



Acumulação de íons e metabolismo de N em cajueiro anão em meio salino

**Déborah L. de Morais¹, Ricardo A. Viégas², Lígia M. M. Silva³, Adeildo R. Lima Jr.⁴,
Roberto C. L. da Costa⁵, Iza M. A. Rocha⁶ & Joaquim A. G. Silveira⁷**

RESUMO

Com o presente estudo, visou-se identificar o impacto da salinidade sobre a acumulação de íons e solutos orgânicos relacionados com o metabolismo de N em cajueiro anão precoce (CCP06). Decorridos 22 dias da germinação, as plantas foram irrigadas com solução nutritiva contendo 0 (controle), 25, 50, 75 e 100 mM de NaCl, durante 30 dias. A salinidade reduziu a produção de massa seca total sem, no entanto, provocar alterações importantes no conteúdo de água foliar. As concentrações de Cl⁻ e Na⁺ nos tecidos atingiram níveis tóxicos; as de K⁺ aumentaram na parte aérea e foram reduzidas nas raízes. A relação K⁺/Na⁺ decresceu na parte aérea e nas raízes, com o aumento da salinidade. Sintomas visuais de senescência precoce foram observados 10 dias após o início dos tratamentos, fato constatado pela redução dos teores de N total (proteína bruta) e de clorofilas a e b nas folhas e, ainda, por aumentos nas concentrações de prolina e dos demais aminoácidos solúveis totais. Os resultados indicam que as plantas de cajueiro foram sensíveis às concentrações de NaCl utilizadas; supõe-se que esta sensibilidade é decorrente, provavelmente, de um forte desequilíbrio iônico com reflexos no metabolismo geral de N.

Palavras-chave: estresse osmótico, toxicidade, solutos orgânicos

Ion accumulation and N metabolism of dwarf cashew in a saline medium

ABSTRACT

The aim of this study was to identify the impact of salinity on ion accumulation and organic compounds related to N metabolism of dwarf cashew (CCP06). After 22 days of sowing, the plants were irrigated with nutrient solution free of (control) or supplied with 25, 50, 75 and 100 mM NaCl, during 30 days. The salinity reduced total dry matter production without significantly affecting water content of leaves. The concentrations of Na⁺ and Cl⁻ in the tissues reached toxic level and that of K⁺ increased in shoot and decreased in roots. Increasing salinity decreased K⁺/Na⁺ ratios of both shoot and root. On the 10th day of experiment, symptoms of early senescence were observed and were associated with reduction of leaf total N (proteins) and contents of chlorophylls a and b with increase in contents of N-fractions such as proline and total soluble amino acids. The data indicate that dwarf cashew plants are sensitive to NaCl levels utilized probably due to strong disturbance in the ionic homeostasis with implications on the general metabolism of N.

Key words: osmotic stress, toxicity, organic solutes

¹ Engenharia Florestal/UFCG, CEP 58700-970. Patos, PB, bolsista PIBIC/CNPq Fone: (83) 93089095. Email:deborahflorest@yahoo.com.br

² DEF/UFCG, CEP 58700-970. Patos, PB. Fone: (83) 34213397. Email: ravigas@uol.com.br

³ Bolsista DCR/CNPq. Fone: (83) 99516270. Email:ligiamms@yahoo.com.br

⁴ DEBS/UFPA, CEP 58059-900. João Pessoa, PB. Fone: (83) 32482305. Email: adeildojr@uol.com.br

⁵ DA/UFPA, CEP 66075-110, Belém, PA. Fone:(91) 32105288. Email:lobo_da_costa@hotmail.com

⁶ Departamento de Bioquímica e Farmacologia/UFPI, CEP 64049-550. Teresina, PI. Fone: (86) 3232.1789. Email: izarocha2004@yahoo.com.br

⁷ DBBMolecular/UFC. CEP 60020-181. Fortaleza, CE. Fone: (85) 40089831. Email: silveira@ufc.br

INTRODUÇÃO

Concentrações elevadas de sais solúveis no solo concorrem para um significativo decréscimo na produção de grande variedade de culturas, em todo o mundo. Este problema é bem mais severo em regiões áridas e semi-áridas (Munns, 2002), incluindo áreas no Nordeste brasileiro onde a salinidade é um dos fatores ambientais que mais limitam o crescimento e a produtividade das plantas (Viégas et al., 2001).

A salinidade pode inibir o crescimento da planta por efeito da redução do potencial hídrico externo, toxicidade por íons salinos ou por efeito de ambos. A extensão com que cada um desses fatores, isoladamente, afeta o crescimento da planta, depende do genótipo, da espécie e das condições ambientais (Munns, 2002).

Os íons salinos que predominam nos solos afetados por sais (particularmente, Na^+ e Cl^-) podem afetar a absorção de nutrientes de forma direta, por meio de interações competitivas, ou indiretamente, aumentando a permeabilidade das membranas celulares, sobretudo da plasmalema. Por exemplo, um alto nível de Na^+ freqüentemente induz deficiência de Ca^{+2} e K^+ (Rubio et al., 2004). No caso de K^+ , uma redução em sua absorção líquida por aumento do efluxo tem sido associada à perda da integridade da plasmalema (Viégas et al., 2001). De forma geral, a salinidade pode causar dois tipos de estresse nos tecidos e órgãos das plantas superiores: déficit hídrico, como resultado de uma alta concentração de solutos no ambiente radicular, e estresse iônico, em que este último decorre, em grande parte, de alterações nas relações Na^+/K^+ e de concentração excessiva de íons salinos (Na^+ , Cl^-), em especial nas folhas, que são prejudiciais ao metabolismo celular (Horie & Schroeder, 2004). Desta forma, em condições de estresse salino a manutenção do equilíbrio iônico celular ("homeostasis" iônica) se torna ainda mais relevante (Zhu, 2003).

