

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA FLORESTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

Elaine Cristina Alves da Silva

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E ENZIMÁTICAS EM
MUDAS DE *Moringa oleifera* Lam. SUBMETIDAS A ESTRESSES
ABIÓTICOS**

RECIFE – 2013

ELAINE CRISTINA ALVES DA SILVA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E ENZIMÁTICAS EM
MUDAS DE *Moringa oleifera* Lam. SUBMETIDAS A ESTRESSES
ABIÓTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais.

Orientadora: Profa. Dra. Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira

Co-orientadora: Profa. Dra. Marília Regina Costa Castro Lyra

RECIFE - 2013

Ficha Catalográfica

S586r Silva, Elaine Cristina Alves da
Respostas fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas em
mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas a estresses
abióticos / Elaine Cristina Alves da Silva. -- Recife, 2013.
98 f.: il.

Orientador (a): Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira.
Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de
Ciências Florestais, Recife, 2013.
Referências.

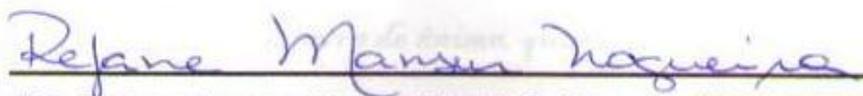
1. Silvicultura 2. Seca 3. Salinidade 4. Relações hídricas
5. Trocas gasosas 6. Solutos orgânicos 7. Enzimas
antioxidantes 8. *Moringa oleifera* Lam. I. Nogueira, Rejane
Jurema Mansur Custódio, orientadora II. Título

CDD 634.9

ELAINE CRISTINA ALVES DA SILVA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E ENZIMÁTICAS EM
MUDAS DE *Moringa oleifera* Lam. SUBMETIDAS A ESTRESSES
ABIÓTICOS**

Aprovado em: 28/02/2013



Profª. Drª. Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira (ORIENTADORA)
(Departamento de Biologia/ UFRPE)

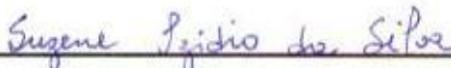
Dissertação apresentada à banca examinadora:



Prof Dr. Marco Antônio Amaral Passos
(Departamento de Ciência Florestal/ UFRPE)



Profa Dra. Margareth Ferreira de Sales
(Departamento de Biologia/ UFRPE)



Profa Dra. Suzene Izídio da Silva
(Departamento de Biologia/ UFRPE)



Profa Dra. Maria de Mascena Diniz Maia - Suplente
(Departamento de Biologia/ UFRPE)

A todos que passaram em minha vida, e deixaram lembranças,

A todos que sempre estavam dispostos a me ajudar,

A todos que me deram uma palavra de ânimo, quando precisei,

A todos que me ajudaram a acertar quando errei,

A todos que me ajudaram a levantar quando caí,

A todos que me ajudaram a compreender o que achei que jamais entenderia,

*A todos que estavam do meu lado, mesmo quando meus pensamentos estavam tão
distantes,*

A todos que sempre estão do meu lado e torcem por mim...

DE DITO

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir a realização de mais este sonho, por me guiar e colocar pessoas em meu caminho para me ajudar.

A minha família, por sempre estar do meu lado me apoiando e me ajudando em tudo. Em especial a minha Fátima Silva (mãe), Edivaldo Ezequiel (pai), Ezaul Ezequiel (irmão) e Moisés Anselmo (noivo).

Ao programa de pós-graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, a qual permitiu minha dedicação exclusiva ao desenvolvimento da pesquisa.

A minha orientadora, professora Rejane Mansur Custódio Nogueira, pelos conselhos e orientação.

A toda equipe do Laboratório de fisiologia Vegetal, a qual sempre estavam dispostos à me ajudar, como: Marcelle Almeida, Hugo Henrique, Cinthya Mirella, Cibele Alves, Natália Vaz, Rafaela Pereira, Marcelo Maurício, Fernanda Alves, Alison, Antunes, Adenilda Moura, Tássia Taiana, Ana Virgínia, Flamárion de Araújo, Ana Karine, Paulyne Charlotte. E também ao agregado do laboratório de fisiologia vegetal, Clovis Lapa.

A Jaqueline Kelly pela ajuda e paciência nas análises enzimáticas.

Ao professor Manuel Adrião por ceder o espaço e equipamentos do Laboratório de Fisiologia Animal (FAMA) para a realização das análises enzimáticas.

Aos professores da banca, Marco Passos, Margareth Sales, Suzene Izídio e Maria de Mascena pelas contribuições na correção da dissertação.

Aos meus colegas da pós-graduação, aos que eu já conhecia e as novas amigas formadas, Thyêgo, Moisés, Arlindo, Josemário, Iram, Hiam, Cristiano, Izabela e Jadson.

Aos meus amigos da graduação, em especial à Márcia da Silva, Felipe Moraes e Fabiana Francisca, os quais, mesmo distantes sempre estavam dispostos a me ajudar.

E por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste sonho, com palavras ou ensinamentos, e não foram citados acima.

*Por toda minha vida
Ó Senhor te louvarei
Pois meu fôlego é a tua vida
E nunca me cansarei
Posso ouvir a tua voz
É mais doce do que o mel
Que me tira desta cova
E me leva até o céu
Já vi fogo e terremotos
Vento forte que passou
Já vivi tantos perigos
Mas tua voz me acalmou
Tu dá ordens às estrelas
E ao mar o seu limite
Eu me sinto tão seguro
No teu colo
Ó altíssimo*

*Não há ferrolhos, nem portas,
Que se fechem diante da tua voz,
Não há doenças, nem culpas,
Que fiquem de pé diante de nós,
E a tempestade, se acalma,
Na voz daquele que tudo criou,
Pois sua palavra é pura
Escudo para os que nele creem.*

(MUSICA: O escudo/ BANDA: Voz da verdade)

SILVA, ELAINE CRISTINA ALVES DA, Respostas fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas a estresses abióticos. 2013. Orientadora: Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira; Co-orientadora: Marília Regina Costa Castro Lyra.

RESUMO

Os problemas relacionados com a distribuição de chuvas tendem a se intensificarem com o aquecimento global, o que resulta em prejuízos econômicos, principalmente para a região do semiárido. A *Moringa oleifera* Lam. é uma espécie que apresenta uma diversidade de usos e pode ser uma alternativa de cultivo para o semiárido. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar as respostas iniciais em mudas de moringa em casa de vegetação sob condições ambientais adversas em dois ensaios (hídrico e salino). Foram avaliados parâmetros como, relações hídricas, trocas gasosas, eficiência quântica do fotossistema II, concentração de pigmentos fotossintetizantes, solutos orgânicos e a atividade enzimática. Para o ensaio 1 foram utilizados quatro tratamentos hídricos: controle (C), 5 dias de supressão de rega (5d SR), 10 dias de supressão de rega (10d SR) e reirrigado (RI) e para o ensaio 2 foram utilizados três tratamentos salinos: 0 mM de NaCl (C), 75 mM de NaCl (EM) e 150 mM de NaCl (ES) em três períodos de exposição ao estresse 2, 24 e 48 horas. Como resultados do ensaio 1, observou-se que o tratamento mais afetado foi 10d SR, onde as plantas deste tratamento tiveram seu potencial hídrico reduzido no entanto seu teor relativo de água foi mantido. As variáveis das trocas gasosas para estas mesmas plantas foram todas reduzidas em relação ao controle. A eficiência quântica do fotossistema II não foi afetada o que possibilitou a recuperação da maioria das variáveis após a reirrigação. Em relação aos solutos orgânicos observou-se uma redução destes nas folhas das plantas submetidas ao tratamento 10d SR, no entanto para as raízes e túberas observou-se o inverso, onde estas plantas apresentaram os maiores valores. A atividade da enzima ascorbato peroxidase foi intensificada nas raízes das plantas do tratamento 10d SR e RI, e a atividade da catalase foi intensificada nas folhas das plantas submetidas ao tratamento RI e reduzida nas raízes. Como resultados do ensaio 2 observou-se que as plantas submetidas ao ES, apresentaram os menores valores para as relações hídricas e trocas gasosas, que foram se intensificando com o prolongamento do estresse. De modo geral, pode-se observar que os teores de solutos aumentaram nas raízes e túberas. A atividade da enzima ascorbato peroxidase foi intensificada nas folhas e reduzida nas raízes e túberas, enquanto a atividade da catalase foi maior apenas nas folhas. Estes resultados foram diferentes das plantas submetidas ao EM, pois estas apresentaram valores semelhantes às plantas do tratamento C para a maioria das variáveis avaliadas. A supressão hídrica de 10 dias não foi suficiente para provocar danos ao aparato fotossintético, possibilitando a mesma recuperar-se em apenas 24 horas de reirrigação. As plantas submetidas ao EM não foram afetadas, pois para a maioria das variáveis avaliadas, estas plantas apresentaram valores semelhantes as plantas do tratamento C. Diferentemente das plantas submetidas ao ES todos os parâmetros avaliados foram afetados drasticamente e embora tenham aumentado a atividade enzimática, esta não foi suficiente para impedir os danos provocados pelo estresse salino.

Palavras – chaves: Seca, salinidade, potencial hídrico, fotossíntese.

SILVA, ELAINE CRISTINA ALVES DA, Physiological, biochemical and enzymatic changes of *Moringa oleifera* Lam. subjected to abiotic stresses.2013. Adviser: Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira; Comitê: Marília Regina Costa Castro Lyra

ABSTRACT

The problems related to the distribution of rainfall tend to intensify as global warming, resulting in economic losses, mainly for the semi-arid region. The *Moringa oleifera* Lam. is a species that has a variety of uses and can be an alternative crop for semiarid. Given the above, this work aimed to evaluate the initial responses in seedlings of moringa in greenhouse under adverse environmental conditions in two trials (water and salt). Parameters such as water relations, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II, concentration of photosynthetic pigments, organic solutes and enzyme activity. For the first test we used four water treatments: control (C), 5 day watering suppression (5d SR), 10 days suppression watering (10d SR) and reirrigado (RI) and the 2 test were used three treatments saline: 0 mM NaCl (C), 75 mM NaCl (EM) and 150 mM NaCl (ES) into three periods of exposure to stress 2, 24 and 48 hours. As the results of Test 1, it was observed that the treatment was more affected 10d SR, where plants of this treatment had reduced water potential however their relative water content was maintained. The variables of gas exchange for such plants were all reduced compared to the control. The quantum efficiency of photosystem II was not affected which allowed the recovery of most of the variables after reirrigação. Regarding organic solutes observed a reduction in the leaves of these plants subjected to treatment 10d SR, however for roots and tubers observed the reverse, where these plants showed the highest values. The activity of the enzyme ascorbate peroxidase was enhanced in roots treatment 10d SR and IR, and catalase activity was enhanced in the leaves of plants subjected to treatment and reduced RI roots. The results of test 2 showed that plants subjected to ES showed the lowest values for the water relations and gas exchange, which were intensified with prolonged stress. In general, it can be observed that increased concentrations of solutes in the roots and tubers. The activity of the enzyme ascorbate peroxidase was enhanced in roots treatment 10d SR and IR, and catalase activity was enhanced in the leaves of plants subjected to treatment and reduced RI roots. The results of test 2 showed that plants subjected to ES showed the lowest values for the water relations and gas exchange, which were intensified with prolonged stress. In general, it can be observed that increased concentrations of solutes in the roots and tubers. The activity of the enzyme ascorbate peroxidase was intensified in the leaves and roots and tubers decreased, while catalase activity was higher only in the leaves. These results were different from plants subjected to ES, because they were very similar to plants of treatment C for most variables. The suppression water 10 days was not enough to cause damage to the photosynthetic apparatus, allowing the same recover in just 24 hours reirrigação. Plants subjected to EM were not affected, because for the majority of variables, these plants showed similar treatment plants C. Unlike plants subjected to ES all parameters were drastically affected and although it increased the enzyme activity, this was not enough to prevent the damage caused by salt stress.

Key words: Drought, salinity, water potential, photosynthesis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Local onde foram realizados os ensaios. Imagem de Satélite (Latitude: 8°00'49,2"S; Longitude 34°56'59,98"O) obtida pelo programa Google Earth (Fonte: (A). Casa de vegetação do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (B).....27
- Figura 2 - Comportamento diário das variáveis climáticas: temperatura do ar (T), umidade relativa do ar (UR) e o déficit de pressão de vapor (DPV), no interior da casa de vegetação, durante o período experimental.....29
- Figura 3 - Comportamento diário das variáveis climáticas: temperatura do ar (T), umidade relativa do ar (UR) e o déficit de pressão de vapor (DPV), no interior da casa de vegetação, durante o período experimental.....30
- Figura 4 - Bandejas contendo as mudas de *Moringa oleifera* Lam. (A) e avaliações biométricas (B) para verificação da uniformidade.....31
- Figura 5 - Visão geral das mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico32
- Figura 6 - Determinação do Potencial hídrico foliar (Ψ_w). Câmara de pressão (A) e utilização do equipamento (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.....34
- Figura 7 - Determinação do teor relativo de água. Pesagem dos folíolos para obtenção do peso da matéria fresca (A); acondicionamento dos folíolos nas placas de Petri (B) folíolos após a secagem em estufa para obtenção do peso da matéria seca (C) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.....35
- Figura 8 - Avaliação das trocas gasosas: fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática (gs). Equipamento - IRGA (A) e utilização do equipamento (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.....36
- Figura 9 - Determinação da eficiência quântica do PS II. Fluorômetro (A) e utilização do equipamento (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.....36
- Figura 10 - Determinação do Índice de SPAD. SPAD (A) e a utilização do equipamento (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.....37
- Figura 11 - Materiais utilizados (A) e espectrofotômetro (B) para a determinação do teor de pigmentos fotossintetizantes em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.....38
- Figura 12 - Determinação dos solutos orgânicos. Centrífuga utilizada no preparo dos extratos (A); material para a coleta do precipitado (B) e espectrofotômetro (C) utilizado para as leituras de solutos em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.....39
- Figura 13 - Determinação da atividade enzimática. Preparo do material (A) e obtenção da leitura no espectrofotômetro (B) utilizado para a determinação da atividade enzimática em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.....40

Figura 14 - Visão geral dos ensaios de <i>Moringa oleifera</i> Lam. (A) e estrutura do vaso para a coleta do drenado (B).....	42
Figura 15 - Monitoramento da condutividade elétrica. Coleta do drenado (A) e verificação da condutividade elétrica (B) em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. submetidas ao estresse salino.....	43
Figura 16 - Potencial hídrico foliar (Ψ_w) em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras minúsculas iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de avaliação ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....	46
Figura 17 - Teor relativo de água (TRA) em plantas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras minúsculas iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de avaliação ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....	48
Figura 18 - Fotossíntese (A) em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....	50
Figura 19 - Condutância estomática (gs) em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....	51
Figura 20 - Transpiração (E) em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....	52
Figura 21- Eficiência do uso da água (EUA) em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....	53
Figura 22 - Eficiência quântica do PSII em plantas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. submetida ao estresse hídrico no horário das 4 horas (A) e 12 horas (B). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....	54
Figura 23 - Concentração dos teores de Clorofila <i>a</i> , Clorofila <i>b</i> , Clorofila total e Carotenoide. em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam, submetidas ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....	56
Figura 24 - Índice SPAD em plantas de <i>Moringa oleifera</i> Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de	

- probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....57
- Figura 25 - Concentração de solutos orgânicos em folha e raiz: carboidratos livres totais (A-B), proteína (C-D), prolina livre (E-F) e aminoácido (G-H) em mudas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....58
- Figura 26 - Concentração de solutos orgânicos: carboidratos livres totais (A), proteínas (B), prolina livre (C) e aminoácido (D) em túberas de plantas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....60
- Figura 27- Determinação da atividade da APX em folhas (A) e raiz (B) em plantas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....62
- Figura 28 - Determinação da atividade da CAT em folhas (A) e raiz (B) em plantas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.....63
- Figura 29 - Folhas de *Moringa oleifera* Lam. submetida ao EM (75 mM de NaCl) por um período de 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse.....65
- Figura 30 - Folhas de *Moringa oleifera* Lam. submetida ao ES (150 mM de NaCl) por um período de 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse.....66
- Figura 31 - Potencial hídrico foliar (Ψ_w) em plantas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....67
- Figura 32 - Teor Relativo de Água (TRA) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....68
- Figura 33 - Fotossíntese em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....69

- Figura 34 - Transpiração em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....70
- Figura 35 - Condutância estomática em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....71
- Figura 36 - Eficiência do uso da água em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....72
- Figura 37 - Teor de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoide (D) em plantas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....74
- Figura 38 - Concentração de solutos orgânicos: carboidratos livres totais (A-B), proteínas (C-D), prolina livre (E-F), aminoácido (G-H) em folhas e raízes de mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....76
- Figura 39 - Concentração de solutos orgânicos: carboidratos livres totais (A); proteínas (B); prolina livre (C); aminoácido (D) em túberas em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....77
- Figura 40 - Determinação da atividade da APX em folhas (A) e raízes (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....79
- Figura 41 - Determinação da atividade da CAT em folhas (A) e raízes (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....80
- Figura 42 - Determinação da atividade da APX (A) e CAT (B) em túberas de mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....81

LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Análise física e química do solo utilizado no ensaio 1, coletado a uma profundidade de 0 a 20 cm.....	32
Tabela 2 – Condutividade elétrica de cada tratamento salino aplicado.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS

APX	Ascorbato peroxidase
Car	Carotenoide
CAT	Catalase
Clo <i>a</i>	Clorofila <i>a</i>
Clo <i>b</i>	Clorofila <i>b</i>
Clo tot	Clorofila total
C.E.	Condutividade elétrica
EUA	Eficiência do uso da água
ERO	Espécies reativas de oxigênio
MF	Matéria fresca
Tar	Temperatura do ar
UR	Umidade Relativa

LISTA DE SÍMBOLOS

Ψ_w	Potencial hídrico foliar
CO_2	Dióxido de carbono
A	Fotossíntese líquida
E	Transpiração
gs	Condutância estomática
PS II	Fotossistema II

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A <i>MORINGA OLEIFERA</i> LAM.	17
2.2 ESTRESSES ABIÓTICOS NO DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS	18
2.3 O EFEITO DO ESTRESSE HÍDRICO NO DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS	19
2.4 O EFEITO DO ESTRESSE SALINO NO DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 LOCALIZAÇÃO, PERÍODO E ACOMPANHAMENTO DAS VARIÁVEIS CLIMÁTICAS	27
3.1.1 Acompanhamento das variáveis climáticas do ensaio 1	28
3.1.2 Acompanhamento das variáveis climáticas do ensaio 2	29
3.2 CONDUÇÃO DOS ENSAIOS	30
3.2.1 Estresse hídrico em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	31
3.2.1.1 Análises fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas	33
3.2.1.1.1 Relações hídricas: potencial hídrico foliar e teor relativo de água	33
3.2.1.1.2 Trocas Gasosas: fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água	35
3.2.1.1.3 Eficiência quântica do fotossistema II	36
3.2.1.1.4 Determinação de pigmentos fotossintetizantes e SPAD	37
3.2.1.1.5 Determinação de solutos orgânicos	39
3.2.1.1.6 Determinação da atividade enzimática	40
3.2.1.2 Análise estatística	41
3.1.2 Estresse salino em mudas de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	42
3.2.2.1 Análises fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas	44
3.2.2.1.1 Relações hídricas: potencial hídrico foliar e teor relativo de água	44
3.2.2.1.2 Trocas Gasosas: fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água	44
3.2.2.1.3 Determinação de pigmentos fotossintetizantes	44
3.2.2.1.4 Determinação dos solutos orgânicos	45
3.2.2.1.5 Determinação da atividade enzimática	45
3.2.2.2 Análise estatística	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1 ENSAIO 1. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM MUDAS DE <i>MORINGA</i> <i>OLEIFERA</i> LAM. SUBMETIDA A ESTRESSE HIDRICO	46
4.1.1 Análises fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas	46
4.1.1.1 Relações Hídricas: potencial hídrico foliar (Ψ_w) e teor relativo de água (TRA)	46

4.1.1.2 Trocas Gasosas: Fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água.....	49
4.1.1.3 Eficiência quântica do fotossistema II.....	54
4.1.1.4 Determinação de pigmentos fotossintetizantes e SPAD.....	55
4.1.1.5 Determinação de solutos orgânicos	57
4.1.1.6 Determinação da Atividade enzimática	61
4.2 ENSAIO 2. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM MUDAS DE <i>MORINGA OLEIFERA</i> LAM. SUBMETIDA AO ESTRESSE SALINO	65
4.2.1 Sintomas visuais	65
4.2.2 Análises fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas	66
4.2.2.1 Relações hídricas: potencial hídrico e teor relativo de água.....	66
4.2.2.2 Trocas Gasosas: Fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água.....	69
4.2.2.3 Determinação de pigmentos fotossintetizantes.....	73
4.1.2.4 Determinação de solutos orgânicos	75
4.1.2.5 Determinação da atividade enzimática.....	79
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
5.1. QUADRO ESQUEMÁTICO DAS RESPOSTAS DE MUDAS DE <i>Moringa oleifera</i> LAM. SUBMETIDAS A CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO.....	84
5.2. QUADRO ESQUEMÁTICO DAS RESPOSTAS DE MUDAS DE <i>Moringa oleifera</i> LAM. SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO.....	85
6 CONCLUSÃO	86
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87

1 INTRODUÇÃO

O aumento da temperatura decorrente do aquecimento global tem provocado graves mudanças climáticas, principalmente em relação à distribuição das chuvas em regiões de clima úmido e em regiões conhecida pela escassez em água (PELLEGRINO; ASSAD 2007). A região semiárida brasileira apresenta longos períodos de seca e temperaturas elevadas, ambos, fatores limitantes para o desenvolvimento das plantas (FARIAS, 2008). Atrelado a esta deficiência hídrica, o aumento de áreas salinizadas, devido ao uso intensivo de água salobra nas práticas de irrigação, contribuem ainda mais para os prejuízos na produtividade agrícola (OLIVEIRA et al., 2010).

A água é um dos recursos fundamentais para o desenvolvimento dos vegetais, já que a mesma contribui para a manutenção das moléculas biológicas, células, tecidos e organismos (MARENCO; LOPES, 2005). Na produção vegetal, o déficit hídrico ocupa posição de destaque dentre os vários fatores limitantes, pois além de afetar os processos metabólicos nas plantas, tais como a fotossíntese e a respiração, é um fenômeno ocorrente em plantas que cobrem grandes extensões de áreas cultiváveis (NOGUEIRA et al. 2001).

Outro fator que apresenta a mesma importância dentre os limitantes no crescimento e desenvolvimento dos vegetais é o excesso de íons na solução do solo. A salinização nas áreas irrigadas é um problema mundial, atingindo cerca de 25% destas áreas do globo terrestre e os efeitos desta sobre o desenvolvimento das plantas podem ser provocados pela dificuldade de absorção de água e toxicidade de íons específicos que interferem nos processos fisiológicos, limitando o crescimento dos vegetais (DIAS; BLANCO, 2010).

As plantas quando submetidas a condições adversas, respondem com redução do seu potencial hídrico foliar e turgescência foliar, fechamento dos estômatos, e conseqüentemente, com uma menor taxa fotossintética o que reflete em seu crescimento celular (JALEEL et al. 2009). Muitas plantas acumulam metabólitos compatíveis no citoplasma de suas células na tentativa de combater o estresse hídrico e salino, a fim de evitar os danos provocados por tais efeitos (BOHNERT et al., 1995; MUNNS, 2002). Podendo ainda haver uma ativação na

atividade de algumas enzimas, as quais atuam na defesa contra os radicais livres (SOARES; MACHADO, 2007).

Embora o crescimento e desenvolvimento de diversas espécies florestais tenham sido estudados sob condições ambientais adversas, para *Moringa oleifera* Lam. estas informações ainda são escassas. O cultivo de espécies tolerantes à seca e à salinidade na região do semiárido pode servir como uma opção viável para a recuperação de solos com tais características (MIRANDA et al., 2007).

De acordo com algumas literaturas, a moringa é uma espécie tolerante ao estresse hídrico e a elevadas concentrações salinas (BEZERRA et al, 2004, FRIGHETTO et al., 2007). Por se desenvolver em ambientes com estas características, há um esforço em seu cultivo na região do semiárido brasileiro, como hortaliça, pelo seu alto teor nutricional e na purificação de água. O reconhecimento de sua importância e o incentivo em seu plantio em comunidades carentes vem sendo realizado por organizações não governamentais (ONGs), por meio da distribuição de mudas ou sementes (KIILL et al., 2012).

A *Moringa oleifera* Lam. é uma espécie de origem do norte da Índia e apresenta uma diversidade de uso. Tal espécie pode ser utilizada no tratamento de purificação de água, produção de biodiesel, na indústria cosmética, alimentícia e medicinal (SANTANA et al., 2010). Esta espécie pode ser uma alternativa para a região do semiárido, uma vez que seu sustento é proveniente, principalmente, de atividades de agricultura e pecuária, podendo assim, utilizá-la na agricultura familiar.

Diante do exposto esta pesquisa teve como objetivo avaliar as respostas da *Moringa oleifera* sob condições adversas, para isso foram desenvolvidos dois ensaios em casa de vegetação onde se avaliou o desenvolvimento da espécie sob supressão hídrica e de estresse salino.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A *MORINGA OLEIFERA* LAM.

A *Moringa oleifera* Lam. é uma espécie nativa do norte da Índia, Paquistão e Nepal, cultivada também nos países do sudoeste asiático, península Arábica, África tropical, América Central, Caribe e América do Sul tropical (ROLOFF, 2009). Foi introduzida no Brasil por volta de 1950 (ALMEIDA et al., 1999) com finalidade de arborização, já que adapta-se a uma ampla faixa de temperatura (26° a 40°C), suportando longos períodos de estiagem e uma pluviosidade média anual de 500 mm (ROSA, 1993).

