241,67 B
300	51,23	6,244	-51,41	1132,17 A	3,80 AB	86,80 A	120,12 A	1575,00 A

*Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade entre os tratamentos.

Ainda assim foi possível observar entre as plantas estressadas e as plantas controle avaliadas aos 84 DAT uma forte redução da eficiência fotossintética, demonstrando que o aumento do NaCl na água de irrigação foi outro fator de promoção da diminuição da eficiência da fotossíntese.

Eisa et al. (2012) também observaram diminuição na eficiência fotossintética(φ) em função do aumento da concentração de NaCl na água de irrigação. Os autores atribuem essa redução á produção de espécies reativas do oxigênio (EROS), como consequência tem-se uma redução do fluxo de elétrons através do fotossistema.

Assim como observado por Hussin & Koyro (2012) também percebeu-se no presente estudo em ambos os tempos de avaliação que o ponto de compensação de luz (Pcl) diminuiu com o aumento de NaCl na água de irrigação. Para o autor isso pode ser decorrente do maior estímulo da respiração, da biossíntese de solutos compatíveis e pode ser um mecanismo de adaptação da planta para lidar com o estresse.

4. CONCLUSÕES

1- Os tratamentos salinos promoveram diminuição progressiva da taxa fotossintética em todas as plantas, no entanto as plantas irrigadas com águas apresentando maiores concentrações de NaCl exibiram os menores valores;

2- A diminuição da transpiração com o aumento da concentração do NaCl na água de irrigação apresentou forte correlação com a diminuição na condutância estomática demonstrando uma elevada correlação entre as variáveis;

3- O aumento da eficiência do uso da água em plantas mais estressadas revela a habilidade da espécie em se adaptar a condições adversas;

4- A avaliação aos 15 dias após o tratamento salino da eficiência fotossintética por meio de curvas de luz não revelou qualquer alteração da variável. No entanto, a avaliação aos 84 dias após o tratamento mostrou uma queda acentuada da eficiência fotossintética em função do acúmulo de sais ao longo do desenvolvimento do estudo.

5. REFERÊNCIAS

Abogadallah, G.M. Antioxidative defense under salt stress. Plant Signal Behav., v. 5, p.369–374, 2010.

Álvarez, S.; Gómez-Bellot, M.J.; Castillo, M.; Bañón, S.; Sánchez-Blanco, M.J. Osmotic and saline effect on growth, water relations, and ion uptake and translocation in *Phlomis purpurea* plants. Environmental and Experimental Botany, v.78, p. 138–145, 2012.

Ashraf, M.: Relationships between growth and gas exchange characteristics in some salt-tolerant amphidiploid Brassica species in relation to their diploid parents. Environ. Exp. Bot., v.45, p.155-163, 2001.

Akram, M.S., Ashraf, M.: Exogenous application of potassium dihydrogen phosphate can alleviate the adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annus* L.). J. Plant Nutr., v.34, p.1041-1057, 2011.

Bazihizina, N.; Barrett-Lennard,E.G.; Colmer , T.D. Plant responses to heterogeneous salinity: growth of the halophyte *Atriplex nummularia* is determined by the root-weighted mean salinity of the root zone. J. Exp. Bot., v.63 n.18, p.6347-6358, 2012.

Belkheiri, O.; Mulas, M. The effects of salt stress on growth, water relations and ion accumulation in two halophyte *Atriplex* species. Environmental and Experimental , v.86, p, 17–28, 2013.

Benzarti, M.; Rejeb, K.B.; Debez, A.; Messedi, D.; Abdelly, C. Photosynthetic activity and leaf antioxidative responses of *Atriplex portulacoides* subjected to extreme salinity. Acta Physiol Plant, v.34, p.1679–1688, 2012.

Benzarti, M.; Kilani,B.J.; Dorsaf,M.; Amira,B.M.; Kamel,H.; Mustapha,K.; Chedlv,A.; Debez, A. Effect of high salinity on *Atriplex portulacoides*: Growth, leaf water relations and solute accumulation in relation with osmotic adjustment. South African Journal of Botany. v. 95, p.70–77, 2014.

Boyer, J.S.; Wong, S.C.; Farquhar, G.D. CO_2 and water vapor exchange across leaf cuticle (epidermis) at various water potentials. Plant Physiology, v.114, p. 185–191, 1997.

Cambrollé, J.; Redondo-Gómez, S.; Mateos-Naranjo, E.; Luque, T.; Figueroa, M.E. Physiological responses to salinity in the yellow-horned poppy, *Glaucium flavum* Plant Physiol. Biochem., v.49 ,p. 186–194, 2011.

Campbell, C.D.; Sage, R.F.; Kocacinar, F.; Way, D.A. Estimation of thew hole plant CO_2 compensation point of tobacco (Nicotianatabacum L.).Global Change Biology, v. 11, p.1956–1967, 2005.

Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C.: Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Ann. Bot., v.103, p.551–560, 2009.

Davies, W.J.; Kudoyarova, G.; Hartung, W. Long-distance ABA signalling and its relation to other signalling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. J. Plant Growth Regul., v.24, p. 285–295, 2005.

Díaz-López, L.; Gimeno,V.; Lidón,V.; Simón,I.; Martínez, V.; García-Sánchez,F. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological analysis. Plant Physiology and Biochemistry, v.54, p. 34–42,2012 .

Duarte, B.; Santos, D.; Marques, J. C.; Caçador, I. Ecophysiological adaptations of two halophytes to salt stress: photosynthesis, PS II photochemistry and anti-oxidant feedback – implications for resilience in climate change. Plant Physiol. Biochem, v. 67, p. 178–188, 2013.

Dulai, S., Molnár, I., Molnár-Láng, M.: Changes of photosynthetic parameters in wheat/barley introgression lines during salt stress. Acta Biol., v. 55, p.73-75, 2011.

Eisa, S.; Hussin, S.; Geissler, N. .; Koyro, H.W. Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a

potential cash crop halophyte .Australian Journal of Crop Science , v.6, n.2, p.357-368, 2012.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de analise de solo. Rio de Janeiro, 212p, 1997.

Farquhar, G.D. and Sharkey,T.D. Stomatal Conductance and Photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology, v. 33, p.317-345, 1982.

Finkelstein, R. Abscisic acid: a seed maturation and stress-response hormone. In: Taiz L, Zeiger . Plant Physiology, p. 573-698, 2010.

Geissler N, Hussin S, Koyro H-W. Interactive effects of NaCl salinity, elevated atmospheric CO2 concentration on growth, photosynthesis, water relations and chemical composition of the potential cash crop halophyte Aster tripolium L. Environ Exp Bot, v. 65, p.220–231, 2009.

Häusler, R. E.; Kleines, M.; Uhrig,H.; Hirsch,H.J.; Smets, H.Over expression of phosphoenolpyruvate carboxylase from Coryne bacterium Glutamicum lowers the CO2 compensation point(*) and enhances dark and light respiration in transgenic potato. Journal of Experimental Botany, v. 50, p.1231–1242, 1999.

Huang,C.; Wei,G.; Jie, Y. ; Wang, L.; Zhou ,G.; Ran,C.; Huang, Z.; Jia, H.; Anjum, S.A . Effects of concentrations of sodium chloride on photosynthesis, antioxidative enzymes, growth and fiber yield of hybrid ramie**.** Plant Physiology and Biochemistry, v. 76, p. 86–93, 2014.

Hussin, S.; Geissler, N.; Koyro, H.W. Effect of NaCl salinity on *Atriplex nummularia* (L.) with special emphasis on carbon and nitrogen metabolism. Acta Physiologiae Plantarum, v.35, n.4, p. 1025-1038, 2013.

Koyro, H.-W., Geißler, N., Hussin, S., Huchzermeyer, B. Mechanisms of cash crop halophytes to maintain yields and reclaim saline soils in arid areas. In: Khan, M.A., Weber, D.J. (Eds.), Ecophysiology of High Salinity Tolerant Plants. Tasks for Vegetation Science, v. 40, p. 345–366, 2006.

Maimaiti, A.; Yunus, Q.; Iwanaga, F.; Mori, N.; Tanaka, K.; Yamanaka,A. Effects of salinity on growth, photosynthesis, inorganic and organic osmolyte accumulation in *Elaegnus oxycarpa* seedlings. Acta Physiol.Plant, v.36, p.881-892, 2014.

Medici, L.O., Azevedo, R.A., Canellas, L.P. et al. Stomatal conductance of maize under water and nitrogen deficits. Pesq. Agropec. Bras, v.42, p.599-601, 2007.

