

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PABLO RUGERO MAGALHÃES DOURADO

**MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL OSMÓTICO E
ASPECTOS FISIOLÓGICOS EM FEIJÃO-CAUPI E SORGO
IRRIGADOS COM ÁGUA SALINA**

Recife

2017

Pablo Rugero Magalhães Dourado
Engenheiro Agrônomo

**Métodos para determinação do potencial osmótico e aspectos fisiológicos em
feijão-caupi e sorgo irrigados com água salina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Ciências do Solo

Orientador: Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

**Recife
2017**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

D739m Dourado, Pablo Rugero Magalhães.
Métodos para determinação do potencial osmótico e aspectos fisiológicos em feijão-caupi e sorgo irrigados com água salina / Pablo Rugero Magalhães Dourado. – 2017.
91 f. : il.

Orientador: Edivan Rodrigues de Souza.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo, Recife, BR-PE, 2017.

Inclui apêndice(s) e referências.

1. Salinidade 2. Fotossíntese 3. Relações hídricas
4. Curvas pressão-volume I. Souza, Edivan Rodrigues de,
orient. II. Título

CDD 631.4

PABLO RUGERO MAGALHÃES DOURADO

Métodos para determinação do potencial osmótico e aspectos fisiológicos em feijão-caupi e sorgo irrigados com água salina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Ciências do Solo.

Aprovado em 08 de Março de 2017

Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza
Orientador
Universidade Federal Rural de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Hugo Rafael Bentzen Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva
Universidade Federal Rural de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Naqueles momentos em que nossos objetivos parecem mais inalcançáveis que o Castelo de Kafka algumas pessoas – umas do outro lado do atlântico, outras bem ao seu lado – nos dão coragem para abrir caminho e dar o próximo passo, é um prazer reconhecer a inestimável ajuda que tive:

Agradeço ao meu pai, por ter me ensinado que é preciso lutar para se conseguir o que quer. A minha mãe por ter me ensinado que querer as coisas certas nos possibilita o prazer na luta. A minha irmã pelo incentivo e torcida. A Clarissa, por tornar tudo possível.

Agradeço aos meus caros amigos de equipe, Hidelblandi, Cintia, Danilo, Hugo e Aglair que estiveram presentes em cada etapa desse projeto, que suaram comigo e tornaram toda a jornada mais divertida e prazerosa.

Ao pessoal da iniciação científica, Martha, Mirela, Lucas, Amaro e Francisco, pelo apoio e presteza. Aos nossos colegas de laboratório ,pelo bom convívio e respeito.

Ao meu orientador, Professor Edivan Rodrigues, pelos ensinamentos, por está sempre presente, pela compreensão, por tudo!

Sem vocês esse trabalho não seria possível.

“Contudo os homens chegaram a tal ponto que amiúde morrem de fome, não por falta do necessário, mas por falta do supérfluo”

Henry D. Thoreau, A vida nos bosques

Métodos para determinação do potencial osmótico e aspectos fisiológicos em feijão-caupi e sorgo irrigados com água salina

RESUMO GERAL

Sorgo e Caupi são plantas moderadamente tolerantes à salinidade que apresentam mecanismos fisiológicos e morfológicos que possibilitam seu cultivo em solos afetados por sais. Estudos sobre tais mecanismos de tolerância permitem a melhor compreensão sobre respostas adaptativas das plantas e, portanto, fornecem informações que podem ser úteis no desenvolvimento de respostas tecnológicas ao problema da salinidade, sejam elas genéticas ou de manejo. No presente estudo foram dados dois enfoques na avaliação das plantas: fotossíntese e relações hídricas, ambos se basearam em um delineamento experimental de blocos ao acaso constituído de 7 tratamentos (concentrações de 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl na água de irrigação diária) e cinco repetições, sendo esses enfoques apresentados em dois capítulos. Para tanto foi realizado o semeio do caupi e do sorgo em baldes de 10L preenchidos por Neossolo Fúlvico. Após 15 dias do semeio iniciou-se o tratamento de aumento da concentração de NaCl na água de irrigação, o experimento durou 55 dias para as plantas de sorgo e 48 dias para as plantas de caupi. O solo durante todo o período de avaliação foi mantido a 65 % da capacidade de pote. No primeiro capítulo desse trabalho, com o objetivo de avaliar as relações hídricas das espécies e verificar comparar métodos para a determinação do potencial osmótico, foram coletados dados utilizando a câmara de Scholander (potencial hídrico e osmótico via curva de pressão volume); e utilizando o osmômetro, (leitura da concentração da seiva). As informações obtidas a partir dos dados ratificaram a condição de mais estresse nas plantas irrigadas com maiores concentrações de NaCl e mostrou variação na sensibilidade dos diferentes métodos para estimar o potencial osmótico. No segundo capítulo, objetivou-se avaliar o efeito da salinidade sobre as trocas gasosas e sobre a capacidade de captação da energia luminosa. Os dados sobre trocas gasosas foram coletados entre as 8 e 12h utilizando-se o equipamento IRGA (IRGA Licor- 6400) em dois momentos do experimento, antes do início do tratamento salino, aos 15 dias em ambas as culturas, e após o tratamento salino, aos 40 dias no sorgo e aos 48 dias no caupi. Notou-se redução da fotossíntese líquida (A), da condutância estomática (gs) e da transpiração (E) em ambas as culturas, apontando que a redução de gs resultou em uma menor perda de água por E, mas isso teve um custo na redução de A. Os dados sobre o comportamento fisiológico das espécies no que diz respeito a capacidade de captação da energia luminosa foram estudados com base em avaliações das concentrações de pigmentos fotossintetizantes (clorofila *a* e *b*) e medições da fluorescência da clorofila *a* utilizando o equipamento FluorPen. Os resultados demonstraram que aos 40 dias houve redução nos teores dos pigmentos, mas a eficiência do fotossistema II foi pouco afetada no sorgo. Em caupi aos 48 dias notou-se redução nos teores dos pigmentos e redução da eficiência do fotossistema II.

Palavras-chave: Salinidade. Fotossíntese. Relações hídricas.

Determination of osmotic potential methods and physiological responses in cowpea and sorghum irrigated with saline water

ABSTRACT GERAL

Sorghum and Caupi are plants moderately tolerant to salinity with physiological and morphological mechanisms that enable their cultivation in soils affected by salt. Studies on such tolerance mechanisms allow a better understanding of adaptive responses of plants and therefore provide information that may be useful in the development of technological responses to the problem of salinity, whether these responses are genetic or in farm management. In the present study, two approaches were taken in the evaluation of plants: photosynthesis and water relations, both of which were based on a randomized block design consisting of 7 treatments (concentrations of 0, 10, 20, 40, 60, 80 and 100 mmol L⁻¹ of NaCl in daily irrigation water) and five replications, these approaches have been presented in two chapters. Therefore, sowing of cowpea and sorghum was carried out in buckets of 10L filled with Fulvisol. After 15 days of sowing the treatment of increasing NaCl concentration in the irrigation water began, the experiment lasted 55 days for sorghum plants and days for cowpea plants. Soil throughout the evaluation period was maintained at 65% of field capacity in pot. In the first chapter of this work, with the objective of evaluating the water relations of the species and comparing methods for the determination of the osmotic potential, data were collected using the Scholander chamber (water potential and osmotic by pressure-volume curve); And using the osmometer, (reading of the concentration of the sap). The information obtained from the data confirmed the condition of more stress in the irrigated plants with higher concentrations of NaCl and showed variation in the sensitivity of the different methods to estimate the osmotic potential. In the second chapter, the aim of this study was to evaluate the effect of salinity on foliar gas exchange and on the A.M. using IRGA equipment (IRGA Licor-6400) at two moments of the experiment, before the start of saline treatment, 15 days of sowing in both cultures, and after saline treatment, 40 days of sowing in sorghum and 48 days of sowing in cowpea. There was a reduction of the liquid photosynthesis (A), stomatal conductance (gs) and transpiration (E) in both cultures, indicating that the reduction of gs resulted in a lower water loss per E, but this had a cost in Reduction of A. The data on the physiological behavior of the species on capacity of capture light energy were studied based on assessments of the concentrations of photosynthetic pigments (chlorophyll a and b) and measurements of chlorophyll fluorescence using FluorPen equipment. The results showed that at 40 days there was a decrease in the pigment contents, but the efficiency of photosystem II was little affected in the sorghum. In cowpea at 48 days, reduction in pigment contents and reduction of the efficiency of photosystem II were observed.

Keywords: Salinity. Photosynthesis. Water relations.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	17
1.1 Hipóteses	18
1.2 Objetivo geral	18
1.3 Objetivos específicos	19
2 COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DOS POTENCIAIS OSMÓTICO E DE PRESSÃO EM FEIJÃO-CAUPI E SORGO IRRIGADOS COM ÁGUA SALINA	21
Resumo	21
Abstract	22
2.1 Introdução	23
2.2 Material e Métodos.....	30
2.2.1 Localização, caracterização da área experimental e montagem do experimento	30
2.2.2 Cultivar e semeio.....	31
2.2.3 Confecção das águas e manejo hídrico	31
2.2.4 Amostragem de folhas para determinação das relações hídricas	32
2.2.5 Potencial hídrico (Ψ_w)	32
2.2.6 Potencial osmótico (Ψ_o).....	33
2.2.7 Potencial de turgor(Ψ_t)	33
2.2.8 Teor relativo de água.....	33
2.2.9 Confecção da curva pressão-volume	34
2.2.10 Potencial osmótico em máxima turgidez (curva pv)	35
2.2.11 Potencial osmótico em máxima turgidez (convencional)	36
2.2.12 Extração da água apoplástica pela centrifugação branda	36
2.2.12.1 Potencial osmótico em máxima turgidez (centrifugado)	36
2.2.12.2 Infiltração da água na folha	36
2.2.12.3 Recuperação da água apoplástica	37
2.2.13 Potencial osmótico da fração de apoplástica em máxima turgidez (ψ_o^{faa}).....	38
2.2.14 Fração apoplástica em máximo turgor	38
2.2.15 Comparação do potencial osmótico em máximo turgor entre os métodos (corrigido pela curva (p-v) x convencional x corrigido por centrifugação)	38
2.2.16 Ajustamento osmótico total	39

2.2.17 Delineamento experimental e tratamentos	39
2.3. Resultados e Discussão	40
2.3.1 Teor relativo de água.....	40
2.3.2 Potencial hídrico foliar (ψ_w).....	41
2.3.3 Potencial osmótico foliar (ψ_o).....	43
2.3.4 Potencial de pressão foliar (ψ_p)	44
2.3.5 Fração apoplástica (faa) do tra e potencial osmótico da faa (ψ_o^{faa}).....	45
2.3.6 Potencial osmótico em máxima turgidez	48
2.3.7 Ajustamento osmótico total ($a_{o_{tot}}$)	51
2.4 Conclusões.....	53
Referências	53
3 TROCAS GASOSAS, FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM FEIJÃO-CAUPI E SORGO IRRIGADOS COM ÁGUA SALINA	59
Resumo	59
Abstract	60
3.1 Introdução	61
3.2. Material E Métodos	63
3.2.1 Localização, caracterização da área experimental e montagem do experimento	63
3.2.2. Cultivar e semeio.....	65
3.2.3 Confeção das águas e manejo hídrico	65
3.2.4 Cinética da fluorescência da clorofila a	65
3.2.5 Teores das clorofilas a e b	66
3.2.6 Trocas gasosas	67
3.2.7. Delineamento experimental e tratamentos	67
3.3. Resultados e Discussão	67
3.3.1 Conteúdo de pigmentos fotossintetizantes.....	67
3.3.2 Cinética da fluorescência do fotossistema ii (psii) em caupi.....	71
3.3.2 Cinética da fluorescência do fotossistema ii (psii) em sorgo	72
3.3.3 Dinâmica das trocas gasosas.....	75
3.3.3.1 Trocas gasosas do caupi.....	75
3.3.3.2 Trocas gasosas do sorgo	77
3.3.3 correlação entre a, gs e e e efeitos na eficiência do uso da água eua	80

3.3.4 Caracterização da solução do solo ao fim do experimento	82
3.4 Conclusões.....	83
Referências	84
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
APÊNDICE A – Curvas de pressão-volume (plotadas com o inverso do potencial hídrico multiplicado por menos 1(- ψ_w) no eixo y e o déficit hídrico(1-TRA) no eixo x) encontradas para diferentes níveis de nacl na solução de irrigação e utilizadas na correção do dos dados convencionais de potencial osmótico em máximo turgor do feijão-caupi.....	89
APÊNDICE B – Curvas de pressão-volume (plotadas com o inverso do potencial hídrico multiplicado por menos 1(- ψ_w) no eixo y e o déficit hídrico(1-TRA) no eixo x) encontradas para diferentes níveis de nacl na solução de irrigação e utilizadas na correção do dos dados convencionais de potencial osmótico em máximo turgor do sorgo.	91

1 INTRODUÇÃO GERAL

Entender como as plantas respondem ao estresse salino é uma etapa importante no processo de desenvolvimento de técnicas e tecnologias para superar o problema da salinidade tanto do ponto de vista do melhoramento genético de plantas, como no desenvolvimento eventual de práticas culturais que possam levar a produções mais aceitáveis em contextos de solos afetados por sais.