É a espécie mais conhecida do único gênero (*Moringa*) da Moringaceae. É conhecida também como lírio-branco e quiabo de quina, em inglês, é chamada de drumstick (baqueta) devido ao seu fruto que possui um formato de bastão de bater o tambor (EPSTEIN, 1975; SANTANA et al., 2010). Caracteriza-se por ser uma planta de porte arbóreo, podendo alcançar até 10 m de altura, a sua casca é bege-clara e branca, espessa, mole e reticulada, o lenho é pouco resistente, amarelado e poroso. Apresenta folhas alternas, compostas, bipinadas de coloração verde pálida e as flores são de coloração creme a branca, perfumadas, agrupadas em inflorescências terminais cimosas e sua polinização é feita, principalmente, por insetos da ordem Hymenoptera Os frutos são do tipo cápsula loculicida alongada, com comprimento médio de 28,50 cm e largura média de 2,21 cm, contém de 10 a 20 sementes armazenadas em uma polpa branca. As sementes são globóides, escuras externamente e o endosperma branco e oleoso. (CYSNE, 2006; RAMOS et al., 2010).

As famílias que residem no semiárido nordestino têm seu sustento dependente, principalmente, de atividades de agricultura e pecuária. De acordo com Oliveira et al. (2009), uma alternativa para esta região é o plantio de moringa, espécie utilizada na agricultura familiar como fonte de suplemento alimentar, uma vez que suas folhas são fontes de vitamina A, vitamina B e C, aminoácidos (metionina e cisteína) e minerais, como ferro (582 mg/kg), potássio (21,7 mg/kg), cálcio (26,4 mg/kg) e zinco (113,9 mg/kg) (MOURA et al, 2009). Devido as suas propriedades alimentar, há um esforço em difundi-la como hortaliça rica em vitaminas (KERR et al., 1998). A espécie (folha, flor e fruto) já é utilizada em diversos

pratos e alguns pesquisadores tentam substituir o trigo pela farinha de folhas na produção de cookies, aumentando assim seu valor nutritivo (BAPTISTA, et al., 2012)

O pó extraído das sementes de moringa é empregado no tratamento de purificação de água, principalmente por ser de baixo custo, podendo substituir o uso de tratamentos químicos convencionais (SILVA, 2005), os quais dependendo da substância utilizada podem ser prejudiciais à saúde. Seu princípio ativo encontra-se no composto ativo encontrado em suas sementes, o qual devido às cargas atua neutralizando partículas coloidais, formando flocos e conseqüentemente, floculação destas substâncias (NKURUNZIZA et al. 2009). Diversos pesquisadores estudam a utilização da semente não apenas removendo a turbidez e coliformes totais (MADRONA et al., 2010), mas também na remoção de protozoários parasitas (NISH, 2011) e larva de dengue (NETO, 2010).

Suas sementes também apresentam propriedades ideais para a produção de biodiesel (MONTEIRO, 2007; SANTANA et al., 2010). Apresenta ainda, propriedades medicinais em quase todos seus órgãos (SANTOS, 2010). A madeira pode ser utilizada para produção de papel e fios têxteis (ROLLOF et al., 2009).

Por apresentar diversos usos: nutricional, industrial e medicinal, a cultura da moringa, vem sendo difundida em todo o semiárido, tornando-se ainda mais atrativa, por ser de baixo custo de produção e alto rendimento.

2.2 ESTRESSES ABIÓTICOS

O aumento de gases na atmosfera provoca o fenômeno conhecido como efeito estufa. Este fenômeno em certas concentrações é importante para a vida na Terra, porém seu agravamento resulta em conseqüências catastróficas, que desestabilizam o equilíbrio energético do planeta, dando origem ao aquecimento global (GONDIM, 2010). Tal efeito ocasiona sérios problemas para o clima, e segundo Trenberth (2007), evidências comprovam mudanças que podem afetar os ambientes, em especial os de extremos climáticos, tais como a intensificação de chuvas em ambientes úmidos e escassez em ambientes secos.

Além dos baixos índices pluviométricos, o aumento de áreas salinizadas, também expressa uma preocupação social. Segundo Lima et al. (2006), milhões de hectares são afetados por sais, podendo ser de causa natural ou devida às práticas inadequadas de irrigação, refletindo numa redução da capacidade produtiva deste

solo. Ambos encontram-se entre os fatores que mais afetam as regiões áridas, podendo levar a uma salinização mais intensa até o ano 2050 em mais de 50% de todas as terras aráveis (WANG et al., 2003).

A planta durante todo seu ciclo vital encontra-se sujeita a condições ambientais adversas, as quais limitarão seu desenvolvimento e suas chances de sobrevivência. Larcher (2001) define por estresse, as adversidades as quais as plantas estão expostas podendo ser de forma permanente ou esporádica o que ocasiona mudanças e respostas a todos os processos metabólicos do organismo. Dentre os fatores de estresse abióticos se destacam: disponibilidade hídrica, salinidade, luminosidade, temperaturas extremas, deficiência nutricional e baixo pH nos solos (ASHRADF; FOOLAD, 2004).

O estresse provoca no organismo uma sucessão de fases com características próprias, que segundo Kerbauy (2004), inicia-se com a perda da estabilidade do sistema e das funções que mantêm as atividades vitais, onde levará a produção de uma série de substâncias que atuarão como protetoras. Em seguida, o organismo adquire uma resistência e se aclimata a esta condição desfavorável. Se a situação é temporária, há uma restituição no funcionamento do organismo, mas se o estresse se prolongar poderá provocar efeitos deletérios, resultando na última fase, a morte do organismo.

Ao sofrer um distúrbio, a planta responde com alterações, que podem ser de curto ou longo prazo, com o intuito de se preservar (LARCHER, 2001). Vários processos em nível molecular, celular e de organismo inteiro são afetados durante o estresse na tentativa de reparar os danos sofridos, para tais exige-se um custo adicional de metabólitos.

Sendo assim, o estudo dos efeitos dos estresses abióticos no desenvolvimento dos vegetais, além de servirem como subsídios para pesquisas agrícolas, poderão também, identificar indicadores de tolerância ao estresse para o manejo adequado de mudas em viveiro.

2.3 O EFEITO DO ESTRESSE HÍDRICO NO DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

As regiões semiáridas são definidas com base no seu Índice de Aridez (IA), sendo este, uma relação entre a precipitação e a evaporação (MELO-FILHO;

SOUZA, 2006), tais regiões apresentam características peculiares devido ao seu clima, com paisagens naturais distintas e altamente heterogêneas.

O semiárido brasileiro apresenta uma área de 969.589,4 km², distribuído em 1.133 municípios, localizados nos estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais (BRASIL, 2005).

Esta região possui duas condições climáticas bastante definidas: chuvosa e seca. O período chuvoso tem uma curta duração, apenas três meses, e a água proveniente da chuva escorre superficialmente reduzindo ainda mais seu aproveitamento (MELO-FILHO; SOUZA, 2006). Já o período de estiagem, tem uma maior duração, que associado a elevadas temperaturas resulta em longos períodos de seca (ARAÚJO, 2010).

A água é um recurso essencial para o desenvolvimento do vegetal, uma vez que participa de todos os seus processos metabólicos, e a sua ausência afeta diversos processos fisiológicos dos vegetais, como declínio na atividade fotossintética, juntamente com a diminuição do volume celular e declínio de sua turgescência (NOGUEIRA et al., 2001).

Os efeitos da seca nas plantas são bastante variáveis, pois dependem da intensidade, da velocidade de imposição do estresse e do estágio da fase de desenvolvimento (PIMENTEL, 2004). Tais fatores também são determinantes para que o dano provocado se torne irreversível ao desenvolvimento do vegetal (SANTOS; CARLESSO, 1999), pois desta forma não é possível o reestabelecimento das funções vitais, após as condições ambientais tornarem-se satisfatórias novamente. Sendo a água a substância mais importante para a continuação dos processos metabólicos, já que todas as reações acontecem em meio aquoso (NEPOMUCENO et al., 2001), é necessária sua manutenção nas células dos vegetais, o que permitirá que estas, continuem os seus processos, evitando a desidratação dos tecidos.

Segundo Sinclair e Londow (1986), a planta atravessa três estágios durante a desidratação, quando esta encontra-se sob deficiência hídrica: no 1º estágio a planta mantém sua transpiração como se estivesse bem suprida de água até que a quantidade de água seja reduzida a 50%; no 2º estágio, há o fechamento estomático, com isso a transpiração começa a ser menor que o potencial hídrico da planta; e no 3º estágio os estômatos estão completamente fechados. Sendo assim,

as plantas desenvolvem mecanismos de tolerância como respostas favoráveis, a fim de garantir sua sobrevivência à deficiência hídrica.

Os diversos mecanismos utilizado pelos vegetais sob condições de déficit hídrico são: escape à seca e tolerância à seca com baixo ou alto potencial hídrico. No primeiro mecanismo, o vegetal irá completar todo seu ciclo vital e garantir a continuidade de sua espécie através de um descendente antes do período seco; no segundo mecanismo a planta irá produzir substâncias na tentativa de baixar seu potencial hídrico e garantir que a planta continue a absorver a água presente no solo; e por fim, no último mecanismo, esta tolerância pode se dá pela habilidade da planta em evitar a desidratação, através do fechamento estomático (NOGUEIRA et al., 2005).

A redução de água disponível no solo afeta negativamente o crescimento e desenvolvimento dos vegetais (SINCLAIR; LUDLOW, 1986), e para avaliar o grau dos danos provocados por essa indisponibilidade são avaliados alguns parâmetros, tais como, as relações hídricas e as trocas gasosas. De acordo com Mansur e Barbosa (2000), tais parâmetros são diretamente afetados quando a planta encontra-se em condições de deficiência hídrica.

Para evitar a perda de água, uma das primeiras respostas da planta ao estresse hídrico é o fechamento estomático, no entanto, como resultado, tem-se prejuízos na fotossíntese, transpiração e condutância estomática (COSTA et al., 2007; PORTES et al., 2006). Segundo Larcher (2001), a capacidade fotossintética é uma característica própria do vegetal, e as trocas gasosas mudam de acordo com o estágio de desenvolvimento do vegetal e as condições ambientais. É por meio da fotossíntese que as plantas transformam a energia luminosa em energia química para produção de fotoassimilados indispensáveis ao seu desenvolvimento.

A fotossíntese inicia-se com a captação dos fótons pelos pigmentos fotossintéticos, localizados no complexo antena, onde transferem a energia captada para os centros de reação dos fotossistemas I e II. A energia proveniente do sol impulsiona os elétrons a serem transferidos para a cadeia transportadora de elétrons, uma parte desses são utilizados na redução de NADP^+ a NADPH e oxidação da H_2O , que participarão do Ciclo de redução do carbono (Ciclo de Calvin) (TAIZ; ZAIGER, 2009).

Existem evidências de que o aumento do estresse hídrico afeta a fluorescência da clorofila *a*, provocando danos ao aparelho fotossintético. Para a

avaliação desse parâmetro, utiliza-se a relação entre F_v/F_m , que é um indicador do efeito fotoinibitório provocado pelo déficit hídrico, quando a planta encontra-se em ótimas condições ambientais apresentam valores que variam de 0,75 a 0,85 (ARAÚJO, 2010). Valores abaixo do mínimo provocam danos irreparáveis ao aparelho fotossintético, não sendo possível uma posterior recuperação da fotossíntese mesmo após a reidratação. Porém se não houver dano ao aparelho fotossintético, mesmo sob condição de estresse, a avaliação da eficiência quântica do fotossistema II pode ser um parâmetro de tolerância a esse déficit (ARAÚJO et al., 2010).

As clorofilas são os pigmentos essenciais, os quais atuam na captação de energia luminosa, por isso desempenham um papel importante na fotossíntese. O teor de clorofila está relacionado com a eficiência fotossintética, responsável pela produção de assimilados que são necessários ao desenvolvimento do vegetal e a sua adaptabilidade a diversos ambientes (ENGEL; POGGIANI, 1991).

A osmorregulação também pode ser uma das respostas dos vegetais ao déficit hídrico, o qual inclui um aumento na concentração de solutos (OLIVEIRA, 2005), tais como compostos orgânicos nitrogenados que juntamente com carboidratos solúveis são convertidos em amido gerando um acúmulo de substâncias de baixo peso molecular no interior da célula, diminuindo assim o potencial hídrico e permitindo que o fluxo de água para o interior da planta continue.

Aumento na concentração de carboidratos solúveis foram constatados por diversos autores sob condições de seca (AMORIM, 2011; MAIA, 2007; PEREIRA, 2012). Mendes (2007) observou um aumento na concentração de carboidratos em *Swetenia macrophyla* em condições de déficit hídrico por 12 dias e quando reidratadas houve um decréscimo nesta concentração. Segundo Leprince et al. (1993), o acúmulo de solutos orgânicos em condições de déficit hídrico pode estar relacionado tanto ao ajustamento osmótico bem como agente osmoprotetor na desidratação celular.

O estresse hídrico pode gerar também um estresse oxidativo, devido ao fechamento estomático, o que resulta na limitação da fotossíntese, no entanto, este fechamento, não impede que os fótons sejam absorvidos pelos pigmentos localizados no complexo antena. Com isso, a energia proveniente da excitação das moléculas de clorofila que não foi utilizada na fotossíntese nem eliminada em forma de calor, provoca uma produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o

superóxido (O_2^{-1}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroxila ($OH\cdot$) e oxigênio singlete (1O) (ASSADA, 1999). Estas ERO são altamente prejudiciais ao vegetal, uma vez que podem reagir com qualquer molécula da célula, tais como, proteínas, ácidos desoxirribonucléicos e peroxidação de lipídeos provocando uma desordem celular (SOARES; MACHADO, 2007).

Estas ERO podem ser eliminadas por um grupo de enzimas, dentre elas a dismutase do superóxido (SOD), que é a primeira enzima a atuar na dismutação do superóxido (O_2^{-}) formando H_2O_2 e O_2 . Entretanto, o H_2O_2 formado também é tão prejudicial quanto o superóxido, sendo necessário que outras enzimas, como a catalase e a ascorbato peroxidase, completem a degradação total deste em H_2O e O_2 (SCANDALIOS, 1993). Para sobreviver sob condições de déficit hídrico é necessário que a produção de substâncias antioxidantes seja suficiente para combater as ERO formadas durante o estresse (SOARES; MACHADO, 2007).

As enzimas antioxidantes atuam de diferentes maneiras dependendo da espécie vegetal e da condição ambiental que lhe está sendo imposta. Castro et al. (2011) ao estudar mudas de *Carapas guianensis* observaram uma intensificação na atividade das enzimas CAT e APX quando esta espécie foi submetida ao estresse hídrico.

O déficit hídrico provoca complexas alterações no metabolismo do vegetal, sendo assim, é de suma importância relacionar os mecanismos de tolerância utilizados pela *Moringa oleifera* para conhecer seu comportamento quando esta se encontra em ambientes de baixa disponibilidade hídrica, o que poderá servir de subsídios para um manejo adequado de mudas em viveiro.

2.4 O EFEITO DO ESTRESSE SALINO NO DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

O semiárido brasileiro possui uma área de 1.500.000 km² caracterizados como insuficientes em água, constituindo o chamado “polígono das secas” (DANTAS et al., 2002). Nessa região, a irrigação assume papel fundamental no progresso da agricultura, no entanto, a prática da irrigação quando conduzida inadequadamente pode promover um aumento das concentrações de sais na superfície do solo (DAKER, 1984; DANTAS et al., 2002). Estima-se que no mundo 25% dos solos irrigados estão afetados por diferentes níveis de salinidade (RHOADES et al., 1992). A elevada taxa de evaporação e o baixo índice pluviométrico intensificam ainda mais

a quantidade de sais no solo (SILVA; AMARAL, 2007). Apenas a água participa do processo de evaporação, restando apenas os sais, os quais vão se acumulando em grandes quantidades nessas regiões de elevadas temperaturas (SANTOS, 2010).

A salinidade provoca efeitos de natureza osmótica, resultado do acúmulo de sais, ficando a água retida no solo, indisponível para a planta (PIZZARRO, 1976). A presença de sais na superfície pode provocar uma redução no potencial hídrico do solo nas regiões próximo das raízes (AMORIM et al., 2002; LOPES; MACEDO, 2008). Sendo assim, para manter o fluxo de água para o interior da planta, é necessário que esta reduza ainda mais o seu potencial hídrico.

O outro problema decorrente da salinidade é decorrente do efeito iônico, uma vez que estes íons presentes no solo ao serem absorvidos pela planta provocam uma toxidez nos tecidos vegetais. À medida que a água é evaporada, estes íons vão se acumulando no citoplasma das células, sendo posteriormente direcionados para a parede celular, levando à desidratação e morte do vegetal (MUNNS, 2005).

A capacidade que a planta apresenta para sobreviver e completar todo seu ciclo vital sob substratos com altas concentrações salinas pode ser resultado da sua tolerância à salinidade, o que pode variar de acordo com a idade e a espécie vegetal, em função da intensidade e da duração do estresse (LACHER, 2001). As plantas podem ser classificadas em halófitas e glicófitas, em resposta à sua tolerância ou não à salinidade. As plantas pertencentes ao primeiro grupo desenvolvem-se naturalmente em ambientes de elevada concentrações salina, utilizando mecanismos de tolerância, enquanto as plantas pertencentes ao segundo grupo, não são capazes de sobreviver em tais condições (WILLADINO et al., 2010).

Os mecanismos utilizados pelas plantas para sobreviverem em ambientes salinos são a produção de solutos compatíveis, que garante o fluxo de água para o interior da planta; compartimentalização dos sais no vacúolo; e a exclusão dos sais através da membrana celular (LACERDA, 2005).

Os resultados do balanço hídrico é fundamental para que o vegetal continue seu desenvolvimento, porém qualquer perturbação neste sistema proveniente do ambiente salino resultará em injúrias semelhantes aos provocados pela seca (ASHRAF; HARRIS, 2004). Diversos autores constataram alterações resultantes do estresse hídrico nas relações hídricas de várias culturas vegetais (CORREIA et al., 2005; GOMES et al., 2004; ROCHA 1997).

O decréscimo no desenvolvimento de plantas sob condições de salinidade também está associado com a diminuição da capacidade fotossintética. Diversos autores na literatura demonstram que a salinidade afeta as trocas gasosas (MARINHO et al., 2005; SOUSA, et al., 2012;).

Segundo Kerbauy (2004), o aumento na concentração de carboidrato pode ser uma tentativa de induzir o ajustamento osmótico na planta para manter o nível da água. O vegetal pode intensificar sua produção de solutos orgânicos compatíveis, para diminuir seu potencial hídrico e garantir que a absorção de água continue acontecendo. O excesso de íons no solo também pode provocar uma redução na concentração de carboidrato de folhas jovens, após o acúmulo de sais no vacúolo das células de folhas mais maduras (MUNNS, 2002; PARIDA; DAS, 2005). Em contrapartida, como resposta ao estresse salino, as plantas podem intensificar a produção e o acúmulo de prolina, como defesa para manter o potencial osmótico no interior da célula (TURAN, 2009).

A capacidade das plantas em tolerar elevadas concentrações salinas é determinada pelas múltiplas vias bioquímicas, as quais promovem retenção e/ou aquisição de água. As enzimas exercem um papel fundamental como as superóxido dismutase que atua na dismutação de radicais superóxidos livres, que são produzidos em diversos locais no interior da célula, até peróxido de hidrogênio (MCDONALD, 1999) e este é decomposto e transformado em água e O_2 pela catalase evitando o risco de oxidação dos lipídios nas membranas.

A salinidade pode provocar um aumento na atividade da enzima catalase, que pode ser considerado como uma adaptação possibilitando uma redução dos danos causados nos tecidos, devido à redução nos níveis de H_2O_2 (BOR, 2003; DUTRA et al., 2011; JEBARA et al., 2005). Assim, como também pode provocar uma redução na atividade enzimática, aumentando a produção de H_2O_2 nas plantas, o qual pode ser mais consumido nos processos oxidativos, como peroxidação de lipídeos, resultando na deterioração da membrana celular (FOYER; NOCTOR, 2003; MALLICK; MOHN, 2000).

O aparecimento dos sintomas provocados pela salinidade pode ser após horas ou dias de contato com o excesso de íons na solução do solo, que pode ser visualizados em forma de queimaduras ou necrose ao longo da folha (HOLANDA, 2006). O fenômeno de tolerância ao estresse salino é bastante complexo, envolvendo mudanças nos processos fisiológicos e bioquímicos (HARE; CRESS,

1997), sendo a fase inicial da planta a mais crítica, uma vez que situações de estresse podem provocar danos irreversíveis.

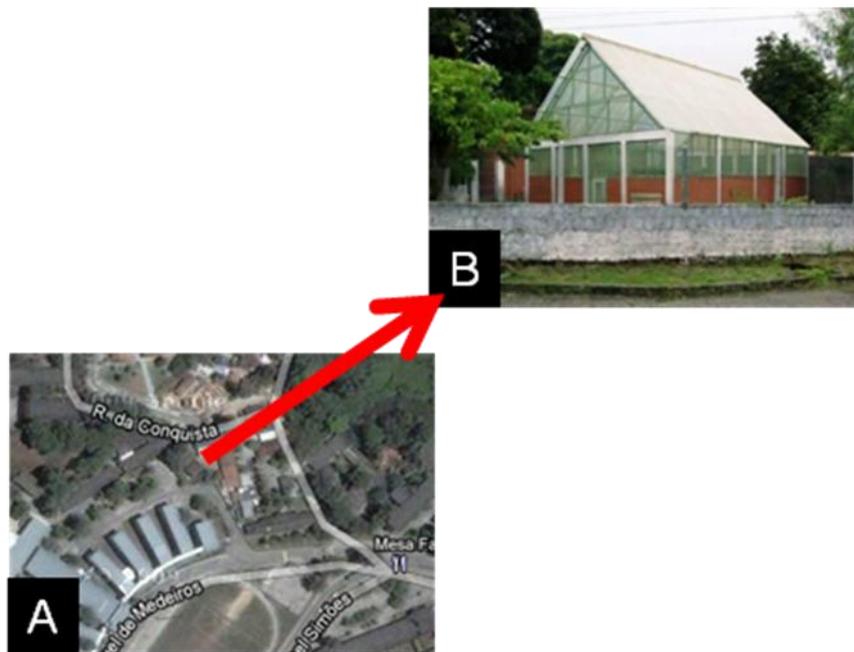
Diante do exposto, é de suma importância à compreensão do desenvolvimento de mudas de *Moringa oleifera* submetidas ao estresse salino, uma vez que tais estudos permitirão um melhor manejo da espécie em ambientes que apresentem certos graus de salinidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO, PERÍODO E ACOMPANHAMENTO DAS VARIÁVEIS CLIMÁTICAS

A pesquisa foi conduzida na casa de vegetação do Laboratório de Fisiologia Vegetal (LFV) do Departamento de Biologia localizado na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), campus Recife (Figura 1).

Figura 1 - Local onde foram realizados os ensaios. Imagem de Satélite (Latitude: 8°00'49,2°S; Longitude 34°56'59,98°O) obtida pelo programa Google Earth (**A**). Casa de vegetação do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (**B**).



Fonte: MapLink/Tele Atlas, GOOGLE EARTH (2012) (**A**); MARTINS, M. O. (2008) (**B**).

Para a avaliação das respostas fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas de mudas de moringa sob condições de estresses abióticos, foram conduzidos dois ensaios:

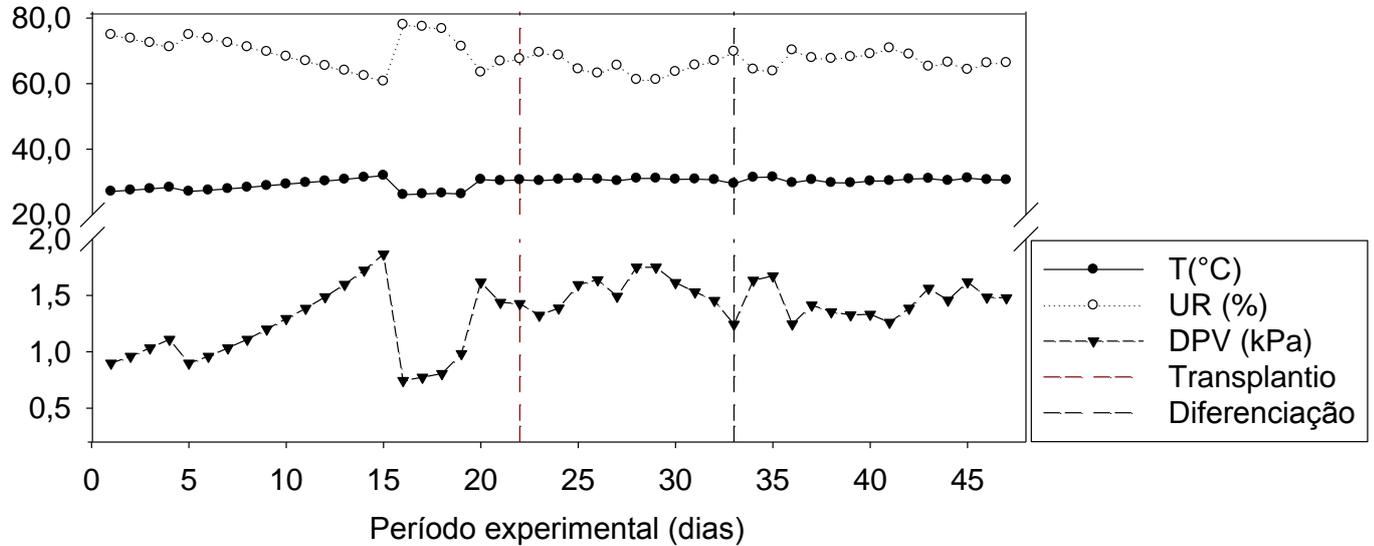
- ◆ Mudanças de moringa submetidas ao estresse hídrico por suspensão de rega, realizado de novembro de 2011 a janeiro de 2012, com um período experimental de 47 dias.
- ◆ Mudanças de moringa submetidas ao estresse salino, realizado de Janeiro a fevereiro de 2012, com um período experimental de 35 dias.

As variáveis climáticas (temperatura do ar – $T^{\circ}\text{ar}$ e umidade relativa do ar – UR%) foram acompanhadas diariamente pelo equipamento Data logger localizado dentro da casa de vegetação. Este equipamento registra a $T^{\circ}\text{ar}$ e UR a cada 15 minutos, sendo assim, adotou-se a média do dia para a confecção dos gráficos do período experimental. Com os dados do equipamento foi calculado o déficit de pressão de vapor d'água (DPV), segundo Vianello e Alves (1991).