Mittal, S., Kumari, N., Sharma, V.: Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes.Plant Physiol. Biochem., v. 54, p.17-26, 2012.

Murchie, E.H.; Niyogi,K.K. Manipulation of Photoprotection to Improve Plant Photosynthesis.Plant Physiology, v. 155 ,n. 1, p. 86-92,2011.

Naidoo, G. Ecophysiological differences between fringe and dwarf *Avicennia marina* mangroves. Trees, v.24, p. 667–673, 2010.

Naidoo, G.; Hiralal, O. Hypersalinity effects on leaf ultrastructure and physiology in the mangrove *Avicennia marina*. Flora, v.206, p. 814–820, 2011.

Noreen, Z; Ashraf, M; Akram, N. A. Salt-induced regulation of photosynthetic capacity and ion accumulation in some genetically diverse cultivars of radish (*Raphanus sativus* L.). Journal of Applied Botany and Food Quality, v. 85, n. 1, p. 91, 2012.

Omoto, E., Taniguchi, M., Miyake, H.: Effects of salinity stress on the structure of bundle sheath and mesophyll chloroplasts in NAD-malic enzymeand PCK type C4plants. – Plant Prod. Sci., v. 13, p.169-176, 2010.

Orsini, F. ; Accorsi, M. ; Gianquinto, G. ; Dinelli, G.; Antognoni, F. ; Carrasco, K.B.R.; Martinez, E.A. ; Alnayef, M. ; Marotti, I.; Bosi, S. ; Biondi, S. Beyond the ionic and osmotic response to salinity in *Chenopodium quinoa*: functional elements of successful halophytism. Functional Plant Biology, v.38, p. 818–831, 2011.

Pan, X., Lada, R.R., Caldwell, C.D., Falk, K.C.:Water-stress and N-nutrition effects on photosynthesis and growth of *Brassica carinata*. Photosynthetica, v. 49, p. 309-315, 2011.

Praxedes, S.C.; Lacerda, C.F.; Da Matta, F.M.; Prisco, J.T.; Gomes-Filho, E. Salt tolerance is associated with differences in ion accumulation, biomass allocation and photosynthesis in cowpea cultivars. J. Agron. Crop Sci., v.196, p.193-204, 2010.

Rabhi, M., Giuntini, D., Castagna, A., Remorini, D., Baldan, B., Smaoui, A., Abdelly, C., Ranieri, A.,.*Sesuvium portulacastrum* maintains adequate gas exchange, pigment composition, and thylakoid proteins under moderate and high salinity. Journal of Plant Physiology,v. 167, p. 1336-1341, 2010.

.

Rabhi, M.;Castagna,A.;Remorini, D.;Scattino, C.;Smaoui, A.;Ranieri, A.;Abdelly, C.. Photosynthetic responses to salinity in two obligate halophytes:*Sesuvium portulacastrum* and *Tecticornia indica*. South African Journal of Botany, v.79, p, 39- 47, 2012.

Rehem, B.C.; Respostas fisiológicas de clones de Theobroma cação L. ao alagamento do substrato. Dissertação, 2006. 79f. (Mestrado-Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Santa Cruz, BA, 2006.

Rivelli, A. R., Lovelli, S., Perniola, M. Effects of salinity on gas exchange, water relations and growth of sunflower (*Helianthus annuus*). Funct. Plant Biol., v.29, p.1405- 1415, 2002.

Sabra, A.; Daayf,F.; Renault, S. Differential physiological and biochemical responses of three *Echinacea* species to salinity stress. Scientia Horticulturae, v.135, p. 23–31, 2012.

Saravanavel, R., Ranganathan, R., Anantharaman, P.Effect of sodium chloride on photosynthetic pigments and photosynthetic characteristics of *Avicennia officinalis* seedlings. Recent Res. Sci. Technol., v. 3, p.177-180, 2011.

Schulte, M.; Offer,C.; Hansen, U. Induction of CO_2 gas exchange and electron transport: comparison of dynamic and steady-state responses in Fagus sylvatica leaves. Trees–Structureand Function, v.17, p.153–163, 2003.

Shabala, L.; Mackay, A. ; Tian, Y.; Jacobsen, S.E. ; Zhou, D.; Shabala, S. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). Physiol Plant, v.146, n. 1, p.26-38, 2012.

Sinclair, T. R.; Ludlow, M. M.; Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. Australian Journal Plant Physiology, v.13, p. 319-340, 1986.

Sobrado, M.A. Leaf characteristics and gas Exchange of the mangrove *Laguncularia racemosa* as affected by salinity. Photosynthetica, v.43, n.2, p.217-221, 2005.

Tayefi-Nasrabadi, H., Dehghan, G., Daeihassani, B. et al.: Some biochemical properties of guaiacol peroxidases as modified by salt stress in leaves of salt-tolerant and salt sensitives a fflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. Afr. J. Biotechnol., v. 10, p. 751-763, 2011.

Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.
Thomas, G. W. Exchangeable cations. In: Page, A. L. (ed). Methods of soil analysis. Part-2 chemical methods. Madison: American Society of Agronomy, 1982, p.159-165.

United States Salinity Laboratory Staff - Diagnosis and Improvment of Saline and Alkali Soils. Agriculture Handbook n°60, L. A. Richards Edit., Washington, 1954, 159 p.

Xu, X.X., Shao, H.B., Ma, Y.Y. et al.: Biotechnological implications from abscisic acid (ABA) roles in cold stress and leaf senescence as an important signal for improving plant sustainable survival under abiotic-stressed conditions. Crit. Rev. Biotechnol., v.30, p. 222-230, 2010.

CAPÍTULO 3

CINÉTICA DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM *Atriplex nummularia* Lindl. IRRIGADA COM ÁGUAS DE CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE NaCl

RESUMO

A fluorescência da clorofila é uma variável chave para avaliar danos provocados por estresses abióticos, como por exemplo, a salinidade. A habilidade das plantas em se desenvolver em ambientes salinos e de ativar mecanismos que garantam sua sobrevivência pode variar significativamente entre espécies do mesmo gênero, implicando em diferentes respostas em parâmetros fisiológicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a cinética da fluorescência da clorofila *a* e as concentrações foliares de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoides) em plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com águas apresentando concentrações crescentes de NaCl (0, 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1}). O estudo foi conduzido em ambiente protegido localizado no Departamento de Agronomia (DEPA) da sede da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) em delineamento de blocos ao acaso com cinco repetições. Os parâmetros Fluorescência variável (Fv) e fluorescência máxima (Fm) não apresentaram diferença significativa aos 82 dias após o tratamento salino. A fluorescência inicial (F0) aumentou, no entanto não foram observadas diferenças significativas entre plantas estressadas e plantas controle. A eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) e a razão Fv/F0 apresentaram reduções significativas em função do aumento do NaCl na água de irrigação. Mesmo quando expostas a condições de elevadas concentrações de NaCl na água de irrigação (300 mmol L^{-1}) as plantas não apresentaram reduções significativas na concentração da clorofila *a* o que indica boa performance da espécie e manutenção da integridade do aparato fotossintético. As concentrações de clorofila *b* e carotenoides apresentaram variações significativas a medida que ouve incremento de NaCl na água de irrigação.

Palavras chave: Salinidade, Complexo Antena, Fotossistema II.

ABSTRACT

The chlorophyll fluorescence is a key variable to assess damage caused by abiotic stresses, such as salinity. The ability of plants to grow in saline environments and activate mechanisms to ensure their survival can vary significantly between species of the same genus, resulting in different responses in physiological parameters. This study aimed to evaluate the chlorophyll fluorescence kinetics to and leaf concentrations of photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, *b* and carotenoids) in *Atriplex nummularia* plants irrigated with water having increasing concentrations of NaCl (0, 50, 100, 200, 250 and 300 mmol L^{-1}). The study was conducted in a protected environment located in the Department of Agronomy (DEPA) the headquarters of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE) in design of randomized blocks with five repetitions. The parameters variable fluorescence (Fv) and maximum fluorescence (Fm) showed no significant difference after 82 days of the saline treatment. The initial fluorescence (F0) increased, however there were no significant differences between stressed and control plants plants. The quantum efficiency of photosystem II (Fv / Fm) and the ratio Fv / F0 decreased significantly due to the increase of NaCl in the irrigation water. Even when exposed to conditions of high NaCl concentrations in the irrigation water (300 mmol L^{-1}) plants did not show significant reductions in the concentration of chlorophyll which indicates good performance species and maintaining the integrity of the photosynthetic apparatus. The concentrations of chlorophyll and carotenoid b show significant changes as they hear NaCl increase in irrigation water.