Mensurar indicadores de fotossíntese tais como trocas gasosas, teores de pigmentos fotossintetizantes, e observar a cinética da fluorescência, bem como estudar as relações hídricas como o potencial hídrico, sua componente osmótica e o potencial de turgor são alguns dos parâmetros para avaliar as condições fisiológicas das plantas e realizar o monitoramento de culturas desenvolvidas sob condições de estresse salino e hídrico.

Dentre as técnicas usadas para determinar a componente osmótica do potencial hídrico das plantas a leitura da osmolalidade da seiva em osmômetro é uma técnica bastante difundida.

Porém, os processos de obtenção da seiva envolvem a destruição do tecido vegetal (por maceração ou pressurização) de modo que os conteúdos de água simplástica e apoplástica não são quantificados de forma separada, por essa razão o processo de obtenção da seiva para análise pode resultar em diluição da solução simplástica pela água apoplástica o que acarreta erros de subestimação do potencial osmótico obtidos por esta técnica.

Nesse sentido é de grande importância que sejam realizados trabalhos que estimem o real impacto da água apoplástica na diluição da seiva e a amplitude desses erros em atributos obtidos a partir do potencial osmótico das folhas.

Tendo em vista que o conteúdo de água apoplástica varia entre espécies - e dentro de uma mesma espécie, quando submetida a diferentes ambientes edafoclimáticos - é importante que se verifique a adequação do uso do osmômetro para a avaliação do potencial osmótico do maior número de espécies e sob as mais variadas condições ambientais. E que se encontre meios para se corrigir eventuais erros para cada espécie, seja estimando o erro causado pelo conteúdo de água apoplástica, ou pelo uso de técnicas que permitam separar o conteúdo simplástico do apoplástico.

Este trabalho - ao avaliar a consistência dos resultados do potencial osmótico obtidos pelo osmômetro das folhas de feijão caupi e sorgo e ao determinar qual a melhor forma de corrigir a diluição provocada pela água apoplástica, bem como ao mapear as respostas de fotossíntese dessas duas espécies submetidos a diferentes níveis de estresse salino - atende parte importante desta demanda visto que ainda não foi realizado nenhum estudo com este propósito nestas culturas. As espécies de grande impacto na segurança alimentar mundial, e de boa adaptabilidade a ambientes áridos e semiáridos, sujeitos a salinização e ao déficit hídrico.

A dissertação foi dividida em dois capítulos:

CAPÍTULO 1: COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DOS POTENCIAIS OSMÓTICO E DE PRESSÃO EM FEIJÃO-CAUPI E SORGO IRRIGADOS COM ÁGUA SALINA

CAPÍTULO 2: TROCAS GASOSAS, FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM FEIJÃO-CAUPI E SORGO IRRIGADOS COM ÁGUA SALINA

1.1 Hipóteses

Há diferença entre os resultados de potencial osmótico das folhas estimados a partir da osmolalidade da seiva quantificada no osmômetro em relação a obtida por meio da curva pressão-volume.

A subestimação do potencial osmótico obtido pelo osmômetro pode ser evitada pela retirada da água apoplástica por centrifugação antes de se proceder a metodologia de obtenção da seiva por maceração.

O aumento da concentração de sais na água de irrigação deve causar reduções na taxa de fotossíntese perda a qual compensada pela transpiração das plantas resultará em aumento da eficiência do uso da água das espécies estudadas.

1.2 Objetivo geral

Desse modo o objetivo desse estudo foi avaliar em ambiente protegido, comparações de métodos para determinar o potencial osmótico, e aspectos fisiológicos

relacionados ao status hídrico, trocas gasosas, captação da energia luminosa do sorgo e do caupi, em resposta à irrigação com águas salinas.

1.3 Objetivos específicos

- Caracterizar relações hídricas solo-planta em diferentes níveis de salinidade
- Avaliar a consistência dos dados: Osmômetro vs Curva pressão-volume
- Comparar teores de água apoplástica de cada cultura e seus respectivos erros provocado por teores nas leituras do osmômetro
- Verificar teores de água apoplástica em níveis diferentes de estresse salino
- Monitorar trocas gasosas na planta e no solo
- Verificar o impacto do erro no ajustamento osmótico
- Monitorar a fotossíntese e as trocas gasosas em diferentes estágios fenológicos das plantas sob condições crescentes de estresse salino.

2 COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DOS POTENCIAIS OSMÓTICO E DE PRESSÃO EM FEIJÃO-CAUPI E SORGO IRRIGADOS COM ÁGUA SALINA

RESUMO

O conhecimento dos potenciais de água nos vegetais é uma ferramenta de grande utilidade quando se estuda os efeitos da salinidade. Duas principais técnicas podem ser empregadas na determinação do potencial osmótico em plantas: a maceração do tecido foliar para extração da seiva com posterior leitura em osmômetro e as curvas Pressão-Volume (P-V). Entretanto, o método da maceração (convencional) é sujeito a erros provocados pela contribuição da fração de água apoplástica (FAA) dos tecidos vegetais. Já a curva (P-V), apesar de consumir muito tempo em sua execução, é capaz de avaliar o potencial osmótico sem a interferência de diluição provocada pela FAA. Nesse sentido tem sido relatadas técnicas de correção do erro provocado pela FAA na osmometria por meio de dados gerados por curvas (P-V) em um menor número de amostras. Uma técnica utilizada na coleta da FAA para análises é a centrifugação branda, no entanto essa técnica ainda não foi testada na correção de erros na leitura de potencial osmótico. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o erro provocado pela FAA na determinação do potencial osmótico em máximo turgor em *Sorghum bicolor* (sorgo) e *Vigna unguiculata* (caupi), e a viabilidade da técnica da centrifugação branda para a correção desse erro. Para tanto comparou-se os dados de potencial osmótico em máximo turgor obtidos pelo método convencional aos corrigidos por curva (P-V); e aos corrigidos por centrifugação branda. O estudo foi conduzido em ambiente protegido localizado no Departamento de Agronomia (DEPA) da sede da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso, considerando sete tratamentos como concentrações de NaCl (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹) e cinco repetições. Foram utilizados vasos de 10L para ambas as culturas e o experimento durou 48 dias nas plantas de caupi e 55 dias nas plantas de sorgo. Observou-se diferenças entre os dados de potencial osmótico em máximo turgor entre os valores obtidos pelo método convencional e os valores corrigidos pela curva (P-V). Os dados de potencial osmótico em máximo turgor corrigidos por centrifugação branda diferiram do método convencional em caupi, mas não em sorgo. Em nenhuma das espécies os dados corrigidos por centrifugação se igualaram aos dados corrigidos pela curva (P-V), a centrifugação branda não é capaz de substituir a curva (P-V) na correção dos erros provocados pela FAA.

Palavras-chave: Salinidade. Ajustamento osmótico. Curva pressão-volume.

COMPARISON OF METHODS FOR THE DETERMINATION OF OSMOTIC AND PRESSURE POTENTIAL IN CAUPI BEANS AND SORGHUM IRRIGATED WITH SALINE WATER

ABSTRACT

Knowledge of water potentials in vegetables is a useful tool when studying the effects of salinity. Two main techniques can be used to determine the osmotic potential in plants: leaf maceration for sap extraction with posterior osmometer reading and pressure-volume curves (P-V). However, the maceration method (conventional) is subject to errors caused by the contribution of the apoplastic water fraction (FAA) of plant tissues. However, the curve (PV), although consuming a lot of time in its execution, is able to evaluate the osmotic potential without the FAA dilution interference. In this sense, techniques for correction of FAA error in osmometry have been reported. Of data generated by curves (PV) in a smaller number of samples. A technique used in the FAA collection for analysis is soft centrifugation, however this technique has not yet been tested in the correction of errors in the reading of osmotic potential. The objective of this work was to evaluate the FAA error in the determination of osmotic potential at maximum turgor in *Sorghum bicolor* (sorghum) and *Vigna unguiculata* (cowpea), and the feasibility of the soft spin technique to correct this error. For that, we compared the osmotic potential at maximum turgor obtained by the conventional method to those corrected by curve (P-V); And those corrected by gentle centrifugation. The study was conducted in a protected environment located in the Department of Agronomy (DEPA) of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). A randomized complete block design was used, considering seven treatments as NaCl concentrations (0, 10, 20, 40, 60, 80 and 100 mmol L⁻¹) and five replicates. Ten L pots were used for both cultures and the experiment lasted 48 days in the cowpea plants and 55 days in the sorghum plants. Differences were observed between the osmotic potential at maximum turgor between the values obtained by the conventional method and the values corrected for the curve (P-V). Osmotic potential at maximum turgor potential corrected for mild centrifugation differed from the conventional method in cowpea but not in sorghum. In none of the species did the centrifugation-corrected data match the data corrected for the curve (P-V), the mild centrifugation is not able to substitute the curve (P-V) for correcting FAA errors.

Keywords: Salinity. Osmotic adjustment. Pressure-volume curve.

2.1 Introdução

As respostas das plantas à salinidade são percebidas como um fenômeno complexo, envolvendo alterações nos processos fisiológicos, bioquímicos e nutricionais, causando mudanças morfológicas e alterando o crescimento das plantas, o que muitas vezes causa impactos negativos na produtividade (VOLKMAR et al., 1998; PARIDA; DAS, 2005; KHODADADI et al., 2014). Plantas submetidas aos estresses salino e hídrico reduzem o potencial osmótico foliar, além disso são afetadas pela toxicidade iônica e desequilíbrio na absorção de nutrientes, o que resulta na redução generalizada em seu crescimento (MUNNS, 2002). A salinidade é um dos principais fatores de restrição da agricultura, afetando cerca de um terço das terras irrigadas (FLOWERS; MUSCOLO, 2015).

Dentre os diversos indicadores fisiológicos para avaliar os efeitos da salinidade, as relações hídricas e os mecanismos de exclusão de íons tóxicos (mais específico para halófitas) tem se destacado na literatura (PATAKAS et al., 2002;TAIZ; ZEIGER, 2004; SALMA et al. 2007).