A tolerância à salinidade tem sido definida como a habilidade das plantas em manterem um crescimento contínuo e o metabolismo inalterado em condições de estresse (Munns, 2002). O mecanismo de absorção e o modelo de acumulação de íons em diferentes órgãos da planta, são processos de significativa importância na distinção entre genótipos sensíveis e tolerantes à salinidade (Ashraf & Ahmad, 2000). Um outro fator significativo associado aos mecanismos de tolerância à salinidade em glicófitas, é a habilidade em produzir um ajustamento osmótico eficiente associado à acumulação de solutos orgânicos, a exemplo da prolina, aminoácidos livres, açúcares e proteínas (Silveira et al., 2003). A acumulação desses compostos durante o estresse é geralmente sugerida como imprescindível para a regulação osmótica e proteção de estruturas celulares que ajudam a planta a se adaptar ao estresse salino imposto (Munns, 2002). Em mudas de cajueiro, a acumulação de prolina em resposta à salinidade é intensiva e está associada, provavelmente, a aumentos na atividade de proteases e a um desequilíbrio no metabolismo de proteínas e aminoácidos (Silveira et al., 2003).

Objetivou-se, através deste estudo, estabelecer as bases fisiológicas da resposta à salinidade em plantas de cajueiro (CCP06), com ênfase ao metabolismo de N e avaliar a extensão com que os íons salinos são acumulados em diferentes

órgãos e os seus possíveis reflexos sobre a aquisição e distribuição de K^+ .

MATERIAL E MÉTODOS

Condições ambientais e descrição do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, PB, em junho e julho de 2002, utilizando-se plantas jovens de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), (CCP06). As sementes procederam da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária (EMBRAPA), Fortaleza, CE, e foram semeadas em vasos plásticos (5 sementes por vaso) contendo 2,5 dm³ de areia previamente lavada. Durante o período de germinação o substrato foi irrigado a intervalos de 24 h com solução contendo 1,0 mM de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. A emergência total das plantas se deu no período de até 10 dias; decorridos 22 dias do semeio (plantas com 12 dias de idade), procedeu-se a um desbaste, deixando-se 1 planta por vaso, ocasião em que as plantas de cajueiro passaram a ser irrigadas com a solução nutritiva (pH = 5,0) de Hoagland & Arnon (1950) com ½ de força iônica original, durante 3 dias; após este tempo, a força iônica da solução nutritiva foi elevada para 1, durante 7 dias e, nesta fase, foram adicionados, à solução nutritiva, 25, 50, 75 e 100 mM de NaCl. As plantas jovens de cajueiro cultivadas sem a presença de NaCl na solução nutritiva, foram consideradas controle experimental.

Passados 30 dias do início dos tratamentos, as plantas foram cortadas na altura da cicatrização dos cotilédones e separadas em parte aérea (folhas e caules) e raízes. As raízes foram lavadas com água em excesso, para completa remoção dos sais, enquanto o material vegetal coletado foi secado em estufa (80 °C) ou liofilizado, pesado (para determinação da massa seca) moído e, subseqüentemente, armazenado para posteriores análises e determinações orgânicas e inorgânicas.

A temperatura média no interior da casa de vegetação durante a condução do experimento, variou de 33 a 36 °C durante o dia e de 25 e 28 °C durante a noite. A umidade relativa do ar manteve-se no intervalo entre 35 e 50% durante o dia e a noite, respectivamente. O experimento foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 5 repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância e de regressão polinomial.

Determinação dos teores de Cl^-

Para determinação da concentração de cloreto no tecido vegetal (parte aérea e raízes), utilizou-se o método da titulação com nitrato de prata (Malavolta et al., 1989); para isto, 100 mg de tecido vegetal foram acondicionados em erlenmeyer contendo 25 mL de água destilada; o conjunto foi submetido a uma extração em agitador horizontal, a 100 rpm, durante 10 min.; após filtração, 10 mL do sobrenadante foram tratados com 1,0 mL de cromato de potássio 5% e, posteriormente, titulados com nitrato de prata 28 mM.

Determinação dos teores em Na⁺ e K⁺

Amostras de 100 mg de tecido vegetal foram mineralizadas por via úmida, empregando-se a digestão nitricoperclórica (Sarruge & Haag 1974), e os teores de Na⁺ e K⁺ foram determinados por fotometria de chama (Silveira et al., 1999).

Determinação de N total

Amostras de 100 mg de folhas previamente secadas em estufa, foram adicionadas a tubos de microdestilação contendo 1,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 1,10 g de uma mistura catalisadora, composta por sulfato de potássio, sulfato de cobre e selênio, na proporção, em massa, de 100/10/1, respectivamente; em seguida, esses tubos foram acondicionados em placa digestora quando então se deu início ao processo de mineralização. A temperatura da placa foi elevada gradualmente, até 350 °C. Ao final do processo de mineralização, observada pela modificação da cor no meio de reação, o conteúdo de cada tubo foi ressuscitado com água destilada (aproximadamente 20 mL) e suplementado com 0,3 mL de fenolftaleína a 3% e 10 mL de NaOH 30%, etapa em que os tubos foram submetidos a micro destilação (Malavolta et al., 1989) sendo a fase líquida recuperada em erlenmeyer contendo 6,0 mL de uma solução de ácido bórico. O conteúdo de cada erlenmeyer foi titulado com solução 0,02 M de HCl. O percentual de N total foi determinado mediante a multiplicação do volume gasto na titulação (menos prova em branco) pela molaridade do HCl.

Determinação de prolina livre

A estimativa do teor de prolina livre seguiu a metodologia de Bates et al. (1973). Amostras de tecido vegetal previamente liofilizadas foram maceradas em almofariz em presença de 3,0 mL de ácido sulfossalicílico 3%; logo após, 2 mL do extrato foram transferidos para tubos tipo "eppendorf" e centrifugados a 12.000 g; o sobrenadante foi coletado e alíquotas de 1 mL foram transferidas para tubos de ensaio, contendo 1 mL de ninhidrina ácida (1 g do reagente de ninhidrina dissolvida em 24 mL de ácido acético glacial + 16 mL de ácido fosfórico 6 M) e 1,0 mL de ácido acético glacial concentrado. Após homogeneização, os tubos, hermeticamente fechados, foram acondicionados em banho-maria, a 100 °C, durante 1 h, cuja reação foi interrompida por meio de uma redução imediata da temperatura, conforme contato dos tubos de ensaio com água a 2 °C; em seguida, 2 mL de tolueno foram adicionados ao meio de reação; depois de agitação vigorosa, aproximadamente 15 s, duas fases foram formadas: a fase aquosa superior, de coloração avermelhada (cromóforo + tolueno), foi recuperada e submetida a uma leitura em espectrofotômetro, a 520 nm. Os teores de prolina foram estimados com base em uma reta padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de L-prolina.