3.1.1 Acompanhamento das variáveis climáticas do ensaio 1

Durante todo período experimental, de acordo com o monitoramento das variáveis climáticas (Figura 2), foi observado que a temperatura do ar média, foi de 29,70 °C, tendo variado de 26,11 °C a 31,96 °C e a umidade relativa do ar média foi de 68,15% variando de 60,69% a 77,19%. Em relação ao déficit de pressão de vapor (DPV) médio foi 1,34 kPa, e variou de 0,74 kPa a 1,61 kPa.

Figura 2 - Comportamento diário das variáveis climáticas: temperatura do ar (T), umidade relativa do ar (UR) e o déficit de pressão de vapor (DPV), no interior da casa de vegetação, durante o período experimental.

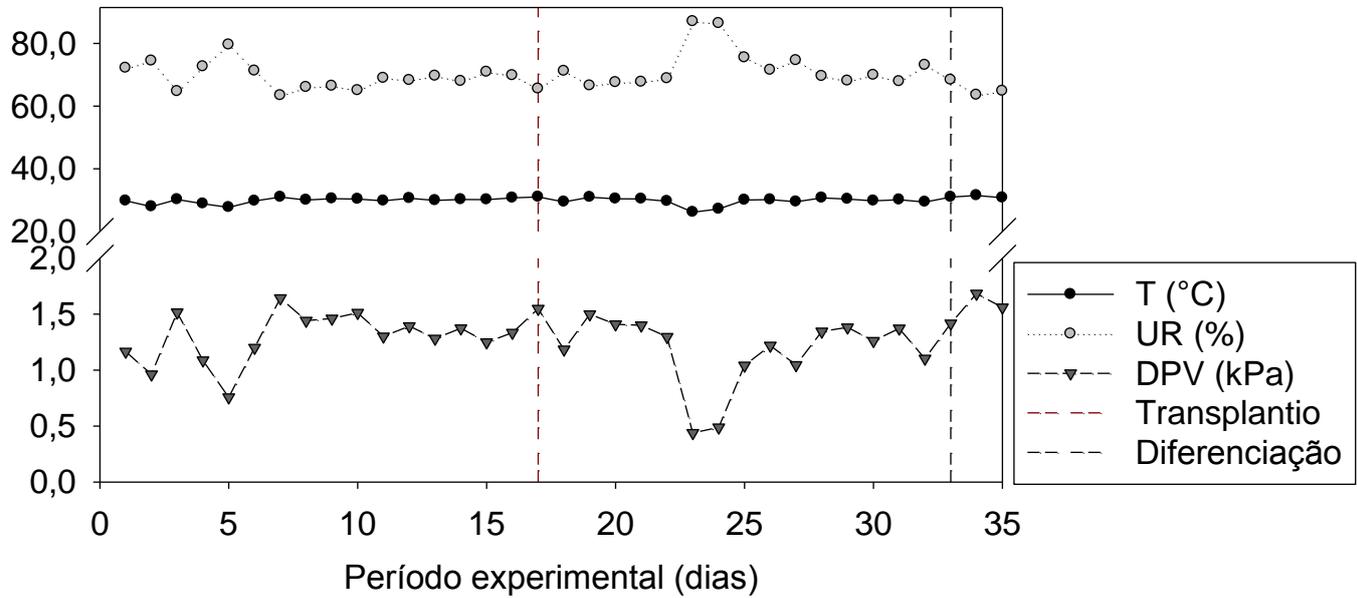


Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.1.2 Acompanhamento das variáveis climáticas do ensaio 2

Durante todo período experimental, de acordo com os dados das variáveis climáticas (Figura 3), foi observado que a temperatura do ar média foi de 29,50 °C, tendo variado de 25,25 °C a 31,49 °C e a umidade relativa do ar média (Tar) foi de 71,93% variando de 63,36% a 89,67%. Em relação ao déficit de pressão de vapor (DPV) médio foi 1,18 kPa e variou de 0,33 kPa a 1,68 kPa.

Figura 3 - Comportamento diário das variáveis climáticas: temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR) e o déficit de pressão de vapor (DPV), no interior da casa de vegetação, durante o período experimental.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2 CONDUÇÃO DOS ENSAIOS

As mudas de *Moringa oleifera* foram produzidas sexuadamente de sementes proveniente do município de Casa Nova, Bahia. As mesmas foram selecionadas de acordo com o tamanho e sanidade, tratadas com hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,5%, durante 5 min e lavadas em água destilada para desinfestação. Em seguida foram semeadas em bandejas contendo areia lavada como substrato com capacidade para 25 sementes (Figura 4-A). As mudas foram selecionadas de acordo com a uniformidade em altura (cm), diâmetro (mm) e número de folhas (Figura 4-B).

Figura 4 - Bandejas contendo as mudas de *Moringa oleifera* Lam. (A) e avaliações biométricas (B) para verificação da uniformidade.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2.1 Estresse hídrico em mudas de *Moringa oleifera* Lam.

As mudas com 15 dias de idade foram transplantadas para vasos de polietileno contendo 3 kg de solo do tipo franco argilo-arenoso (Figura 5), coletado na cidade de Carpina – PE. O solo foi coletado a uma profundidade de 0 – 20 cm e foi realizada a análise de sua característica físico-químicas (Tabela 1). Os substratos foram mantidos na capacidade de pote, realizado através da pesagem diária dos vasos, utilizando-se uma balança de marca Filizola, com capacidade para 50 kg, de acordo com a metodologia descrita por Souza et al. (2000).

Figura 5 - Visão geral das mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Tabela 1 – Análise física e química do solo utilizado no ensaio do estresse hídrico em mudas de *Moringa oleifera* Lam. coletado a uma profundidade de 0 a 20 cm na cidade de Carpina.

Análise	0-20 cm
Químicos	
Condutividade elétrica	0.83 dS m ⁻¹
pH (KCl - 1:2,5)	4.0
pH (água - 1:2,5)	5,6
Ca ²⁺	0.81 cmol _c kg ⁻¹
Mg ²⁺	0.41 cmol _c kg ⁻¹
Na ⁺	0.32 cmol _c kg ⁻¹
P	41 mg kg ⁻¹
K ⁺	0.06 cmol _c kg ⁻¹
Al ³⁺	3.10 cmol _c kg ⁻¹
Matéria orgânica	38.27 g kg ⁻¹
Físicos	
Porosidade total	45.0%
Densidade aparente	1.42 g cm ⁻³
Densidade real	2.58 g cm ⁻³
Areia	69.1 g kg
Silte	10.4 g kg
Argila	20.5 g kg
Classificação textural	Franco argilo arenoso
Teor de umidade	
Umidade em 1,5 MPa	14.0%
Umidade em 0,03 MPa	18.9%
Água útil	4.9%

Fonte: BIOCÁRVÃO (2012)

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituído de quatro tratamentos. Foram realizadas três coletas dos tratamentos: na primeira, coletou-se quatro plantas que foram regadas diariamente (RD) e quatro plantas submetidas a 5 dias déficit hídrico (5d SR); na segunda coletou-se quatro plantas regadas diariamente (RD) e quatro plantas submetidas a 10 dias de déficit hídrico (10d SR); e por fim, coletou-se quatro plantas que foi reirrigada depois de permanecer 10 dias sem rega, sendo coletada após 24 horas de reidratação (RI), totalizando 20 unidades experimentais.

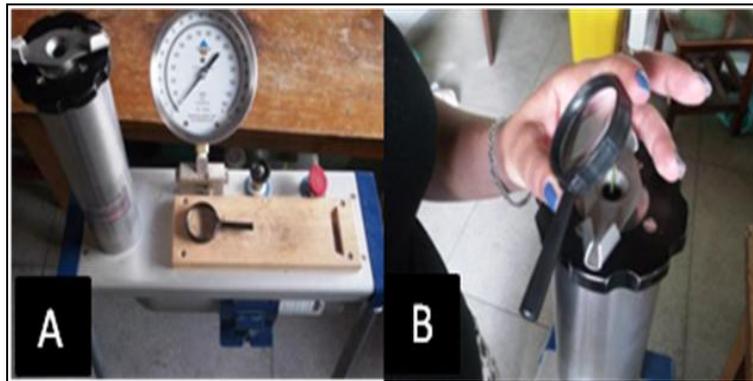
Foi realizada uma análise estatística entre os dados obtidos das plantas controle, uma vez que foram coletadas oito plantas no total. De forma que, se verificou semelhanças estatísticas entre os dados, sendo assim, adotou-se os valores das quatro plantas coletadas na primeira coleta.

3.2.1.1 Análises fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas

3.2.1.1.1 Relações hídricas: potencial hídrico foliar e teor relativo de água

O potencial hídrico foliar foi avaliado em três horários do dia: 4, 12 e 18 horas. Utilizando folhas completamente expandidas localizadas no terço médio da planta, para isto, as folhas foram coletadas, envoltas em filme plástico e acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo, mantendo a refrigeração para evitar a perda de água. Após isto, as folhas foram levadas ao laboratório para a realização das leituras na câmara de pressão de Scholander (Figura 6-A), seguindo a metodologia descrita por Scholander et al. (1965) (Figura 6-B).

Figura 6 - Determinação do Potencial hídrico foliar (Ψ_w). Câmara de pressão (A) e utilização do equipamento (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.

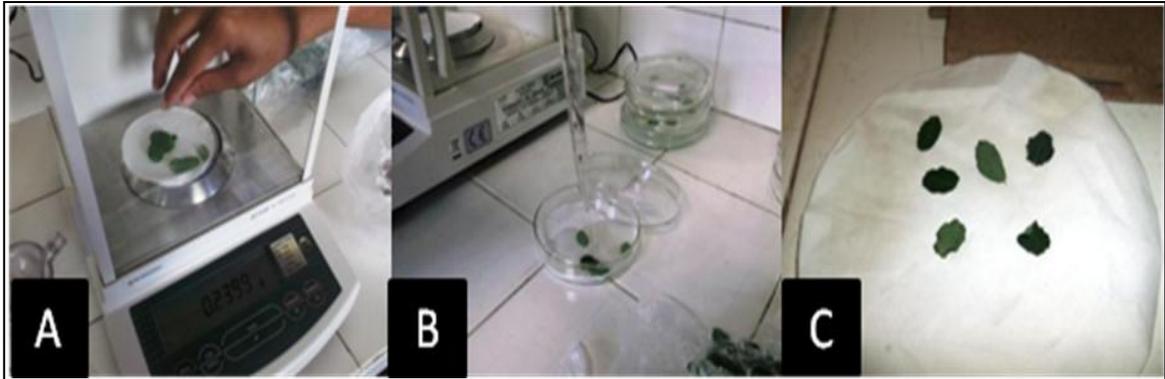


Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

O teor relativo de água (TRA) foi mensurado nos mesmos horários da avaliação do potencial hídrico foliar, seguindo a metodologia de Weatherley (1950), modificado. Para isto, retirou-se 6 folíolos de mesmo tamanho para a determinação do TRA, que após pesá-los para a determinação do peso da matéria fresca (PMF) (Figura 7-A) foram colocados em placa de Petri e imersos em 10 mL de água deionizada (Figura 7-B). As placas foram levadas para um ambiente refrigerado por 24 h e em seguida foram pesados novamente, para a obtenção do peso da matéria túrgida (PMT), logo após, acondicionados em sacos de papel foram levados à estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 65°C para a obtenção do peso da massa seca (PMS) (Figura 7-C). De posse dos dados de peso da matéria fresca (PMF), matéria túrgida (PMT) e matéria seca (PMS) foi calculado o teor relativo de água, de acordo com a fórmula:

$$TRA(\%) = \frac{PMF - PMS}{PMT - PMS} \times 100$$

Figura 7 - Determinação do teor relativo de água. Pesagem dos folíolos para obtenção do peso da matéria fresca (**A**); acondicionamento dos folíolos nas placas de Petri (**B**) folíolos após a secagem em estufa para obtenção do peso da matéria seca (**C**) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.

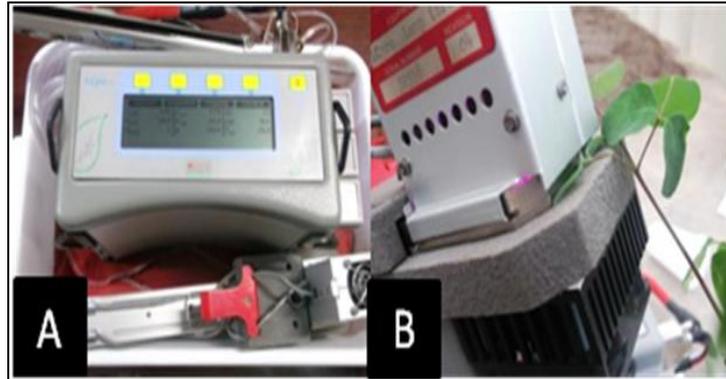


Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2.1.1.2 Trocas Gasosas: fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água

As trocas gasosas foram medidas nos horários entre 11:00 e 13:00. A fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática (gs) foram mensurados com um analisador de gás à infravermelho, ADC, modelo Lci Pro+ (Figura 8-A). Com a relação da fotossíntese e transpiração calculado a eficiência do uso da água: $EUA = A/E$. Para as avaliações foram utilizadas folhas completamente expandidas localizadas no terço médio superior das plantas (Figura 8-B).

Figura 8 - Avaliação das trocas gasosas: fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática (gs). Equipamento - IRGA (A) e utilização do equipamento (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2.1.1.3 Eficiência quântica do fotossistema II

A eficiência quântica do fotossistema II foi determinada em dois horários de avaliação (04 e 12 h) com a utilização de um fluorômetro portátil de luz (Opti-Sciences, Hudson, USA) (Figura 9-A), a partir da relação entre a fluorescência inicial (F0) e a fluorescência máxima (Fm), após a adaptação das folhas ao escuro por 30 minutos (Figura 9-B).

Figura 9 - Determinação da eficiência quântica do PS II. Fluorômetro (A) e utilização do equipamento (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.

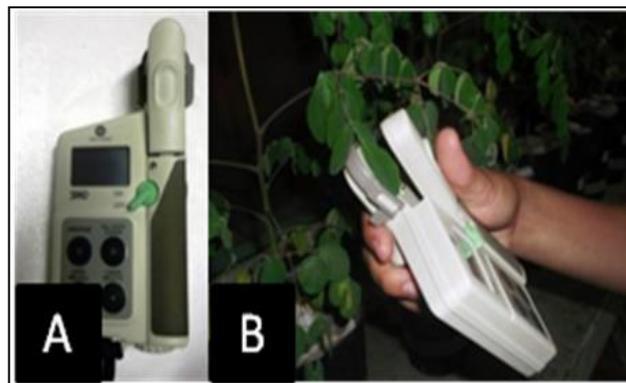


Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2.1.1.4 Determinação de pigmentos fotossintetizantes e SPAD

Foi determinado o teor de clorofila total por meio de um aparelho portátil do modelo SPAD-502 (Minolta, Japão) (Figura 10-A). O valor obtido foi o resultado de uma média de dez leituras realizadas em folhas espalhadas na planta inteira, no horário das 12 h, para cada tratamento (Figura 10-B).

Figura 10 - Determinação do Índice de SPAD. SPAD (A) e a utilização do equipamento (B) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Além da determinação de clorofila total, pelo método não destrutivo, também se determinou o teor de clorofilas *a*, *b*, total e carotenoides pelo método destrutivo. Para isto, coletou-se 0,1 g de matéria fresca de folhas de cada repetição, que foram em seguida cortados em pequenos pedaços, colocados em tubos de ensaio rosqueados coberto com papel alumínio para evitar a passagem de luz (Figura 11-A), adicionado 10 mL de álcool etílico a 95% e armazenados em local refrigerado. Após um período de 48h foi quantificado os teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides, de acordo com a metodologia de Lichtenthaler e Buschmann (2001) nos comprimentos de onda 664 nm, 649 nm e 470 nm, com o uso do espectrofotômetro Biospectro, modelo SP-220 (Figura 11-B). Os valores foram calculados pelas fórmulas descritas abaixo e, os resultados expressos em miligrama de clorofila por grama de matéria fresca ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ MF):

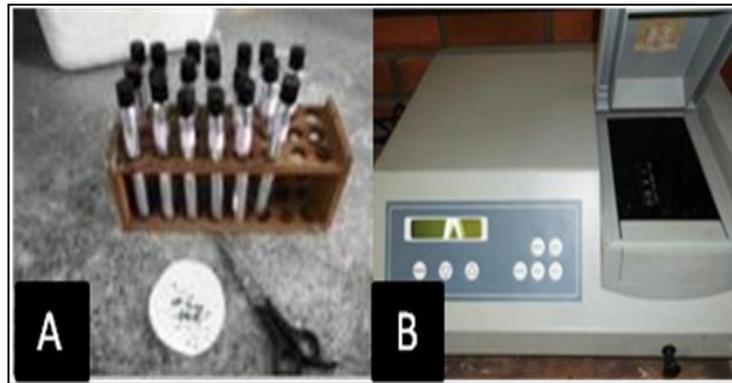
$$\text{Clo } a = 13,36 \times A_{664,1} - 5,19 \times A_{648,6}$$

$$\text{Clo } b = 27,43 \times A_{648,6} - 8,12 \times A_{664,1}$$

$$\text{Clo tot} = \text{Clor } a + \text{Clor } b$$

$$\text{Car} = [1000 \times A_{470} - 2,13 (\text{Clo } a) - 97,64 (\text{Clo } b) / 209].$$

Figura 11 - Materiais utilizados (A) e espectrofotômetro (B) para a determinação do teor de pigmentos fotossintetizantes em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.



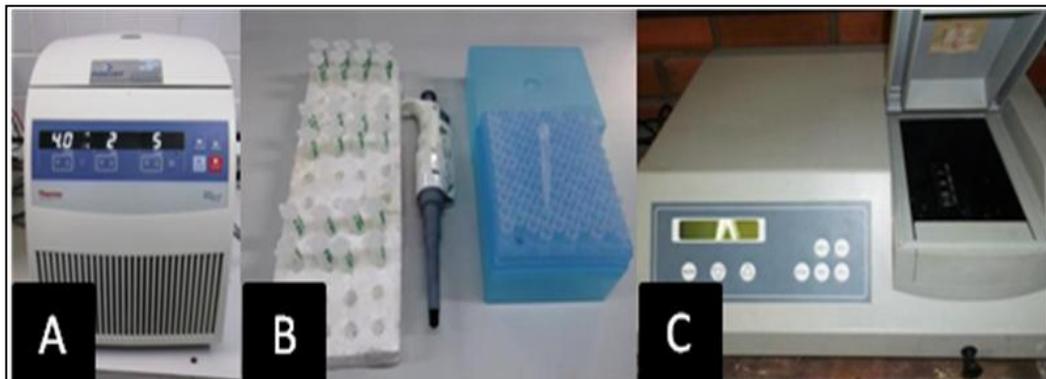
Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2.1.1.5 Determinação de solutos orgânicos

Para a determinação dos solutos orgânicos foi coletado, aproximadamente 1g da matéria fresca da folha e raiz de todos os tratamentos avaliados. Para a avaliação dos solutos nas túberas foram avaliados os tratamentos C, 10d SR e RI. Este material foi macerado em N₂ e adicionado 4 mL de solução tampão de fosfato monobásico (pH=7,0) a 0,1 M, o extrato foi filtrado e armazenado em recipientes. Em seguida foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos a uma temperatura de 4 °C (Figura 12-A) e coletado o sobrenadante (Figura 12-B). Este extrato foi armazenado para posterior determinação dos solutos orgânicos.

Os carboidratos livres totais foram determinados pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956); teores de proteínas solúveis pela metodologia da ligação ao corante coomassie brilliant blue (BRADFORD, 1976), os aminoácidos, pelo método da ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955), a concentração de prolina livre foi determinada aplicando-se a metodologia da ninhidrina e ácido fosfórico proposta por Bates et al. (1973), com as seguintes leituras de absorbância em espectrofotometro (Figura 12-C): 490, 595, 570 e 520 nm, respectivamente para cada metodologia aplicada (Figura 10). As concentrações dos solutos orgânicos foram expressas em $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF.

Figura 12 - Determinação dos solutos orgânicos. Centrífuga utilizada no preparo dos extratos (A); material para a coleta do precipitado (B) e espectrofotometro (C) utilizado para as leituras de solutos em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.



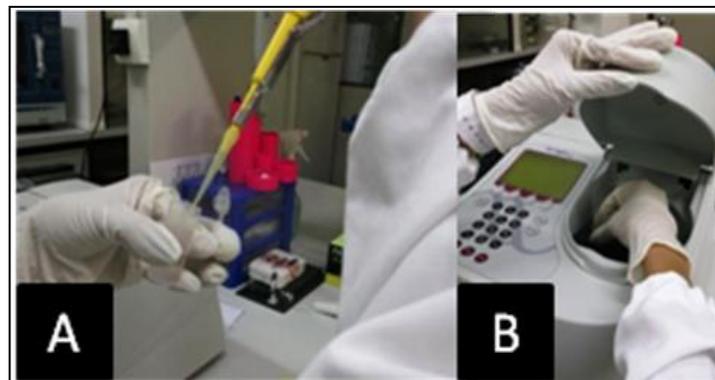
Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2.1.1.6 Determinação da atividade enzimática

A avaliação da atividade enzimática foi realizada em folhas e raízes de todos os tratamentos hídricos avaliados, utilizando o extrato preparado da mesma forma que o extrato utilizado para a determinação dos solutos orgânicos.

Para a determinação da atividade da catalase (CAT), foi utilizado 100 mM de tampão fosfato monobásico e 0,1M de EDTA (pH = 7,0), 20 mM de H₂O₂ e 50 µL do extrato preparado, de acordo com a metodologia de Beer Júnior e Sizer (1952). A leitura foi feita por absorvância a um comprimento de onda de 240nm, por meio da degradação do H₂O₂ durante 1 minuto. O coeficiente molar de extinção utilizado foi de 36 M⁻¹. cm⁻¹, o resultado foi expresso em µmol H₂O₂ g⁻¹ MF min⁻¹. Já para a determinação da ascorbato peroxidase (APX), utilizou-se 50 mM do tampão fosfato monobásico e 0,1 µM de EDTA (pH = 6,0), 0,5 mM de ascorbato, 1 mM de H₂O₂ e 75 µL do extrato preparado (Figura 13-A). A leitura foi feita por absorvância em espectrofotômetro no intervalo de 1 min a um comprimento de onda de 290 nm (Figura 13-B). O coeficiente molar de extinção utilizado foi de 2,8 mM⁻¹. cm⁻¹ do ascorbato e o resultado foi expresso em µmol H₂O₂ g⁻¹ MF min⁻¹, segundo a metodologia de Nakano e Asada (1981).

Figura 13 - Determinação da atividade enzimática. Preparo do material (A) e obtenção da leitura no espectrofotômetro (B) utilizado para a determinação da atividade enzimática em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2.1.2 Análise estatística

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 programa estatístico Assistat 7.6 (Assistência Estatística, UFCG – Campina Grande) e os gráficos confeccionados no software Sigmaplot 11.0.

3.1.2 Estresse salino em mudas de *Moringa oleifera* Lam.

As mudas com 17 dias de idade foram transplantadas para vasos de polietileno contendo 12 kg de areia lavada. A superfície dos vasos foi revestida com circunferências de plástico para minimizar a perda de água por evaporação (Figura 14-A).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituído de três tratamentos salinos: 0 mM de NaCl (Controle - C), 75 mM de NaCl (Estresse Moderado – EM) e 150 mM de NaCl (Estresse Severo - ES), com 6 repetições por tratamento, totalizando 18 unidades experimentais. As concentrações de NaCl foram acrescidas na solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) a ½ força.

Figura 14 - Visão geral dos ensaios de *Moringa oleifera* Lam. (A) e estrutura do vaso para a coleta do drenado (B).

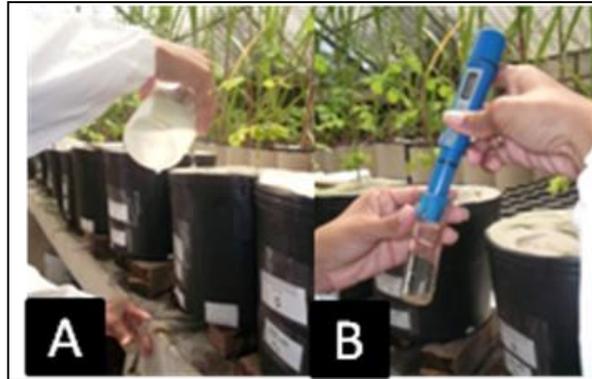


Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

As análises foram realizadas em três períodos de exposição ao estresse (2, 24 e 48 horas), sendo a primeira realizada após duas horas em que os vasos atingiram suas respectivas condutividades elétricas (C.E.) e os demais após 24 e 48 horas da primeira avaliação.

As condutividades elétricas foram monitoradas para assegurar que todos os espaços do vaso estivessem correspondendo a seus tratamentos salinos, para isto, foi confeccionado um suporte para facilitar a coleta do drenado (Figura 14-B) e utilizado o condutímetro digital (Waterpool) (Figura 15-A, Figura 15-B).

Figura 15 - Monitoramento da condutividade elétrica. Coleta do drenado (**A**) e verificação da condutividade elétrica (**B**) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse salino.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

A condutividade elétrica correspondente aos tratamentos salinos avaliados encontram-se na tabela 2, sendo de $1,18 \text{ dS.m}^{-1}$ para as plantas submetidas a 0 mM de NaCl (C); $7,80 \text{ dS.m}^{-1}$ para as plantas submetidas a 75 mM de NaCl (EM) e $13,40 \text{ dS.m}^{-1}$ para as submetidas a 150 mM de NaCl (ES).

Tabela 2 – Condutividade elétrica de cada tratamento salino aplicado.

Tratamento salino (mM de NaCl)	Condutividade elétrica (dS.m ⁻¹)
0	1,18
75	7,80
150	13,40

Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

3.2.2.1 Análises fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas

3.2.2.1.1 Relações hídricas: potencial hídrico foliar e teor relativo de água

A determinação do Ψ_w foi realizada no horário de 15 h, após a avaliação das trocas gasosas, para os três períodos de imposição ao estresse (2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse). Para isso seguiu-se o mesmo procedimento aplicado na determinação do potencial hídrico foliar do ensaio 1, segundo a metodologia de Scholander et al. (1965).