Mensurar o potencial hídrico, sua componente osmótica e o potencial de turgor são importantes parâmetros para diferenciar plantas tolerantes de plantas sensíveis à salinidade (ASHRAF; HARRIS, 2004). Entender como as plantas respondem às altas concentrações salinas é uma etapa importante no processo de desenvolvimento de técnicas para superar esse problema, tanto do ponto de vista do melhoramento genético de plantas, como no desenvolvimento eventual de práticas culturais que possam levar a redução de perdas em solos afetados por sais (CHEESEMAN, 1988; FLOWERS; YEO, 1995; ASHRAF; HARRIS, 2004)

O potencial osmótico das folhas é um importante componente das relações hídricas das plantas (BABU et al., 1999; CALLISTER et al., 2006; BARTLETT et al., 2012). O ajustamento osmótico realizado por algumas espécies é uma resposta adaptativa, tanto ao estresse hídrico quanto ao salino (KAMELI; LÖSEL, 1995; MARTINEZ-BALLESTA et al., 2004; CHEN et al., 2007). O ajustamento osmótico consiste em uma redução do potencial osmótico da planta pelo acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos em seus tecidos (XIN et al., 2015). Esse processo resulta em redução do potencial hídrico vegetal em comparação a água do solo, o que mantém o gradiente de potencial do sistema favorável ao deslocamento da água para o interior da planta, possibilitando a absorção pelas raízes e seu transporte para a parte

aérea (ALSINA et al., 2007). Esse ajuste permite a manutenção do turgor celular nas folhas mesmo em baixa disponibilidade de água no solo (ALSINA et al., 2007).

Os métodos mais usados para a determinação do potencial osmótico são: 1) Higrometria por congelamento e descongelamento do tecido foliar em discos; 2) Determinação da osmolalidade da seiva obtida por maceração das folhas e posterior conversão para o potencial osmótico; e 3) A curva pressão-volume (CALLISTER et al., 2006; KIRKHAM, 2014).

O método da curva pressão-volume tem a vantagem de possibilitar a medida de outros parâmetros além do potencial osmótico, como o teor relativo de água no ponto de perda de turgor, o módulo de elasticidade, os conteúdos de água apoplástica e simplástica, e o potencial osmótico na condição de máxima turgidez e sem turgidez (BARTLETT et al., 2012; KIRKHAM, 2014). Porém é um método que demanda muito tempo e é bastante trabalhoso, o que inviabiliza seu uso para experimentos que envolvam um grande número de unidades experimentais (CALLISTER et al., 2006; BALL; OOSTERHUIS, 2005). Tais curvas são obtidas utilizando os valores do inverso da pressão aplicada na câmara de Scholander para determinação do potencial hídrico ($1/\Psi_w$) plotados contra os valores do teor relativo de água (TRA) do tecido, ou o volume ou peso acumulados da seiva durante o processo de determinação do potencial hídrico (CALLISTER et al., 2006).

Outro método de avaliação do potencial osmótico de plantas que se destaca é a leitura da osmolalidade da seiva em osmômetro. No entanto, os processos de obtenção da seiva envolvem a destruição do tecido vegetal (por maceração ou pressurização) de modo que os conteúdos de água simplástica e apoplástica não são quantificados de forma separada (CALLISTER et al., 2006; ARNDT et al., 2015)

A água apoplástica dos tecidos é aquela que ocorre no exterior da membrana celular, encontrada principalmente na parede celular e em elementos de xilema (WARDLAW, 2005; MAKSIMOVIC et al., 2014). Por sua vez, a solução simplástica é aquela que se encontra no interior da célula. Quando se refere ao potencial osmótico celular, trata-se do potencial de concentração da solução simplástica (ARNDT et al., 2015).

O conteúdo total de água de um dado tecido vegetal é constituído pelo somatório do conteúdo da solução simplástica e o conteúdo da solução apoplástica, são expressos em massa. Em termos relativos o conteúdo de água de uma planta é representado pelo teor relativo de água (TRA), constituído por uma fração de água

apoplástica (FAA) e uma fração de água simplástica (FAS), expressos em percentual (TURNER, 1981; CREUS et al., 2004).

É um preceito amplamente difundido que o teor de solutos da solução apoplástica é menor que o da solução simplástica (BALL; OOSTERHUIS, 2005; WARDLAW, 2005; CALLISTER et al., 2006; ARNDT et al., 2015). Deste modo, o processo de obtenção da seiva para análise pela maceração pode resultar em diluição da solução simplástica pela solução apoplástica o que acarreta erro de subestimação do potencial osmótico obtido por esta técnica (WENKERT, 1980; WARDLAW, 2005; ARNDT et al., 2015). Nesse sentido, a curva (P-V) é considerado um método que oferece dados mais realistas para a determinação do potencial osmótico, pois nessa metodologia esse dado é acessado não a partir da concentração de solutos na seiva, mas sim a partir da pressão de equilíbrio que a câmara de pressão aplica, a qual é equivalente ao potencial hídrico foliar (SCHOLANDER et al., 1965), deste modo, por não ser acessada a partir da concentração da seiva seus resultados de potencial osmótico não são afetados pela solução apoplástica.

Muitos métodos têm sido usados para determinar a fração de água apoplástica (FAA) em raízes, folhas e outros órgãos de plantas, tais como 1) avaliação direta por microscopia; 2) Medição da capacidade de retenção da água pela parede celular; 3) Observação do padrão de troca de íons e compostos que não penetram a membrana plasmática e por meio de 4) curvas de pressão-volume.

O método mais usual para se estimar a FAA é por meio das curvas pressão-volume, em que se aplica regressão linear aos valores dos pontos que se encontram na seção considerada linear da reta, e por meio da equação gerada, extrapolando-se a reta, o ponto intercepto na abscissa - onde se encontram os dados do conteúdo de água do tecido vegetal(x) - quando o $1/\psi_w(y)$ é igual a zero, indica a FAA (ou seja, FAA equivale ao coeficiente linear dividido pelo coeficiente angular da equação da reta da seção linear da curva(P-V)) (TURNER, 1988). Como a pressão aplicada atua no equilíbrio do potencial hídrico entre a seiva da célula (solução simplástica) e a seiva do xilema (solução apoplástica), assume-se que na pressão de equilíbrio inicial - no momento prévio ao início da aplicação de pressão pela câmara de pressão, quando nenhuma porção da seiva ainda foi exsudada - tanto a FAA como a FAS encontram-se completamente no tecido vegetal (TRYEE; HAMMEL, 1972).

No entanto esse método abre espaço para erros relacionados a diferenças na FAA estimada e a real, pois, apesar de considerar que não há mudança no volume de água da folha antes do início da aplicação da pressão pela câmara, ocorrem perdas contínuas pela desidratação dos tecidos (TURNER, 1988).

Por isso o método mais adequado é comparar o potencial osmótico obtido pela curva pressão-volume com o potencial osmótico obtido pela osmolalidade da seiva advinda da ruptura das membranas celulares na maceração quando fração simplástica e apoplástica são medidas como uma só solução. A diferença dos potenciais obtidos por cada técnica resulta de concentrações diferentes, sabendo-se qual o volume de água é relativo ao potencial osmótico da solução obtida pela maceração dos tecidos vegetais, é possível correlacionar esses dados aos obtidos pela curva (P-V), potencial exclusivo da solução simplástica. A equação seguinte pode ser usada para estimar a FAA do TRA:

$$C_i V_i = C_f V_f$$

Ou seja, um dado volume inicial (V_i) de uma solução em uma dada concentração inicial (C_i), é proporcional a essa mesma solução em uma nova concentração (C_f) em relação a um novo volume (V_f). Tendo em vista que o potencial osmótico (apresentado em unidades de pressão) pode ser avaliado em termos de concentração a partir da equação de Van't Hoff:

$$\Psi_o = -R \times T \times C$$

Assim:

$$C = \frac{\Psi_o}{(-R T)}$$

Onde, R é a constante geral dos gases (0,082 atm mol⁻¹ K⁻¹ L⁻¹), T é a temperatura em K, e, C é a concentração de soluto, expressa em mol L⁻¹, Ψ_o é o potencial osmótico expresso em unidade de pressão. Substituindo os termos de concentração dessa equação na anterior tem-se que:

$$\frac{\Psi_{0_i}}{(-R T)} V_i = \frac{\Psi_{0_f}}{(-R T)} V_f$$

Sendo os termos igualados em:

$$\Psi_{0_i} V_i = \Psi_{0_f} V_f$$

Em que Ψ_{0_i} é o potencial osmótico obtido pela maceração do seu tecido vegetal em um dado volume de água, e Ψ_{0_f} é o potencial osmótico obtido pela curva (P-V). Considerando o V_i o volume da solução cujo potencial está sendo descrito esse volume pode ser considerado idêntico ao Teor Realitivo de água (TRA) do tecido macerado, e portanto é constituído pela fração de água simplástica (FAS) e fração de água apoplástica (FAA) da folha onde:

$$\text{TRA} = (\text{FAA} + \text{FAS})$$

Como o potencial osmótico obtido pela curva pressão volume é livre do efeito de diluição de FAA, e a solução estudada é a mesma (considerando o mesmo tecido), pode-se afirmar que sendo Ψ_{0_f} o potencial osmótico obtido pela curva (P-V), (V_f) é o TRA livre da FAA, sendo portanto equivalente à FAS.

$$\Psi_{0_i} (\text{FAA} + \text{FAS}) = \Psi_{0_f} \text{FAS}$$

Portanto:

$$\text{FAS} = \frac{\Psi_{0_i} (\text{FAA} + \text{FAS})}{\Psi_{0_f}}$$

Onde:

$$\text{FAS} = \text{TRA} - \text{FAA}$$

Assim:

$$(TRA - FAA) = \frac{\Psi_{0i} (FAA + (TRA - FAA))}{\Psi_{0f}}$$

Substituindo os valores tem-se:

$$1 - \frac{FAA}{TRA} = \frac{\Psi_{0i}}{\Psi_{0f}}$$

Que pode ser representado por:

$$FAA = TRA \left(1 - \frac{\Psi_{0i}}{\Psi_{0f}}\right)$$

Desse modo a FAA pode ser estimada com menores margens de erros comparando os resultados de potencial osmótico obtidos pela curva (P-V) com o obtido pelo método convencional.

Assim também é possível corrigir o potencial osmótico obtido pelo método convencional, apontando qual seria o valor apenas da fração de água simplástica (FAS):

$$\Psi_{0f} = \frac{\Psi_{0i} TRA}{FAS}$$

A correção do potencial osmótico por essa técnica é viável de acordo com diversos estudos (WARDLAW, 2005; CALISTER et al., 2006 e ARNDT et al., 2015). Esses autores não notaram diferença entre os dados de potencial osmótico obtidos pela curva (P-V) com os dados de potencial osmótico obtidos pelo método convencional e corrigidos pela curva (P-V). É possível que em medições de potencial osmótico em máximo turgor os dados obtidos após a exclusão da FAA por centrifugação branda também sejam usados na correção dos dados de potencial osmótico obtidos pelo método convencional, substituindo os valores de potencial osmótico obtidos pela curva (P-V) em relação aos valores obtidos após a exclusão da FAA pela centrifugação branda.

A centrifugação branda é uma técnica que tem sido utilizada para a retirada e coleta da água e solutos apoplásticos de tecidos e órgãos vegetais (LOHAUS et al.,

2001). O método consiste em saturar o espaço apoplástico com máxima hidratação, por meio de aplicação de vácuo, e posteriormente a água apoplástica do tecido é coletada por centrifugação, a qual não deve ultrapassar 1000g, pois o uso de centrifugações mais intensas poderia acarretar em lise celular, e conseqüentemente retirada de parte da FAS. Esse método, no entanto, ainda não foi utilizado com a finalidade de retirar a água apoplástica dos tecidos com fins de reduzir possíveis erros na avaliação de potencial osmótico.

Poucos estudos foram publicados para demonstrar se o osmômetro fornece resultados similares na determinação do potencial osmótico de folhas de modo específico para cada espécie (WARDLAW, 2005; KIRKHAM, 2014; ARNDT et al., 2015). Nesse sentido, são necessários trabalhos que estimem o real impacto da água apoplástica na diluição da seiva e a amplitude desses erros em atributos obtidos a partir do potencial osmótico, como a pressão de turgor da folha e o ajustamento osmótico em situações de estresse salino.