Keywords: Salinity, Antenna Complex, Photosystem II.

1. INTRODUÇÃO

A técnica da fluorescência tem tornado possível a avaliação da eficiência fotoquímica do fotossistema II (FSII) por meio de um método simples, rápido, sensível e não destrutivo e tem sido utilizada em investigações de danos causados ao sistema fotossintético das plantas, em função de diversos tipos de estresse (Zanandrea et al., 2006; Suassuna et al., 2011).

A salinidade é conhecida por promover uma série de alterações de ordem morfológica e fisiológica em plantas. Uma das principais limitações de plantas que se desenvolvem em ambientes salinos é o déficit hídrico, mesmo em solos com alto volume de água devido ao efeito osmótico atuante na solução do solo, que contribui para o aumento da energia de retenção da água, dificultando a absorção pelas plantas (Sairam & Srivastava, 2002).

Em solos salinos o potencial osmótico aumenta a força de retenção da água tornando difícil para as plantas a extração de água e de nutrientes. Como efeitos fisiológicos do déficit hídrico têm-se a redução da transpiração e consequentemente redução da fotossíntese, uma vez que, a água é o principal doador de elétrons na cadeia transportadora do FSII (Sairam & Srivastava, 2002).

Em condições de salinidade, as plantas ativam diferentes mecanismos fisiológicos e bioquímicos para lidar com o estresse resultante do acúmulo de sais no solo. Tais mecanismos incluem mudanças nas relações hídricas, fotossíntese, respiração, distribuição de íons tóxicos e produção de espécies antioxidantes (Navarro et al., 2014).

Reduções de crescimento das plantas induzidas pelo estresse salino estão associadas à redução da taxa da fotossíntese líquida, e a limitações estomáticas e não estomáticas (Shu et al., 2013).

Duarte et al. (2013) relatam que a diminuição da fotossíntese líquida e da condutância estomática podem resultar da curta e da longa exposição das plantas à salinidade, no entanto, plantas com algum grau de tolerância têm demonstrado reduções bem menos acentuadas do que plantas sensíveis, mesmo quando expostas a longos períodos de estresse.

Plantas tolerantes ao NaCl apresentam níveis mais elevados de agentes antioxidantes que atuam na defesa celular quando há aumento de concentração de espécies reativas do oxigênio (EROS) (Mittova et al., 2003).

De fato tem-se observado que halófitas apresentam maior capacidade antioxidante do que plantas glicófitas, inclusive essa pode ser uma das razões pelas quais as halófitas toleram níveis elevados de salinidade (Bose et al., 2014; Gil et al., 2014).

Em situações de estresses abióticos, como é o caso do estresse hídrico e salino, as plantas apresentam sintomas de alterações no estado funcional das membranas dos tilacoides dos cloroplastos (Silva et al., 2011).

Tais mudanças promovem alterações nos sinais de fluorescência e podem ser observadas nas folhas por meio de avaliações da fluorescência inicial (F0), fluorescência máxima (Fm) e da fluorescência variável (Fv) da clorofila *a*, sendo possível também por estimativa avaliar o rendimento quântico potencial (Fv /Fm) (Silva et al., 2011).

O uso de parâmetros da fluorescência nos últimos anos tem sido amplamente difundido no que diz respeito ao estudo da fotossíntese por ser uma técnica que permite avaliar a absorção e o aproveitamento da energia luminosa pelo fotossistema II de forma quantitativa e qualitativa, bem como as possíveis relações com a capacidade fotossintética.

Outro aspecto positivo da técnica reside no fato de não ser uma análise destrutiva, permitindo avaliações posteriores (Mouget-Tremblin, 2002; Netto et al., 2005).

As alterações metabólicas das plantas presentes em ambientes salinos é um fenômeno extremamente complexo e envolve alterações na morfologia e crescimento, além de mudanças nos mecanismos bioquímicos e fisiológicos (Muns & Tester, 2008).

Plantas do gênero Atriplex quando submetidas a condições de estresse expressam diferentes respostas fisiológicas em função do aumento da concentração de sais na solução do solo. A intensidade da resposta varia de acordo com a tolerância de cada espécie (Nedjimi et al., 2014).

Quando cultivada em solos salinos a *Atriplex nummularia* pode apresentar alteração na concentração da clorofila *a*, clorofila *b*, dos carotenoides e da cinética da fluorescência. No entanto, tais alterações dependem do tempo de exposição ao estresse e da concentração dos sais na solução do solo. Como consequência as plantas podem ativar diferentes mecanismos de adaptação resultando em respostas distintas do maquinário fotossintético em resposta ao aumento da salinidade (Nedjimi et al., 2014).

A adaptação da *Atriplex nummularia* a ambientes salinos ocorre devido à habilidade que essa espécie possui de fitoextrair e acumular em seus tecidos íons tóxicos como Na^+ e Cl^- (Ben Salem et al., 2010; De Souza et al., 2012; Hasanuzzaman et al, 2014).

Trabalhos relacionados à avaliação dessa espécie quando submetida a diferentes níveis de salinidade tem tornado possível a identificação de respostas de tolerância, o que vem reforçando a necessidade de realizar estudos mais detalhados para verificar o potencial de

produção dessa espécie sob condições adversas afim de estabelecer manejos adequados de recuperação de solos degradados (Nedjimi et al., 2014).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da salinidade sobre aspectos fisiológicos tais como, a concentração das clorofilas *a*, *b* e dos carotenoides, bem como a cinética da fluorescência da clorofila *a*, e seu efeito na eficiência do fotossistema II.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido em ambiente protegido localizado no departamento de agronomia (DEPA), situado na sede do campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Para condução do experimento foram utilizados vasos de polietileno com capacidade para 5L. Os vasos foram preenchidos com uma amostra de Neossolo Flúvico coletado no município de Pesqueira – PE. O local está localizado na fazenda Nossa Senhora do Rosário, cujas coordenadas são 8° 34’11’’ latitude sul e 37°48’54’’ longitude oeste e situa-se a 630 m acima do nível do mar.

De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é BSh (extremamente quente e semiárido), com uma precipitação média anual total de 730 mm e evapotranspiração média anual de referência de 1.683 milímetros. O solo foi coletado na profundidade de 0-30 cm, transportado para a UFRPE, seco, destorroado e passado em malha de 4 mm para preservação dos microagregados e posterior preenchimento dos vasos. Para caracterização química (Tabela 1) e física do solo (Tabela 2) coletaram-se dez amostras individuais do volume total do solo e peneirou-se em malha de 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). O valor da caracterização inicial refere-se a uma média de dez amostras.

Tabela 1. Valores médios (n=10) das características químicas do extrato de saturação e do complexo Sortivo do solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.

Extrato de Saturação[1/]							
pHes	CE (dS m^{-1})	Na^+ (mmol L^{-1})	K^+ (mmol L^{-1})	Ca^{+2} (mmol L^{-1})	Mg^{+2} (mmol L^{-1})	Cl^- (mmol $L^{-1)}$	RAS
7,77	2,17	13,26	1,83	3,15	1,36	14,37	8,5
Complexo Sortivo							
pH (1:2,5)	Na^+ ($cmol_c$ kg^{-1})	K^+($cmol_c$ kg^{-1})	Ca^{+2}($cmol_c$ kg^{-1})	Mg^{2+}($cmol_c$ kg^{-1})	SB ($cmol_c$ kg^{-1})	PST (%)	
6,85	1,645	3,7	7,78	1,73	14,85	11,07	

CEes= Condutividade Elétrica do extrato de saturação; SB= Soma de Bases; PST= Porcentagem de Sódio Trocável. n= 10.[1/]USSLS (1954).

Tabela 2. Valores médios (n=10) das características físicas solo utilizado para o cultivo da *Atriplex nummularia* sob diferentes níveis de salinidade.

AF (g kg^{-1})	AG (g kg^{-1})	AT (g kg^{-1})	Silte (g kg^{-1})	Argila (g kg^{-1})	ADA (g cm^{-3})	Ds (g cm^{-3})	Dp (g cm^{-3})	IF (%)	ID (%)	PT (%)
329,79	143,15	433,09	466,04	100,87	50,4	1,51	2,63	50	50	42

ADA= Argila Dispersa em Água; IF= Índice de Floculação; ID= Índice de Dispersão; PT= Porosidade Total.(EMBRAPA, 1997).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso constando de cinco repetições. Os tratamentos aplicados foram águas de irrigação com seis diferentes concentrações de NaCl (0, 50,100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1}).