O teor relativo de água (TRA) foi mensurado nos mesmos horários da avaliação do potencial hídrico, seguindo a metodologia Weatherley (1950), modificado, da mesma forma que foi realizado no ensaio 1. No entanto, devido ao aos folíolos terem atingido tamanhos maiores que os do ensaio 1, foi possível a utilização de discos foliares de mesma área, em vez que folíolos.

3.2.2.1.2 Trocas Gasosas: fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água

As trocas gasosas (fotossíntese - A, transpiração - E, condutância estomática g_s e eficiência do uso da água) foram avaliadas entre os horários de 13:00 às 15:00, em três períodos de exposição ao estresse (2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse). Foi utilizado o mesmo equipamento do ensaio 1, um analisador de gás à infravermelho, ADC, modelo Lci Pro+, em folhas localizada no terço médio superior.

3.2.2.1.3 Determinação de pigmentos fotossintetizantes

A determinação do teor de clorofilas *a*, *b*, total e carotenoides foi realizado da mesma forma que no ensaio 1, seguindo a metodologia de Lichtenthaler e Buschmann (2001) para os três horários de imposição ao estresse (2, 24 e 48 horas).

3.2.2.1.4 Determinação dos solutos orgânicos

Os solutos orgânicos foram determinados apenas no final do ensaio, com as mesmas metodologias utilizadas no ensaio 1, sendo avaliado nas folhas, raízes e túberas. Os carboidratos livres totais foram determinados pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956); teores de proteínas solúveis pela metodologia da ligação ao corante coomassie brilliant blue (BRADFORD, 1976); os aminoácidos, pelo método da ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955); a concentração de prolina livre foi determinada aplicando-se a metodologia da ninhidrina e ácido fosfórico proposta por Bates et al. (1973).

3.2.2.1.5 Determinação da atividade enzimática

A atividade das enzimas antioxidantes, assim como os solutos orgânicos, foi avaliada apenas no final do experimento, onde o extrato foi preparado com, aproximadamente 1 g de cada órgão: folha, raiz e túbera, para todos os tratamentos avaliados, utilizando o mesmo procedimento aplicado no ensaio 1. A atividade enzimática da catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) foi avaliada de acordo com as metodologias de Beer Júnior e Sizer (1952) e Nakano e Asada (1981), respectivamente.

3.2.2.2 Análise estatística

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 programa estatístico Assistat 7.6 (Assistência Estatística, UFCG – Campina Grande) e os gráficos confeccionados no software Sigmaplot 11.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

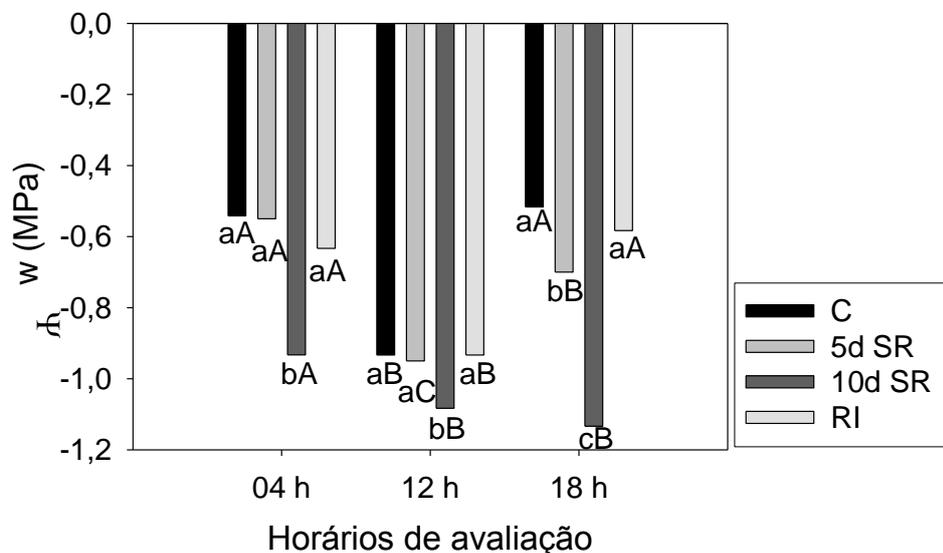
4.1 ENSAIO 1. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM MUDAS DE *MORINGA OLEIFERA* LAM. SUBMETIDA A ESTRESSE HIDRICO

4.1.1 Análises fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas

4.1.1.1 Relações Hídricas: potencial hídrico foliar (Ψ_w) e teor relativo de água (TRA)

Verificou-se diferenças significativas no Ψ_w das plantas submetidas ao tratamento 10d SR com valores de -0,93, -1,08 e -1,13 MPa para todos os horários de avaliação: 4, 12 e 18 h, respectivamente. Após a reirrigação, constatou-se a recuperação total das plantas do tratamento RI apresentando valores de -0,63; -0,93 e -0,58 MPa, para os mesmos horários de avaliação, sendo semelhantes estatisticamente ao controle (Figura 16).

Figura 16 - Potencial hídrico foliar (Ψ_w) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras minúsculas iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de avaliação ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Estes resultados diferem daqueles observados por Mendonça et al (2009), que ao avaliarem o Ψ_w em mudas de *Moringa oleifera*, em ciclos de rega de 5 e 10 dias ao meio dia, não constataram diferenças significativas. No entanto, os resultados estão de acordo com a literatura, que de maneira geral, registra uma tendência na diminuição do Ψ_w mediante a redução da disponibilidade hídrica no solo. Diversos trabalhos constataram redução do potencial hídrico foliar de espécies florestais em resposta ao estresse hídrico, assim como CHAVES FILHO, et al. (2001) – *Solanum lycocarpum*; Costa et al. (2007) – *Carapa guianensis*; Martins (2008) - *Azadirachta indica*; Sausen et al. (2010) - *Ricinus communis*; Silva et al. (2008) – *Mimosa caesalpinifolia*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Tabebuia áurea*.

Conforme o esperado, ao meio dia, horário de maior demanda evaporativa, as plantas de todos os tratamentos apresentaram menores valores de Ψ_w , em relação à avaliação as 4 e 18h. Estas variações no potencial hídrico das plantas avaliadas no decorrer do dia se dão devido à absorção de água pela planta que acontece quando esta tem seu potencial menor que o solo (PIMENTEL, 2004). Mesmo sendo irrigadas diariamente, devido à variação ambiental ao longo do dia, há uma redução no potencial hídrico foliar, em especial ao meio dia (COSTA et al., 2007; JADOSKI et al., 2005).

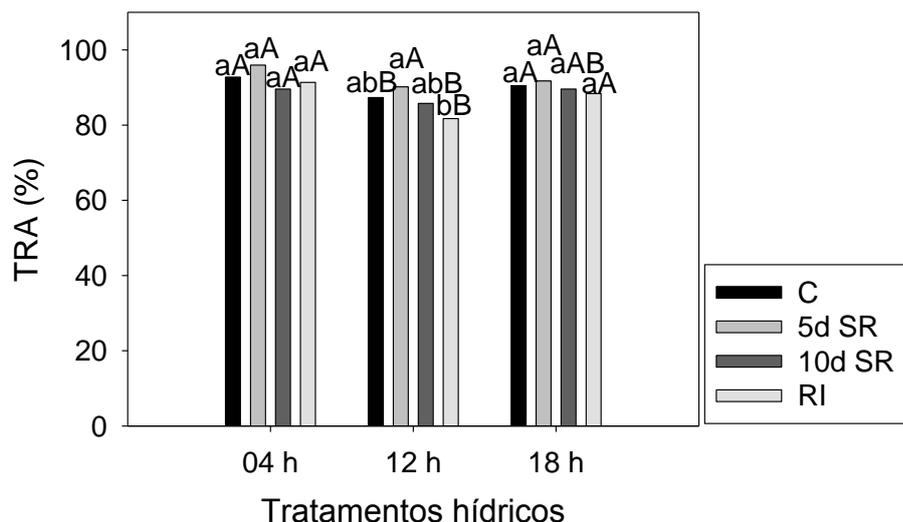
A avaliação do potencial hídrico foliar antemanhã, horário em que a transpiração é reduzida ou inibida, é de extrema importância, uma vez que nesse horário há um equilíbrio entre o Ψ_w da planta com o do solo (AMÉGLIO et al., 1999; ANDRADE, 1998). Em virtude dos estômatos ainda se encontrarem fechados é possível observar o efeito apenas do déficit hídrico, já que a transpiração é reduzida não havendo influência da temperatura (PIMENTEL, 2004). Diversos autores também encontraram reduções significativas ao avaliar o Ψ_w entre os diferentes horários do dia (BRUNINI; CARDOSO, 1998; COSTA et al. 2007; JADOSKI et al., 2005; PEREZ; MORAIS, 1991), corroborando com os potenciais hídricos foliares encontrados na presente pesquisa, que foram menores para as avaliações ao meio dia.

A capacidade de recuperação do Ψ_w de algumas espécies vegetais após um período de supressão hídrica, já vem sendo estudado por diversos autores. Dentre estes, Gonçalves et. al. (2009) avaliando a recuperação desta variável em *Carapa guianensis* após um período de 21 dias de estresse observaram o reestabelecimento

desta variável após 4 dias de reirrigação. Já Gomes et al. (2004), ao estudar mudas de laranjeiras enxertadas que após permanecerem 5 dias sob supressão hídrica averiguaram que foi necessário o mesmo período de dias de reirrigação para a recuperação do seu Ψ_w . Em adição, Rocha et al., (1997) constataram uma rápida recuperação em *Stryphnodendron adstringens* após 27 dias de deficiência hídrica, readquirindo seu status hídricos com apenas 48 horas de reirrigação. A espécie em estudo apresentou uma alta plasticidade para esta variável, uma vez que observou que após 10 dias de déficit hídrico, recuperou seu Ψ_w em apenas 24 horas.

Em relação ao teor relativo de água, a moringa comportou-se de forma semelhante estatisticamente, independente do tratamento avaliado (Figura 17). Semelhantemente, Arcoverde et al. (2011) estudando *Jatrophas curcas* observaram que o conteúdo hídrico foi mantido mesmo sob um déficit hídrico de 12 dias.

Figura 17 - Teor relativo de água (TRA) em plantas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras minúsculas iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de avaliação ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

O status hídrico da planta pode ser determinado por variáveis qualitativa ou quantitativa. Para a moringa foi possível observar a influência do estresse hídrico apenas para o Ψ_w , variável qualitativa que determina a disponibilidade hídrica para a

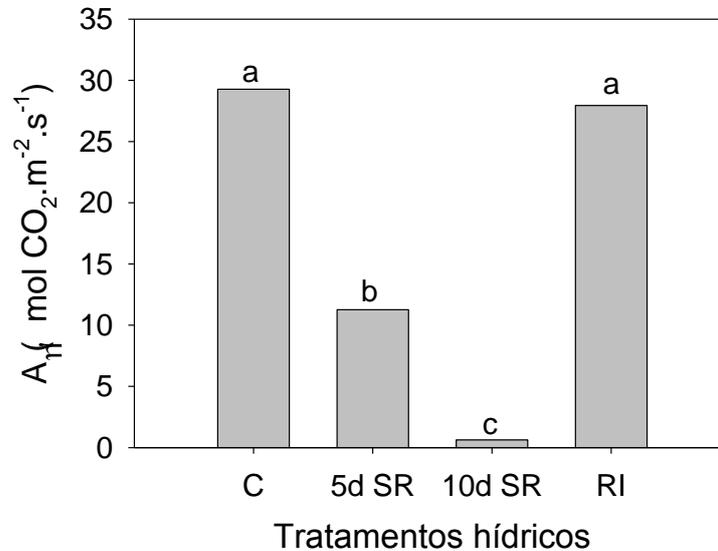
planta realizar seus processos metabólicos. Embora alguns autores (DUTRA et al., 2011; JHONES, 1992; SCHONFELD et al., 1988) considerem o TRA um parâmetro mais relacionado com a tolerância à seca, pois este se relaciona com o volume celular, no entanto, para a espécie em estudo, tal parâmetro não foi indicativo de déficit hídrico. Mesmo sob limitações hídricas a moringa manteve seu conteúdo hídrico em níveis semelhantes ao controle, tal fato pode atribuir a redução do Ψ_w ao acúmulo de solutos intracelular e não a limitação hídrica no interior da planta.

Segundo Begg e Turner (1976), a garantia da turgescência devido ao conteúdo hídrico foliar quando a planta encontra-se em situação de déficit hídrico, assegura a sobrevivência do vegetal, uma vez que há a possibilidade para que seus processos metabólicos continuem acontecendo.

4.1.1.2 Trocas Gasosas: Fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água

As plantas de moringa sofreram reduções em todas as variáveis das trocas gasosas avaliadas. De acordo com a figura 18, fotossíntese líquida (A) reduziu em torno de 61,51% e 97,84% para as plantas do tratamento 5d SR e 10d SR, respectivamente, atingindo um valor médio de $0,63 \mu\text{mol.CO}_2 \text{ m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para a última, esta queda da fotossíntese pode estar associada à redução do potencial hídrico foliar, em função da indisponibilidade hídrica no solo, resultado da diminuição da turgescência das células guardas, provocando o fechamento estomático (Figura 18).

Figura 18 - Fotossíntese líquida (A) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.

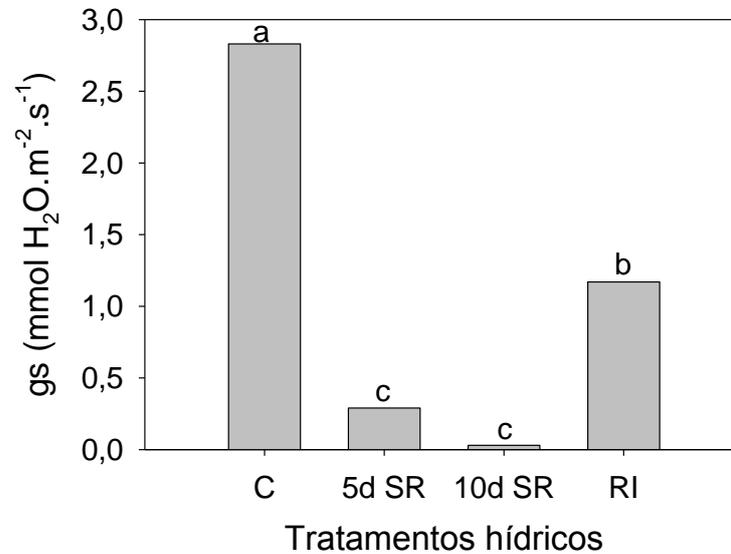


Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

A condutância estomática (gs) foi afetada significativamente, onde as plantas controle apresentaram um valor de 1,54 mmol H₂O.m⁻².s⁻¹, enquanto as plantas do tratamento 5d SR e 10d SR apresentaram 0,26 e 0,03 mmol H₂O.m⁻².s⁻¹, respectivamente (Figura 19). O fechamento dos estômatos foi uma resposta influenciada pelo potencial hídrico foliar em função da supressão hídrica a qual as plantas foram submetidas.

A abertura estomática garante uma maior absorção de CO₂ para fotossíntese, promovendo uma maior produção de fotoassimilados para o crescimento da planta (SILVA et al., 2005). Ao ser reidratada a moringa apresentou um aumento na gs (2,565 mmol H₂O.m⁻².s⁻¹) em torno de 66,23% em relação ao controle. Este rápido aumento nesta variável, pode ter sido uma resposta ao longo período de tempo em que os estômatos estiveram fechados, devido à restrição hídrica, com isso ao serem reidratadas houve a abertura estomática, o que possibilitou a recuperação da fotossíntese.

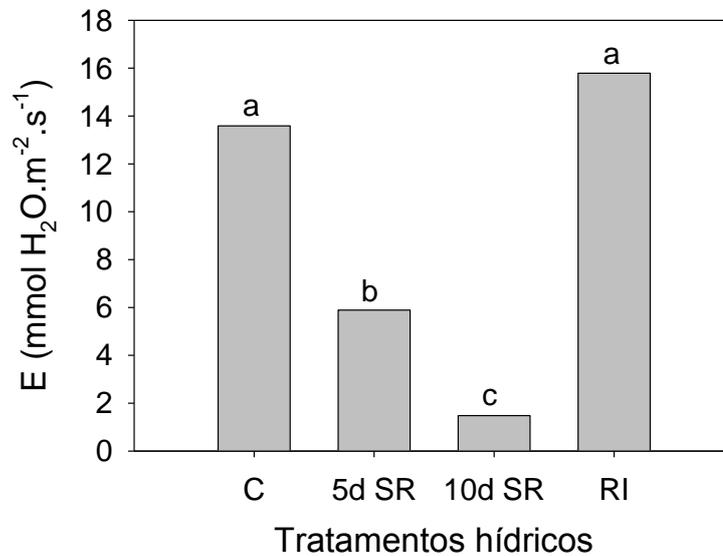
Figura 19 - Condutância estomática (gs) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

O processo de transpiração está associado à gs, responsável pela troca de gases e vapores, com a redução do potencial hídrico. Embora as plantas do tratamento 10d SR tenham apresentado valores de condutância estomática próximo de zero, a transpiração continuou acontecendo, haja visto que as mesmas apresentaram um valor de $1,49 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Figura 20), contudo, o fechamento estomático não impossibilitou que houvesse transpiração, demonstrando uma possível transpiração cuticular da moringa.

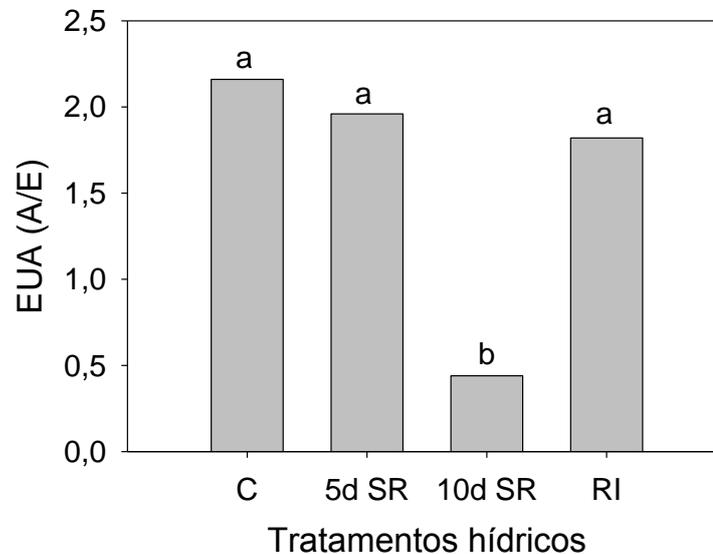
Figura 20 - Transpiração (E) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

A eficiência do uso da água diferiu nas plantas do tratamento 10d SR em relação às demais, com valor médio de 0,44 mmol.m⁻².s⁻¹. As plantas que permaneceram 10 dia de supressão hídrica após serem reirrigadas (RI) utilizaram a água de forma eficiente, assemelhando-se as plantas controle (Figura 21).

Figura 21- Eficiência do uso da água (EUA) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Os valores das variáveis relacionadas às trocas gasosas da moringa foram afetadas drasticamente em virtude do baixo conteúdo hídrico no solo. Devido à indisponibilidade hídrica, as células guardas perdem sua turgescência resultando no fechamento estomático o que reflete na absorção de CO₂ da atmosfera pelas folhas, havendo com isso, uma limitação no processo fotossintético (CHAVES et al., 2002). Estes resultados corroboram com diversos autores que ao estudar o efeito do déficit hídrico constatou alterações nas trocas gasosas em resposta ao déficit hídrico (CALBO et al. 2000; QUEIROZ et al. 2002; RIVAS et al., 2013; ROCHA et al., 1997; SANTOS, 2009; SAUSEN et al., 2010; TONELLO; TEIXEIRA FILHO, 2012)

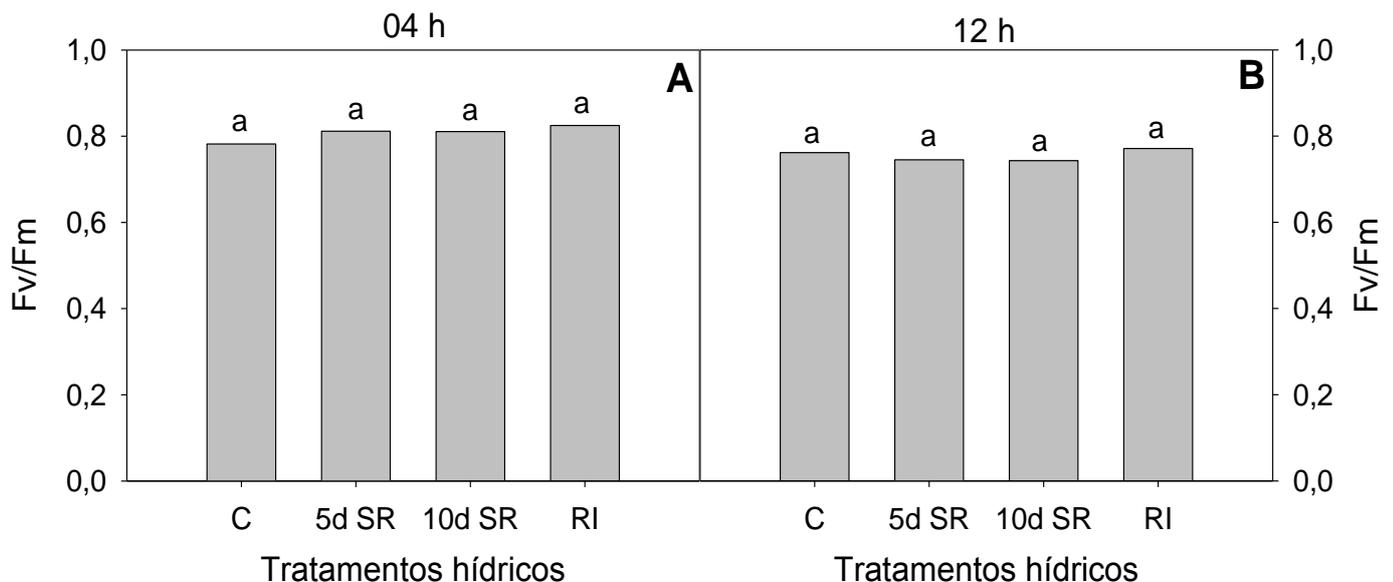
Ao serem reidratadas, após o período de déficit hídrico e atingir um Ψ_w de -1,08, a espécie em estudo apresentou um rápido reestabelecimento da fotossíntese, em apenas 24 horas, o que demonstra uma alta plasticidade da espécie. Rivas et al., (2013) ao estudar mudas moringa sob déficit hídrico de 10 dias e posterior reirrigação também observou uma rápida recuperação das trocas gasosas. Esta mesma característica foi observada também em mudas de *Mauritia flexuosa*, onde a espécie levou cerca de 41 dias para que a fotossíntese atingisse o valor nulo com o Ψ_w de -2,1 MPa, sendo reestabelecida após 5 dias de reidratação

(CALBO et al., 1997). Estes mesmos autores ao estudar o comportamento de *Euterpe oleraceae* submetida a 61 dias de déficit hídrico com a fotossíntese nula e o Ψ_w de -2,5 MPa, a recuperação total foi após 14 dias de reidratação (CALBO et al., 1997).

4.1.1.3 Eficiência quântica do fotossistema II

Não foram observada diferenças em relação à eficiência quântica do PS II (F_v/F_m) entre os tratamentos avaliados (Figura 22). Tais resultados corroboram com Roza (2010), que ao estudar o efeito da deficiência hídrica em mudas de *Jatropha curcas* também não observou diferenças para a variável em questão e Queiroz et al. 2002, ao estudar mudas de *Myracrodruon urundeuva* sob suspensão de rega por um período de 14 dias.

Figura 22 - Eficiência quântica do PSII em plantas de *Moringa oleifera* Lam. submetida ao estresse hídrico no horário das 4 horas (**A**) e 12 horas (**B**). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

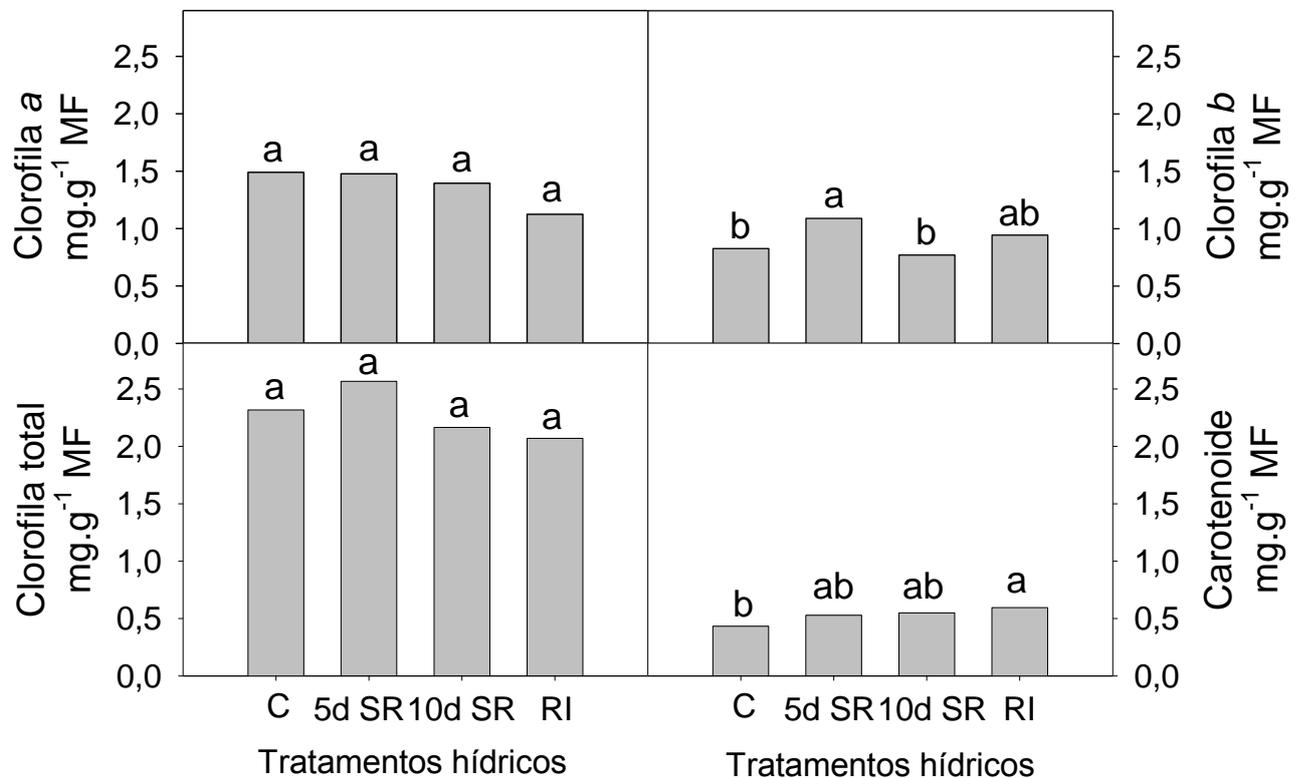
A medição desta variável é importante, uma vez que é possível observar os possíveis danos provocados ao aparato fotossintético em resposta à adversidade (TORRES NETO et al., 2002). A moringa não apresentou prejuízo ao seu aparato fotossintético mesmo após um período de estresse de 10d SR, isto justifica seu rápido reestabelecimento após a reirrigação, o que pode ser um indicativo de tolerância desta espécie, por não causar danos ao PSII.