Estimativas da água apoplástica em folhas variam amplamente entre espécies. Trabalhos apontam que poáceas C4 como o milho e a cana-de-açúcar apresentam grandes diferenças entre si (WENKERT, 1980; MEINZER; MOORE, 1988; SALIENDRA; MEINZER, 1991). A FAA na folha do milho pode atingir um máximo de 16% (WENKERT, 1980), enquanto valores de 35% foram observados para cana-de-açúcar (MEINZER; MOORE, 1988; SALIENDRA; MEINZER, 1991). Em dicotiledôneas não suculentas como soja e tomate foram observados dados para FAA que variam de 16 a 33% respectivamente (WARDLAW, 2005).

Por se enquadrarem como culturas de grande impacto na segurança alimentar mundial, e de boa adaptabilidade a ambientes semiáridos, sujeitos a salinização e ao déficit hídrico, o *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Sorgo) e *Vigna unguiculata* (Feijão-caupi) são amplamente estudados em pesquisas que visam seu melhor aproveitamento em situações de estresses hídrico e salino.

O sorgo é o quarto cereal mais cultivado no mundo, produzido comumente em regiões de temperatura elevada e pouca precipitação pluviométrica, bem como em solos com problemas de salinidade. É considerado moderadamente tolerante a salinidade (OMARI; NHIRI, 2015). O Feijão Caupi (*Vigna unguiculata*) é a principal leguminosa fonte de proteína em regiões mais pobres, sendo também muito consumida no nordeste brasileiro, ocupando uma área total em torno de 14 milhões de hectares em todo o planeta (CHA-UM, 2013).

Embora hajam várias pesquisas que avaliem a resposta dessas culturas à salinidade, ainda não foi avaliada a adequação do método convencional para obtenção do potencial osmótico às mesmas, persistindo a demanda de se indicar a necessidade ou não de corrigir eventuais erros provocados por seus conteúdos de água apoplástica.

Nesse sentido o objetivo desse trabalho foi observar as respostas das plantas de sorgo e caupi irrigadas por soluções com concentrações crescentes de NaCl quanto ao seu estado hídrico, caracterizando e comparando métodos para a correção dos erros provocados pela FAA no método convencional de determinação de potencial osmótico em máximo turgor.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Localização, caracterização da área experimental e montagem do experimento

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, por um período de 48 dias no feijão-caupi e 55 dias no sorgo.

Para condução do experimento foi coletado na profundidade de 0-30cm uma amostra de Neossolo Flúvico, suficiente para preenchimentos de todos os vasos, no município de Pesqueira – PE. O local está localizado na fazenda Nossa Senhora do Rosário, cujas coordenadas são 8° 34'11" latitude sul e 37°48'54" longitude oeste e situa-se a 630m acima do nível do mar. De acordo com a classificação de Köppen, o clima dessa região é BSh (extremamente quente e semiárido), com uma precipitação média anual total de 730 mm e evapotranspiração média anual de referência de 1.683 milímetros.

Após a coleta o solo foi transportado para a UFRPE onde foi seco ao ar, homogeneizado, destorroado e passado em peneira de 4 mm de abertura de malha para manutenção dos microagregados do solo.

Para a caracterização química (Tabela 1) e física (Tabela 2) do solo foram usadas amostras deformadas, passadas em peneira de malha de 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). Para a determinação da curva de retenção de água do solo (Tabela 2) foi usado o material peneirado a 4mm, já que o preenchimento dos vasos se deu nessa granulometria e buscou-se representar melhor o comportamento hídrico.

Tabela 1- Características químicas do extrato de saturação e do complexo Sortivo do solo utilizado para o cultivo do sorgo e do feijão-caupi sob diferentes níveis de salinidade

Extrato de Saturação*							
pHes	CE ($dS m^{-1}$)	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl^-	RAS
-----mmol L^{-1} -----							
7,3	3,36	13,51	2,13	9,12	8,63	25,47	4,54
Complexo Sortivo**							
pH (1:2,5)	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	H^+	(SB)	PST (%)
-----cmol _c kg^{-1} -----							
6,75	1,65	1,2	4,35	3,14	1,54	10,34	15,96

CE= Condutividade Elétrica; SB= Soma de Bases; PST= Porcentagem de Sódio Trocável; RAS = Relação de adsorção de Sódio*(Richards, 1954; **EMBRAPA, 1997).

Tabela 2- Características físicas solo utilizado para o cultivo do sorgo e do feijão-caupi sob diferentes níveis de salinidade

Areia	Silte	Argila	ADA	Ds	Dp	GF	GD	PT	CC	PMP
-----g kg^{-1} -----		-----g cm^{-3} -----			-----%-----			U (%)		
433,09	466,04	100,87	50,4	1,37	2,63	50	50	48	19,1	8,1

ADA= Argila Dispersa em Água; GF= Grau de Flocculação; GD= Grau de Dispersão; PT= Porosidade Total; CC = Capacidade de campo; PMP = Ponto de murcha permanente; U(%) Umidade gravimétrica (EMBRAPA, 1997).

2.2.2 Cultivar e semente

As cultivares IPA 2502 (sorgo) e cultivar IPA 206 (caupi) foram adotadas para o cultivo, foram semeadas quatro sementes por vaso, sendo posteriormente realizado desbaste, quando foram selecionadas duas plantas por vaso, mantendo os exemplares mais vigorosos e saudáveis.

2.2.3 Confeção das águas e manejo hídrico

O cultivo foi realizado em vasos de 10 quilos. O solo foi mantido a 65% da capacidade de pote, em uma umidade de 19% em base de massa, equivalente ao potencial mátrico de 0,01Mpa (capacidade de campo do solo). A água perdida por evapotranspiração foi medida diariamente por pesagem dos vasos ao fim da tarde, para manutenção da umidade do solo pré-estabelecida essas perdas eram repostas por irrigação (realizadas logo após as pesagens) observando a variação diária da

massa de cada vaso. Para irrigação foram confeccionadas águas com as concentrações de 0 (Testemunha), 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl.

2.2.4 Amostragem de folhas para determinação das relações hídricas

No desmonte de cada cultura (48 dias após o semeio no caupi e 55 dias após o semeio no sorgo) foram coletadas 5 amostras (folíolos de folhas completamente expandidas no caupi (3 folíolos da mesma folha e 2 folíolos de uma segunda folha próxima); e seções de folhas completamente expandidas no sorgo) no terço médio das plantas.

A primeira amostra foi usada para a determinação do potencial hídrico e do potencial osmótico; a segunda para determinar o teor relativo de água; a terceira, para a confecção de curvas pressão-volume; a quarta, foi utilizada para a determinação do potencial osmótico em pleno turgor pelo método convencional (seiva obtida por maceração em nitrogênio líquido e seu potencial osmótico foi calculado a partir da osmolalidade indicada pelo osmômetro); e a quinta, foi utilizada para a determinação do potencial osmótico em pleno turgor após a água apoplástica ter sido removida por centrifugação branda sendo posteriormente também macerada para a obtenção da seiva cuja osmolalidade foi também indicada pelo osmômetro.

A determinação do potencial hídrico foi realizada em câmara de pressão tipo Scholander (modelo 1515D Pressure Chamber Instrument - PMS Instrument Company). O potencial osmótico teve a osmolalidade lida pelo osmômetro no equipamento VAPRO WESCOR Modelo 5600.

2.2.5 Potencial Hídrico (Ψ_w)

O potencial hídrico (Ψ_w) foliar dessas folhas (item 2.4) foi realizado nas primeiras horas da madrugada, entre as 2h e 3h no desmonte de cada cultura (48 dias após o semeio no caupi e 55 dias após o semeio no sorgo). Imediatamente após a coleta procederam-se as determinações utilizando uma câmara de pressão. Depois de posicionado na câmara, a folha foi submetida a incrementos de pressão até visualização da extrusão da seiva. Após esse procedimento as folhas eram envoltas em plástico filme e acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo para evitar a perda de água.

2.2.6 Potencial Osmótico (Ψ_o)

A determinação do potencial osmótico (Ψ_o) das plantas foi realizada a partir da maceração das folhas (as mesmas utilizadas na determinação do potencial hídrico) em nitrogênio líquido e filtradas em tecido de musseline com auxílio de uma seringa. A seiva obtida foi acondicionada em eppendorf e centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a 4°C. Após a centrifugação, a osmolalidade foi medida no sobrenadante com o auxílio do osmômetro (SILVEIRA et al., 2009; SOUZA et al., 2012). A estimativa do Ψ_o foi realizada através da aplicação da Equação de Van't Hoff.

$$\Psi_o = - RTC$$

Onde, R é a constante geral dos gases (0,082 atm mol⁻¹ K⁻¹ L⁻¹), T é a temperatura (K), e, C é a concentração de soluto, expressa em mol L⁻¹ (SILVEIRA et al., 2009).

2.2.7 Potencial de turgor (Ψ_t)

O potencial de turgor (Ψ_t) foi obtido pela diferença entre o potencial hídrico da folha e o potencial osmótico, conforme equação abaixo:

$$\Psi_t = \Psi_w - \Psi_o$$

2.2.8 Teor relativo de água

Foram usados sete discos (por folíolo selecionado em cada planta no caupi, e secção de folha selecionada no sorgo), sendo realizada sua pesagem imediatamente após a coleta para a obtenção do peso fresco (PF). Os discos foram colocados em placas de Petri e imergidos em água destilada por 24 horas, sendo posteriormente secos em papel de filtro para retirar o excesso de água para então realizar nova pesagem determinando o peso túrgido (PT). Após esse procedimento os discos foram levados para secagem a 80°C por 48 horas e nova pesagem foi realizada determinando o peso seco (PS) dos discos. O teor relativo de água foi calculado pela seguinte equação:

$$TRA (\%) = \frac{(PF - PS)}{(PT - PS)} \times 100$$

2.2.9 Confeção da curva pressão-volume

No momento da coleta das folhas para determinação do potencial hídrico, coletou-se também folhas próximas para a confecção das curvas de pressão-volume (P-V). Foram realizados cortes precisos nos pecíolos a fim de evitar danos aos vasos condutores. Para evitar embolia o material vegetal foi submerso em água e imediatamente colocado em proveta contendo água destilada para o transporte ao laboratório com o ramo completamente submerso para evitar perda de água por transpiração e possível interferência no potencial hídrico.

O passo seguinte foi a realização do sinfonamento da água excedente, deixando submerso apenas o pecíolo. A proveta foi então fechada com filme de PVC e mantida em sala climatizada à 25°C até o material alcançar a saturação ou turgescência máximo. O tempo de imersão do material vegetal foi em torno de 24 horas. O peso túrgido foi obtido após esse procedimento

Decorrido o tempo de saturação as folhas foram novamente cortadas cerca de 1 cm acima do corte inicial a fim de manter o equilíbrio hídrico das folhas e cuidadosamente colocadas na câmara de pressão. A pressão da câmara foi aumentada gradualmente até que se observou a exsudação da seiva na superfície cortada do pecíolo. A velocidade do fluxo foi mantida a 1,88 KPa s⁻¹.

A seiva exsudada foi coletada com papel filtro com massa conhecida e logo que o papel filtro era saturado com a seiva sua massa era novamente medida e pela diferença das massas (antes e após a coleta) foi determinada a massa equivalente do volume de seiva exsudado. No exato momento da exsudação era registrada a pressão aplicada, ou seja, o potencial hídrico daquele momento. Esse procedimento foi repetido até a curva apresentar a estabilidade linear (os gráficos dos dados eram instantaneamente observados no computador). Quando tal ponto era atingido se entendia que os valores de equilíbrio da curva foram alcançados e então a folha era coletada da câmara e colocada em estufa a 80°C por 48 horas e determinado o peso seco (PS). Com os valores de peso túrgido e peso seco da folha, foi possível calcular os teores relativo de água equivalentes para todas as pressões aplicadas.