As plantas cultivadas foram reproduzidas assexuadamente a partir da técnica de estaquia, utilizando como matriz uma única planta, com o objetivo de minimizar a variabilidade genética. As mudas produzidas foram transplantadas para os vasos quando atingiram 60 dias de idade. Durante todo o período experimental as plantas foram cultivadas em solo com umidade referente a 80% da capacidade de pote que era de 0,27 cm^3cm^{-3} (referente a um potencial matricial de - 0,1 atm). A irrigação foi precedida sempre no final da tarde utilizando-se de uma balança digital, cuja reposição era baseada na água perdida por evapotranspiração. A irrigação com as águas salinas foi realizada gradativamente para evitar que as plantas sofressem choque osmótico. A adição de sais foi realizada adicionando 50 mmol L^{-1} de NaCl até que fosse atingida a concentração do respectivo tratamento.

A fluorescência da clorofila foi determinada com um fluorômetro portátil (Modelo Fluorpen FP 100) em folhas não destacadas, sadias e totalmente expandidas da região do terço

médio do caule. Foram amostradas folhas expostas ao sol dos ramos selecionados de todos os indivíduos, selecionando-se sempre uma única folha por planta aos 82 dias após o tratamento salino.

O procedimento teve início com o pinçamento de uma região circular da folha (local de determinação da fluorescência) por um período de 30 minutos (Figura 1). Esse procedimento é importante por promover a abertura dos centros de reação do PSII, ou seja, condição em que todos os aceptores primários encontram-se oxidados e para que a perda de calor fosse mínima.

.

Figura 1- Aclimatação de folhas de *Atriplex nummularia* ao escuro.

A fluorescência inicial (F0) foi determinada a partir da incidência de um pulso de luz modulada de baixa intensidade (< 0,1 μmol m^{-2} s^{-1}) para não repercutir em influências na fluorescência variável.

A fluorescência máxima (Fm) foi obtida a partir da incidência de um pulso de luz saturante 0,3s de duração. A Fv foi determinada pela diferença entre Fm e F0. A partir dos resultados de Fv e Fm obteve-se a relação Fv/Fm.

O teor de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides foi determinado após a extração com etanol a 95%. Por ocasião da coleta, folhas de plantas de Atriplex sadias e completamente expandidas foram coletadas aleatoriamente das três regiões da planta (base, ápice e terço médio).

Objetivando uma melhor correlação da performance do fotossistema II com os teores de pigmentos foram selecionadas para avaliação das concentrações nas mesma folhas utilizadas na determinação da fluorescência.

As folhas coletadas foram lavadas, postas para secar a temperatura ambiente e tiveram a nervura central removida manualmente. Em seguida as folhas foram cortadas com auxílio de tesoura até que apresentassem tamanhos de menor área superficial possível.

Para extração dos pigmentos utilizou-se 10 mL de etanol a 95%. O material ficou acondicionado em geladeira por 48 h até ocasião da leitura de sua densidade óptica em fotocolorímetro na faixa de absorbância de 665, 649 e 470 nm (Figura 2).

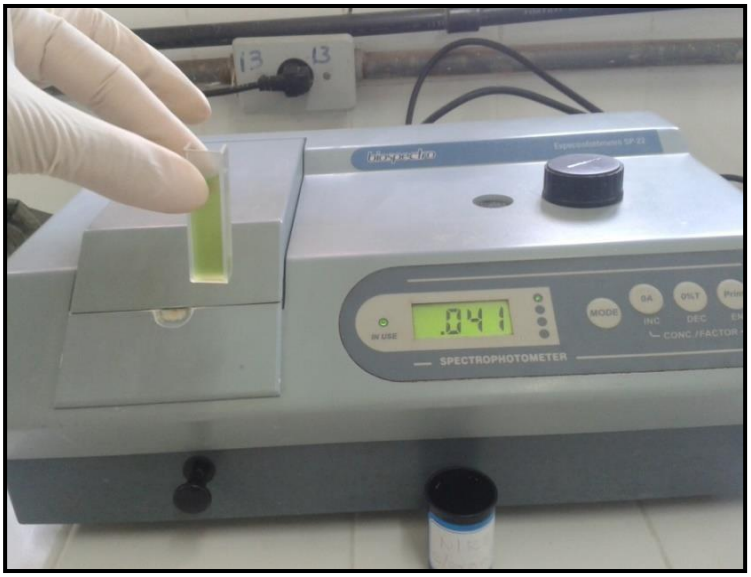

Figura 2- Leitura dos pigmentos fotossintéticos em fotocolorímetro.

As concentrações de clorofila a (Chl *a*- Equação 4) e b (Chl *b* – Equação 5) e de xantofilas + carotenoides (Xan+Car – Equação 6) foram obtidas através das equações propostas por Lichtenthaler & Buschmann (2005):

Chl*a* = [(13,95*Abs 665)–(6,88*Abs 649)]*(V/1000M) **Equação (4)**

Chl *b* = [(24,96*Abs 649) – (7,42*Abs 665)]*(V/1000M) **Equação (5)**

Car = [(1000*Abs 470) – (2,05*Chl *a*) – (114,8*Chl *b*)]/245*(V/1000M) **Equação (6)**

O delineamento experimental adotado foi feito com 5 repetições, em esquema de blocos ao acaso, com plantas de *Atriplex nummularia* submetidas à irrigação com águas apresentando seis concentrações distintas de NaCl (0, 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1}).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade através do software SAS version student 2.0, e os gráficos foram gerados no programa excel versão 2010.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da Análise de variância demonstraram que as variáveis clorofila *b*, carotenoides, fluorescência inicial, razão Fm/F0 e razão Fv/Fm apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 1%, 5% e 10% de probabilidade. Para as variáveis clorofila *a*, clorofila total, fluorescência máxima e fluorescência variável não foram verificadas diferenças significativas (Tabela 3).

Tabela 3- Análise de Variância (ANOVA) para oito variáveis avaliadas aos 82 dias após o tratamento salino em planta em resposta a seis concentrações de NaCl na água de irrigação.

Variável	CV(%)	Valor de F
Clorofila *a*	6,99	$1,56^{ns}$
Clorofila *b*	10,25	$2,73^{\circ}$
Clorofila T	3,55	$0,61^{ns}$
Carotenoides	8,75	3^{*}
F0	5,11	$83,04^{**}$
Fm	1,58	$1,75^{ns}$
Fv	2,59	$0,74^{ns}$
Fm/F0	4,51	$4,27^{**}$
Fv/Fm	7,08	4.12^{**}

Valores significativos pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo, **, * e $^{\circ}$ significativo a 1%, 5% e 10%, respectivamente.

3.1. Pigmentos Fotossintéticos

A concentração da clorofila *a* não apresentou variação significativa com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação. Em valores absolutos as maiores concentrações do pigmento foram observadas nas concentrações 200 e 250 mmol L^{-1} de NaCl (Figura 3 A). Já as menores concentrações do pigmento foram observadas nos tratamentos 0 e 50 mmol L^{-1} de NaCl.