Determinação de carboidratos solúveis totais

A 100 mg de tecido vegetal foram adicionados 4 mL de etanol 80%, durante 15 min, seguindo-se centrifugação a 5000 g, pelo tempo de 10 min. O sobrenadante foi coletado e o precipitado ressuscitado em 3 mL de etanol 80%, por duas vezes; após junção dos sobrenadantes, o volume foi aferido

com água deionizada para 10 mL e a dosagem foi feita espectrofotometricamente, pelo método fenol-sulfúrico, descrito por Dubois et al. (1956). Os extratos foram diluídos convenientemente antes da dosagem, para obtenção de leituras na faixa entre 0,2 e 0,5 unidades de absorvância. As leituras foram efetuadas a 490 nm. Utilizou-se glicose como padrão.

Determinação do conteúdo de água

Amostras de folhas de cada tratamento foram coletadas determinando-se a massa fresca; em seguida, essas amostras foram submetidas a estufa com circulação forçada de ar, temperatura de 90 °C, até atingir massa constante, para determinação do conteúdo de água pela diferença entre as massas fresca e seca (Silveira et al., 2003).

Determinação dos teores de clorofilas

A extração de clorofilas se deu pelo método descrito por Engel & Poggiani (1991). Foram macerados 7 mg de folhas secas liofilizadas em almofariz, contendo 20 mL de acetona 80% (v.v⁻¹), durante 5 min; em seguida, o extrato foi submetido a 8.000 rpm durante 5 min; a quantificação de clorofilas foi realizada diretamente no sobrenadante, após leitura em espectrofotômetro a 645, 652 e 663 nm. As concentrações de clorofila a (Chla) e clorofila b (Chlb) foram determinadas conforme as relações descritas por Whitham et al. (1971).

Determinação de aminoácidos livres totais

A concentração dos aminoácidos livres totais foi determinada pelo método de Peoples et al., (1989). Amostras previamente liofilizadas, de 100 mg de tecido vegetal, foram acondicionadas em tubos de ensaio hermeticamente fechados, contendo 5,0 mL de água destilada, após o que foram incubados em banho-maria, a uma temperatura de 100 °C, durante 30 min; logo depois, os tubos de ensaio foram centrifugados a 6.000 g por 10 min, ao término de que o sobrenadante foi coletado e o precipitado ressuscitado em 5,0 mL de água destilada e reextraído, como citado anteriormente. Após aferição com água destilada em tubos de ensaio graduados, o volume final dos extratos provenientes das duas etapas de extração foi elevado para 10 mL. A reação para dosagem dos aminoácidos livres totais foi conduzida em tubos de ensaio contendo uma alíquota de 0,1 mL de extrato, em presença de 1,0 mL de uma solução tamponada a pH 5,0 contendo 0,2 M de citrato; 1,0 mL do reagente de ninhidrina (KCN 0,1 mM e ninhidrina 5% em methoxy etanol) e 4,0 mL de água destilada. Após homogeneização, os tubos, hermeticamente fechados, foram acondicionados em banho-maria, a 90 °C, pelo tempo de 15 min. A reação foi interrompida por meio de uma abrupta redução da temperatura do meio de reação, mediante contato dos tubos de ensaio com água, a 2 °C; as leituras foram feitas em espectrofotômetro, a 570 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de massa seca total (MST) das plantas jovens de cajueiro foi substancialmente reduzida em resposta às doses de NaCl aplicadas (Figura 1A); os decréscimos alcan-

çaram 18, 30, 37, e 39% em 25, 50, 75, e 100 mM de NaCl, respectivamente, em relação ao valor calculado para as plantas controle (cultivadas na ausência de NaCl). Em termos absolutos, a massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) contribuiu de forma diferente com a queda da produção de MST acumulada (Figura 1B, C); como exemplo, na maior concentração de NaCl ocorreu redução de 40% na MSPA e de 60% na MSR; desta forma e contrariamente aos resultados observados neste trabalho, tem-se constatado que em várias espécies de plantas o crescimento da parte aérea (com base na massa seca produzida e acumulada) é bem mais sensível à salinidade que o crescimento das raízes (Zidan et al., 1990; Silveira et al., 1999; Wanderley, 2002); por exemplo, em plantas jovens de algarobeira as massas secas da parte aérea e das raízes foram reduzidas em 20 e 11%; nas plantas de jurema, em 45 e 37% e, nas plantas de leucena, em 61 e 52%, respectivamente, em resposta a 100 mM de NaCl (Wanderley, 2002). De maneira geral, tem-se sugerido que esta tendência de menores decréscimos na produção de MSR, comparativamente a MSPA, em condições de salinidade é explicada, em parte, por aumentos na exportação de carboidratos e de proteínas da parte aérea até as raízes (Viégas et al., 2004a) permitindo que o crescimento radicular seja privilegiado a despeito das condições restritivas de cultivo (Silveira et al., 2003). Sugere-se, portanto, que em cajueiro a exportação de carboidratos e de proteínas, da parte aérea até as raízes, é reduzida pela salinidade.

As plantas jovens de cajueiro submetidas à presença de diferentes concentrações de NaCl exibiram, como tendência, concentrações de Na^+ e de Cl^- nas folhas (Figura 2A,B) bem próximas àquelas encontradas nas raízes (Figura 2D,E). Com relação ao K^+ , as concentrações deste íon sofreram pequenas variações na parte aérea até 75 mM de NaCl (Figura 2C) e, contrariamente, foram fortemente reduzidas nas raízes (Figura 2F). Desta forma, o modelo de regressão (quadrático) apresentado pelas plantas de cajueiro, relativamente à acumulação de íons salinos (Na^+ e Cl^-), mostra que as raízes não foram eficientes em prevenir uma acumulação excessiva de Na^+ e Cl^- na parte aérea; prevê-se, portanto, que vários processos fisiológicos e reações bioquímicas sejam afetados por essas condições. Tem-se observado, de maneira ampla, que o excesso de íons de Na^+ e de Cl^- no citosol celular afeta a atividade de várias enzimas, causando mudanças quantitativas e qualitativas no metabolismo das plantas (Rubio et al., 2004); essas mudanças resultam em baixa produção de energia, além de provocar distúrbios na assimilação de N e no metabolismo de proteínas, fato este refletido na redução da produção de MST (Figura 1A).