4.1.1.4 Determinação de pigmentos fotossintetizantes e SPAD

O estresse hídrico não apresentou influência sobre os teores de clorofila *a* e total para os tratamentos avaliados. Para a clorofila *b*, as plantas do tratamento 5d SR apresentaram maiores valores ($1,09 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MF}$), já para os carotenoides, as maiores concentrações foram encontradas nas plantas do tratamento RI, que apresentaram um valor médio de $0,596 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MF}$, enquanto o controle apenas $0,433 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MF}$ (Figura 23).

Corroborando com tais resultados, Mendonça et al. (2011) também não encontraram diferenças significativas para os teores de clorofila para esta mesma espécie em estudo (*Moringa oleifera*) sob ciclos de rega de 5 e 10 dias de supressão hídrica. Diferentemente, Fontes et al. (2003) observaram a redução de pigmentos fotossintetizantes provocados em mudas de mamoeiro em tais condições.

Figura 23 - Concentração dos teores de Clorofila *a*, Clorofila *b*, Clorofila total e Carotenoide em mudas de *Moringa oleifera* Lam, submetidas ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.

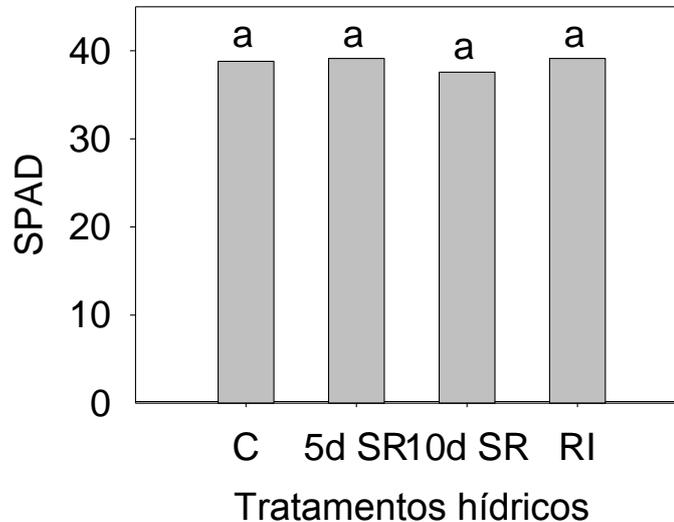


Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Quando as plantas estão submetidas à situação de estresse, há o aumento no teor desta clorofila, uma vez que esta desempenha uma importante função de proteção do aparelho fotossintético II (LOGGINI et al, 1999). O conteúdo de clorofila é influenciado por diversos fatores e apresenta-se altamente relacionado com a atividade fotossintéticas do vegetal (SANT'ANNA, et al., 2007) e segundo Mendonça et al., (2001), a manutenção destes pigmentos é importante por garantir que os processos metabólicos sejam mantidos mesmo sob condição de estresse.

De acordo com os valores de clorofila total obtidos pelo SPAD, não foi afetado significativamente pelo déficit hídrico. Onde os valores de todos os tratamentos hídricos avaliados foram semelhantes estatisticamente (Figura 24).

Figura 24 - Índice SPAD em plantas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



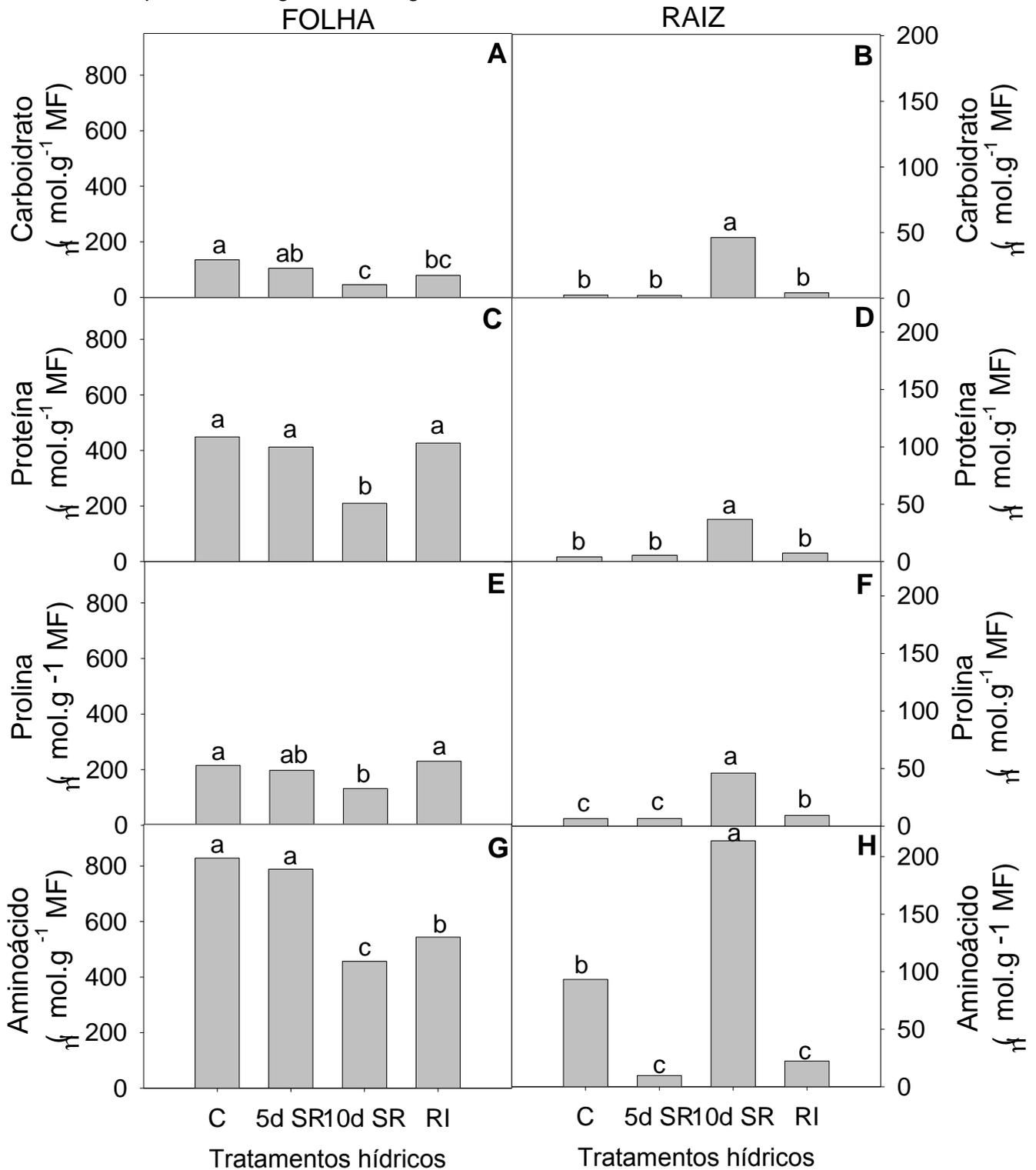
Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

A determinação do teor de clorofila pelo SPAD tem-se demonstrado bastante precisa, permitindo que seja relacionado com a determinação da clorofila pelo método de extração de pigmentos fotossintéticos. Jesus e Marengo (2008) e ao estudarem o teor de clorofila em frutíferas, também encontraram associação entre os métodos os quais demonstraram que o SPAD pode ser utilizado como uma alternativa não destrutiva na avaliação do teor de clorofila na planta. Assim como, Amarante et al. (2008) que também encontraram uma alta correlação entre os valores de clorofilas obtido por quantificação em espectrofotometro e os valores obtidos pelo SPAD, no entanto os autores destacam a importância da calibração ao usar o equipamento.

4.1.1.5 Determinação de solutos orgânicos

Os maiores teores de carboidratos nas folhas foram observados nas plantas controle ($135,14 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) enquanto as plantas do tratamento 10d SR apresentaram apenas $45,59 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF (Figura 25-A), já para as raízes estas plantas apresentaram os maiores valores ($46,24 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) (Figura 25-B).

Figura 25 - Concentração de solutos orgânicos em folha e raiz: carboidrato livres totais (A-B), proteína (C-D), prolina livre (E-F) e aminoácido (G-H) em mudas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Os teores de proteína nas folhas foram reduzidos com o estresse hídrico de 10 dias, onde estas plantas (10d SR) apresentaram apenas $209,75 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Figura 25-C). Já para as raízes, foi verificado nestas plantas uma concentração de $36,75 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF (Figura 25-D).

Para os teores de prolina presentes nas folhas, as maiores concentrações foram encontrados nas plantas RI ($230,43 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF), no entanto, estas não diferiram das plantas controle ($214,92 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF), mas ambas diferiram das plantas 10d SR ($131,83 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF).

Os teores de aminoácido totais nas folhas foi de $828,12$ e $788,08 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF, para as plantas do tratamento C e 5d SR, respectivamente, ambas diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Enquanto as plantas $456,38$ e $543,56 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF para as plantas C, 5d SR, 10d SR e RI, respectivamente (Figura 25-E). Já para as raízes o maior valor encontrado foi de $213,78 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF para as plantas do tratamento 10d SR, onde esta diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, para este órgão (Figura 25-F).

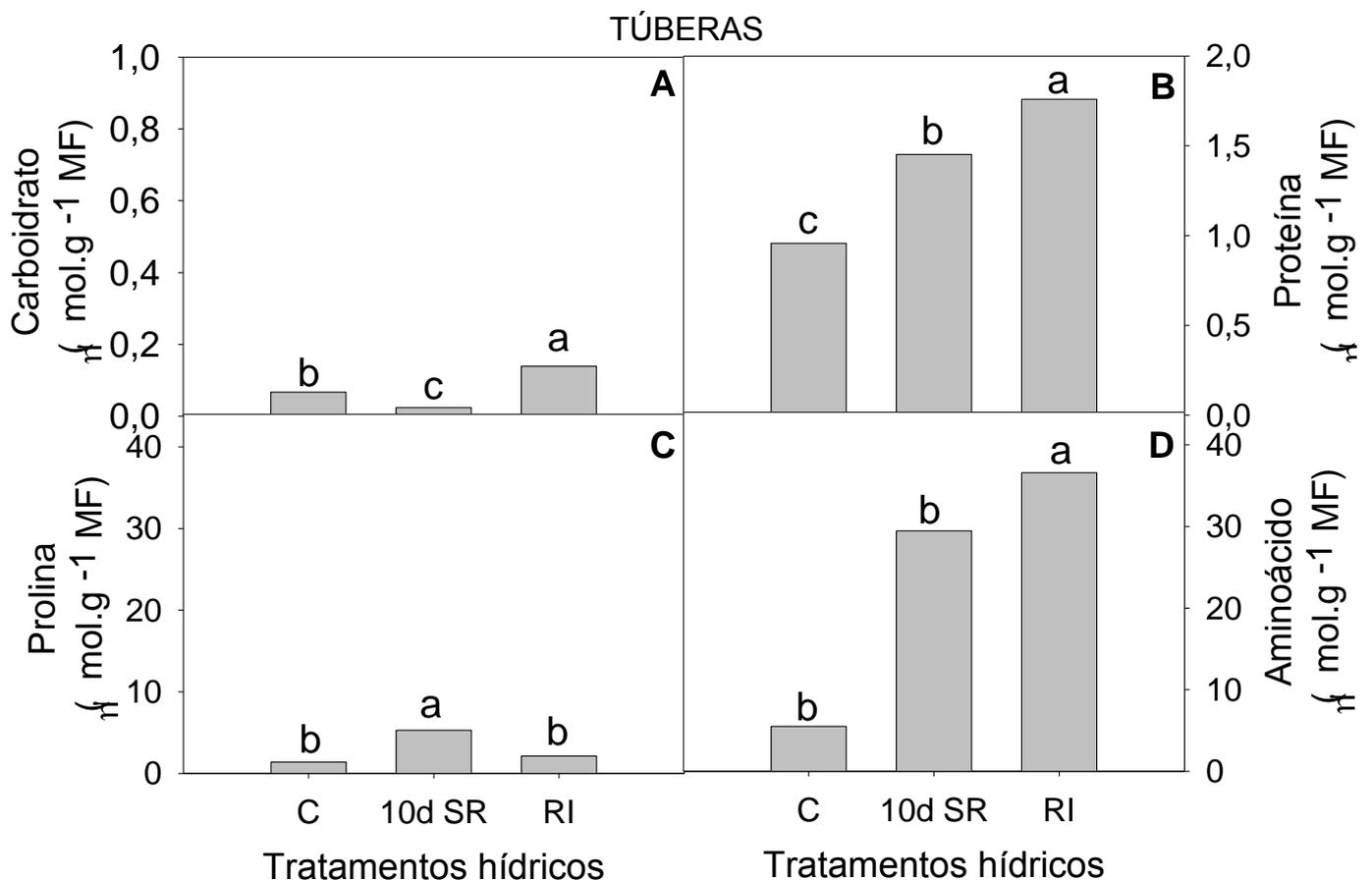
Resultados diferentes foram observados por Rivas et al. (2013) que observaram um aumento na concentração de carboidratos em folhas de *Moringa oleifera* sob deficiência hídrica de 10 dias. No entanto, os valores encontrados na presente pesquisa, para os teores de aminoácidos nas folhas, corroboram com os valores encontrados por Rivas et al. (2013), que também encontrou um incremento para este soluto orgânico.

Chaves Filho et al. (2001) ao estudar mudas de *Hevea brasiliensis*, observou o acúmulo de solutos orgânicos como carboidrato, proteína e amoniácido, quando estas foram submetidas ao déficit hídrico. Amorim et al. (2011) ao estudar a concentração de prolina e carboidrato em folhas de *Anacardium occidentale* verificou um aumento desses solutos como resposta ao estresse hídrico. Segundo a autora, tais parâmetros podem ser utilizados como indicadores prévios de deficiência hídrica. Já para a *Jatropha curcas* os teores de carboidratos nas folhas foram reduzidos, corroborando com os dados encontrados na presente pesquisa, com o estresse hídrico de 12 dias (ARCOVERDE et al., 2011).

Os teores de solutos presentes nas túberas das plantas do tratamento 10d SR apresentaram concentrações de carboidrato reduzidas com a imposição do estresse hídrico, representando uma redução de 64,02%, no entanto após a reidratação (RI),

houve um aumento de 107,46%, em relação ao controle (Figura 26-A). Os teores de proteína não foram afetados pelo estresse hídrico (Figura 26-B), resultados diferentes foram observados para os teores de aminoácidos onde houve um aumento para as plantas submetidas ao tratamento 10d SR ($29,4 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) e RI ($36,6 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF), onde estas diferiram significativamente das plantas C (Figura 26-D). Já para os teores de prolina, os maiores valores foram registrados nas plantas submetidas ao estresse de 10d SR ($5,28 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) (Figura 26-C).

Figura 26 - Concentração de solutos orgânicos: carboidratos livres totais (A), proteínas (B), prolina livre (C) e aminoácido (D) em túberas de plantas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

As plantas do tratamento 10d SR tiveram a concentração de solutos nas folhas reduzidas, em resposta ao déficit hídrico. Esta indisponibilidade hídrica

provoca uma redução da fotossíntese resultando na redução da concentração de amido, com isso a concentração de carboidratos é reduzida (CHAVES FILHO et al., 1997). Além de também aumentar a atividade da enzima responsável pela degradação das proteínas, resultando numa diminuição na concentração de estas.

A concentração de solutos orgânicos pode responder de diferentes maneiras, de acordo com o órgão onde estes se encontram localizados. Embora que numa concentração bem menor que as folhas, as raízes das plantas do tratamento 10d SR apresentaram maiores valores, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos hídricos avaliados. A raiz é o órgão que tem como função principal, a absorção de água e sais minerais, sendo a sua manutenção é de extrema importância para a sobrevivência da espécie em ambientes que apresentam indisponibilidade de água.

Assim como na presente pesquisa, diversos autores como Cascardo et al. (1990) e Pesqueira et al. (2012), ao avaliarem o efeito do déficit hídrico na concentração de solutos orgânicos, também observaram um aumento significativo de prolina nas raízes das espécies estudadas (*Hevea brasiliensis* e *Arachis hypogaea*, respectivamente). O aumento na concentração deste osmólito em plantas sob déficit hídrico, segundo Maia et al. (2007), poderia ser atribuído a atividade de enzimas responsáveis na síntese deste aminoácido.

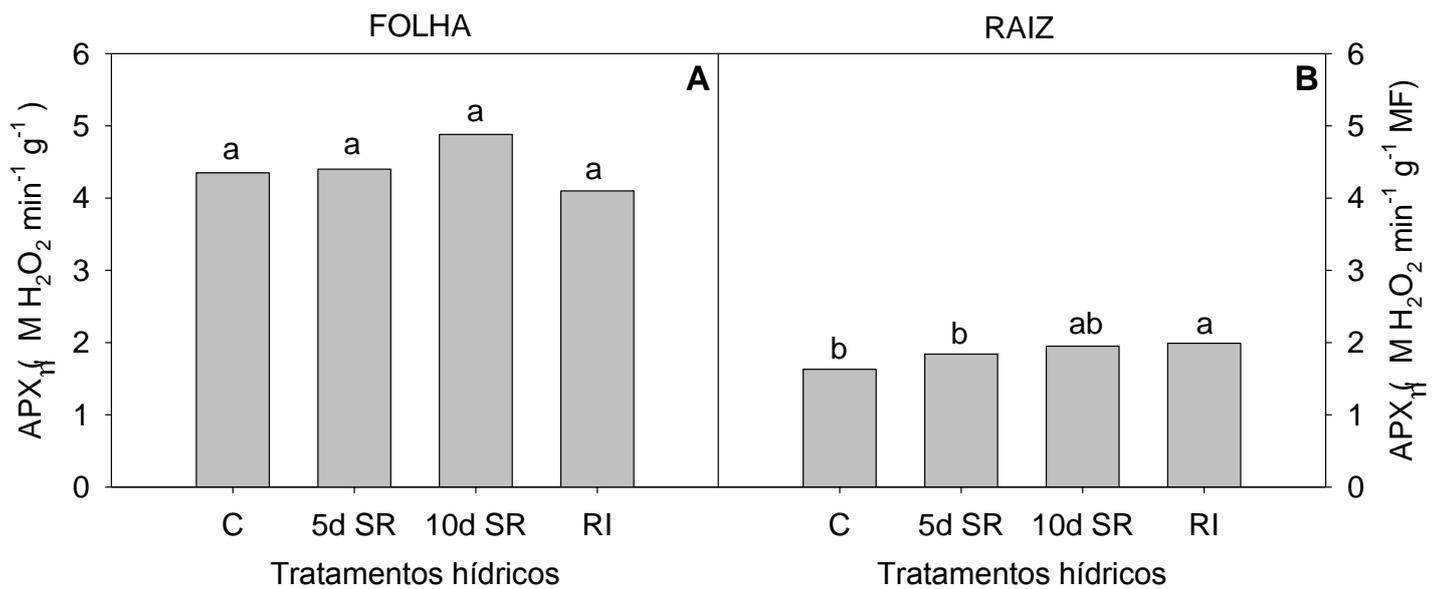
O ajustamento osmótico é uma resposta que muitas espécies tolerantes ao déficit hídrico para sobreviver quando os níveis de água no solo encontram-se reduzidos, de modo a evitar a desidratação. De acordo com os resultados do Ψ_w podemos observar um possível ajustamento osmótico para a espécie em estudo, uma vez que esta teve seu potencial hídrico reduzido e sua turgescência foliar conservada, conforme se pode observar com os valores do TRA, com isso a espécie mantém ativo processos biológicos importantes.

4.1.1.6 Determinação da atividade enzimática

Conforme a figura 27 observa-se que o estresse hídrico não promoveu alteração na atividade enzimática da ascorbato peroxidase (APX) para as folhas (Figura 27-A). No entanto, para as raízes, observa-se diferença significativas para atividade desta enzima, havendo um aumento de 19,63% para as plantas submetidas ao tratamento 10d SR e de 22,08% para as plantas reirrigadas (RI), em

relação ao controle (Figura 27-B). Tais resultados sugerem que, possivelmente, a defesa antioxidante contra o estresse hídrico em resposta aos tratamentos aplicados seja primeiramente exercida pelas raízes e não pelas folhas, para esta espécie em estudo.

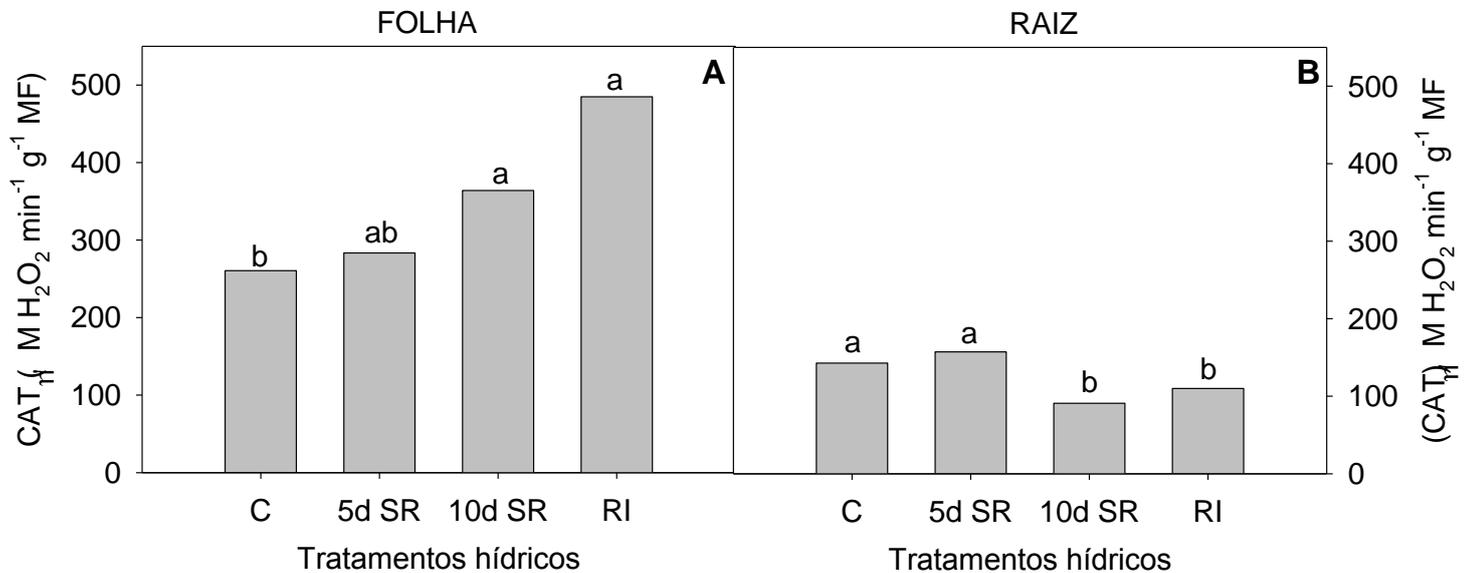
Figura 27- Determinação da atividade da APX em folhas (A) e raiz (B) em plantas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Em relação à atividade enzimática da catalase (CAT), para as folhas, verifica-se que após as plantas do tratamento RI apresentaram um aumento de 86,07%, em relação ao controle (Figura 28-A). No entanto a atividade desta enzima na raiz foi reduzida em 36,38% para as plantas do tratamento 10d SR e 22,95% para as plantas reirrigada (RI), em relação ao controle (Figura 28-B).

Figura 28 - Determinação da atividade da CAT em folhas (A) e raiz (B) em plantas de *Moringa oleifera* Lam, submetida ao estresse hídrico. Letras iguais, não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade, através do teste de Tukey. C - controle; 5d SR – 5 dias de suspensão de rega; 10d SR – 10 dias de suspensão de rega; RI – reirrigada.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

A eliminação das ERO pode ser feita tanto pela atividade das enzimas CAT quanto APX, no entanto, tais enzimas podem responder de diferentes maneiras ao ambiente. Assim como no presente trabalho, quando as plantas que permaneceram por um período de 10 dias de déficit hídrico e após 24 horas de reirrigação, constatou-se um aumento para a CAT para as folhas, não sendo este aumento observado para a APX. Rivas et al., (2013), ao estudarem mudas de *Moringa oleifera*, também encontraram um aumento da atividade da CAT em folhas para plantas sob déficit quando comparadas com mudas regadas diariamente.

Frie et al. (2007) ao avaliarem mudas de *Coffea arabica* sob condições de déficit hídrico encontraram respostas enzimáticas com diferentes período de duração do estresse, cujo observaram um aumento na atuação da APX a partir do 3º dia de estresse, enquanto a CAT apresentou este aumento apenas a partir do 9º dia de estresse. Em *carapa guanensis* foi observado um aumento na atividade tanto da APX quanto da CAT nos folíolos quando estas encontravam sob déficit hídrico por um período de 20 dias (SILVA et al. 2011). Castro et al. (2011), também encontrou

este resultado ao estudar esta mesma espécie, também sob 20 dias de supressão hídrica.