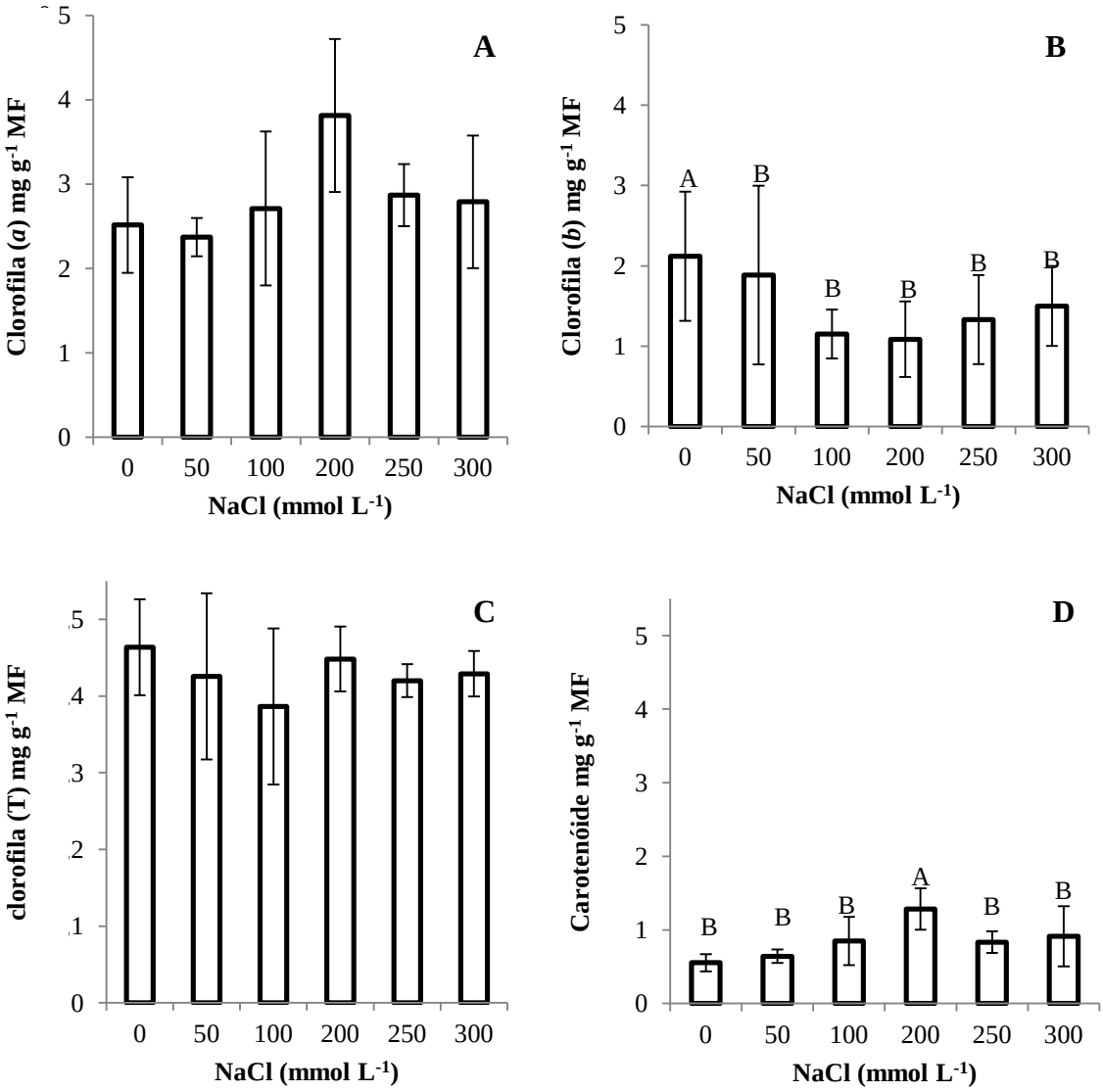

Figura 3- Concentrações de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofilas totais (C) e carotenoides (D) em folhas de *Atriplex nummularia* submetidas à irrigação com concentrações crescentes de NaCl aos 82 dias após o tratamento salino. Valores médios seguidos de letras iguais não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey.

Para a clorofila *b* foi possível notar influência do tratamento salino sobre as concentrações do pigmento nos tratamentos avaliados. Percebeu-se que os tratamentos não diferiram significativamente entre si, porém quando comparados às plantas do tratamento controle apresentaram diferença significativa. O maior valor foi observado no tratamento controle (2,1 mg g^{-1} MF) e o menor (1,1 mg g^{-1} MF) foi notado nas plantas irrigadas com águas contendo 200 mmol L^{-1} de NaCl.

Em termos percentuais, foram observadas reduções nas concentrações de clorofila *b* de 9,5%, 42,86%, 47,62%, 38,09% e 28,57% com relação as plantas do tratamento controle nas concentrações 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1} de NaCl, respectivamente (Figura 3 B).

Não houve influência da salinidade imposta, na concentração da clorofila total, demonstrando uma pequena tendência de aumento a partir do nível 100 mmol L^{-1} de NaCl, a qual pode estar relacionada a algum tipo de mecanismo de tolerância da espécie à salinidade com a finalidade de manter sua capacidade fotossintética favorável a seu desenvolvimento durante o período de estresse.

Boughalleb & Denden (2011) avaliando a respostas de plantas de *A. halimus* à irrigação com águas apresentando (0, 100, 200, 400 e 800 mmol L^{-1} de NaCl) observaram que os teores de clorofila *b* permaneceram inalterados até a concentração de100 mmol L^{-1} de NaCl, no entanto foi verificada redução significativa nas concentrações superiores a 100 mmol L^{-1} de NaCl.

Percentualmente a maior redução verificada pelos autores foi de aproximadamente 24 % nas plantas irrigadas com água contendo 800 mmol L^{-1} de NaCl. As maiores reduções de *A. halimus* na maior concentração de NaCl, sugere que ao contrário das plantas de *A. nummularia* avaliadas no presente estudo a espécie não apresentou mecanismo de adaptação ao estresse salino.

Corroborando com os resultados obtidos, Rabhi et al. (2012) avaliando o efeito da irrigação com águas salinas (0, 200 e 400 mmol L^{-1} de NaCl) na concentração de clorofilas *a* e *b* da halófita *S. portulacastrum*, também não observaram diferenças significativas na concentração de clorofila *a* e *b* entre as concentrações adotadas demonstrando o caráter halofítico da espécie.

Os valores encontrados em *S. portulacastrum* foram muito parecidos aos observados em *A. nummularia*. Para a concentração de 200 mmol L^{-1} de NaCl os autores obtiveram concentrações de 3,56 mg g^{-1} de clorofila *a* e 2,48 mg g^{-1} de clorofila *b* , enquanto que em *A.*

nummularia foram observadas concentrações de 3,8 mg g^{-1} de clorofila *a* e 1,12,48 mg g^{-1} de clorofila *b*.

Quando comparadas as concentrações de clorofilas *a* e *b* das plantas controle no trabalho desenvolvido por Rabhi et al. (2012) e as verificadas nesse estudo, é possível perceber valores bem menores de clorofilas *a* e *b* em *S. portulacastrum* (0,93 e 0,67 mg g^{-1}) respectivamente, contra concentrações de 2,5 mg g^{-1} e 2,1 mg g^{-1} de clorofilas *a* e *b* observadas em plantas de *A. nummularia* .

Os resultados encontrados nos dois trabalhos ratificam o halofitismo obrigatório da espécie *S. portulacastrum* e o caráter de halófita facultativa de *A. nummularia,* uma vez que a ausência de sais da primeira diminui a eficiência do maquinário fotossintético, ao passo que plantas de *A. nummularia* apresentam performance praticamente constante na presença ou na ausência de sais.

O teor de clorofilas exibido na (Figura 3) indica que a clorofila *a* esteve presente em maiores concentrações quando comparada aos outros pigmentos, independente do tratamento aplicado. Os resultados demonstram que as concentrações de clorofila *a* em relação à concentração de clorofila *b* está coerente com o esperado, uma vez que, a clorofila *a* exerce uma atuação maior na captação de energia luminosa do que a clorofila *b*, sendo esta última considerada um pigmento acessório (Taiz & Zeiger 2013).

Redondo-Gómez et al. (2007) realizaram avaliações das concentrações de clorofilas *a* e *b* e carotenoides em plantas de *Atriplex portulacoides* irrigadas com águas apresentando diferentes concentrações de NaCl (0, 20, 200, 400 e 700 mmol L^{-1} de NaCl) e observaram que assim como no presente trabalho, a concentração de clorofila *a* não variou significativamente em função do aumento da concentração de NaCl na água de irrigação.

No entanto as plantas de *Atriplex portulacoides* apresentaram valores de clorofila *a* inferiores aos observados neste estudo. Redondo-Gómez et al. (2007) verificaram oscilação de 1,27 a 1,93 mg g^{-1} de clorofila *a* nas plantas controle e nas mais estressadas, respectivamente.

Os valores de clorofila *b* observadas pelos autores variaram de 0,5 a 0,18, em plantas controle e nas mais estressadas, respectivamente. Para os autores os baixos valores encontrados para os pigmentos deveu-se ao efeito de choque osmótico nas plantas promovido pelas águas de irrigação.

Algumas pesquisas relatam que a salinidade pode aumentar a atividade da enzima clorofilase (Sivstev et al., 1973; Djanaguiraman et al., 2006) , devido ao efeito depressivo da salinidade sobre a absorção de alguns íons, tais como Mg e Fe, os quais estão envolvidos na

formação do cloroplasto (Hanafy et al., 2002). Isso justifica embora que em pequenas proporções as reduções nas concentrações das clorofilas *a* e *b*.

Nedjimi (2014) trabalhando com três espécies de plantas do gênero Atriplex (*A. halimus, A. canescens e A. nummularia*) registrou uma diminuição acentuada de Mg do tecido foliar com o aumento da salinidade no substrato de cultivo. Como o Mg é o elemento central da molécula de clorofila, processos que restrinjam a absorção desse íon pelas plantas podem promover sérios danos no maquinário fotossintético.