As curvas foram construídas a partir da plotagem do inverso do potencial hídrico ($1/\psi_w$) contra o déficit hídrico ($1-TRA$) de cada momento que ocorreu a exsudação. A rotina de ajuste dessas curvas seguiu o modelo desenvolvido por SCHULTE e HINCKLEY (1985).

2.2.10 Potencial osmótico em máxima turgidez (Curva PV)

A determinação do potencial osmótico em máximo turgor pela curva (P-V) foi realizada de acordo com o sugerido por (SCHULTE; HINCKLEY,1985) a partir da equação da reta gerada para os três últimos pontos da curva (P-V). Com base nessa equação gerou-se um y estimado, obtido a partir da substituição da variável x da equação pelo valor correspondente de x , referente a seiva exsudada, esse valor de y estimado pela equação era comparado com o valor real de y (pressão aplicada para liberação do volume x de seiva), enquanto o y real se encaixava nos pontos do y estimado (aceitando um desvio máximo igual ao seu erro padrão) admitia-se que o ponto era parte da reta, quando o ponto do y real se encontrava acima do erro padrão admitia-se que esse ponto não era mais parte da região linear da curva e então era gerada uma nova equação da reta desde o último ponto da curva até o primeiro ponto anterior ao ponto discrepante. A partir da nova equação gerada a determinação do potencial osmótico em máximo turgor era estimada a partir da extrapolação da reta gerada pela segunda equação para o eixo das ordenadas, indicando y quando o valor de x da equação igualava-se a zero. Considerou-se esse ponto o potencial osmótico como na máxima turgidez obtido pela curva (P-V) (Ψ^{CV}_{o100}). Na Figura 1 observa-se uma curva (P-V) e o parâmetro de $1/\Psi^{CV}_{o100}$. As curvas utilizadas podem ser consultadas nos Apêndices A e B.

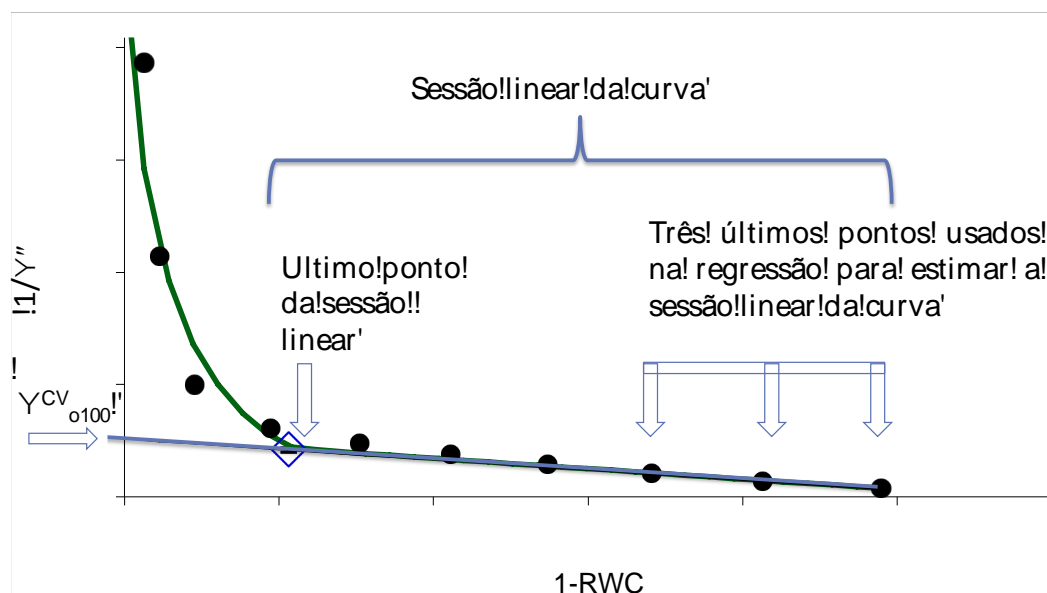


Figura 1– Modelo hipotético de uma curva (P-V)

2.2.11 Potencial osmótico em máxima turgidez (Convencional)

No momento da coleta das amostras (item 2.4) para determinação do potencial hídrico, coletou-se também amostras para a determinação do potencial osmótico em máximo turgor pelo método convencional. As folhas coletadas foram acondicionadas em isopor e transportadas para o laboratório, onde foram postas para saturar em sacos ziplocks preenchidos de água por 24h à 4°C no escuro. Após esse procedimento foi realizada a determinação do potencial osmótico da seiva das folhas, para obtenção da seiva foi realizada a maceração das folhas em nitrogênio líquido, seguida de filtragem em tecido de musseline com auxílio de uma seringa. A seiva obtida foi acondicionada em eppendorf e centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a 4°C. Após a centrifugação, a osmolalidade foi medida no sobrenadante pelo osmômetro (SILVEIRA et al., 2009; SOUZA et al., 2012). A estimativa do Ψ_o foi realizada através da aplicação da Equação de Van't Hoff, conforme detalhada anteriormente.

Como a folha encontrava-se completamente túrgida após a saturação, considerou-se esse potencial osmótico como na máxima turgidez obtido pelo método convencional (Ψ_{o100}).

2.2.12 Extração da água apoplástica pela centrifugação branda

2.2.12.1 Potencial osmótico em máxima turgidez (centrifugado)

No momento da coleta das amostras (item 2.4) para determinação do potencial hídrico, coletou-se também amostras para a determinação do potencial osmótico em máximo turgor após a realização de centrifugação branda. As folhas coletadas foram acondicionadas em isopor e transportadas para o laboratório, onde foram postas para saturar em sacos ziplocks preenchidos de água por 24h à 4°C no escuro.

Foi então realizada centrifugação branda para a retirada da fração apoplástica das folhas (O'LEARY et al., 2014). Modificações foram realizadas. Abaixo uma descrição mais detalhada do método.

2.2.12.2 Infiltração da água na folha

- a. A folha foi destacada da planta com pecíolo com auxílio de lâmina de barbear.
- b. Lavou-se a folha recém coletada, submergindo-a em água destilada para remover contaminantes na superfície e secou-se a folha

- cuidadosamente com papel toalha.
- c. A folha foi inserida dentro de um balão de vácuo de 250 ml contendo água destilada (a água utilizada para centrifugação foi previamente resfriada à 4° C para manter o procedimento em baixas temperaturas), de modo que o líquido cobriu completamente a folha.
 - d. Aplicou-se um vácuo ao balão. Quando ocorreram bolhas, agitou-se lentamente para liberá-las. O vácuo foi liberado vagarosamente.
 - e. Repetiu-se o passo anterior até a completa infiltração da água na folha, observada pelo escurecimento da mesma.
 - f. A folha foi removida do balão e seca, cuidadosamente, com papel toalha.

2.2.12.3 Recuperação da água apoplástica

- a. A folha foi posicionada em um pedaço de Parafilme. Usando uma pipeta de 5m a folha foi enrolada no parafilme.
- b. A folha enrolada na pipeta e envolta pelo Parafilme foi inserida em uma seringa de 20mL. A borda cortada da folha foi posicionada para cima. Essa seringa foi inserida em um tubo plástico de 50ml.
- c. Realizou-se centrifugação por 10 minutos a 1000g, a 4° C (a visualização de áreas escurecidas indicaram a necessidade de mais tempo de centrifugação para que toda a água infiltrada fosse retirada).

Após esse procedimento foi realizada a determinação do potencial osmótico da seiva das folhas, para obtenção da seiva foi realizada a maceração das folhas em nitrogênio líquido, seguida de filtragem em tecido de musseline com auxílio de uma seringa. A seiva obtida foi acondicionada em eppendorf e centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a 4°C. Após a centrifugação, a osmolalidade foi medida no sobrenadante pelo osmômetro (SILVEIRA et al., 2009; SOUZA et al., 2012). A estimativa do Ψ_o foi realizada através da aplicação da Equação de Van't Hoff, conforme detalhada anteriormente.

Como a folha encontrava-se completamente túrgida após a saturação, considerou-se esse potencial osmótico como na máxima turgidez e livre da fração apoplástica por centrifugação (Ψ^{CB}_{o100}).

2.2.13 Potencial osmótico da fração de apoplástica em máxima turgidez (Ψ_o^{FAA})

A fração de água apoplástica coletada no processo de centrifugação foi pipetada em eppendorf e centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a 4°C. Após a centrifugação, a osmolalidade foi medida no sobrenadante pelo osmômetro (SILVEIRA et al., 2009; SOUZA et al., 2012). A estimativa do Ψ_o foi realizada através da aplicação da Equação de Van't Hoff, conforme detalhada anteriormente.

2.2.14 Fração apoplástica em máximo turgor

A fração de água apoplástica é obtida pela equação a seguir (CALISTER, 2006):

$$FAA = TRA \left(1 - \frac{\Psi_{o100}}{\Psi^{CV}_{o100}} \right)$$

Em que FAA é a fração de água apoplástica, TRA é o teor relativo de água no máximo turgor, Ψ_{o100} é o potencial osmótico em máximo turgor obtido pelo método convencional; Ψ^{CV}_{o100} é o potencial osmótico em máximo turgor obtido pela curva (P-V).

2.2.15 Comparação do potencial osmótico em máximo turgor entre os métodos (corrigido pela curva (P-V) x convencional x corrigido por centrifugação)

Os valores de potencial osmótico em máximo turgor obtidos pelo método convencional foram corrigidos (CALISTER, 2006) pelos dados da curva (P-V):

$$\Psi^{CorCV}_{o100} = \frac{\Psi^{CV}_{o100} \times TRA}{FAS}$$

E pelos dados de potencial osmótico em máxima turgidez obtidos pela centrifugação:

$$\Psi^{CorCB}_{o100} = \frac{\Psi^{CB}_{o100} \times TRA}{FAS}$$

Em que FAS é a fração de água simplástica; TRA é o teor relativo de água; Ψ^{CorCV}_{o100} potencial osmótico em máximo turgor corrigido pela curva (P-V); Ψ^{CorCB}_{o100} é

potencial osmótico em máximo turgor corrigido pela centrifugação branda; Ψ_{0100}^{CV} é o potencial osmótico em máximo turgor obtido pela curva(P-V); Ψ_{0100}^{CB} é o potencial osmótico em máximo turgor obtido após a centrifugação branda.

Os resultados de potencial osmótico em máximo turgor sem correção (Convencional), e corrigidos pelas duas técnicas foram então comparados, para verificar o erro causado pela FAA, avaliando a diferença entre Ψ_{0100} e Ψ_{0100}^{CorCV} . E pela comparação entre Ψ_{0100}^{CorCV} e Ψ_{0100}^{CorCB} foi possível avaliar a viabilidade do uso da centrifugação branda como método para corrigir os erros da FAA. Foram usados para comparação o potencial a pleno turgor para que não houvessem diferenças entre os TRAs. Desse modo o TRA pode ser considerado 100% em todos os casos, pois o valor do peso fresco se iguala ao do peso turgido.

2.2.16 Ajustamento osmótico total

O ajustamento osmótico total (AO_{tot}) dos dados corrigidos e dos dados sem correção) também foram comparados. Para a determinação do AO_{tot} foi considerada a diferença entre o potencial osmótico em máximo turgor no controle (plantas submetidas ao nível 0 de salinidade na água de irrigação) e o potencial osmótico das plantas submetidas aos diferentes níveis de estresse salino, conforme Matinez-Ballesta et al.(2003):

$$AO_{tot} = \Psi_{0c}^{100} - \Psi_{0s}^{100}$$

Em que, AO_{tot} é o ajustamento osmótico total, Ψ_{0c}^{100} é o potencial osmótico de plantas controle máximo turgor; e Ψ_{0s}^{100} corresponde ao potencial osmótico em máximo turgor nos diferentes níveis de salinidade (10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl).