A atividade enzimática também pode variar nos diferentes órgãos da planta, conforme podemos observar na Figura 28, que para as folhas, não houve diferenças significativas para a atividade da APX entre os tratamentos hídricos, no entanto, para as raízes, as plantas do tratamento 10d SR e RI apresentaram um aumento significativo, em relação ao controle. A APX converte o H_2O_2 a água utilizando como substrato o ascorbato, sendo este substrato biossintetizado tanto em tecidos fotossintetizantes quanto em tecidos não fotossintetizantes, sendo assim, sua produção independe do processo fotossintético, por isso, foi observado um acréscimo na atividade desta enzima nas raízes, em resposta ao estresse (SILVEIRA, et al., 2010).

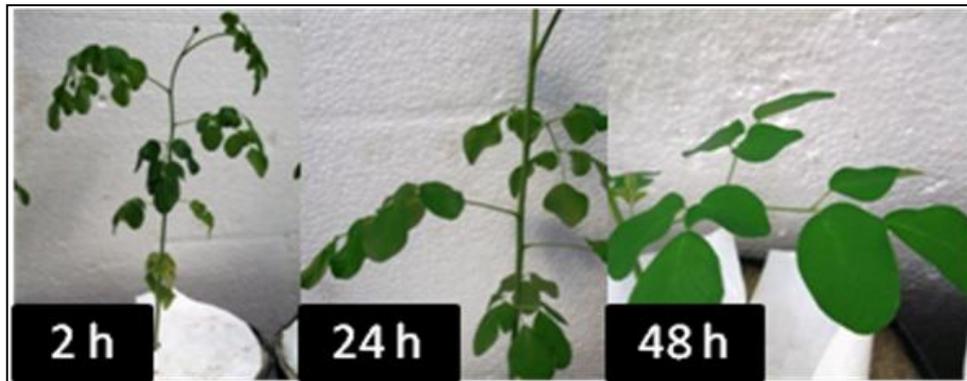
Embora a atividade da catalase tenha reduzido na raiz, esta foi acrescida nas folhas das plantas do tratamento RI. A redução desta atividade na raiz pode ser atribuída ao fato desta enzima atuar diretamente no peroxissomo, organela responsável pela desintoxicação de ERO, sendo importante para a eliminação dos H_2O_2 formados na fotorrespiração.

4.2 ENSAIO 2. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM MUDAS DE *Moringa oleifera* Lam. SUBMETIDA A ESTRESSE SALINO

4.2.1 Sintomas visuais

Conforme observar-se nos sintomas visuais, as plantas submetidas ao tratamento de 75 mM de NaCl (EM), após 2 horas de indução do estresse apresenta uma perda na sua turgescência foliar, no entanto com o prolongamento do estresse, após 24 e 48 horas, é possível observar uma recuperação (Figura 29).

Figura 29 - Folhas de *Moringa oleifera* Lam. submetida ao EM (75 mM de NaCl) por um período de 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

No entanto ao elevar as concentrações salinas para 150 mM de NaCl, após 2 horas após a indução do estresse, pode-se observar perda da turgescência foliar, e com o prolongamento de estresse (24 horas) é possível observar manchas de clorose nas folhas mais velhas, atingindo a necrose após 48 horas de indução do estresse (Figura 30).

Figura 30 - Folhas de *Moringa oleifera* Lam. submetida ao ES (150 mM de NaCl) por um período de 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

A elevada concentração de sais no solo afeta o processo de absorção de água, devido ao seu Ψ_w encontrar-se menor que o da planta, resultando então num estresse hídrico. Os sais retidos no solo ao serem absorvidos juntamente com a solução do solo, podem se acumular nos vacúolos celulares e provocar uma toxicidade aos tecidos, além de também impedir a absorção de alguns nutrientes que são necessários. A salinidade pode provocar então alterações complexas, resultado da deficiência hídrica, toxicidade e desequilíbrio iônico (SOUSA et al., 2012).

4.2.2 Análises fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas

4.2.2.1 Relações hídricas: potencial hídrico e teor relativo de água

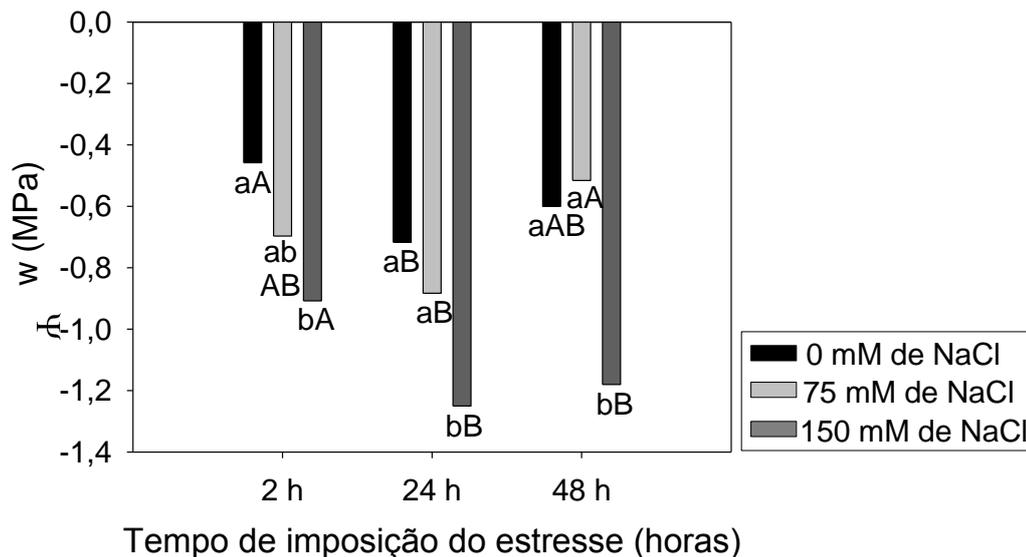
Os valores do Ψ_w não apresentaram diferenças significativas para os tratamentos C (-0,45 MPa) e EM (-0,67 MPa) avaliados no período inicial (após 2 horas de indução do estresse), não sendo afetado com o prolongamento do estresse. Porém, ambos os tratamentos diferiram das plantas do tratamento ES, que com o prolongamento do estresse, após 48h, estas atingiram valores médios de Ψ_w de -1,12 MPa (Figura 31).

Corroborando com a presente pesquisa, Oliveira et al. (2008) ao estudar as relações hídricas em mudas de moringa submetidas ao estresse salino em meio hidropônico também não encontrou diferenças significativas entre plantas do tratamento C e plantas com concentrações de 75 mM de NaCl. Já marques et al.

(2011) ao estudarem o estresse salino em mudas de *Eugenia uniflora* observou uma diminuição no potencial hídrico foliar desta espécie em concentrações salinas a partir 30 mM de NaCl. Outros estudos comprovaram que elevadas concentrações salinas provocam reduções no Ψ_w de algumas espécies (TÁVORA et al., 2001; ALBUQUERQUE, 2003; SILVA, 2008; SILVA et al., 2009).

Observou-se na presente pesquisa que o prolongamento do EM promoveu a diminuição das diferenças entre os valores do Ψ_w das plantas deste tratamento com as plantas do C, onde os valores destas plantas eram semelhantes estatisticamente. Por outro lado, as plantas do ES reduziram drasticamente seu Ψ_w , provavelmente, resultado de um possível ajustamento osmótico destas mantendo assim a absorção de água.

Figura 31 - Potencial hídrico foliar (Ψ_w) em plantas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



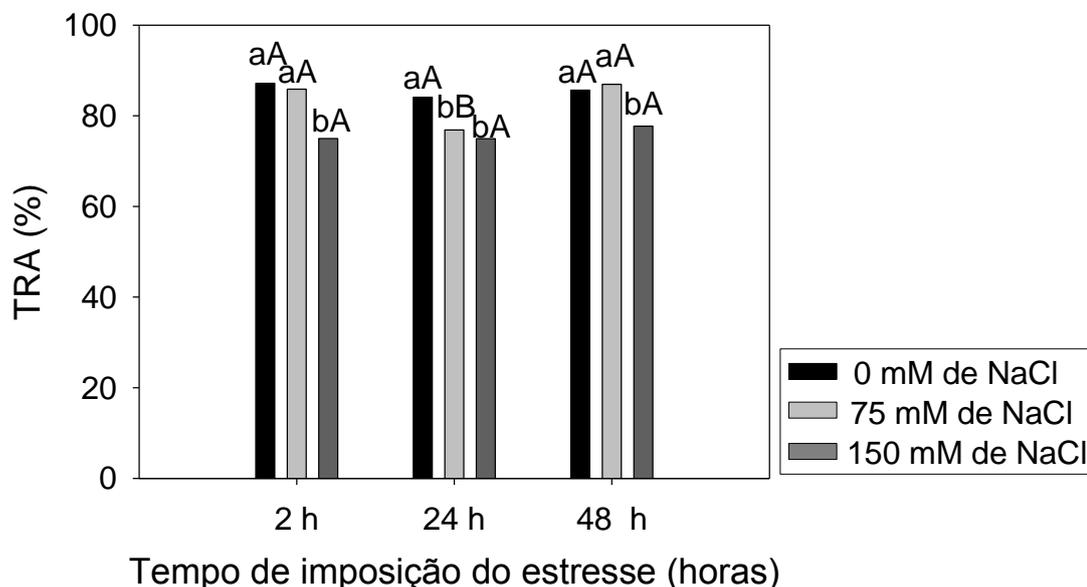
Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Os valores médios do TRA não apresentaram diferenças significativas para os tratamentos C e EM (Figura 32) para o primeiro (2 h) e último (48 h) período de imposição ao estresse. No entanto ao ser submetido ao ES, as plantas de moringa apresentaram reduções em todos os períodos de avaliação, onde as plantas deste

tratamento apresentaram valores médios de 74,99%, 74,96% e 77,73% para as avaliações de 2, 24 e 48h, respectivamente.

É provável a manutenção do TRA, conforme observado no EM, reflita no acúmulo de sais solúveis responsáveis pelo ajustamento osmótico. Esta conservação no TRA demonstra a capacidade que esta planta apresenta em absorver água mesmo sob condições de salinidade ao nível de 75 mM de NaCl. No entanto ao aumentar a concentração salina para 150 mM de NaCl, a moringa reduziu seu teor TRA, refletindo na perda da turgescência de suas folhas.

Figura 32 - Teor Relativo de Água (TRA) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

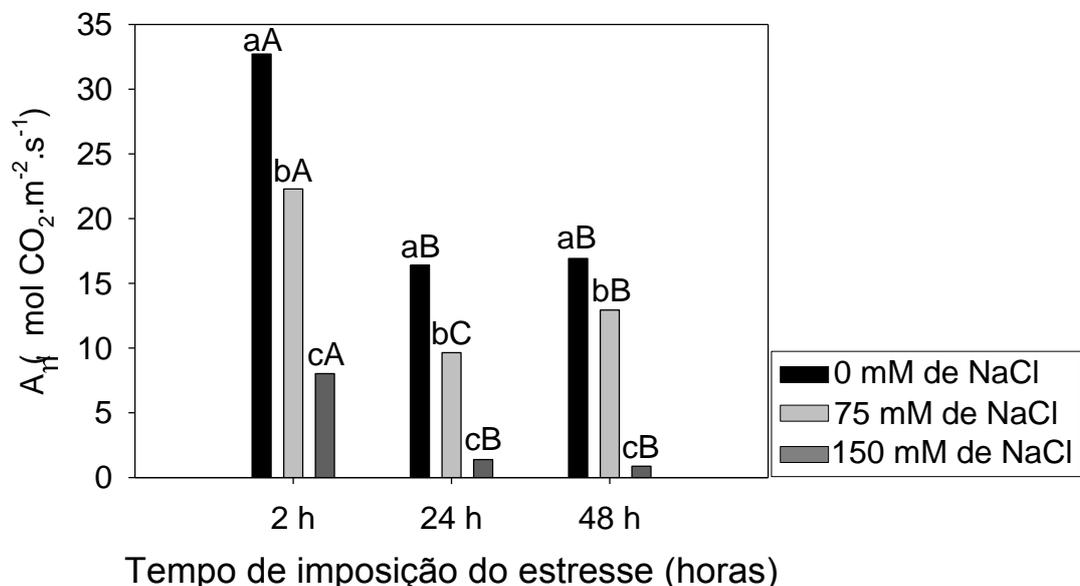
Ao avaliar o teor relativo em plantas de goiaba, Távora et al. (2001) também observaram reduções com o aumento na concentração salina e com prolongamento do estresse, sendo mais afetado com nível de 150 mM de NaCl, enquanto concentrações abaixo deste valor não apresentou diferenças significativas. Assim como observado por Pizarro et al. (2006) ao estudar mudas de cajueiro anão-

precoce, a imposição do estresse salino não afetou o teor relativo de água nas folhas e Correia et al. (2005) ao estudar amendoim irrigado com águas salina.

4.2.2.2 Trocas Gasosas: Fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água

O estresse salino afetou a fotossíntese das mudas de moringa submetidas aos tratamentos salinos em todos os horários de avaliação, sendo mais prejudicial as plantas do tratamento ES. As plantas do estresse moderado (EM) reduziram em 31,8%, após 2 horas, sendo esta diferença reduzida para 23,6%, em relação ao controle, com 48 horas após a indução do estresse. Resultados diferentes foram observados nas plantas submetidas ao tratamento ES, onde estas, com apenas 2 h, apresentaram uma redução de 75,45% chegando a atingir uma redução de 94,8%, atingindo um valor médio de $0,87 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, enquanto as plantas controle apresentaram um valor de $16,92 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Figura 33).

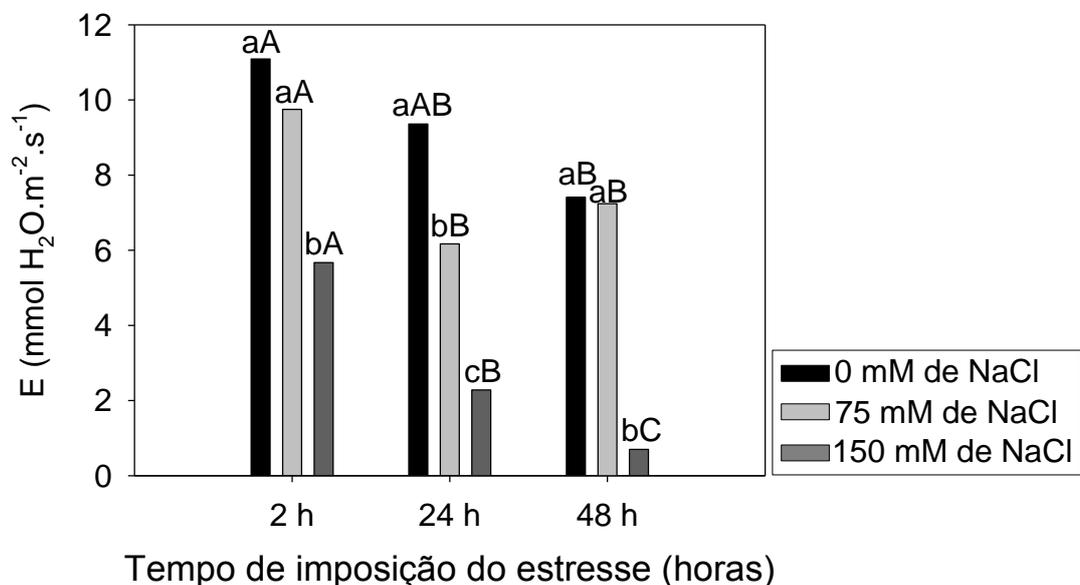
Figura 33 - Taxa de fotossíntese em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

A transpiração das plantas do tratamento C e EM apresentaram-se semelhantes entre si, para as avaliações de 2 e 48 horas após indução de estresse. Estas plantas diferiram do tratamento, onde estas plantas apresentaram valores de 5,67; 2,28 e 0,7 mmol H₂O.m².s⁻¹, correspondendo a uma redução de 49,1%, 75,64% e 90,55%, em relação ao controle, que apresentaram valores de 11,09; 9,36 e 7,41 mmol H₂O.m².s⁻¹, para os períodos de imposição ao estresse avaliado (2, 24 e 48 horas) (Figura 34).

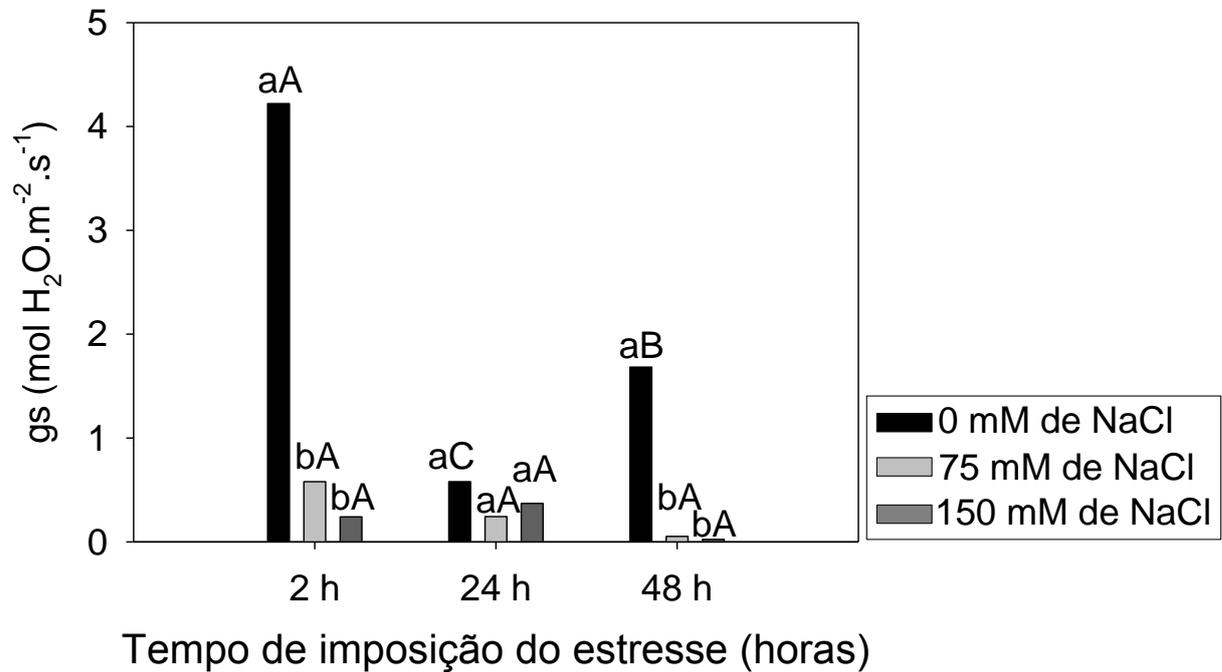
Figura 34 - Taxa de transpiração em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

O estresse salino promoveu o fechamento estomático das mudas de moringa, onde a condutância estomática das plantas do EM reduziu em 73,69%, com apenas 2 h de indução do estresse, atingindo um valor de 0,37 mmol H₂O.m².s⁻¹, enquanto as plantas controle apresentaram 1,68 mmol H₂O.m².s⁻¹, a redução das plantas pertencentes ao EM, em relação as plantas controle, após 48 horas foi de 77,97%. As plantas do tratamento do ES apresentaram reduções drásticas em relação ao controle, onde estas plantas apresentaram uma redução de 94,31% (2 h de indução do estresse) até 98,80%, após 48 h (Figura 35).

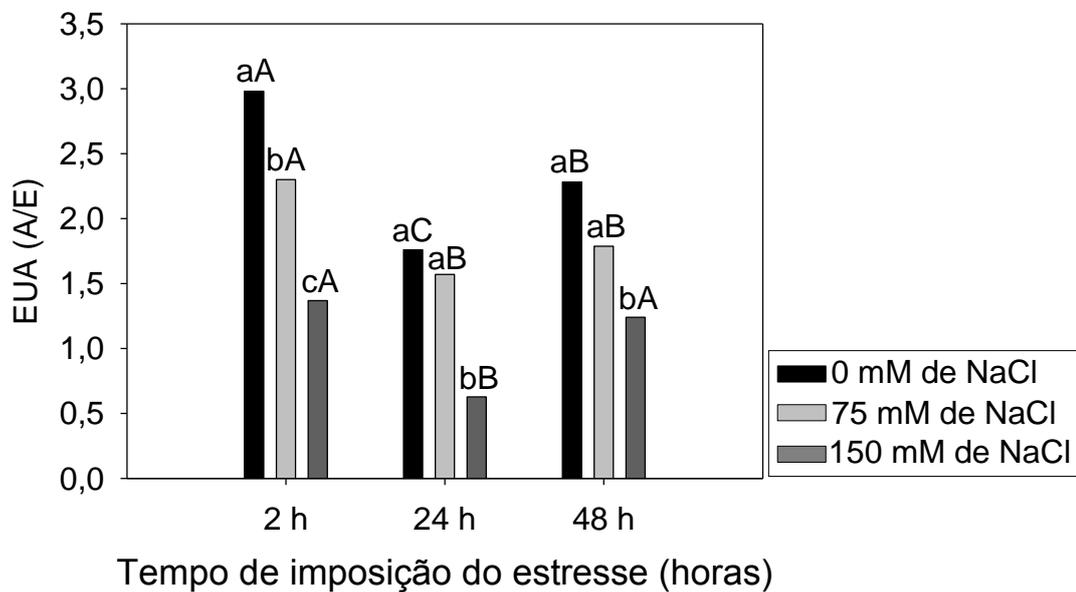
Figura 35 - Taxa de condutância estomática em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

As plantas do EM inicialmente apresentaram um valor médio da EUA de 2,3 , apresentando uma redução em torno de 22,97% em relação ao controle, no entanto houve uma recuperação a partir das 24 h, onde estas plantas mantiveram-se semelhantes ao controle. Contrariamente ocorreu para as plantas do ES, onde estas continuaram a reduzir para a avaliação de 48 h (Figura 36).

Figura 36 - Eficiência do uso da água em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

O estresse salino induziu o fechamento estomático, limitando as trocas gasosas, sendo esta intensificada com o prolongamento do estresse. Onde se verificou que após 48 horas de indução do estresse as plantas do ES reduziram suas trocas gasosas atingindo valores próximos à zero para a fotossíntese. Esta redução pode ser atribuída à restrição na aquisição de CO₂, uma vez que a condutância estomática diminuiu com o aumento da concentração de NaCl.

As plantas do tratamento ES sofreram drásticas reduções em suas trocas gasosas, semelhante à Távora et al. (2001), que estudando mudas de goiabeira observou uma reduções mais acentuadas das trocas gasosas para este mesmo nível de salinidade, em relação aos demais tratamentos aplicados. Assim, como o autor anterior, outros pesquisadores também encontraram reduções nas trocas gasosas de diversas espécies vegetais com o prolongamento do estresse salino (CORREIA et al., 2005; NEVES et al., 2009; SILVA et al., 2011; SOUSA et al., 2012).

4.2.2.3 Determinação de pigmentos fotossintetizantes

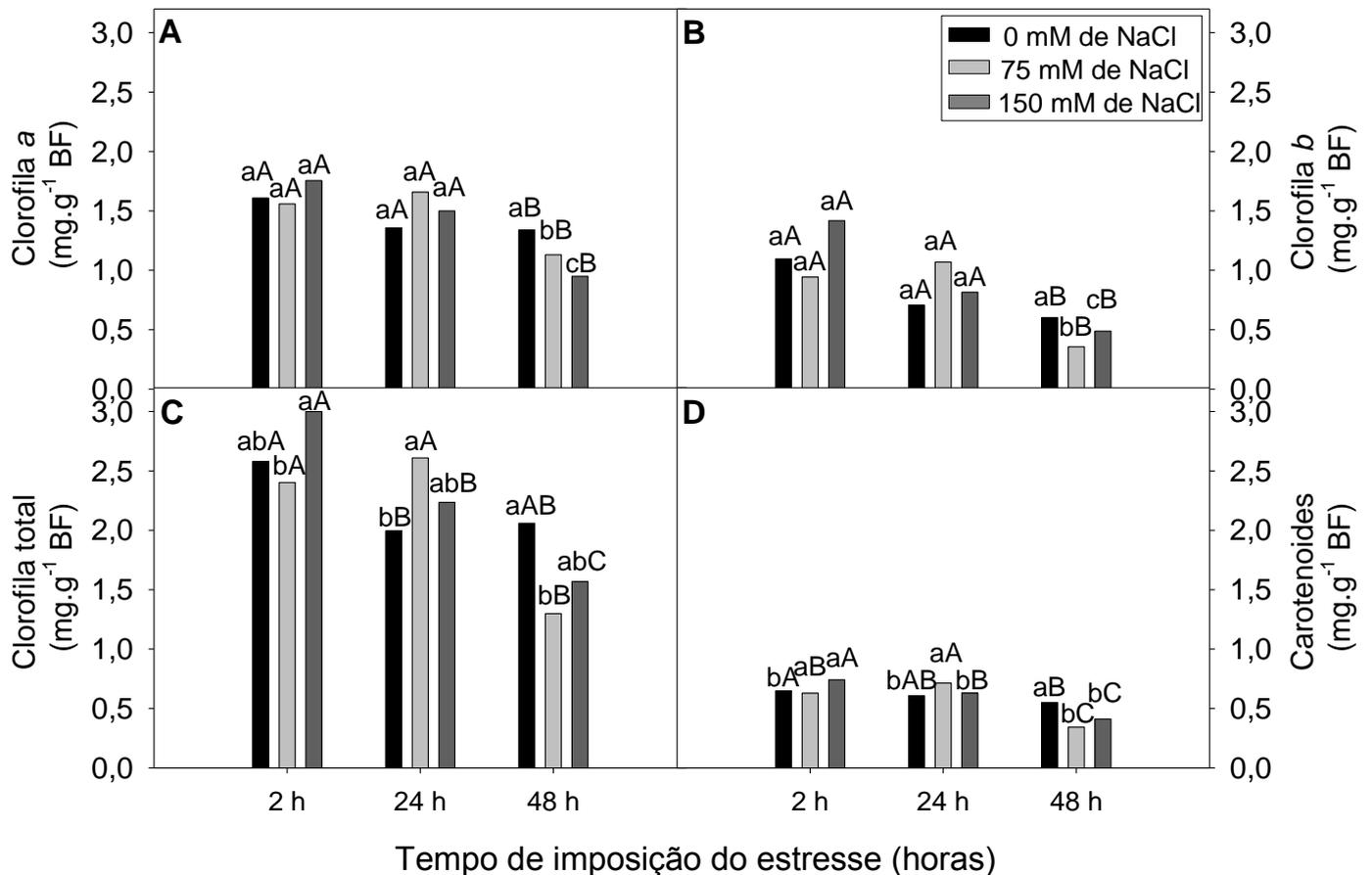
Não houve diferença significativa para os teores de clorofila *a* entre os tratamentos salinos avaliados. No entanto, foi observado que mesmo sem diferenças significativas entre os tratamentos, o período de avaliação após 48 horas de imposição do estresse promoveu menores valores de clorofila *a* em relação aos primeiros períodos de avaliação (2 e 24 h) para as plantas do tratamento EM e ES. Entretanto, entre os períodos de imposição ao estresse, as plantas do EM apresentaram um valor de $1,14 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MF}$ e do ES $0,95 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MF}$, correspondendo a uma redução de 26,45% e 45,71%, respectivamente, em relação aos seus valores iniciais (2h) (Figura 37-A).