Nedjimi (2014) também observou respostas de concentrações diferentes de clorofila *a* , *b* e carotenoides com o aumento dos níveis de sais no solo em trabalho com três espécies do gênero Atriplex.

Segundo o autor a *A. canescens* demonstrou menores concentrações de clorofila *a* e *b* quando comparada a *A. nummularia* e *A. halimus*, demonstrando a superioridade das últimas espécies no que diz respeito à tolerância à salinidade.

O autor trabalhou com três concentrações distintas de NaCl na água de irrigação (100, 200 e 300 mmol L^{-1} de NaCl). As concentrações de clorofila *a* observadas para plantas de *A. nummularia* variaram de 1,75 mg g^{-1} nas plantas controle a 1,0 mg g^{-1} nas plantas irrigadas com água contendo 300 mmol L^{-1} de NaCl. Já as concentrações de clorofila *b* variaram de 1,0 mg g^{-1} a 0,75 mg g^{-1} nas plantas controles e nas mais estressadas, respectivamente.

A maior redução na concentração da clorofila total (10%) com relação as plantas controle foi observada no tratamento 100 mmol L^{-1} (Figura 3 C).

Os resultados estão de acordo com os observados por Acosta-Motos et al. (2015a), em plantas de *Eugenia myrtifolia* submetidas a tratamento salino. Sob condições de salinidade os autores observaram que o aumento da concentração de sais no solo promoveu proporcionalmente aumento na concentração das clorofilas totais. Possivelmente devido mecanismos de osmorregulação, a planta não precisou ativar o fechamento estomático, mantendo a aquisição de água e manutenção da integridade do maquinário fotossintético.

Em outro momento, trabalhando com plantas de *Myrtus communis*, também foi observado que os níveis de concentração de clorofila total não sofreram alterações em função do aumento da condutividade elétrica (Acosta-Motos, 2015b).

Ashraf & Harris (2013) reconhecem que as espécies tolerantes a elevados teores de sal exibem concentrações de clorofila totais nas folhas inalterados ou levemente alterados sob condições de salinidade ao passo que os níveis de clorofila em espécies sensíveis ao sal

diminuem, sugerindo que este parâmetro pode ser muito útil como um marcador bioquímico de tolerância ao sal em plantas.

As halófitas, como é o caso da Atriplex mantém inalteradas as concentrações de clorofilas totais ou podem até mesmo exibir aumento dessas concentrações. Resultados desse tipo foram obtidos por Acosta-motos et al. (2014 ; 2015), trabalhando com plantas de Eugenia e *Myrtus communis*.

Como demonstrado por De Souza et al. (2012), plantas de *Atriplex nummularia*, são capazes de acumular grandes volumes de sais em vesículas epidérmicas, além de serem capazes de ativar mecanismos de osmorregulação quando cultivadas em substratos com elevados níveis de salinidade.

Tais mecanismos permitem que a espécie mantenha inalterados os processos respiratórios sem ocasionar danos à fotossíntese. A compartimentalização de íons tóxicos nas vesículas, como é o caso do íon sódio, evita que tal elemento degrade as membranas dos tilacoides ocasionando redução dos teores de clorofila totais e consequentemente da fotossíntese.

As concentrações de carotenoides apresentaram diferença significativa apenas em relação à concentração 200 mmol L^{-1} de NaCl (Figura 3 D) .

Parida et al. (2003) em estudos com *Bruguiera parviflora* detectaram diminuições significativas na concentração de carotenoides, a medida que houve aumento da concentração de sais no solo. Tais resultados são justificáveis uma vez que a espécie trabalhada, ao contrário da Atriplex que é tolerante, apresenta tolerância moderada à presença de sais com crescimento ótimo em CE equivalente a 7 dS m^{-1}.

Como os carotenoides são pigmentos acessórios da clorofila *a* é justificável em plantas tolerantes aumento de seus valores à medida que aumenta a concentração de sais no solo (Taiz & Zeiger, 2013).

3.2. Cinética da Fluorescência da Clorofila *a*

O aumento da concentração de NaCl na água de irrigação promoveu o aumento da fluorescência mínima (F0) em todas as plantas. Foram observados acréscimos de 22 % nas plantas submetidas à irrigação com 50 mmol L^{-1} de NaCl com relação as plantas controle (Figura 4 A).

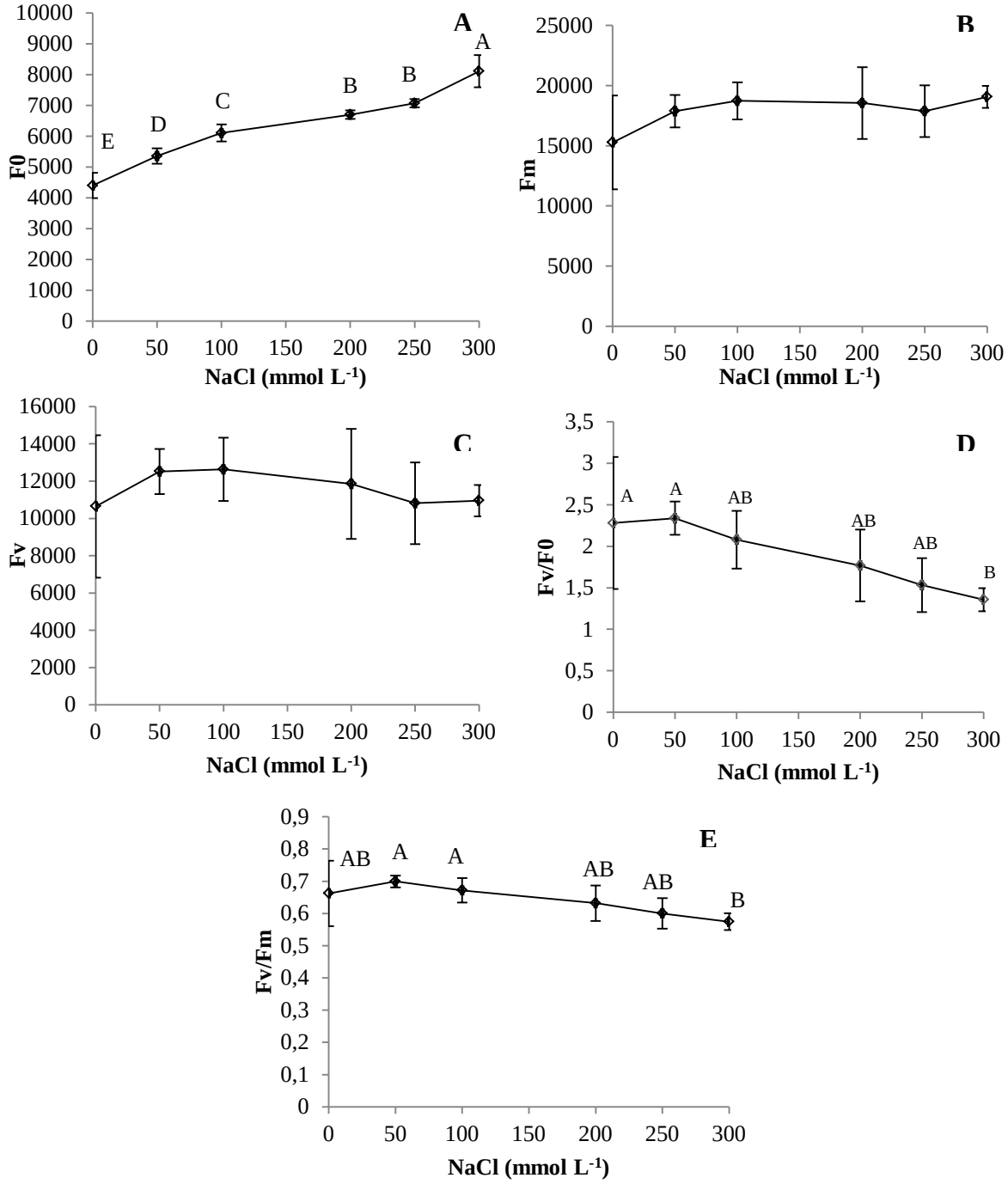

Figura 4- Fluorescência Inicial (F0) (A), fluorescência máxima (Fm) (B), fluorescência variável (Fv) (C), razão (Fv/F0) (D) e Eficiência quântica do Fotossistema II (Fv/Fm) (E) de plantas de *A. nummularia* submetidas à irrigação com diferentes concentrações de NaCl avaliadas aos 82 dias após o início do tratamento salino.