A princípio, redução na taxa de crescimento das plantas em resposta a concentrações elevadas de sais solúveis no meio de crescimento pode ser, em parte, consequência da necessidade de um eficiente ajustamento osmótico celular, o qual é conseguido pelo acúmulo de solutos orgânicos, a exemplo de proteínas e aminoácidos (Silveira et al., 2003), com elevado custo energético para a planta, e inorgânico, a exemplo de K^+ ; neste último, aumentos na concentração interna de K^+ por efeito da salinidade, pode ser indicativo de melhorias no status hídrico atual da planta induzido, em parte, por reduções

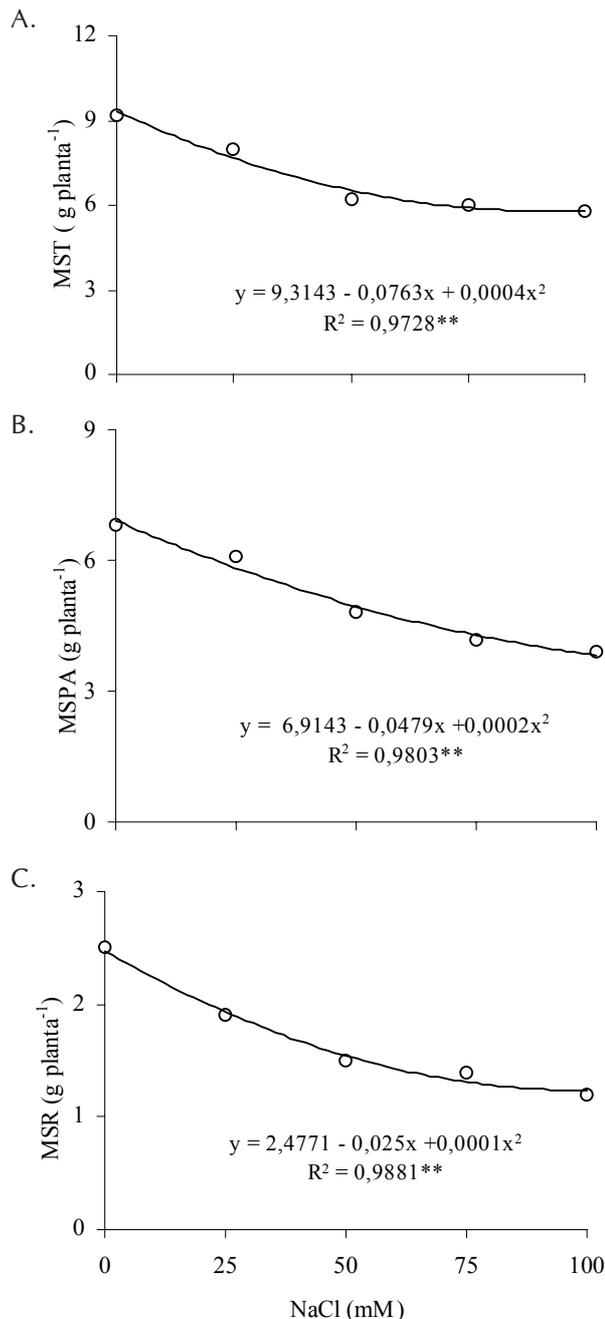


Figura 1. Massa seca total (MST) (A), massa seca da parte aérea (MSPA) (B) e massa seca das raízes (MSR) (C), em plantas jovens de cajueiro, em resposta a diferentes concentrações de NaCl na solução nutritiva utilizada na irrigação. ** Significativo a 1% de probabilidade (Teste F)

no potencial osmótico celular (Viégas, 1990); contudo, apesar de ter ocorrido aumento no teor de K^+ , na parte aérea das plantas de cajueiro (Figura 2C), em 100 mM de NaCl, não se observaram efeitos benéficos em relação ao crescimento da espécie em estudo; contrariamente, naquela concentração de NaCl e nas demais testadas, as plantas de cajueiro exibiram sintomas típicos de senescência precoce (provavelmente por aumento da atividade de proteases). É de se esperar, portanto, que os efeitos de toxicidade por íons de Na^+ e de Cl^- e, sobretudo, uma ruptura da “homoeostasis” iônica, tenham prevalecido sobre qualquer efeito benéfico originado a partir do aumento da concentração foliar de K^+ . Algumas espécies