Após 2 horas de imposição ao estresse, as plantas do tratamento ES apresentaram maiores valores de clorofila *b*, diferindo estatisticamente dos demais, representando um aumento de 23,24%, em relação ao controle. No entanto com o prolongamento do estresse (48 h) não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 37-B).

Com relação à clorofila total, o estresse salino não promoveu diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 37-C). Já para os carotenoides, observou-se que inicialmente o estresse salino promoveu a produção destes pigmentos, onde as plantas submetidas ao ES apresentaram maiores valores ($0,74 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MF}$), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. No entanto houve a redução deste pigmento após 48 horas de imposição ao estresse (Figura 37-D).

De maneira geral, pode-se observar que as mudas de moringa submetidas ao EM comportaram-se semelhante estatisticamente ao controle, já as plantas do ES, responderam inicialmente, aumentando seus teores de pigmentos fotossintéticos, porém com o prolongamento do tempo de exposição à salinidade, esses teores foram reduzidos.

Figura 37 - Teor de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofila total (C) e carotenoide (D) em plantas de *Moringa oleifera* Lam, . sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl) após 2, 24 e 48 horas de imposição ao estresse. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos e maiúsculas entre os horários de imposição ao estresse ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Alguns autores observaram redução na concentração de pigmentos fotossintetizantes em algumas espécies vegetais, tais como, Andrade et al. (2012) em plantas de feijão caupi e Marques et al. (2011) em plantas de *Eugenia uniflora*.

A presença de sais no solo ao serem absorvidos provocam respostas metabólicas nos vegetais, dentre estas, encontram-se as concentrações de pigmentos fotossintéticos, clorofilas e carotenoide. Podendo haver a degradação da clorofila, pela enzima clorofilase (JAMIL, 2007). Sendo os carotenoides pigmentos que atuam na fotoproteção das clorofilas, sua produção pode ser intensificada inicialmente na aplicação do estresse, no entanto, esta produção poderá não ser suficiente na proteção, provocando reduções destes.

4.1.2.4 Determinação de solutos orgânicos

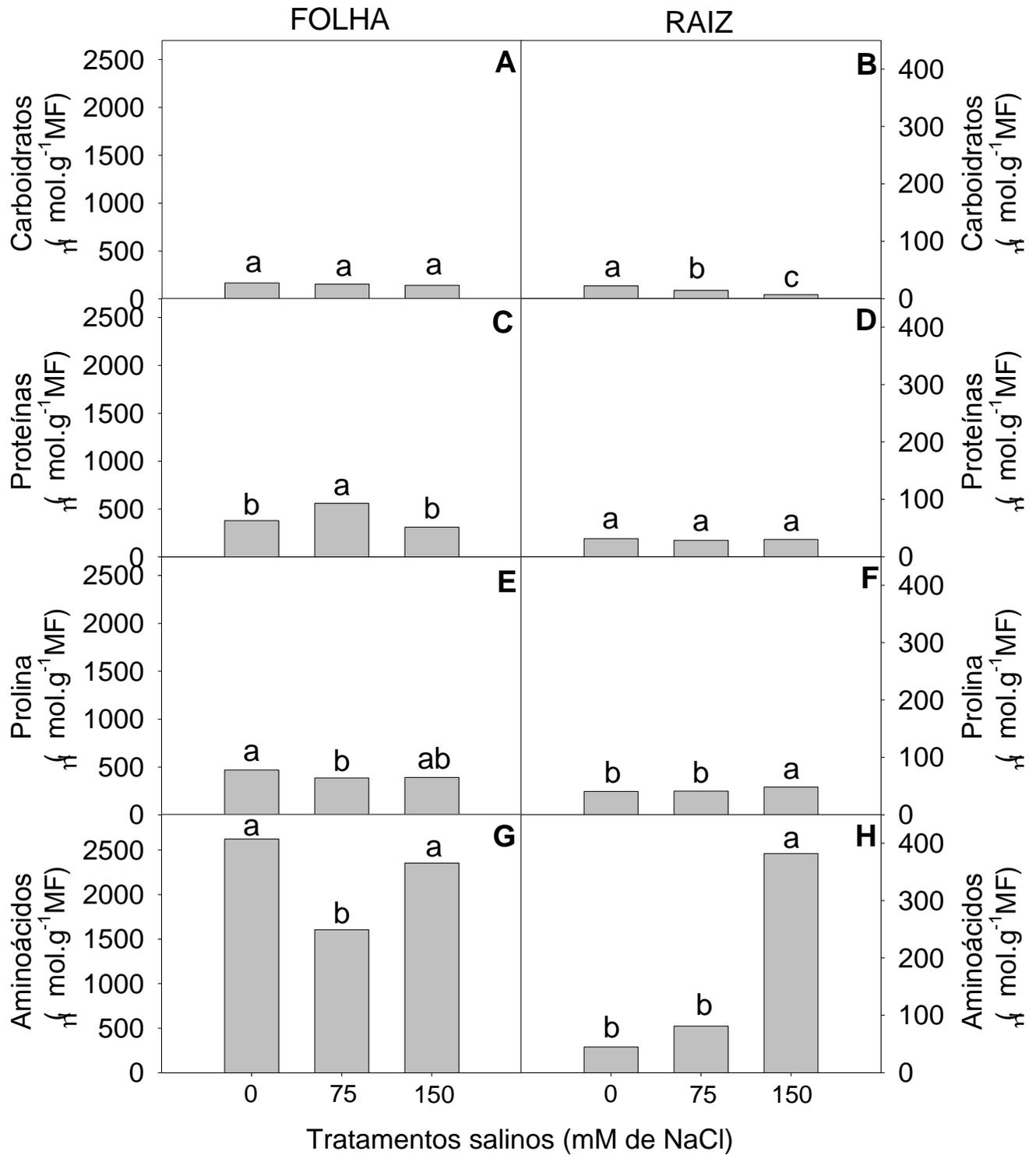
O estresse salino não promoveu alteração nos teores de carboidrato nas folhas. Em que todos os tratamentos foram semelhantes estatisticamente entre si (Figura 38-A). Já para os teores de carboidrato nas raízes, observa-se que o estresse salino promoveu a redução, onde as plantas do tratamento C, EM e ES apresentam, respectivamente, valores de 22,25; 14,25 e 6,86 mmol.g-1MF, correspondendo a uma redução de 35,95% (EM) e 69,18% (ES), em relação ao controle (Figura 38-B).

As plantas do tratamento EM apresentaram um aumento significativo de 47,79%, em relação ao controle, na concentração de proteína em suas folhas (Figura 38-C). Não diferindo entre os tratamentos para a concentração deste soluto nas raízes (Figura 38-D).

Em relação aos teores de prolina livre nas folhas foi encontrada uma redução para as plantas submetidas ao EM de 17,72%, em relação ao controle (Figura 38-E). Porém nas raízes, observou-se um incremento de 18,64%, para as plantas do tratamento ES em relação ao controle (Figura 38-F).

Observaram-se também reduções significativas de 38,78% para as plantas do tratamento EM, em relação à concentração de aminoácidos livres totais nas folhas, onde estas plantas apresentaram um valor médio de 1605,49 mmol.g-1MF, enquanto as plantas do tratamento C apresentaram 2622,6 mmol.g-1MF (Figura 38-G). Já para as raízes, as plantas submetidas ao ES apresentaram grandes concentrações destes solutos, em média 382,06 mmol.g-1MF, enquanto as plantas C (44,93 mmol.g-1MF) e das plantas do EM (81,27 mmol.g-1MF) (Figura 38-H).

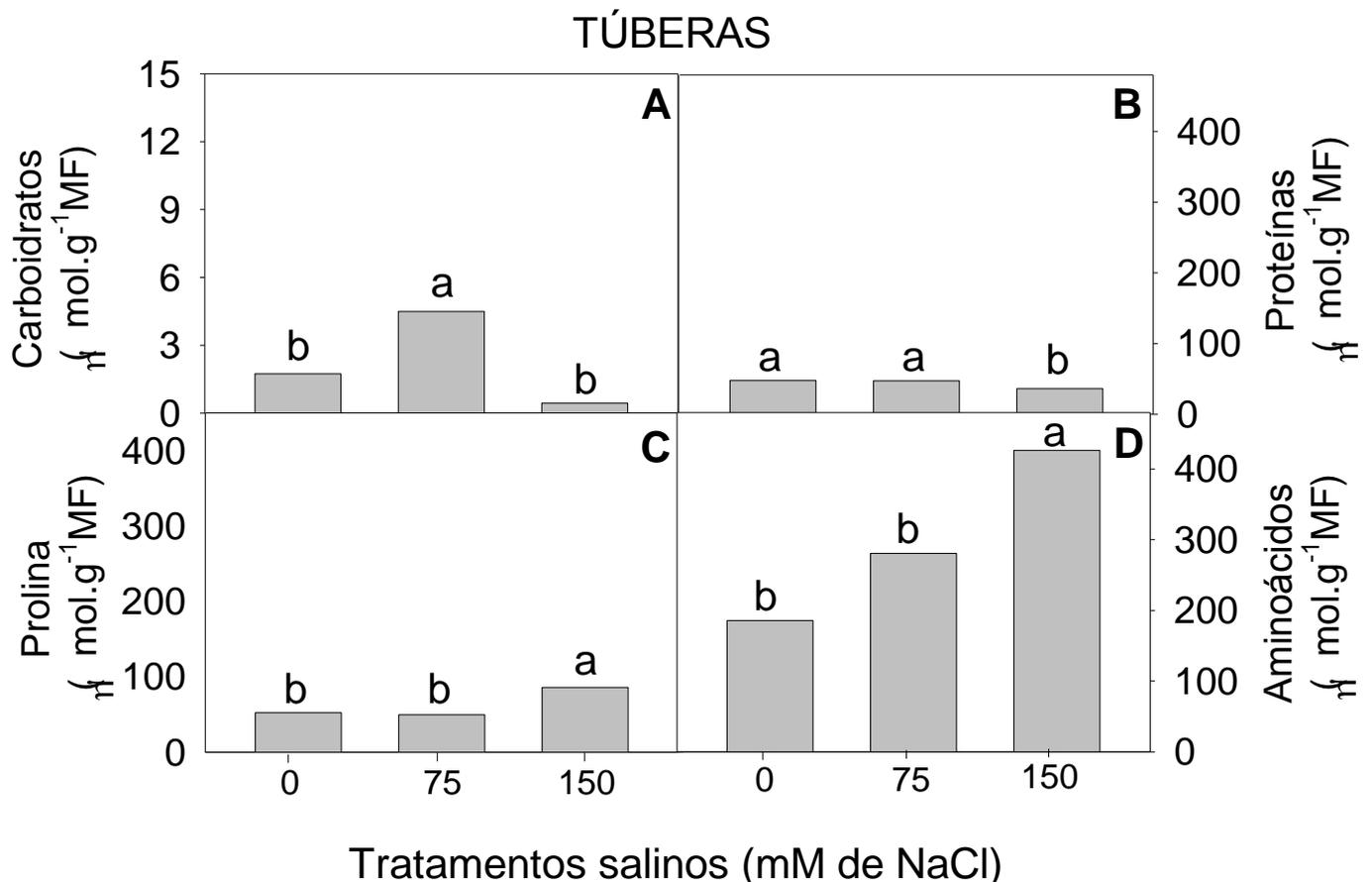
Figura 38 - Concentração de solutos orgânicos: carboidrato livres totais (A-B), proteínas (C-D), prolina livre (E-F), aminoácido (G-H) em folhas e raízes de mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Em relação às concentrações dos solutos orgânicos quantificados nas túberas, observa-se que a concentração de carboidrato e proteínas foram maiores para as plantas submetidas ao EM (Figura 39-A e 39-B), enquanto as plantas submetidas ao tratamento do ES apresentaram maiores valores para os teores de prolina e aminoácidos (Figura 39- C e 39-D).

Figura 39 - Concentração de solutos orgânicos: carboidratos livres totais (**A**); proteínas (**B**); prolina livre (**C**); aminoácido (**D**) em túberas em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Apesar dos açúcares atuarem na osmoproteção (ESTEVES; SUZUKI, 2008), suas concentrações tendem a reduzir, quando o vegetal encontra-se sob condições de estresse salino (KEREPESI; GALIBA, 2000). A concentração dos solutos pode variar de acordo com o órgão onde este se encontra. O teor de carboidrato não

diferiu entre os tratamentos para as folhas, mas foi reduzido nas raízes. Diferentemente de Oliveira (2012) que ao avaliar a influência da salinidade em mudas de faveleira, observou um aumento no conteúdo de carboidrato de folhas e raízes.

Corroborando com os resultados da presente pesquisa, Brilhante et al. (2007) ao estudar a influência do estresse salino em mudas de cajueiro anão também observou um aumento significativo nos teores de proteínas solúveis presentes nas folhas desta espécie.

A síntese de proteínas acompanhadas com redução de aminoácidos sob condições de salinidade, vem sendo amplamente estudada por diversos autores (BRILHANTE; SILVEIRA, 2002; LIN et al., 2002). Ao ser submetida ao estresse moderado (75 mM de NaCl) a espécie em estudo apresentou um mecanismo de síntese de proteínas como tentativa a manter seu metabolismo, reduzindo a concentração de aminoácidos nas folhas.

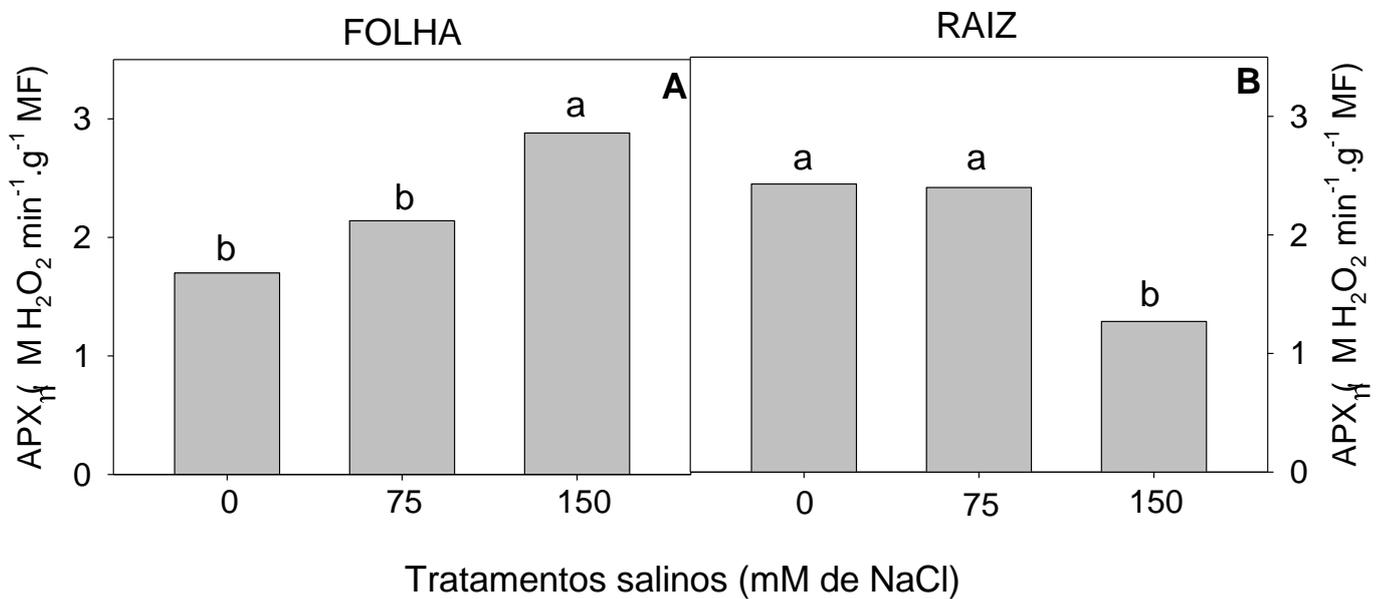
Resultados diferentes foram observados por Praxedes et al. (2012) ao estudar mudas de feijão caupi observou uma redução na concentração de prolina nas raízes e um incremento nas folhas. Assim como Martins et al. 2012, ao estudar mudas de *Clitoria ternatea* e Rocha (2003) em mudas de cajueiro submetida ao estresse salino, encontraram tais reduções. Já Abreu et al. (2008), ao avaliar a influência da salinidade na concentração de carboidratos em folhas e raízes de cajueiro, não verificaram diferenças tanto nas folhas quanto para as raízes, corroborando com a presente pesquisa.

As plantas submetidas ao tratamento estresse severo (ES) apresentaram a maior concentração de prolina nas raízes e túberas. De acordo com Blanco et al. (2008) a prolina é um aminoácido que pode ser encontrada em maior concentração em plantas sob situação de estresse, uma vez que sua principal função é a de proteção das macromoléculas além de atuar na manutenção do gradiente osmótico celular, permitindo a absorção de água do solo. Existem controvérsias sobre a produção de prolina, uma vez que seu acúmulo parece ser uma resposta à salinidade (PARIDAS; DAS, 2005). Este resultado pode ser atribuído ao ajustamento osmótico, para as plantas submetidas ao ES, uma vez que, o potencial hídrico destas plantas foi reduzido, possivelmente devido ao acúmulo de solutos de baixo peso molecular, como aminoácidos e prolina.

4.1.2.5 Determinação da atividade enzimática

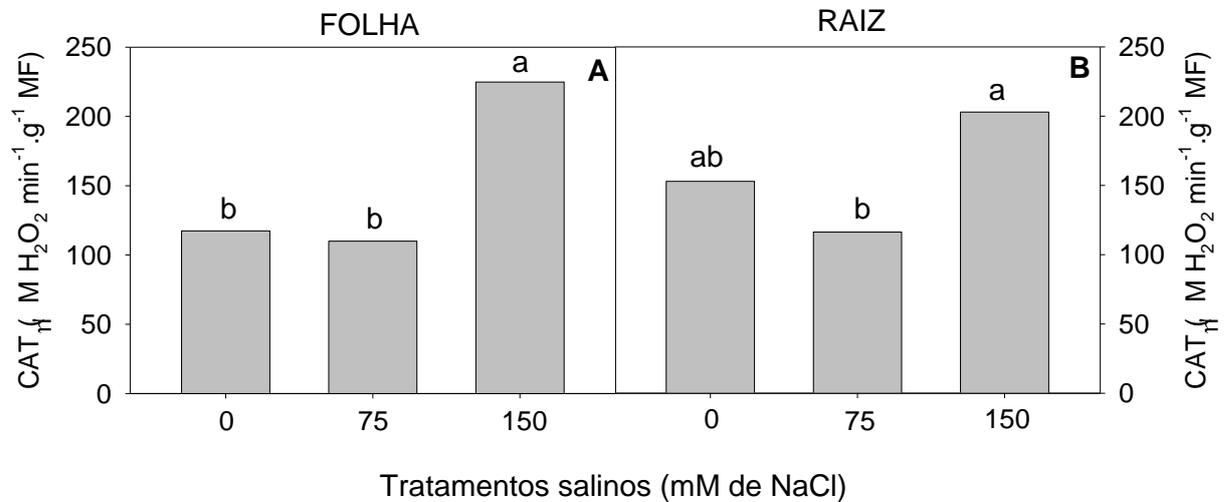
Foi observado comportamento semelhante para a atividade das enzimas avaliadas, onde as plantas submetidas ao ES (75mM de NaCl) apresentaram uma maior atividade foliar, em torno de 25,88% (APX) (Figura 40-A) e 91,47% (CAT) (Figura 41-A). Já nas raízes, o ES gerou um decréscimo para a atividade da APX em torno de 47,74% (Figura 40-B), enquanto para a CAT, o estresse salino não provocou diferenças significativas em relação ao controle (Figura 41-B).

Figura 40 - Determinação da atividade da APX em folhas (**A**) e raízes (**B**) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

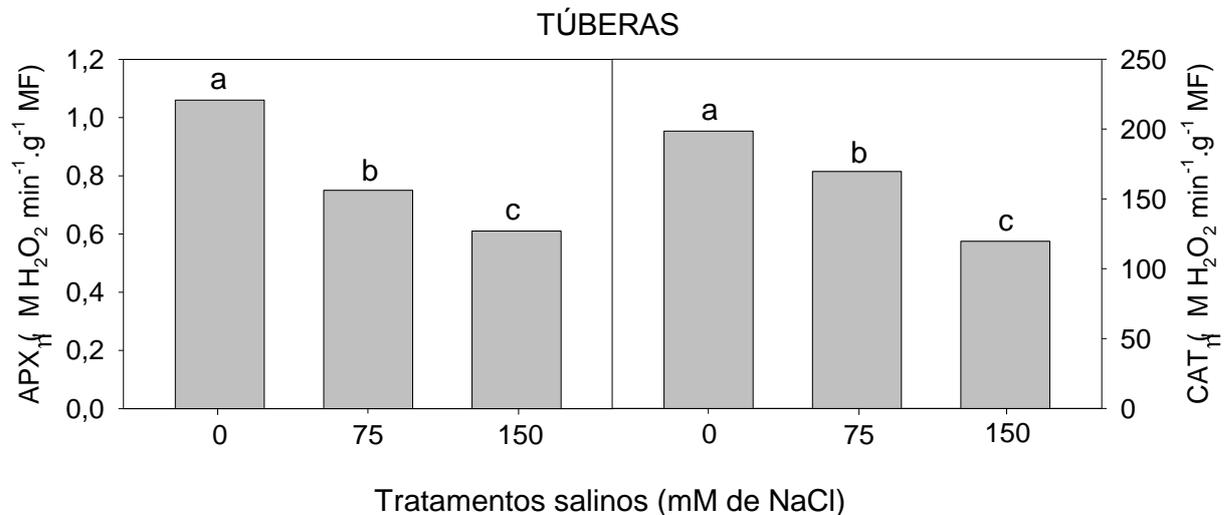
Figura 41 - Determinação da atividade da CAT em folhas (**A**) e raízes (**B**) em mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Em relação às túberas, o estresse salino promoveu o decréscimo das atividades das enzimas avaliadas, onde as plantas submetidas ao EM apresentaram uma redução de 29,24% e 14,55%, para APX e CAT respectivamente, em relação ao controle. Sendo esta redução acentuada para as plantas do ES, representando uma redução de 42,45% (APX) e de 39,74% (CAT), em relação ao controle (Figura 42- A;B).

Figura 42 - Determinação da atividade da APX (A) e CAT (B) em túberas de mudas de *Moringa oleifera* Lam. sob diferentes níveis de salinidade (0, 75 e 150 mM de NaCl). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Fonte: SILVA, E. C. A. (2012)

Conforme o esperado, o estresse salino ativou a defesa antioxidante das mudas de moringa, uma vez que observa-se um aumento na atividade enzimática. Em situações normais, geralmente as plantas encontram-se bem adaptadas em minimizar os danos provocados pelas espécies reativas de oxigênio (FOYER et al., 1994; SOARES; MACHADO, 2007). No entanto o estresse favorece a formação destas espécies e mesmo com uma alta atividade enzimática, os danos podem não ser reparados resultando na morte do vegetal. O que foi observado nas plantas submetidas ao tratamento de 150 mM de NaCl (ES), que mesmo com alta atividade da CAT e APX nas folhas, estas plantas apresentaram prejuízos em seus processos metabólicos.

Conforme o observado, as plantas submetidas ao EM, manteve a atividade enzimática foliar semelhante ao controle, uma possível explicação tal fato, pode ser devido a uma aclimação destas plantas a esta concentração salina não sendo indicativo de estresse. No entanto sabe-se que o funcionamento do sistema antioxidativo em resposta ao stress salino depende tanto da severidade quanto da intensidade que o mesmo é aplicado (MITTLER; ZILINSKAS, 1994; SMIRNOFF, 1993), sendo necessários mais estudos que visem avaliar a defesa antioxidante das

mudas de moringa submetidas a diferentes condições salinas e períodos de avaliação.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De maneira geral, o estresse hídrico provocou alterações em todas as variáveis avaliadas. No entanto, ao ser reirrigada, a moringa apresentou uma alta plasticidade, com a recuperação das variáveis afetadas em apenas 24 horas de reirrigação. A indisponibilidade hídrica no solo promoveu a redução do potencial hídrico da moringa devido ao acúmulo de solutos nas raízes e tubérculos. E para minimizar a perda de água para a atmosfera, houve o fechamento estomático, refletindo na baixa absorção de CO₂ e conseqüentemente, prejuízos na fotossíntese.

Contudo, o estresse hídrico não afetou os teores de clorofilas nem a eficiência quântica do PS II, o que permitiu o reestabelecimento da maioria das variáveis avaliadas, com apenas 24 horas de reirrigação.

Estas respostas da moringa ao déficit hídrico justifica o fato da mesma encontrar-se distribuída em ambientes de clima semiárido, onde as espécie vegetais apresentam capacidade de sobreviverem em ambiente com deficiência hídrica. E após ser irrigada, esta utiliza a água eficientemente, o que permite que a espécie reestabeleça seu metabolismo e desenvolvimento.