As plantas submetidas as irrigações com 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1} apresentaram acréscimos de 37%, 51,7%, 59,82% e 83,66 % ,respectivamente com relação às plantas controle (Figura 4 A).

As concentrações dos pigmentos fotossintéticos e a fluorescência da clorofila são variáveis importantes na compreensão dos mecanismos fisiológicos responsáveis pela tolerância à salinidade das espécies.

Uma simples análise da cinética da fluorescência da clorofila, bem como a correlação da eficiência quântica do fotossistema II com aumento da concentração de sais no solo é relevante para avaliação do desenvolvimento vegetal e tem se mostrado uma ferramenta útil na compreensão de mecanismos de tolerância.

A fluorescência inicial indica a quantidade de luz que é emitida pelas moléculas de clorofila quando a quinona está completamente oxidada. Nessa situação a emissão de luz é realizada pela molécula de clorofila *a* em estado energético excitado antes que a energia emitida seja dissipada para o centro de reação do fotossistema II (Taiz & Zeiger, 2013).

A F0 pode ser alterada quando há danos no centro de reação do FSII ou redução da capacidade de transferência da energia da excitação da antena para o centro de reação. Condições de estresse como a salinidade podem provocar alterações nas estruturas dos pigmentos fotossintéticos do FSII (Krause & Weis, 1991; Azevedo Neto et al. 2011).

Os valores de fluorescência máxima (Fm) apresentaram variação menor que a fluorescência mínima em resposta ao aumento da concentração do NaCl. De maneira geral, o aumento da concentração promoveu aumento da fluorescência máxima (Figura 4 B).

A dose 250 mmol L^{-1} apresentou descontinuidade com relação ao padrão de aumento observado. Acréscimos de 17,02%, 17,59%, 21,45%, 17,06%, 24,81% com relação às plantas irrigadas com tratamento controle foram observados nas concentrações 50, 100, 200, 250, 300 mmol L^{-1}de NaCl na água de irrigação (Figura 4 B).

A fluorescência máxima (Fm) representa a emissão da clorofila *a* quando todos os centros de reação estão abertos ou oxidados. Ao receber um pulso de luz o centro de reação quinona se oxida resultando na fluorescência máxima (Maxwell e Johnson, 2000).

Com relação à fluorescência variável (Fv) foi possível observar reduções nos valores desse parâmetro à medida que aumentou a concentração do sal na água de irrigação. Os níveis 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1} apresentaram reduções equivalentes a 8,9%, 8,1%, 13,82%, 21,38% e 20,34%, respectivamente (Figura 4 C).

A fluorescência variável é obtida por meio da diferença entre a fluorescência máxima e a fluorescência mínima. Essa variável indica o fluxo de elétrons no fotossistema II até o centro de reação plastioquinona (Maxwell e Johnson, 2000).

No tocante a eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm), também foram observadas reduções com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação. Foram notadas reduções de 6,13%, 11,63%, 15,20%, 19,46%, 22,91% com relação às plantas controle quando as plantas foram submetidas à irrigação com água contendo 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1} de NaCl, respectivamente (Figura 4 E).

Condições abióticas adversas tais como frio, radiação excessiva ou insuficiente, seca, poluição, alagamento e salinidade podem comprometer o fotossistema II, por meio de danos causados às membranas dos tilacoides implicando em redução da eficiência da fotossíntese (Baker e Rosanqvist 2004).

A razão Fv/Fm é denominada eficiência quântica do fotossistema. Essa relação diz respeito à quantidade de elétrons transportados e utilizados em atividade fotoquímica, dessa maneira está intimamente relacionada á energia absorvida pela clorofila *a* associada ao fotossistema II (Lichtenthaler et al., 2005).

Maxwell e Johnson (2000) explicam que valores baixos da relação Fv/Fm podem ser resultado de algum tipo de estresse, e que reduções nesse parâmetro diminuem o potencial fotossintético das plantas.

Silva et al. (2013) sugerem que plantas capazes de manter inalterada a razão Fv/Fm mesmo sob condições de estresse apresentam indícios de alta eficiência do uso da radiação .

Lin et al. (2009) trabalhando com plantas de *R. mangle* verificaram redução na eficiência quântica em plantas quando estas foram submetidas a altos níveis de salinidade.

Para os autores a redução pode ser decorrente de danos foto inibitórios e podem sugerir que a redução na eficiência quântica pode estar atuando como um mecanismo de proteção ao inativar de forma reversível o fotossistema II a partir do aumento da dissipação de energia.

Resultados semelhantes foram obtidos por Naidoo et al.(2011) em estudos com *Rizophora mucronata.* A maioria dos pesquisadores reconhecem valores de eficiência quântica ideal em torno de 0,8 para maioria de plantas que não apresentam suculência em suas folhas (Maxwell e Johnson, 2000; Hernández et al., 2006a).

No entanto há registros de espécies lenhosas apresentando valores em torno de 0,76, e 0,68 como plantas do gênero Eugenia (Hernandez et al., 2006b; Acosta-Motos et al., 2015a).

Baixos valores de Fv/Fm estão relacionados com a redução das taxas de transporte de elétrons, esse tipo de resposta pode ser verificada em plantas expostas a estresses abióticos resultando em baixos valores de eficiência quântica do fotossistema II (Bacelar et al., 2007).

A razão Fv/F0 também apresentou decréscimo nos valores à medida que aumentou a concentração de NaCl na água de irrigação. Foram observadas reduções de 20,13%, 28,94%, 39,58%, 47,65%, 53,65% com relação ás plantas controle nas concentrações 50, 100, 200, 250 e 300 mmol L^{-1} de NaCl, respectivamente (Figura 4 D).

Lichtenthaler et al. (2005) ressaltam a importância da razão Fv/F0. Para os autores esse parâmetro auxilia na identificação de alterações promovidas pelo estresse salino, por amplificar pequenas variações da razão Fv/Fm.

4. CONCLUSÕES

1. Os teores de clorofila *a* não apresentaram variações significativas com o incremento de sais na solução de irrigação. As concentrações de clorofila *b* apresentaram variações significativas apenas entre o tratamento controle e as demais concentrações de NaCl.

3. O aumento do NaCl na água de irrigação promoveu o aumento da fluorescência mínima e da fluorescência máxima.

4. A fluorescência variável, a eficiência quântica do fotossistema e a razão Fv/F0 diminuíram em resposta ao aumento da concentração de NaCl.

5. Os resultados obtidos demonstraram que a fluorescência da clorofila foi o parâmetro mais sensível na detecção de efeitos deletérios no Fotossistema II de plantas de *Atriplex nummularia* irrigadas com água salina.

5. REFERÊNCIAS

Acosta-Motos JR, Álvarez S, Barba-Espín G, Hernández JÁ, Sanchez-Blanco MJ. Salts and nutrientes presente in regenerated waters induce changes in water relations, antioxidative metabolismo, ion accumulation and restritected ion uptake in *Myrtus communis* L. Plants. Plant Physiol Biochem, v.85, p.41-50, 2014.

AcostaMotos, J.R.; Vivancos,P.D.;Álvarez,S.;Nieves,F.G.;Blanco,M.J.S.;Hernández,J.A. Physiological and biochemical mechanisms of the ornamental *Eugenia myrtifolia* L. plants for coping with NaCl stress and recovery. An International Journal of Plant Biology, v. 242, n. 4, p.829-846, 2015a.

AcostaMotos,J.R.;Vivancos,P.D.;Álvarez,S.;Nieves,F.G.;Blanco,M.J.S.;Hernández,J.A. NaCl-induced physiological and biochemical adaptative mechanisms in the ornamental *Myrtus communis* L. plants. Journal of Plant Physiology,v.183, p.41–51, 2015b.

Ashraf, M. & Harris, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. Photosynthetica, v.51, p. 163–190, 2013.

Azevedo Neto, A.D.; Pereira , P.P.A.; Costa, D.P.; Santos, A.C.C. Fluorescência da clorofila como uma ferramenta possível para seleção de tolerância à salinidade. Revista Ciência Agronômica, v. 42, n. 4, p. 893-897, 2011.

Bacelar, E.A.; Santos, D.L.; Moutinho-Pereira, J.M.;Lopes, J.I.;Gonçalves, B.C.; Ferreira, T.C.; Correia, C.M. Physiological behaviour, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes.Plant Soil, v.292 , p. 1–12, 2007.

Baker, N. R. & Rosenqvist, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany, v. 55, n. 403, p.1607–1621, 2004.