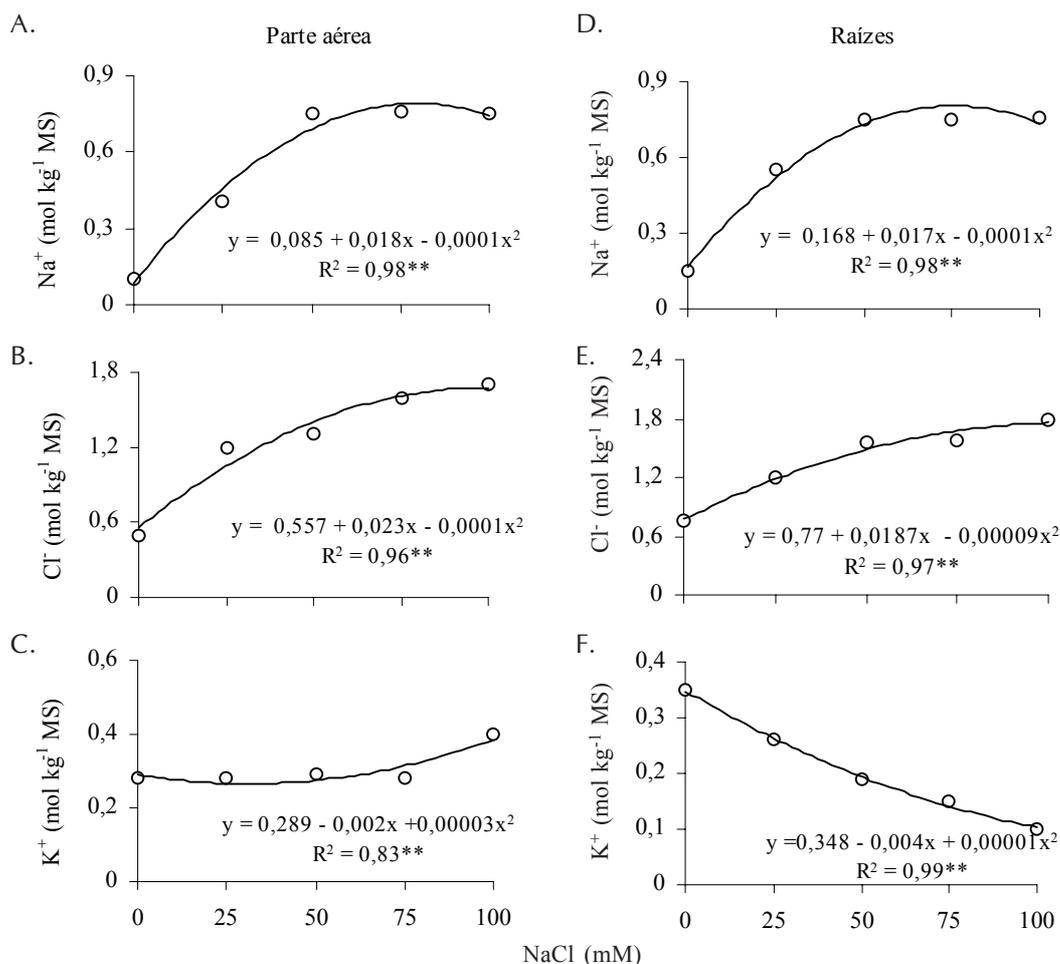


Figura 2. Concentração de Na^+ (A, D), Cl^- (B, E) e K^+ (C, F) na parte aérea e nas raízes, respectivamente, em plantas jovens de cajueiro, em resposta a diferentes concentrações de NaCl na solução nutritiva utilizada na irrigação. ** Significativo a 1% de probabilidade (Teste F)

de plantas sensíveis à toxicidade iônica também exibem incremento na acumulação de K^+ nas folhas em condições de estresse salino (Cheeseman, 1995). Por outro lado, os decréscimos observados na acumulação de K^+ nas raízes com o aumento da concentração de NaCl no meio de crescimento, podem estar relacionados a aumentos no efluxo deste nutriente em virtude, provavelmente, de uma permeabilidade maior da membrana das células radiculares, por efeito de Na^+ . Esta maior permeabilidade em condições de salinidade se deve, em grande parte, à troca do Ca^{2+} da plasma membrana por Na^+ (Viégas et al., 2001). Ressalta-se que o íon Ca^{2+} promove a conexão de várias proteínas e lipídeos na superfície da plasmalema conferindo sua estabilidade (Hirschi, 2004); desta forma, uma análise, ainda que superficial, sobre as consequências da dinâmica de acumulação dos íons Na^+ , Cl^- e K^+ em tecidos de folhas e raízes de plantas de cajueiro, permite inferir-se que somente em condições muito amenas de estresse salino poderá haver compatibilização entre as taxas de absorção desses íons e o crescimento da espécie; de maneira geral, esta compatibilização deve ser considerada uma das condições necessárias ao estabelecimento de uma efetiva tolerância da planta à salinidade.

Informações quanto à dinâmica da acumulação de íons de K^+ e Na^+ , em condições de salinidade, podem ser obtidas

mediante análise da relação K^+/Na^+ (Figura 3A, B). Tanto na parte aérea quanto nas raízes, a relação K^+/Na^+ na plantas controle foi aproximadamente, 3; em 25 mM de NaCl ; este valor foi abruptamente reduzido atingindo, no maior nível de salinidade, valores inferiores a 0,5 (em base de mol); portanto, uma redução de aproximadamente 87%. Bottacin et al. (1985) encontraram, em condições de salinidade, uma relação K^+/Na^+ de 1,46 para genótipos resistentes e de 0,64 para genótipos sensíveis à salinidade. Esses autores concluíram que a resistência à salinidade é caracterizada pela manutenção de uma relação K^+/Na^+ compatível com os requerimentos metabólicos da planta. Tem-se estabelecido, para as plantas superiores, um mecanismo duplo de absorção de K^+ , com alta e baixa afinidade por este íon, o qual se ajusta de acordo com o estímulo ambiental (Niu et al., 1995; Maathius et al., 1996). Em plantas que apresentam alta seletividade K^+/Na^+ , é provável que o sistema de absorção de K^+ alcance um estágio com alta afinidade por este íon e, com isto, estabeleça uma redução, ao menos relativa, no influxo de Na^+ .

Dentre as modificações induzidas pela salinidade no metabolismo geral da planta, aquelas associadas ao processo de assimilação de N têm assumido posição de destaque; portanto, considerando-se a reduzida produtividade de espécies glicófitas em condições de salinidade, a assimilação primária

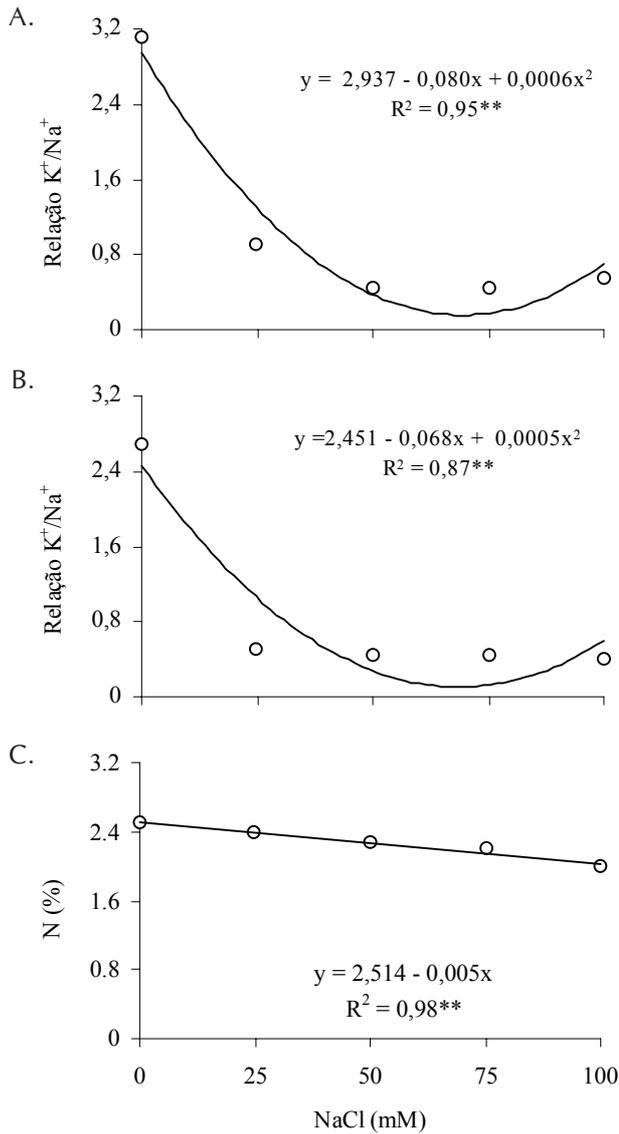


Figura 3. Relação K^+/Na^+ na parte aérea (A) e nas raízes (B) e teores de N total (C) em folhas de plantas jovens de cajueiro, em resposta a diferentes concentrações de NaCl na solução nutritiva utilizada na irrigação. ** Significativo a 1% de probabilidade (Teste F)