Em relação ao estresse salino, de acordo com os resultados obtidos, as mudas submetidas ao EM (75 mM de NaCl) apresentaram-se semelhante ao controle para a maioria das variáveis avaliadas. A manutenção do status hídricos destas plantas ocorreu por meio da regulação estomática e acúmulo de solutos orgânicos nas raízes e túberas, em especial, prolina e aminoácidos. No entanto quando submetida ao ES (150 mM de NaCl) todas as variáveis foram afetadas desde a primeira avaliação sendo intensificadas com o prolongamento do estresse.

As plantas de moringa alteram seu metabolismo na tentativa de sobreviver em ambientes salinos, contudo ao intensificar e prolongar a concentração dos sais no substrato, os danos podem se tornar irreparáveis. Uma justificativa ao desempenho das mudas de moringa submetidas à concentração d 75 mM de NaCl, pode ser devido à resposta enzimática, uma vez que estas plantas manteve a atividade das enzimas avaliadas semelhante às plantas controle.

As respostas das plantas ao déficit hídrico ou em condições salinas dependem do estágio de desenvolvimento da espécie, intensidade e duração do estresse. Devido à escassez de estudos sobre a espécie, é necessário que novas

pesquisas que visem elucidar as repostas sejam realizadas para um maior esclarecimento dos mecanismos de resposta da moringa, quando esta se encontra em condições adversas, uma vez que a moringa mostrar-se como uma espécie de alto potencial para semiárido, o que servirá como subsídios para o incentivo da cultura na região do semiárido brasileiro.

5.1. QUADRO ESQUEMÁTICO DAS RESPOSTAS DE MUDAS DE *Moringa oleifera* LAM. SUBMETIDAS A CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO:

VARIÁVEL	5d SR		10d SR			RI		
	F	R	F	R	T	F	R	T
Potencial hídrico foliar (Ψ_w)								
Teor relativo de água (TRA)								
Fotossíntese (A)								
Transpiração (E)								
Condutância estomática (gs)								
Eficiência do Uso da água (EUA)								
Eficiência quântica do PS II								
Índice de clorofila								
Clorofila <i>a</i>								
Clorofila <i>b</i>								
Clorofila total								
Carotenoide								
	F	R	F	R	T	F	R	T
Carboidrato			-	+				
Proteína			-	+				
Prolina			-	+	+			
Aminoácido			-	+	+	-		+
Atividade da Ascorbato peroxidase (APX)			+	-		+	-	
Atividade da Catalase (CAT)		+		+			+	

LEGENDA (resultados em relação às plantas do tratamento controle)

F	Folha		Não afetado	5d SR	5 dias sem rega	+	Aumento
R	Raiz		Pouco afetado	10d SR	10 dias sem rega	-	Redução
T	Túberas		Drasticamente afetado	RI	Reirrigado		

5.2. QUADRO ESQUEMÁTICO DAS RESPOSTAS DE MUDAS DE *Moringa oleifera* LAM. SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO:

VARIÁVEL	EM			ES		
Potencial hídrico foliar (Ψ_w)						
Teor relativo de água (TRA)						
Fotossíntese (A)						
Transpiração (E)						
Condutância estomática (gs)						
Eficiência do Uso da água (EUA)						
Clorofila <i>a</i>						
Clorofila <i>b</i>						
Clorofila total						
Carotenoide						
	F	R	T	F	R	T
Carboidrato		-	+		-	
Proteína	+					-
Prolina	-				-	+
Aminoácido	-				-	+
Atividade da Ascorbato peroxidase (APX)			-	+		-
Atividade da Catalase (CAT)			-	+	-	-

LEGENDA (resultados em relação às plantas do tratamento controle)

F	Folha		Não afetado	EM	Estresse moderado (75 mM de NaCl)	+	Aumento
R	Raiz		Pouco afetado	ES	Estresse severo (150 mM de NaCl)	-	Redução
T	Túberas		Drasticamente afetado				

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados da presente pesquisa, o desenvolvimento de mudas de *Moringa oleifera* sob condições de déficit hídrico pelo período (10 dias de supressão hídrica) não promoveu danos ao vegetal, mesmo este tendo atingido valores próximos à zero para a fotossíntese, o que possibilitou sua recuperação em apenas 24 horas de reidratação. Com relação ao estresse salino, concluiu-se que o nível de 75 mM de NaCl não foi prejudicial às mudas de moringa, pelo período de tempo avaliado, no entanto ao elevar a concentração salina para 150 mM de NaCl, apresentaram prejuízos metabólicos, que se intensificam com o prolongamento do estresse.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C. E. B. et al. Physiological and biochemical changes occurring in dwarf-cashew seedlings subjected to salt stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 20, n.2, p.105-118. 2008.
- ALBUQUERQUE, M. B. **Efeito do estresse hídrico e salino na germinação, crescimento inicial e relações hídricas da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2003. 78f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- ALMEIDA, V. M. et al. Composição Química - Bromatológica da Moringa (*Moringa oleifera*) no semi-árido paraibano. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 26, 1999, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande.
- AMARANTE C. V. T. et al. Quantificação não destrutiva de clorofilas em folhas através de método colorimétrico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 471-475, 2008.
- AMÉGLIO, T. et al. Significance and limits in the use of predawn leaf water potential for treeirrigation. **Plant and Soil**, n. 207, p. 155-167, 1999.
- AMORIM, J. R. A. et al. Efeito da salinidade e modo de aplicação da água de irrigação no crescimento e produção de alho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 2, p.167-176, 2002
- AMORIM, A. V. et al. Produção e fisiologia de plantas de cajueiro anão precoce sob condições de sequeiro e irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.15, n.10, p. 1014-1020, 2011.
- ANDRADE, M. J. B. Clima e solo. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: UFV, p. 83-97, 1998.
- ANDRADE J. R. et al. Teores de pigmentos fotossintetizantes em caupi inoculados com rizóbio e em condições salinas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 7, n. 3, p. 10-13, 2012.
- ARAÚJO, R. A. et al. Características Biométricas, índice SPAD-502 e emissão da fluorescência em porta-enxertos de citros. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 51, n. 294, p.189-199, 2004.
- ARAUJO, S. A. C. et al. Características fotossintéticas de genótipos de capim elefante anão em estresse hídrico. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 1-7, 2010.
- ARCOVERDE, G. B. et al. Water relations and some aspects of leaf metabolism of *Jatropha curcas* young plants under two water deficit levels and recovery. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 123-130, 2011.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p. 206-216, 2007.

ASSADA K. The water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 601-639, 1999.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. Campina Grande. UFPB. 1991. 218p. Estudos FAO: Irrigação e Drenagem, 29. revisado.

BAPTISTA, A. T. A. et al. Avaliação físico-química e sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com folha de *Moringa oleifera*. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba, v. 30, n. 1, p. 65-74, 2012.

BATES, L. S; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant Soil**, v. 39, p.205-207, 1973.

BEERS JUNIOR, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxidase by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 2, p. 133-140, 1952.

BEGG, J. E.; TURNER, N. C. Crop water deficits. **Advances in Agronomy**, v.28, p.161-207, 1976.

BEZERRA, A. M. E.; MOMENTÉ, V. G.; MEDEIROS FILHO, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 295-299, 2004.

BLANCO, F. F.; FOLEGATTI, M. V.; HENRIQUES NETO, D. Doses de N e K no tomateiro sob estresse salino: I. Concentração de nutrientes no solo e na planta. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.12, n.1, p. 26-33, 2008.

BOHNERT, H. J.; NELSON, D. E.; JENSEN, R. G. Adaptations to environmental stresses. **Plant Cell**, v . 7, p.1099-1111, 1995.

BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves od sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, v.164, p. 77-84, 2003.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254. 1976.

BRASIL. Ministério da Integração Nacional. **Nova delimitação do Semi-árido brasileiro**. Brasília, DF, 2005, p.32.

BRILHANTE, J. C. A. et al. Influência do tempo de aclimação na resposta do cajueiro à salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 11, n. 2, p.173-179, 2007.

BRUNINI, O.; CARDOSO, M. Efeito do déficit hídrico do solo sobre o comportamento estomático e potencial da água em mudas de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n. 7, p.1053-1060, 1998.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. P. V. Fotossíntese, condutância estomática, transpiração e ajustamento osmótico de plantas de buriti submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.9, n. 2, p.117-123, 1997.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. P. V. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira Botânica**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 225-230, 2000.

CASCARDO, J. C. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; ALVES, J. D. Açúcares e compostos nitrogenados orgânicos na seringueira cultivada em solo com diferentes doses de gesso agrícola sob dois regimes hídricos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 5, n. 1, p. 35-40, 1990.

CASTRO, D. S. et al. Concentrações de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas teca (*Tectona grandis* L.) submetida ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 921-923, 2007.

CASTRO, G. L. S. et al. Peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes em folíolos de andirobeira submetidos ao déficit hídrico in vivo e in vitro. In: 9º Seminário Anual de Iniciação Científica, 2011, Bélem. **Anais...** 19 a 21 de outubro de 2011.

CORREIA, K. G. et al. Relações hídricas e produção em plantas de amendoim irrigadas com águas salinas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.9, (suplemento), p. 86-89, 2005.

COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Revista Acta Amazonica**, Manaus, v. 37, n. 2, p. 229-234. 2007.

CUNHA, P. C. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos de *Jatropha curcas* L. cultivada sob estresse salino**. 2009. 60f. Dissertação (Mestrado em Botânica)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

CYSNE, J. R. B. **Propagação In vitro de *Moringa oleifera* L.** 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

DAKER, A. **Irrigação e drenagem; a água na agricultura**. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, v. 3, ed.6, 1984, 543p..

DANTAS, J. P. et al. Avaliação de genótipos de caupi sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 6, n. 3, p. 425- 430. 2002.

DELAUNEY, A.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, v.4, n. 2. p. 215-223, 1993.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: Gheyi, R. H.; Dias, N. S.; Lacerda, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCT Sal, p. 472, 2010.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356, 1956.

DUTRA, A.F. et al. Atividade de enzimas antioxidantes em plântulas de algodoeiro herbáceo irrigadas com água salina. In: 8º Congresso Brasileiro de Algodão & I Cotton Expo 2011, São Paulo, **Anais...** p.484 – 490, 2011.

EL-SHARKAWY M. A. Physiological characteristics of cassava tolerance to prolonged drought in the tropics: implications for breeding cultivars adapted to seasonally dry and semiarid environments. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 19, n. 19, p. 257-286, 2007.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila 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**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

EPSTEIN, E. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. São Paulo, EDUSP, 1975. 341p.

ESTEVES, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, n.4. p. 662- 997. 2008

FARIAS, S. G. G. **Estresse Osmótico na Germinação, Crescimento e Nutrição Mineral da Gliricídia (*Gliricidia sepium* Jacq. Walp)**. 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos.

FOYER, C. H, LELANDAIS, M, KUNERT, K. J. Photooxidative stress in plants. **Physiologia Plantarum**. v.92, p.696-717, 1994.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.119, n. 3, p.355-364, 2003.

FRIGHETTO, R. T. S. et al. O potencial da espécie *Moringa oleifera* (Moringaceae). I. A planta como fonte de coagulante natural no saneamento de águas e como suplemento alimentar. **Revista Fitos**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 78-88, 2007.

FRIES, D. D. et al. Capacidade antioxidante em plantas de cafeeiro submetidas a diferentes regimes hídricos. In: 5º Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2007, Águas de Lindóia, **Anais...**, 2007. CD-ROM.

GHEYI, H. R. Problema de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T. S.; ASSIS, R. N.; ROMERO, R. E.; SILVA, J. R. C. (eds). **Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido**. Fortaleza: DCS/UFC, p.329-346, 2000.

GOMES, M. M. A.; BURITY, H.A.; MARTÍNEZ, C.R.; CHANWAY, C.P. Interactions between leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid content of orange trees submitted to drought stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 16, n. 3, p. 155-161, 2004.

GONÇALVES, J. F.; SILVA, C. E. M.; GUIMARÃES, D. G. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 1, p. 8-14, 2009.

GONÇALVES, K. G., PASA, M. C. Abordagem etnobotânica da *Moringa oleifera*: do cultivo ao uso da espécie em Rondonópolis, Mato Grosso. In: Encontro Nacional da Moringa. 2009. **Anais...** Aracaju, 2009.

GONDIM, T. M. S.; CAVALCANTE, L. F.; BELTRAO, N. E. M. Aquecimento global: salinidade e consequências no comportamento vegetal. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 14, n. 1, p. 37-54, 2010.

HARE, P. D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, v.21, p. 79-102. 1997.

HOLANDA, S. J. R. **Efeito da salinidade induzida no desenvolvimento e crescimento inicial de Carnaúba (*Copernicia prunifera* (Miller) H.E.Moore): suporte a estratégias de restauração em áreas salinizadas**. 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

JADOSKI, S. O.; KLAR, A. E.; SALVADOR, E. D. Relações hídricas e fisiológicas em plantas de pimentão ao longo de um dia. **Revista Ambiência**, Guarapuava, v. 1, n. 1, p. 11-19. 2005.

JALEEL, C. A. P. et al. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 11, n. 1, p. 100–105, 2009.

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

JEBARA, S. et al. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodules under salt stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.162, n.8, p.929-936, 2005.

JESUS, S. V.; MARENCO, R. A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, n. 4, p. 815-818, 2008.

JONES, H. G. **Plants and microclimate**. 2. ed. New York: Cambridge University, 1992. 428 p.

KARADI, R. V. et al. Effect of *Moringa oleifera* Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 306-311, 2006.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004. 452p.

KEREPESI, I.; GALIBA, G. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. **Crop Science**, v. 40, n. 2, p. 482-487, 2000.

KIILL, L. H. P.; MARTINS, C. T. V. D.; LIMA, P. C. F. ***Moringa oleifera*: Registro dos Visitantes Florais e Potencial Apícola para a Região de Petrolina, PE**. Petrolina: EMBRAPA - Semiárido 2012. 19 p. (Embrapa Semiárido. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 101).

LACERDA, C. F. **Interação salinidade x nutrição mineral**. In: NOGUEIRA, R.M.C.; ARAÚJO, E.L.; WALLADINO, L.G.; CAVALCANTE, U.M.T. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa universitária, p. 127-137, 2005.

LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCT Sal, 2010. 472p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa, 2001. 531p.

LEPRINCE, O.; HENDRY, G. A. F.; MCKERSIE, B. D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, v.3, p. 231-246, 1993.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, F4.3.1-F4.3.8, 2001.

LIMA, M. G. S. et al. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, Campinas, v.63, n. 3, p. 335-340, 2004.

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

LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 79-85, 2008.

- MADRONA, G. S. et al. Study of the effect of saline solution on the extraction of the *Moringa oleifera* seed's active component for water treatment. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 211, p. 409–415. 2010.
- MAIA, P. S. P. et al. Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n.2, p.918-920, 2007.
- MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.157, n.2, p.183-193, 2000.
- MANSUR, R. J. C. N.; BARBOSA D. C. A.. Comportamento fisiológico em plantas jovens de quatro espécies lenhosas da Caatinga submetidas a dois ciclos de estresse hídrico. **Phyton**, Vicente López, v. 68, p. 97-106, 2000.
- MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**, Editora UFV. Viçosa, MG. 2005. 451p.
- MARINHO, F. J. L.; GHEY I, H. R; FERNANDES, P. D. Germinação e formação de mudas de coqueiro irrigadas com águas salinas . **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.9, n.3, p. 334-340, 2005.
- MARQUES, R.P. et al. Relações Hídricas e Produção de Pigmentos Fotossintéticos em Mudas de *Eugenia uniflora* L. Sob Condições de Salinidade. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 4, n. 3, p. 497-509, 2011.
- MARTINS, M. O. **Aspectos fisiológicos do nim indiano sob déficit hídrico em condições de casa de vegetação**. 2008. 84 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- MCCONHACHWE, G.L. et al. Field trials of appropriate hydraulic flocculation processes. **Water Research**, v. 33, n. 6, p. 1425-1434, 1999.
- MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237. 1999.
- MELO FILHO J. F. DE ; SOUZA A. L. V. O manejo e a conservação do solo no Semi-árido baiano: desafios para a sustentabilidade. **Bahia Agrícola**, Salvador, v.7, n.3, p.50-60, 2006.
- MENDES. F.S. et al. Níveis de Prolina e Carboidratos Solúveis Totais em Folhas de Mogno (*Swietenia macrophylla* King R.A) Induzidas ao Estresse Hídrico e a Reidratação. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 939-941. 2007.
- MENDONÇA, A. M. C. et al. Respostas de curto prazo à seca na fase inicial do desenvolvimento da moringa. In: III Encontro Nacional da Moringa, 2011, Aracajú. **Anais...** Aracajú. 2011.

MONTEIRO, J. M. A. **Plantio de oleaginosas por agricultores familiares do semi-árido nordestino para produção de biodiesel como uma estratégia de mitigação e adaptação às mudanças climáticas**. 2007. 302 f. Tese (Doutorado em planejamento energético) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MOURA, A. S. et al. Caracterização Físico-química da folha, flor e vagem da Moringa (*Moringa oleifera* Lamarck). In: I Encontro Nacional de Moringa, Aracajú. 2009. **Anais...** Aracajú. 2009.

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

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, v. 167, n. 3, p. 645-663, 2005.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplast. **Plant Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NASCIMENTO, L. R. M. et. al. Teores de clorofilas a e b em folhas de mudas de andiroba (*Carapa guianensis* aubl.) submetidas à restrição hídrica. In: 62ª Reunião Anual da SBPC, 2010, Natal. **Anais...** Natal. 2010.

NEPOMUCENO, A. L. et al. Tolerância à seca em plantas: Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Revista Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, n. 23, p.12-18, 2001.

NETO, A. C. A. et al. Atividade larvicida de extrato salino de sementes de *Moringa oleifera* sobre *Aedes aegypti*. In: II Encontro nacional de moringa., 2010, Aracajú. **Anais eletrônicos...** Aracajú. 2010.

NEVES, A. L. R. et al. Trocas gasosas e teores de minerais no feijão-de-corda irrigado com água salina em diferentes estádios. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, (Suplemento), p.873–881, 2009.

NKURUNZIZA, T. et al. The effect of turbidity levels and *Moringa oleifera* concentration on the effectiveness of coagulation in water treatment. **Water Science and Technology**, v. 59, p. 1551–1558, 2009.

NISH, L. et al. Coagulação/Floculação com Sementes de *Moringa oleifera* Lam para Remoção de Cistos de *Giardia* spp. e Oocistos de *Cryptosporidium* spp. da água. In: Cleaner production initiatives and Challenges for a sustainable world. 3º, São Paulo. **Workshop international**. 2011.

NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.13, n.1, p.75-87, 2001.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA, E. C. **Aspectos ecofisiológicos de tolerância à seca em plantas da caatinga**. In: NOGUEIRA, R.

J. M. C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária. p-22-31, 2005.

OLIVEIRA, M. A. J. et al. Fotossíntese, condutância estomática e transpiração em pupunheira sob deficiência hídrica. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.59, p.59-63, 2002.

OLIVEIRA, E. R. N. **Respostas ao déficit hídrico de quatro leguminosas arbóreas, com uso potencial em sistema de corte e trituração**. 2005. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.

OLIVEIRA, I. C. et al. Avaliação centesimal da semente de moringa oleifera Lam. In: **II Seminário Iniciação Científica** – IFTM, Campus Uberaba, MG. 20 de outubro de 2009.

OLIVEIRA, A. B; GOMES-FILHO, E.; ENÉAS-FILHO, J. O problema da salinidade na agricultura e as adaptações das plantas. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.6, n.11, p.16. 2010.

OLIVEIRA, M. D. M. **Indicadores de estresse salino em faveleira [Cnidoscolus phyllacanthus (M. Arg.) Pax et k. hoffm], espécie promissora para produção de biodiesel**. 2012. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, p. 324-349, 2005.

PELLEGRINO, G. Q; ASSAD, E. D; MARIN F. R; Mudanças climáticas globais e a agricultura no Brasil. **Revista Multiciência**, Campinas, n. 8, p.139–162. 2007.

PEREIRA. et al., Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciências Agrônômica**, Fortaleza. v. 43, n. 4, p. 766-773, 2012.

PEREZ, S. C. J. G. A.; MORAES, J. A. P. V. Determinações de potencial hídrico, condutância estomática e potencial osmótico em espécies dos estratos arbóreo, arbustivo e herbáceo de um cerradão. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.3, n.1, p.27-37. 1991.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: Edur, 2004. 191p.

PIZARRO, J. C. A. **Caracteres fisiológicos e bioquímicos da tolerância à salinidade em clones de cajueiro anão-precoce**. 2006. 137f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

PORTES, M. T.; ALVES, T. H.; SOUZA, G. M. Water deficit affects photosynthetic induction in *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae) and *Esenbeckia leiocarpa* Engl.

(Rutaceae) growing in understory and gap conditions. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 4, p. 491-512, 2006.

QUEIROZ, C. G. S.; GARCIA, Q. S.; LEMOS FILHO, J. P. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroeira-do-Sertão sob estresse hídrico e após reidratação. **Brazil Journal of Plant Physiology**, v.14, n.1, p.59-63, 2002.

QUEIROZ, R. J. B. et al. Biochemical and physiological responses of sugarcane cultivars to soil water deficiencies. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.68, p.469-476, 2011.

RAMOS, L. M.; COSTA, R. S. MORO, F. V. SILVA, R. C. Morfologia de frutos e sementes e morfofunção de plântulas de Moringa (*Moringa oleifera* Lam.). **Comunicata Scientiae**, v.1, n. 2, p.156-160, 2010.

RHOADES, J. D.; KANDIAH, A.; MASHALI, A. M. **The use of saline waters for crop production**. Rome: FAO, 133 p. 1992.

RIVAS, R.; OLIVEIRA, M. T.; SANTOS, M. G. Three cycles of water deficit from seed to Young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 63, p. 200-208, 2013.

ROCHA, A. M. S.; MORAES, J. A. P. V. Influência do estresse hídrico sobre as trocas gasosas em plantas jovens envasadas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.9, n.1, p.43-48, 1997.

ROCHA, I. M. A. **Regulação metabólica da acumulação de prolina em folhas de cajueiro expostas ao estresse salino**. Fortaleza: UFC, 2003.104p. Tese Doutorado

ROLOFF, A. et al. *Moringa oleifera* Lam, 1785. **Enzyklopädie der Holzgewächse Handbuch und Atlas der Dendrologie**, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 2009.

ROSA, K. R. D. *Moringa oleifera*: a perfect tree for home gardens. Hawaii: NFTA, **Agroforestry Species Highlights**. c.1. 2p. 1993.

SANT'ANNA, H. L. S. **Aspectos fisiológicos de variedades de citros submetidas à deficiência hídrica progressiva**. 2009. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo Baiano, Cruz das Almas.

SANTANA, C. R. et al. Caracterização Físico-Química da Moringa (*Moringa oleifera* Lam), **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.12, n.1, p.55-60, 2010.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Enrolamento e expansão das folhas de milho submetidas a déficit hídrico em diferentes solos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 3, n. 1, p. 1-6, 1999.

SANTOS, A. R. F. **Desenvolvimento inicial de *Moringa oleifera* Lam. sob condições de estresse**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistema) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão.

SAUSEN, T. L. **Respostas fisiológicas de *Ricinus communis* à redução na disponibilidade de água no solo**. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v.101, p. 7-12. 1993.

SCHOLANDER, P. F., HAMMEL, H. T., HEMMINGSEN, E. A., BRADESTREET, E. D. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of National Academy Science**, v. 51, p.119-125. 1964.

SCHONFELD, M. A. et al. Water relations in winter wheat as drought resistance indicator. **Crop Science**, v. 28, p. 526-531, 1988.

SILVA, M. T., AMARAL, J. A. B. Zoneamento risco climático para a cultura do amendoim no estado do Rio Grande do Norte. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 7, p.93- 99, 2007.

SILVA, E. C. et al. Physiological responses to salt stress in young umbu plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 63, p.147–157. 2008.

SILVA, M. A. V. et al. Resposta estomática e produção de matéria seca em plantas jovens de aroeira submetidas a diferentes regimes hídricos. **Revista Árvore**, v. 32, n.2, p. 335-344, 2008.

SILVA, E. N. Salt stress induced damages on the Photosynthesis of physic nut young plants. **Scientia agricola**, Piracicaba, v. 68, n.1, p. 62-68. 2011.

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.

SOARES, A. M. S. MACHADO, O. T. L. Defesa de planta: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropical**, v.1 n.1, p. 9–20, 2007

SOUZA, C. C. et al. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338-342. 2000.

SOUSA, A. E. C. et al. Teores de nutrientes foliares e respostas fisiológicas em pinhão manso submetido a estresse salino e adubação fosfatada. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 144-152, 2012.

SUDHAKAR, C.; LAKSHMI. A.; GIRIDARA KUMAR, S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science**, v.161, p. 613-619, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TÁVORA, F. J. A. F.; FERREIRA, R. G.; HERNANDEZ, F. F. F. Relações hídricas em plantas de goiabeira submetidas a estresse salino com NaCl. **Revista Brasileira de fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 2, p. 441-446, 2001.

TONELLO, K. C.; TEIXEIRA FILHO, J. Ecofisiologia de três espécies arbóreas nativas da mata atlântica do Brasil em diferentes regimes de água. **Irriga**, Botucatu, v. 17, n. 1, p. 85-101, 2012.

TORRES NETO, A. et al. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticultura**, v. 104, p. 199-209, 2005.

TRENBERTH, K. E. et al. **Observations: surface and atmospheric climate change**. IN: SOLOMON, S., QIN, D., MANNING, M., CHEN, Z., MARQUIS, M., AVERYT, K.B., TIGNOR, M. AND MILLER, H.L. (eds.) Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge. p. 237-336. 2007.

TURAN, M. A.; ELKARIM, A. H. A.; TABAN, N. T. S. Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. **African Journal of Agricultural Research**, v.4, p.893-897, 2009.

VIANELLO, R. L.; ALVES, A. R. **Meteorologia Básica e Aplicações**. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 1991. 433p

WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, v. 218, p. 1-14, 2003.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant. I- The field measurements of water deficits in leaves. **New Phytologist**, v.49, p.81-97. 1950.

WILLADINO L. G., CAMARA T. R. **Aspectos fisiológicos do estresse salino em plantas**. In.: NOGUEIRA, et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. 500p.

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