Ben Salem, H.; Norman, H.C.; Nefzaoui, A.; Mayberry, D.E.; Pearce, K.L.; Revellb,D.K. Potential use of oldman saltbush (*Atriplex nummularia* Lindl.) in sheep and goat feeding. Small Ruminant Research, v. 91, p.13–28, 2010.

Bose J., Rodrigo-Moreno A., Lai D., Y. Xie, W. Shen, Shabala S. Quick regulation of plasma membrane H + -ATPase activity is essential for salt tolerance in two halophytes species, *Atriplex lentiformis* e *Chenopodium quinoa* . Ann. Bot., v.115, p.481-494, 2014.

Boughalleb, F. & Denden, M. Physiological and biochemical changes of two halophytes, *Nitraria retusa* (Forssk.) and *Atriplex halimus* (L.) under increasing salinity.Agric. J.,v. 6, p. 327–339,2011.

De Souza, E. R.; Freire, M. B. G. S.; Cunha, K. P. V. da C.; Nascimento, W. A. H.; Ruiz, A.; Lins, C. M. T. "Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress" . Environmental and Experimental Botany, vol. 82, p. 20–27, 2012.

Djanaguiraman, M.; Sheeba, J.A. ;Shanker, A.K.;Devi, D.D.; Bangarusamy, U. Rice can acclimate to lethal level of salinity by pretreatment with sublethal level of salinity through osmotic adjustment. Plant Soil, v.284, p. 363–373, 2006.

Duarte, B.; Santos, D.; Marques, J. C.; Caçador, I. Ecophysiological adaptations of two halophytes to salt stress: photosynthesis, PS II photochemistry and anti-oxidant feedback – implications for resilience in climate change. Plant Physiol. Biochem, v. 67, p. 178–188,2013.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de analise de solo. Rio de Janeiro, 1997,212p.

Gil, R.; Bautista, I; Boscaiu, M.; Lidón, A.; Wankhade, S.; Sánchez, H.; Llinares, J.; Vicente ,O. Responses of five Mediterranean halophytes to seasonal changes in environmental conditions. AoB PLANTS, v. 6 , 18p., 2014.

Hanafy, A.H.; Gad-Mervat, M.A.; Hassam, H.M. ; Amin-Mona, A. Improving growth and chemical composition of *Myrtus communis* grown under soil salinity conditions by polyamine foliar application, Minia.J. Agric. Res. Develop, v.22, p. 1697–1720, 2002.

Hasanuzzaman, M.; Nahar, K.; Alam, M.M.; Bhowmik,P.C.; Hossain, M.A.; Rahman, M.M.; Prasad, M.N.V.; Ozturk, M.;Fujita, A. Potential Use of Halophytes to Remediate Saline Soils. BioMed Research International, vol. 2014, 12 p., 2014.

Hernández, J.A.; Díaz-Vivancos, P.; Rubio, M.; Olmos, E.; Ros-Barceló, A.; Martínez-Gómez, P.Long-term plum pox virus infection produces an oxidative stress in a susceptible apricot, *Prunus armeniaca*, cultivar but not in a resistant cultivar. Physiol Plant, v.126, p. 140–152, 2006b.

Krause, G.H.; Weis, E.Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: The Basics Annual Review of Plant Physiology and Plant. Molecular Biology, v.42, p.313-349, 1991.

Lichtenthaler, H. K.; Buschmann, C.; Knapp,M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio RFd of leaves with the PAM fluorometer. Photosynthetica, v. 43, n. 03, p. 379- 393, 2005.

Lichtenthaler, K.H.; Buschmann,C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy.Current Protocols in Food Analytical Chemistry.2001.

Maxwell, K. & Johnson, G.N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. J Exp Bot, v.51, p. 659–668, 2000.

Mittova,V.; Tal, M.; Volokita,M.; Guyy, M.Upregulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidativa systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-tolerance tomato species Lycopersicon penellii. Plant Cell Environ, v.26, p.845-856, 2003.

Mouget, J.; Tremblin, G. Suitability of the fluorescence monitoring system (FMS, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae. Aquatic Botany, v.74, p.219-231, 2002.

Munns, R. & Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, v. 59, p.651–681, 2008.

Naidoo, G.; Hiralal, O. Hypersalinity effects on leaf ultrastructure and physiology in the mangrove *Avicennia marina*. Flora, v.206, p. 814–820, 2011.

Navarro, A.; Álvarez, S.; Castillo, M.; Bañón, S.; Sánchez-Blanco, M. J. Changes in tissue-water relations, photosynthetic activity, and growthof Myrtus communisplants in response to different conditions of water availability. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, v.84, n.5, p.541–547,2009.

Nedjimi,B. Effects of salinity on growth, membrane permeability and root hydraulic conductivity in three saltbush species. Biochemical Systematics and Ecology ,v.52, p.4–13,2014.

Netto, A. T.; Campostrini, E.; Oliveira, G. J. et al. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. Scientia Horticulturae, Amsterdan, v. 104, n. 02, p. 199-209, 2005.

Parida, A.K.; Das, A.B.; Mittra, B. Effects of NaCl stress on the Structure, pigment complex, composition, and photosynthetic activity of mangrove *Bruguiera parviflora* Chloroplasts. Photosynthetica, New York, v.41, n.2, p. 191-200, 2003.

Rabhi, M.;Castagna,A.;Remorini, D.;Scattino, C.;Smaoui, A.;Ranieri, A.;Abdelly, C.. Photosynthetic responses to salinity in two obligate halophytes:*Sesuvium portulacastrum* and *Tecticornia indica*. South African Journal of Botany.v.79, p, 39- 47, 2012.

Redondo-Gómez S, Mateos-Naranjo E, Davy AJ, et al. Growth and Photosynthetic Responses to Salinity of the Salt-marsh Shrub *Atriplex portulacoides*. Annals of Botany,v.100, issue 3,p.555-563, 2007.

Sairam, R.K.; Srivastava,G.C.Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress.Plant Sci.,v.162, p.897-904, 2002.

Shu, S .; Yuan, L.Y.; Guo, S.R.;Sun, J.; Yuan , Y.H. Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidante system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L.under salt stress. Plant Physiol Biochem, v.63, p.209-216, 2013.

Silva, E.N. da; Ribeiro, R.V.; Ferreira-Silva, S.L.; Viégas, R.A.; Silveira, J.A.G. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. Scientia Agricola, v.68, p.62-68, 2011.

Sivstev, M.V.; Ponamareva, S.V.; Kuzmetsova, E.A. Effect of salinization and herbicide on chlorophyllase activity in tomato leaves. Fiziologiya i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii, v.20, p. 62,1973.

Suassuna, J. F.; Melo, A. S.; Costa, F. S.; Fernandes, P. D.; Ferreira, R. S.; Sousa, M. S. S. Eficiência fotoquímica e produtividade de frutos de meloeiro cultivado sob diferentes lâminas de irrigação. Semina: Ciências Agrárias, v.32, p.1251-1262, 2011

Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

Zanandrea, L.; Nassi, F. L.; TurchettO, A. C.; Braga, E. J. B.; Peters, J. A.; Bacarin, M. A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em Phaseolus vulgaris. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v. 12, p. 157-161, 2006.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Atriplex enquanto planta halófita apresenta indiscutível potencialidade de se desenvolver em ambientes salinos. A avaliação do status hídrico da planta, especialmente do potencial osmótico, por meio de curvas de pressão-volume é uma estratégia inovadora e pode ser um fator chave para compreensão das relações hídricas na espécie estudada.

Apesar das dificuldades inerentes a qualquer estudo pioneiro, a pesquisa tornou perceptível a existência de potenciais osmóticos foliares bem menos negativos do que os observados a partir do osmômetro.

A análise dos parâmetros estimados a partir da fluorescência da clorofila *a* se revelaram mais sensíveis do que a concentração dos pigmentos fotossintéticos à identificação do aumento da concentração de NaCl na água de irrigação, indicando que por mais tolerante que a espécie possa ser o maquinário fotossintético pode sofrer efeitos deletérios do estresse salino.

As trocas gasosas foram marcantemente reduzidas em resposta ao aumento dos sais na solução do solo, no entanto foi possível notar aumento da eficiência do uso da água nas plantas mais estressadas demonstrando a habilidade da espécie em se adaptar á condições adversas. As curvas de luz evidenciaram a interferência da salinidade na fotossíntese.

A abordagem de aspectos hídricos e fisiológicos da *Atriplex nummularia* é de grande importância para estudos futuros com essa espécie cultivada com água salina nas condições de solo do semiárido Nordestino do Brasil.