2.2.17 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com sete tratamentos, correspondentes aos níveis de salinidade (0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mmol L⁻¹ de NaCl) e cinco repetições, totalizando 35 unidades experimentais para cada cultura teste. Os dados tiveram sua normalidade verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando necessário foram realizadas exclusão de outliers e transformação

de dados. Após esse procedimento foram então submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Também foram ajustadas equações de regressões.

2.3. Resultados e Discussão

2.3.1 Teor relativo de água

As plantas de sorgo irrigadas com o tratamento controle (0 mmol L⁻¹ de NaCl) apresentaram um TRA médio equivalente a 91,6% (Tabela 3). O aumento do estresse salino promovido pela elevação de NaCl na água de irrigação não diminuiu o TRA das plantas em relação ao controle de modo significativo. No tratamento com maior concentração (100 mmol L⁻¹ de NaCl) foi observado um TRA de 88% (Tabela 3).

Tabela 3- Teor relativo de água de sorgo e caupi irrigados com níveis crescentes de NaCl. Aos 48 dias após semeio no caupi e aos 55 dias após semeio no sorgo

NaCl (mmol/L)	TRA (%) Sorgo	TRA (%) Caupi
0	91,6 a	92,5 a
10	91,0 a	93,6 a
20	90,8 a	91,3 a
40	90,5 a	91,1 a
60	88,7 a	89,9 a
80	88,1 a	82,6 b
100	88,0 a	81,9 b
F	1.0354ns	9.5855**
CV(%)	3,66	3,86

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; ns não significativo. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. TRA = Teor Relativo de Água

Os resultados mostram que o sorgo possui um mecanismo adaptativo relativamente eficiente para evitar o estresse salino grave, pois a partir dos valores de TRA, ao comparar a maior concentração de NaCl na água de irrigação ao tratamento controle nota-se que não houve diferença nos conteúdos de água dos tecidos da folha com o aumento do estresse salino.

Sayyad-Amin et al. (2015) avaliando o efeito do aumento da concentração de NaCl em cultivares de sorgo nos estádios de desenvolvimento vegetativo e

reprodutivo também não perceberam diferenças estatísticas nos valores de TRA até a concentração de 200 mmol L⁻¹. Os autores atribuem esse resultado a respostas adaptativas da planta, a exemplo do fechamento estomático e ajustamento osmótico.

As plantas de caupi irrigadas com o tratamento controle (0 mmol L⁻¹ de NaCl) apresentaram um TRA médio equivalente a 92,5% (Tabela 3). O aumento do estresse salino promovido pela elevação de NaCl na água de irrigação diminuiu o TRA das plantas em relação ao controle de modo significativo nos dois tratamentos com maiores concentração (80 e 100 mol L⁻¹ de NaCl), nos quais foram observados os TRAs de 82,6 e 81,9% respectivamente (Tabela 3).

O caupi também demonstrou possuir um mecanismo adaptativo para evitar o estresse salino grave, no entanto ao observar a redução nos valores de TRA (Tabela 3) percebe-se que esse mecanismo atua com maior eficácia até concentrações de 60 mmol L⁻¹ de NaCl.

Win et al. (2011) avaliaram níveis de tolerância de doze genótipos do gênero *Vigna* com concentrações salinas de 0 a 225 mmol L⁻¹ de NaCl. O efeito do aumento da concentração de NaCl também resultou na redução do TRA. O TRA ao nível de 0 mmol L⁻¹ de NaCl oscilou entre 94% e 88,5% nesses genótipos, atingindo TRAs que variaram de 89% a 82% nos mesmos genótipos ao nível de 75 mmol L⁻¹ de NaCl.

Meneguzzo et al. (2000) também observaram resultados similares ao avaliar o efeito da concentração de NaCl em relações hídricas nas cultivares (Adamello e Ofanto) de caupi. A Ofanto, por ser mais sensível sofreu uma redução mais acentuada, de 97,58% para 88,59%. Enquanto a Adamello passou de 97,79% (no tratamento controle) para 91,31% no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl.

Vale salientar que somente o dado de TRA não deve ser tomado como parâmetro único para avaliar a adaptação da planta à salinidade, tendo em vista outros parâmetros fisiológicos que podem ser afetados pela salinidade.

2.3.2 Potencial hídrico foliar (Ψ_w)

Os valores médios do potencial hídrico do sorgo variaram de -0,08 a -0,89 MPa para plantas irrigadas com concentração de NaCl equivalente a 0 e a 100 mmol L⁻¹ respectivamente (Figura 2), percebe-se assim uma redução progressiva e linear do potencial hídrico foliar à medida que aumentou a concentração de NaCl no solo. O maior potencial hídrico foi o das plantas controle tendo em vista a menor concentração de sais na solução do solo, e o potencial mais negativo ocorreu no

tratamento mais concentrado.

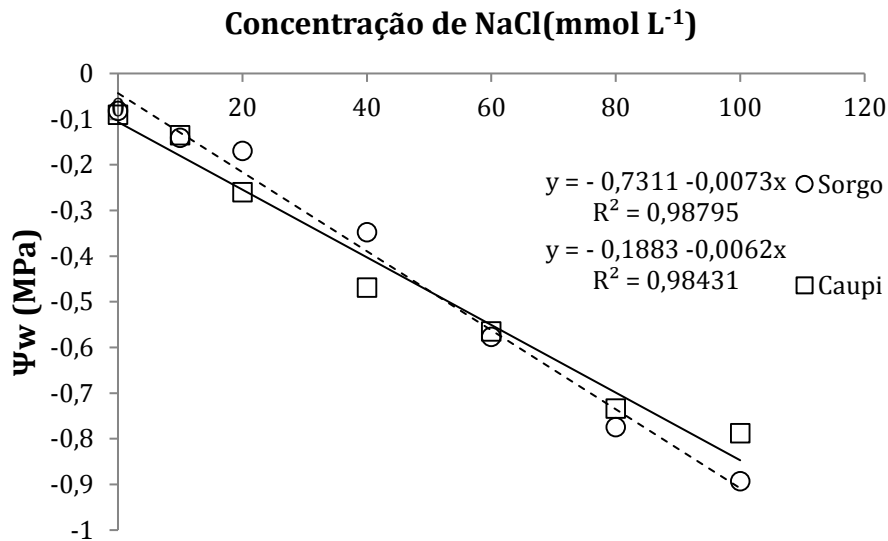


Figura 2 - Potencial Hídrico (Ψ_w) de folhas de sorgo e caupi irrigadas com água salina ao fim do experimento (48 e 55 dias após os semeio respectivamente)

Netondo et al. (2004) estudando a resposta do sorgo à salinidade quanto ao crescimento, relações hídricas e acúmulo de nutrientes em um trabalho onde as concentrações de NaCl variaram de 0 a 250 mmol L⁻¹ na água de irrigação observaram resultados similares, já que o potencial hídrico foliar variou de -0,03 MPa no tratamento controle (0 mmol L⁻¹) para -0,81 MPa no nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl. Possivelmente o potencial hídrico no controle foi menor no presente trabalho que no de Netondo et al. (2004), porque o solo usado para cultivo nesse experimento já tinha uma concentração de NaCl relativamente elevada, como pode ser verificado na (Tabela 1).

Os valores médios do potencial hídrico do caupi variaram de -0,09 a -0,79 MPa para plantas irrigadas com concentração de NaCl equivalente a 0 e a 100 mmol L⁻¹, respectivamente (Figura 2). Houve redução progressiva e linear do potencial hídrico foliar à medida que aumentou a concentração de NaCl no solo. O maior potencial hídrico foi o das plantas controle tendo em vista sua menor concentração de sais na solução do solo, e o potencial mais negativo ocorreu no tratamento mais concentrado.

Hernández et al. (1999) realizaram um estudo sobre resposta do sistema antioxidativo de *Pisum sativum* (ervilha) submetidas à salinidade. Um dos parâmetros observados foi o potencial hídrico foliar das plantas. Nesse trabalho as concentrações de NaCl usadas variaram de 0 a 160 mmol L⁻¹ na água de irrigação. Foi percebida

redução do potencial hídrico foliar conforme se aumentou o nível de estresse provocado pelas concentrações crescentes de NaCl. Nesse trabalho ao nível de 160 mmol L⁻¹ observado foi Ψ_w de -1,38 MPa.

A redução do potencial hídrico das folhas conforme o aumento do estresse salino não necessariamente implica redução do turgor celular, isso só ocorre quando a capacidade da planta em ajustar seu potencial osmótico foliar não é suficiente para responder ao efeito da redução do potencial hídrico do solo como uma consequência da restrição de disponibilidade de água às células. Essa percepção está de acordo com Munns (2002), para quem a diminuição do potencial hídrico nas células vegetais é muito importante para que as plantas não sofram desidratação.

2.3.3 Potencial osmótico foliar (Ψ_o)

Ao final do experimento foi possível notar uma redução progressiva e linear no Ψ_o do sorgo à medida que aumentou a concentração de NaCl no solo (Figura 3). O maior valor médio -0,78 MPa foi observado nas plantas controle (0 mmol L⁻¹) e o menor valor médio -1,47 MPa foi observado nas plantas expostas a maior concentração de NaCl (100 mmol L⁻¹).

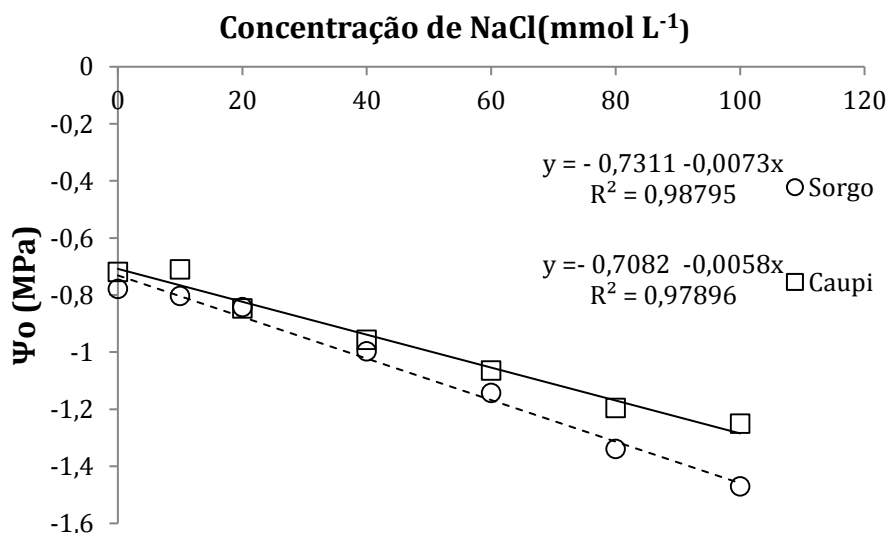


Figura 3 - Potencial osmótico (Ψ_o) de folhas de sorgo e caupi irrigadas com água salina ao fim do experimento

Netondo et al. (2004) também observaram diminuições do Ψ_o foliar à medida que houve incremento da concentração de NaCl na solução do solo. Observando duas cultivares de sorgo (Serena e Seredo) notara que os valores de Ψ_o no

tratamento controle (0 mmol L⁻¹ de NaCl) foram os mais altos (-0,89MPa e -0,62MPa) reduzindo para -1,31 e -1,15MPa no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl na água de irrigação na Serena e Seredo respectivamente. Na cultivar IPA 2502 estudada nesse trabalho foram encontrados resultados similares, como pode ser verificado na (Figura 3).

Assim como no sorgo, para o caupi foi possível notar uma redução linear do Ψ_o à medida que aumentou a concentração de NaCl no solo (Figura 4). O maior valor médio, -0,72 MPa, de potencial osmótico foi observado nas plantas controle (0 mmol L⁻¹) e o menor valor médio -1,25 foi observado nas plantas expostas a maior concentração de NaCl (100 mmol L⁻¹) (Figura 3).