de N assume posição de destaque em plantas expostas ao estresse salino ou a outras formas de estresse ambiental (Viégas & Silveira, 1999). É interessante ressaltar que, em condições de salinidade não somente a assimilação de NO_3^- é requerida para o crescimento das plantas mas, também, alguns dos seus metabólitos derivados podem ser utilizados no ajustamento osmótico celular (Silveira et al., 2003). A partir desta evidência, sugere-se que uma sensibilidade acentuada da planta às variações induzidas pela salinidade, tanto na absorção quanto na assimilação de NO_3^- leva, como resposta, a uma severa conseqüência dos efeitos negativos induzidos pela salinidade sobre o metabolismo geral da planta (Viégas & Silveira, 1999). No presente estudo, os efeitos deletérios da salinidade, observados em vários parâmetros fisiológicos aqui analisados e discutidos, são refletidos a partir de uma redução linear nos teores de N total da parte aérea com o aumento da salinidade (Figura 3C). Esta redução indi-

ca, por outro lado, ocorrência prematura do processo de senescência induzida pela salinidade.

Contraditoriamente e ao mesmo tempo em que os teores de N total foram reduzidos com o aumento da salinidade ocorreu, concomitantemente, um aumento exponencial nas concentrações de prolina nas folhas (Figura 4A). Este aumento não pode ser explicado pela assimilação primária de N; portanto, dois fatores podem ter sido determinantes: (1) uma incorporação reduzida de prolina em proteínas (Rocha, 2003) e (2) aumento da conversão de glicina até serina (fotorrespiração) originando prolina (Matos et al., 2003). Considerando-se que o cajueiro é uma planta C_3 e que o presente estudo foi conduzido em um período em que as temperaturas médias da região são as mais altas do ano, condições que aceleram a atividade oxigenase da RuDP (Rubisco) carboxilase/oxigenase (Lehninger et al., 1993), pode-se sugerir que a segunda hipótese teve considerável participação no aumento das concentrações foliares de prolina, como antes sugerido por Viégas et al. (2004b) estudando os efeitos da salinidade sobre a redução assimilatória de NO_3^- em plantas de cajueiro. Portanto, o aumento de prolina parece ser devido a um desequilíbrio no metabolismo (Silveira et al., 2004) e não uma resposta genética da planta, como tem sido especulado, como forma de proteger estruturas subcelulares dos efeitos deletérios da salinidade (Santorio et al., 1992); contudo, tem-se observado aumentos na concentração da enzima P5CR (D^1 -pyrroline-5-carboxylate reductase) em condições de salinidade, indicando que a transcrição do gene P5CR está sob controle desta

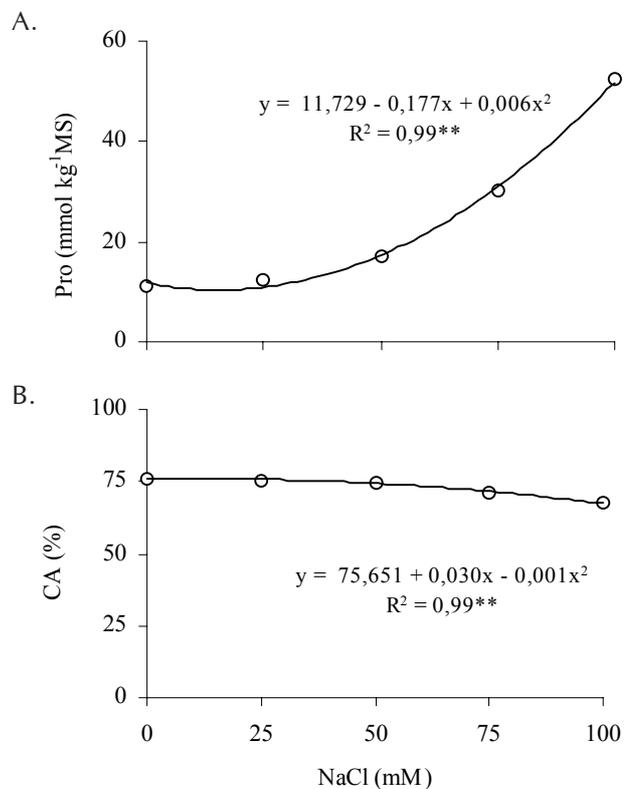


Figura 4. Concentração de Prolina (Pro) (A) e conteúdo de água (CA) (B) em folhas de plantas jovens de cajueiro, em resposta a diferentes concentrações de NaCl na solução nutritiva utilizada na irrigação. ** Significativo a 1% de probabilidade (Teste F)

modalidade de estresse (Delauney & Verma, 1993); ademais e se considerando, no presente estudo, uma distribuição uniforme de prolina no volume de água celular ou, por outro lado, confinada ao citoplasma, a maior concentração deste aminoácido (observada em 100 mM de NaCl) seria insuficiente para contribuir significativamente no ajustamento osmótico das plantas de cajueiro; portanto, a manutenção do conteúdo de água foliar com o aumento da salinidade, em níveis próximos ao controle (Figura 4B), merece uma investigação mais detalhada; neste caso, uma redução no potencial osmótico celular por efeito principalmente do acúmulo de Na^+ e Cl^- , é uma hipótese que deve ser investigada em futuras pesquisas.