Coelho et al. (2013) também observaram reduções no Ψ_o do caupi conforme o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação. Tais autores, controlando a concentração com base na condutividade elétrica (CE) da solução de irrigação, observaram que os valores de Ψ_o do caupi variaram de -0,648Mpa, no tratamento controle (CE de 2,2 dS m⁻¹) e - 1,012 Mpa, no tratamento de CE 12 dS m⁻¹ em solo franco-arenoso. No solo franco-argiloso o potencial osmótico foliar do caupi oscilou entre-0,734 Mpa e - 1,110Mpa, nos tratamentos controle e (12 dS m⁻¹ de CE) respectivamente, valores próximos aos descrito na (Figura 3).

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

2.3.4 Potencial de pressão foliar (Ψ_p)

Os valores de Ψ_p do sorgo não diferiram de forma significativa entre as concentrações de NaCl. Os valores oscilaram entre 0,70 Mpa no tratamento testemunha (0 mmol L⁻¹de NaCl) e 0,58 Mpa no tratamento de (100 mmol L⁻¹ de NaCl) (Tabela 4). Netondo et al. (2004) também observaram valores similares quanto ao Ψ_p . Eles relataram um Ψ_p de 0,86 Mpa no tratamento controle e 0,49 Mpa à 100 mmol L⁻¹ de NaCl.

Tabela 4- Potencial de pressão de sorgo e caupi irrigados com níveis crescentes de NaCl. Aos 48 dias após semeio no caupi e aos 55 dias após semeio no sorgo

NaCl (mmol/L)	Ψ_p (MPa) Sorgo	Ψ_p (MPa) Caupi
0	0,70 a	0,63 a
10	0,66 a	0,58 a
20	0,67 a	0,59 a
40	0,65 a	0,49 a
60	0,57 a	0,50 a
80	0,56 a	0,46 a
100	0,58 a	0,46 a
F	1.32ns	2.13ns
CV(%)'	17,4	19,34

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; ns não significativo. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Ψ_p = Potencia de pressão

Os valores de Ψ_p do caupi, assim como no sorgo não diferiram de forma significativa com o tratamento de NaCl. Os valores oscilaram entre 0,63 Mpa no tratamento testemunha (0 mmol L⁻¹ de NaCl) e 0,46 Mpa no tratamento de (100 mmol L⁻¹ de NaCl) (Tabela 4).

Hernandez et al. (1999), obtiveram resultados similares em ervilha, quando não foram percebidas alterações no Ψ_p até a concentração de 130 mmol L⁻¹ de NaCl, dados que se assemelham ao observado na (Tabela 4).

Tyree e Jarvis (1982) explicam que a fotossíntese e outras funções metabólicas só são possíveis dentro em um gradiente em que o potencial osmótico das seiva é suficiente para manter a pressão de turgor no citoplasma que, no mínimo, deve se encontrar em torno e 0,1 e 0,5 Mpa podendo atingir valores mais altos, variando entre espécies.

2.3.5 Fração apoplástica (FAA) do TRA e potencial osmótico da FAA (Ψ_o^{FAA})

Em caupi houve redução do Ψ_o^{FAA} com o aumento da salinidade. O maior valor médio de Ψ_o^{FAA} , -0,03 MPa foi observado nas plantas controle (0 mmol L⁻¹ de NaCl) e o menor valor médio -0,6MPa foi observado nas plantas expostas a maior concentração de NaCl (100 mmol L⁻¹) (Figura 4). Não foi possível coletar fluido suficiente durante a centrifugação de plantas de sorgo para realizar a leitura.

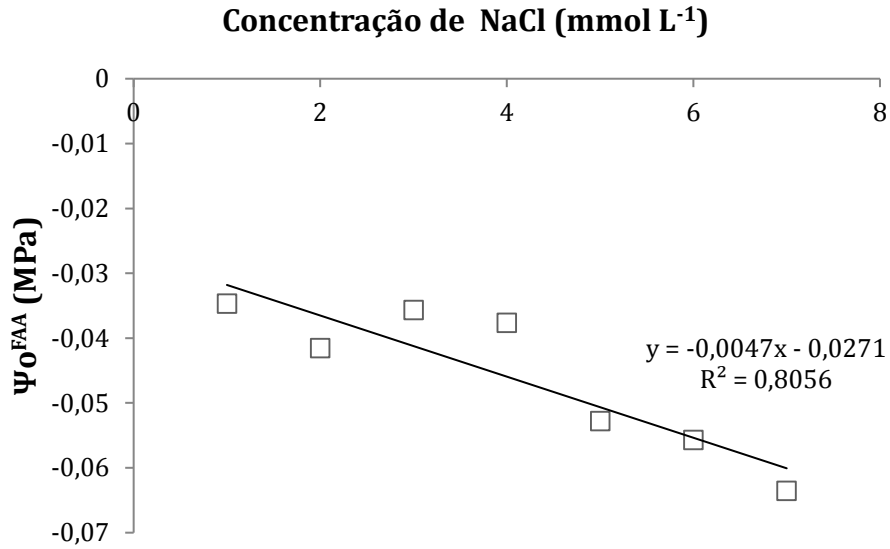


Figura 4 - Potencial osmótico da fração de água apoplástica (Ψ_o^{FAA}) de folhas túrgidas de caupi ao fim do experimento coletada por centrifugação branda

Em Sorgo não houve diferença estatística nos valores de FAA sendo observado um valor médio de 15,9% (Tabela 5). Do valor total de 91,6% de TRA no tratamento controle, 14% é constituído pela FAA. No tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl cujo TRA foi de 88% (Tabela 3), a FAA é de 16,3% (Figura 5).

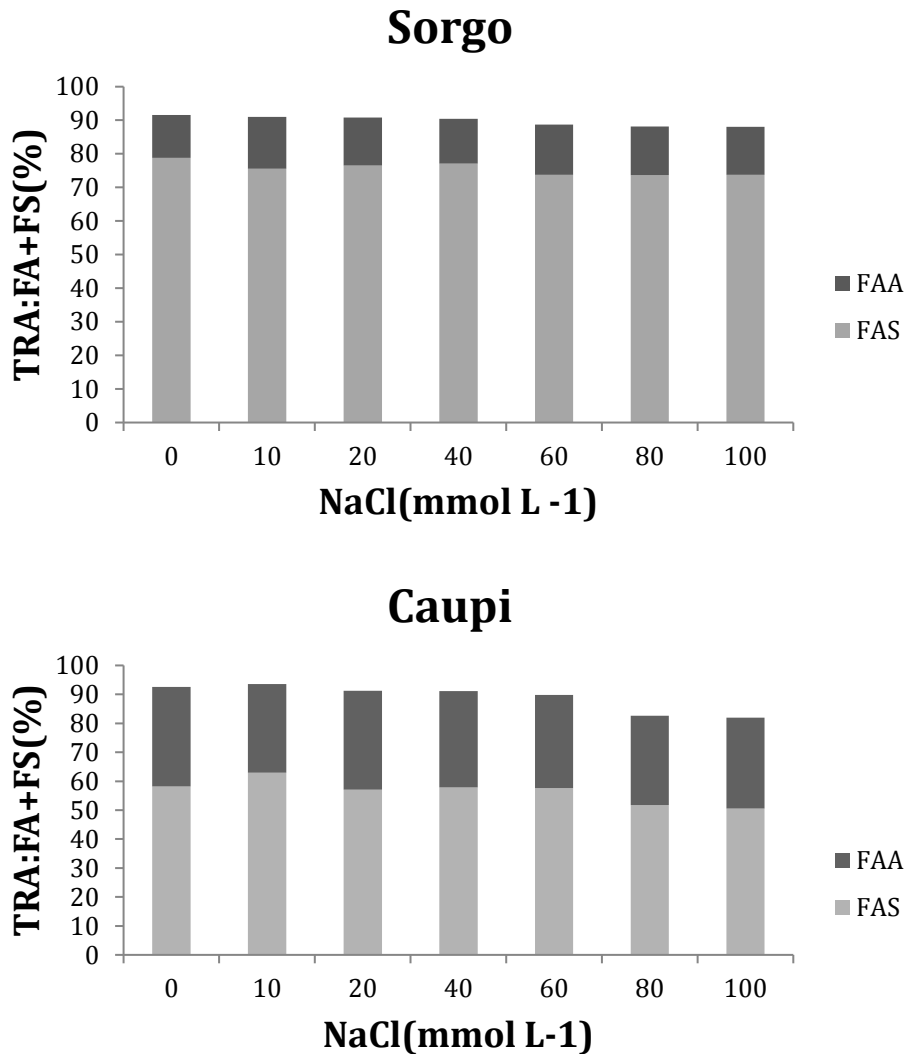


Figura 5 – Contribuição da fração simplástica (FAS) e da fração apoplástica (FAA) na constituição do TRA do sorgo e do caupi

Em Caupi também não se percebeu variação de FAA com o aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação, foi observado um valor médio de FAA de 32,43% (Tabela 5), do valor total de 92,5% de TRA no tratamento controle 34,4% é constituído pela FAA, e no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl cujo TRA foi de 81,9% (Tabela 3), a FAA é de 31,41% (Figura 5).

Tabela 5- Comparação dos valores de Fração de água apoplástica em sorgo e caupi

NaCl (mmol L ⁻¹)	FAA(%) Caupi	FAA(%) Sorgo
0	34,41 a	14,00 a
10	30,60 a	17,03 a
20	34,19 a	15,81 a
40	33,33 a	14,76 a
60	32,21 a	16,85 a
80	30,87 a	16,42 a
100	31,41 a	16,26 a
Valor de F	0,5536ns	0,2326ns
CV(%)'	14,48	32,57

ns Não significativo. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si numa mesma coluna. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Wardlaw (2005) realizou um estudo sobre os erros provocados pela fração apoplástica na determinação de potencial osmótico de plantas, observou que a fração apoplástica do sorgo foi de 15,2% e da soja 28,6% (única leguminosa observada no estudo). Dados coerentes com o observado na Figura 5. Dada essa variação da fração apoplástica entre as espécies, Wardlaw (2005) entendeu que os erros relacionados à diluição do potencial osmótico não se apresentam de forma constante para todas as espécies.

Ardnt et al. (2015) compararam valores de FAA de diversas espécies dentre as a poácea *Triticum aestivum* (Trigo) e uma herbácea, *Capsicum annum* (Pimentão). Nessas plantas, a fração apoplástica após a hidratação das folhas para a turgidez foi de 6 e 10% respectivamente. Portanto nota-se nesses trabalhos que a FAA varia entre as espécies. O presente estudo também percebeu diferenças na comparação entre sorgo (poácea) e caupi (herbácea), sendo observadas diferenças da ordem de 16% entre essas culturas, como pode ser observado na Figura 5.

2.3.6 Potencial osmótico em Máxima Turgidez

Houve diferença entre o potencial osmótico em máximo turgor obtido pelo método convencional (Ψ_{o100}) e os valores corrigidos pela curva de pressão volume (Ψ^{CV}_{o100}) (Tabela 6), tanto no caupi como no sorgo. Em caupi no tratamento controle, o Ψ_{o100} observado foi de -0,28 MPa, e o Ψ^{CV}_{o100} foi de -0,43 MPa. Houve diferença

entre Ψ_{o100} e Ψ^{CV}_{o100} em todos os níveis de concentração de NaCl, ao nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl, foram observados os valores de Ψ_{o100} e Ψ^{CV}_{o100} mais baixos, -0,77 MPa, e -1,10 MPa, respectivamente (Tabela 6).

Os valores de potencial osmótico em máxima turgidez no sorgo também apresentaram diferenças entre Ψ_{o100} e Ψ^{CV}_{o100} em todos os níveis de concentração. No tratamento controle do sorgo os valores de Ψ_{o100} e Ψ^{CV}_{o100} foram respectivamente de -0,33 MPa e -0,40 MPa (Tabela 6), e ao nível mais elevado (100 mmol L⁻¹ de NaCl) foram observados os valores de -1,20 para Ψ_{o100} e -1,35 MPa para Ψ^{CV}_{o100} (Tabela 6).