É interessante ressaltar que a contribuição relativa de prolina em relação ao “pool” dos aminoácidos livres totais representou aproximadamente 17% no controle experimental e 36% na maior concentração de NaCl utilizada (Figuras 4A, 5A); portanto, com a salinidade a concentração efetiva de prolina no tecido foliar aumentou cerca de 100%. Uma vez que este aumento não se converteu em fator de eficiência em termos de uma resposta melhor das plantas de cajueiro à salinidade, parece plausível a hipótese de que a síntese de prolina, em condições de estresse salino, é aparentemente implicada com mecanismos de minimização da acidez do citoplasma, mantendo as taxas de $\text{NADP}^+/\text{NADH}$ compatíveis com o metabolismo (Hare & Cress, 1997); segundo esses autores, em condições que permitam uma redução do estresse imposto, o rápido catabolismo de prolina pode fornecer equivalentes redutores para manter a fotofosforilação oxidativa na mitocôndria e, também, contribuir na reparação de estruturas celulares danificadas pelo estresse.

A salinidade provocou forte distúrbio no aparato fotossintético das plantas, o que pode ser constatado mediante reduções observadas nas concentrações de clorofilas a e b e, em conseqüência, nas concentrações de açúcares solúveis totais (Figura 5B, C). Essas reduções foram bem mais expressivas (em termos relativos) nas concentrações de clorofilas a; portanto, a clorofila b foi, aparentemente, mais estável. Desta forma, pode-se averiguar que a clorofila do tipo b apresenta em plantas de cajueiro CCP06, maior resistência à degradação provocada, geralmente, pelo aumento da atividade de enzimas oxidativas induzido por NaCl (Silveira et al., 2003). Ademais e se considerando que a RuDP carboxylase/oxygenase representa mais ou menos 50% das proteínas solúveis totais presentes nas folhas (Stryer et al., 2002) sugere-se que o aumento na concentração dos aminoácidos solúveis totais tenha sido, em grande parte, produto do catabolismo (induzido pela salinidade) desta enzima relacionada com o primeiro passo das reações que levam à redução de CO_2 ; este fato explicaria, pelo menos em parte, a expressiva redução nas concentrações de açúcares solúveis totais (Figura 5C). Ressalta-se que as reduções observadas nas concentrações de clorofilas (Figura 5B) se convertem em menor disponibilidade de ATP via fotofosforilação oxidativa e, também, de força redutora (NAD(P)H) para síntese de triose-fosfato, que são utilizadas na produção de açúcares (Lehninger et al., 1993).

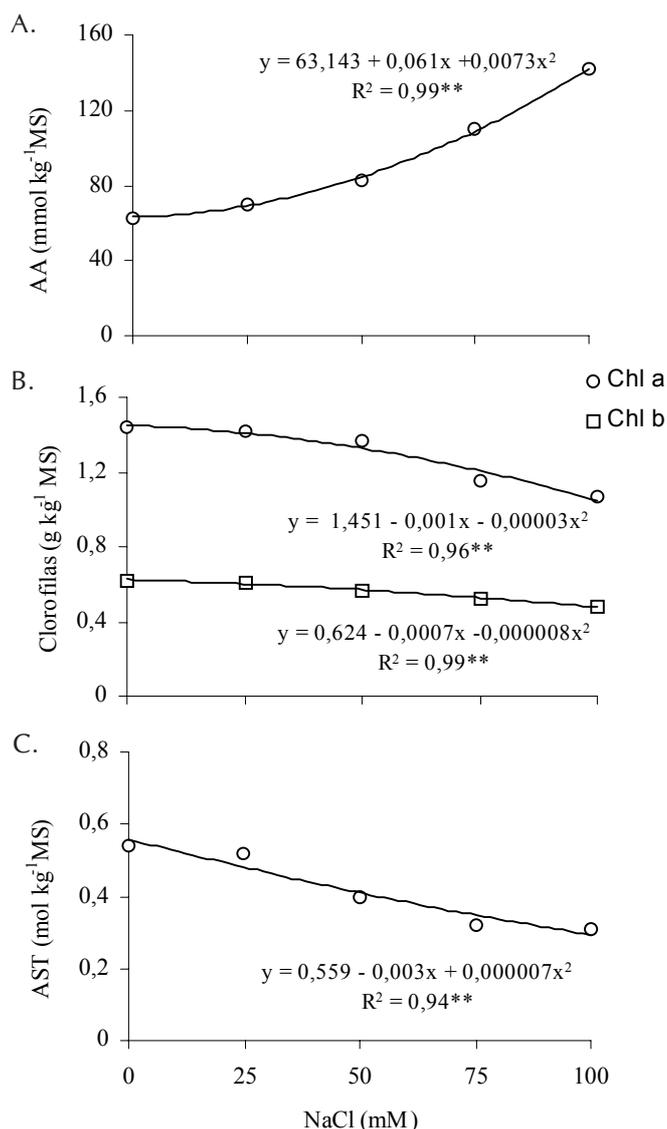


Figura 5. Concentração de aminoácidos solúveis totais (AA) (A), clorofilas a e b (B) e de açúcares solúveis totais (AST), em folhas de plantas jovens de cajueiro, em resposta a diferentes concentrações de NaCl na solução nutritiva utilizada na irrigação. ** Significativo a 1% de probabilidade (Teste F)

CONCLUSÕES

1. A produção de massa seca total do cajueiro anão precoce (CCP06) foi substancialmente reduzida em baixa salinidade, o que caracteriza esta espécie como sensível ao estresse salino por NaCl.
2. Reduções nas concentrações de clorofilas a e b e nos teores de N total, devem estar associadas a aumentos na atividade de enzimas proteolíticas induzidos por efeito da salinidade.
3. O aumento da concentração de prolina nas folhas parece ser decorrente do desequilíbrio causado pela salinidade no metabolismo geral de N.
4. A salinidade provocou redução expressiva na relação K^+/Na^+ , tanto na parte aérea quanto nas raízes.
5. O conteúdo de água na fola não foi limitante para a produção de massa seca em plantas de cajueiro (CCP06) em condições de salinidade.

LITERATURA CITADA

- Ashraf, M.; Ahmad, S. Influence of sodium on ion accumulation, yield components and fiber characteristics in salt-tolerant and salt-sensitive lines of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Field Crops Research*, Oxford, v.66, n.2, p.115-127, 2000.
- Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.39, n.6, p.205-207, 1973.
- Bottacin, A.; Cacco, G.; Saccomani, M. Nitrogen absorption and assimilation in NaCl-susceptible millet genotypes (*Pennisetum americanum*). *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.63, n.3, p.517-520, 1985.
- Cheeseman, J.M. Effect of Na⁺ on K⁺ uptake in intact seedlings of *Zea mays*. *Physiology Plantarum*, Copenhagen, v.64, n.1, p.243-246, 1995.
- Delauney, A.J.; Verma, D.P.S. A soybean gene coding for pyrroline-5-carboxylate reductase was isolated by functional complementation in *Escherichia coli* and is found to be regulated. *The Plant Journal*, Gainesville, v.4, n.2, p.215-223, 1993.
- Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Roberts, P.A.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, New York, v.28, n.2, p.350-356, 1956.
- Engel, V.L.; Poggiani, F. Estudo da concentração de clorofilas nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Viçosa, v.3, n.1, p.39-45, 1991.
- Hare, P.D.; Cress, W.A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, New York, v.21, n.1, p.79-102, 1997.
- Hirschi, K.D. The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. *Plant Physiology*, Rockville, v.136, n.6, p.2438-2442, 2004.
- Hoagland, D.R.; Arnon, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. *Californian Agricultural Experimental Station*, University of California, Berkeley: University Press, 1950, 139p.
- Horie, T.; Schroeder, J.I. Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. *Plant Physiology*, Rockville, v.136, n.6, p.2457-2462, 2004.
- Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M. Principles of plant biochemistry. 2.ed. New York: Worth Publishers, 1993. 1013p.
- Maathius, F.J.M.; Dawn Verlin, F.; Smith, F.A.; Sanders, D.; Fernandez, J.A.; Walker, N.A. The physiological relevance of the Na⁺ coupled K⁺ transport. *Plant Physiology*, Rockville, v.112, n.2, p.1609-1616, 1996.
- Malavolta, E.; Vitti, G.; Oliveira, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: POTAFOS, 1989. 219p.
- Matos, N.N.; Teixeira Junior, A.C.; Silveira, J.A.G. Influence of rootstock on physiological behavior of grafted cashew nut tree (*Anacardium occidentale* L.) under two stress conditions. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Campinas, v.25, n.1, p.27-31, 2003.
- Munns, R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment*, Logan, v.25, n.4, p.239-250, 2002.
- Niu, X.; Bressan, R.A.; Hasegawa, P.M.; Pardo, J.M. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiology*, Rockville, v.109, n.2, p.735-742, 1995.
- Peoples, M.B.; Faizah, A.W.; Reakasem, B.; Herridge, D.F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. Canberra: Australian International Center of Agricultural Research, 1989, 76p.
- Rocha, I.M.A. Regulação metabólica da acumulação de prolina em folhas de cajueiro expostas ao estresse salino. Fortaleza: UFC, 2003. 103p. Tese Doutorado
- Rubio, L.; Rosado, A.; Linares-Rueda, A.; Borsani, O.; García-Sánchez, M.J.; Valpuesta, V.; Fernandez, J.A.; Botella, M. A. Regulation of K⁺ transport in tomato roots by the *TSS1* locus. Implications in salt tolerance. *Plant Physiology*, Rockville, v.134, n.3, p.452-459, 2004.
- Santoro, M.M.; Liu, Y.; Khan, S.M.A.; Hou, L.X.; Bolen, D.W. Increased thermal stability of proteins in the presence of naturally occurring osmolyte. *Biochemistry*, New York, v.31, n.1, p.5278-5283, 1992.
- Sarruge, J.R.; Haag, H.P. Análise química de plantas. 1.ed. Piracicaba: Imprensa Universitária, 1974, p. 56.
- Silveira, J.A.G.; Costa, R.C.L.; Viégas, R.A. Phosphoenolpyruvate carboxylase and glutamine synthetase activities in relation to nitrogen fixation in cowpea nodules. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Campinas, v.10, n.1, p.19-23, 1999.
- Silveira, J.A.G.; Viégas, R. A.; Rocha, I.M.A.; Moreira, A.C.O.M.; Moreira, R.A.; Oliveira, J.T.A. Proline accumulation and glutamine sintetase activity are increased by salt induced proteolysis in cashew leaves. *Journal of Plant Physiology*, Sevilla, v.160, n.1, p.115-123, 2003.
- Stryer, L.; Tymoeckzo, J.L.; Berg, J.M. *Biochemistry*. New York: Freeman and Company, 2002. p.1057.
- Viégas, R.A. Dinâmica de fontes de fósforo aplicadas a solos com diferentes valores de pH. Viçosa: UFV, 1990, 60p. Dissertação Mestrado
- Viégas, R.A.; Fausto, M.J.M.; Queiroz, J.E.; Rocha, I.M.A.; Silveira, J.A.G. Growth and total-N content of *Prosopis juliflora* (SW) D.C. are stimulated by low NaCl levels. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Campinas, v.16, n.1, p.65-68, 2004a.
- Viégas, R.A.; Silveira, J.A.G. Ammonia assimilation and proline accumulation in cashew (*Anacardium occidentale* L.) plants submitted to NaCl-salinity. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Campinas, v.11, n.2, p.153-159, 1999.
- Viégas, R.A.; Silveira, J.A.G.; Lima Jr., A.R. Effects of NaCl-salinity on growth and inorganic solute accumulation in young cashew plants. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.5, n.2, p.216-222, 2001.

- Viégas, R.A.; Silveira, J.A.S.; Silva, L.M.M.; Viégas, P.R.A.; Queiroz, J.E.; Rocha, I.M.A. Redução assimilatória de NO_3^- em cajueiros cultivados em meio salinizado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.8, n.2/3, p.189-195, 2004b.
- Wanderley, H.R. Crescimento e distribuição de Na^+ , K^+ e Cl^- em plantas jovens de algaroba, angico, jurema-preta e leucena em resposta ao estresse salino. Patos: UFPB. 2002, 35p. Monografia Conclusão de Curso
- Whitham, F.H.; Blaydes, D.F.; Devlin, R.N. *Experiments in plant physiology*. 1.ed. New York: D. van Nostrame Company, 1971, p.55-88.
- Zhu, J. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.6, n.2, p.441-445, 2003.
- Zidan, I.; Azaizeh, H.; Neumann, P. M. Does salinity reduce growth in maize root epidermal cells by inhibiting their capacity for cell wall acidification? *Plant Physiology*, Rockville, v.93, n.1, p.7-11, 1990.