Tabela 6- Comparação de valores de potencial osmótico em máximo turgor entre o método convencional (Ψ_{o100}), corrigido por centrifugação branda (Ψ^{CB}_{o100}) e corrigido pela curva (P-V) (Ψ^{CV}_{o100}) do sorgo e do caupi em níveis crescentes de NaCl pelo método convencional

NaCl (mmol/L)	(Ψ_{o100}) (MPa)	(Ψ^{CB}_{o100}) (MPa)	(Ψ^{CV}_{o100}) (MPa)	(Ψ_{o100}) (MPa)	(Ψ^{CB}_{o100}) (MPa)	(Ψ^{CV}_{o100}) (MPa)
	-----Sorgo-----			-----Caupi-----		
0	-0,34 aA	-0,34 aA	-0,39 aB	-0,28 aA	-0,35 aB	-0,43 aC
10	-0,55 bA	-0,58 bA	-0,66 bB	-0,41 bA	-0,49 bB	-0,59 bC
20	-0,65 cA	-0,67 cA	-0,78 cB	-0,46bcA	-0,57bcB	-0,70 cC
40	-0,76cdA	-0,77 dA	-0,89cdB	-0,53 cA	-0,62 cB	-0,79 cC
60	-0,82 dA	-0,87deA	-0,99deB	-0,62 dA	-0,75 dB	-0,91 dC
80	-1,00 eA	-1,07 eA	-1,21 eB	-0,70deA	-0,86deB	-1,02deC
100	-1,13 fA	-1,22 fA	-1,35 fB	-0,76 eA	-0,94 eB	-1,10 eC
F		11,62**			45,83**	
CV(%)		6,28			6,91	
F'	157,75**	175,44**	161,00**	111,01**	116,07**	102,19**
CV(%)'	6,37	6,39	6,38	6,67	6,67	6,70

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; F entre colunas; F' entre linhas; CV entre colunas; CV' entre linhas. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si numa mesma linha quando maiúsculas e numa mesma coluna quando minúscula. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Arndt et al. (2015) realizaram um estudo para indicar os erros causados pela fração apoplástica nas avaliações de TRA e potencial osmótico de diversas espécies vegetais. Para tanto comparou valores de potencial osmótico obtidos pelo método convencional - em que a seiva era obtida por meio de maceração - com o potencial osmótico corrigidos por curvas de pressão volume. Os autores observaram que ocorria uma diferença entre os valores obtidos pelo método convencional e os valores corrigidos pela curva pressão-volume, assim como observado no presente trabalho

os potenciais corrigidos por curvas (P-V) sempre apresentavam os valores mais negativos.

Arndt et al. (2015) notaram que em trigo, cuja FAA observada foi de 6%, o potencial osmótico obtido por meio convencional foi de -1,34 Mpa e quando esse valor foi corrigido pela curva (P-V) o potencial osmótico observado teve seu valor reduzido a -1,46 Mpa. Em *Lolium perene*, outra espécie poácea, cuja FAA foi de 11%, os valores de potencial osmótico oscilaram de -1,55 Mpa, pelo método convencional para -1,74 Mpa quando corrigidos pela curva pressão-volume. Uma outra espécie observada no estudo *Eucalyptus polyanthemos*, em que a FAA foi de 18%, os valores do potencial osmótico variaram de -1,69 MPa quando obtido pelo método CONVENCIONAL para -2,09 MPa quando corrigido pela curva(P-V).

Arndt et al. (2015) perceberam que a diferença entre os valores do potencial osmótico sem correção e o corrigido pela curva (P-V) aumentou conforme se amentou também a FAA de cada espécie, com variações que foram de 0,12 Mpa em trigo, 0,19 Mpa em *Lolium perene*, e 0,4 Mpa em *Eucalyptus polyanthemos*. Assim como Arndt et al. (2015) no presente estudo se constatou que a diferença entre Ψ_{o100} e Ψ_{o100}^{CV} foi maior na cultura com maior FAA (Caupi) que na cultura com menor FAA (sorgo). A diferença entre Ψ_{o100} e Ψ_{o100}^{CV} foi em média de 0,12Mpa (Tabela 6) no sorgo, cuja FAA média foi de 15,9% (Tabela 5) e 0,25 Mpa (Tabela 6) no caupi, cuja FAA média foi de 32,43% (Tabela 5).

A metodologia convencional para acessar os dados do potencial osmótico demonstraram, portanto, erros inerentes ao seu processo de maceração das folhas, não sendo possível diferenciar a fração apoplástica da fração simplástica. Como afirma Kirkham (2014) a fração apoplástica é mais diluída que a fração simplástica, e isso pode ser observado tomando por base os valores do potencial osmótico da fração apoplástica do caupi (Figura 4).

Em relação a comparação dos resultados de correção do Ψ_{o100} pela centrifugação (Ψ_{o100}^{CB}) e pela curva pressão volume (Ψ_{o100}^{CV}), notou-se que no caupi Ψ_{o100}^{CB} diferiu de Ψ_{o100} , mas no sorgo não houve diferença entre Ψ_{o100}^{CB} e Ψ_{o100} . No sorgo os valores de Ψ_{o100}^{CB} oscilaram de -0,34 Mpa no nível controle a -1,22 Mpa no nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 5), já no caupi os valores de Ψ_{o100}^{CB} foram de -0,35 Mpa no nível controle e -0,94 Mpa em 100 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 6). Percebeu-se, portanto, que ainda que parte da FAA tenha sido retirada pela

centrifugação no caupi, a metodologia não foi eficaz na correção do erro, visto que os valores da corrigidos pela centrifugação branda não se igualam aos valores corrigidos pela curva (P-V) em nenhuma das culturas.

É possível que a força de 1000g utilizada na coleta da fração apoplástica não tenha sido suficiente para a retirada de todo o fluido apoplástico, no entanto o aumento dessa força por uma centrifugação mais intensa pode resultar em lise celular, e conseqüente perda da fração simplástica no processo, resultando também em erros de leitura.

2.3.7 Ajustamento osmótico total (AO_{tot})

Em sorgo os valores de AO_{tot} variaram de 0,23 nas plantas irrigadas com a solução contendo 10 mmol L⁻¹ de NaCl para 0,77 nas plantas irrigadas com 100 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 7), quando para o calculo de ajustamento osmótico se considerou os valores de Ψ_{o100} . Quando os valores de Ψ^{CB}_{o100} foram usados para o calculo, o ajustamento osmótico total corrigido pela centrifugação (AO^{CB}_{tot}) observado foi de 0,26 no tratamento 10 mmol L⁻¹ de NaCl alcançando 0,85 no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 7). Por fim quando no cálculo utilizou-se dos valores de Ψ^{CV}_{o100} o ajustamento osmótico total corrigido pela curva pressão volume (AO^{CV}_{tot}) foi de 0,29 no tratamento de 10 mmol L⁻¹ e 0,92 no tratamento de 100 mmol L⁻¹ (Tabela 7).

Tabela 7- Comparação dos valores ajustamento osmótico total em sorgo e caupi em níveis crescentes de NaCl pelo método convencional (AO_{tot}), corrigido pela centrifugação branda(AO^{CB}_{tot}) e corrigido pelo pela curva pressão volume(AO^{CV}_{tot})

NaCl (mmol/L)	AO_{tot}	AO^{CB}_{tot}	AO^{CV}_{tot}	AO_{tot}	AO^{CB}_{tot}	AO^{CV}_{tot}
	-----Sorgo-----			-----Caupi-----		
10	0,23B	0,26A	0,29A	0,11A	0,12A	0,13A
20	0,31A	0,32A	0,38A	0,20C	0,25B	0,31A
40	0,43B	0,45AB	0,51A	0,24B	0,26AB	0,35A
60	0,47B	0,52AB	0,58A	0,36C	0,43B	0,51A
80	0,67B	0,74B	0,81A	0,40C	0,50B	0,56A
100	0,77B	0,85AB	0,92A	0,46C	0,57B	0,65A
F		6,14**			19,20**	
CV(%)		10,11			9,19	

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma linha. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Em caupi os valores de AO_{tot} variaram de 0,11 nas plantas irrigadas com águas contendo 10 mmol L^{-1} de NaCl a 0,46 nas plantas irrigadas com águas contendo 100 mmol L^{-1} de NaCl (Tabela 6), quando os valores acessados para o cálculo levaram em consideração o Ψ_{o100} . Quando se utilizou os dados de Ψ_{o100}^{CB} , o AO_{tot}^{CB} estimado foi de 0,12 e 0,57, respectivamente para o tratamento de 10 e 100 mmol L^{-1} de NaCl. Por fim quando utilizou-se Ψ_{o100}^{CV} para a estimativa do ajustamento osmótico total, o AO_{tot}^{CV} foi de 0,13 no tratamento de 10 mmol L^{-1} de NaCl a 0,65 no tratamento de 100 mmol L^{-1} de NaCl.

Portanto, observou-se tanto em sorgo como no caupi o aumento dos valores estimados de ajustamento osmótico total conforme se aumentou a concentração de NaCl na água de irrigação, independente do modelo de correção do potencial osmótico em máximo turgor utilizado nessa estimativa. Isso atesta que plantas de sorgo e caupi conseguiram realizar ajustamento osmótico. Esse resultado está em consonância com os resultados já observados no TRA (Tabela 3), potencial osmótico (Figura 3) e potencial de pressão (Tabela 4) das duas espécies.

Bayuelo et al. 2013 observaram resposta de espécies de *Phaseolus* a estresse condicionado por níveis crescentes das concentrações de NaCl (0, 60 e 90 mmol L^{-1} de NaCl) na solução nutritiva das plantas. Assim como os dados observados de caupi no presente estudo, Bayuelo et al. (2013) notaram o aumento do ajustamento osmótico total com o aumento das concentrações salinas. Zhou e Yu (2009) observaram aumento do ajustamento osmótico total em uma poaceae (*Vetiveria zizanioides*), assim como foi observado no presente estudo com sorgo.

Porém, os valores de AO_{tot}^{CV} foram significativamente mais elevados AO_{tot} em sorgo (a partir da concentração de 80 mmol L^{-1} de NaCl) e em caupi (a partir da concentração de 60 mmol L^{-1} de NaCl), isso aponta para a persistência dos erros do método convencional para obtenção do potencial osmótico na estimativa do ajustamento osmótico total. Como os valores de AO_{tot}^{CB} não foram consistentemente iguais aos de AO_{tot}^{CV} percebe-se também que a centrifugação não conseguiu corrigir o erro nas estimativas de ajustamento osmótico total.

2.4 Conclusões

- As plantas de sorgo realizaram ajustamento osmótico e os valores de teor relativo de água e pressão foram mantidos mesmo com o aumento das concentrações de NaCl.
- O aumento da concentração de NaCl no solo promoveu redução do teor relativo de água das plantas de caupi a partir do tratamento de 60 mmol L⁻¹ de NaCl.
- Foram observados erros de supervalorização do potencial osmótico em máximo turgor no método convencional tanto em plantas de sorgo como em caupi.
- A centrifugação branda não conseguiu corrigir os erros do método convencional para valores semelhantes aos corrigidos pelas curvas de pressão-volume.
- A curva pressão-volume é o método mais adequado para a correção dos erros de diluição provocados pela água apoplástica foliar.

Referências

ARNDT, S. K.; IRAWAN, A.; SANDERS, G. J. Apoplastic water fraction and rehydration techniques introduce significant errors in measurements of relative water content and osmotic potential in plant leaves. **Physiologia plantarum**, Helsinki, v. 155, n. 4, p. 355-368, 2015.

ASHRAF, M. P. J. C.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant science**, Limerick, v. 166, n. 1, p. 3-16, 2004.

ASINA, M. M.; DE HERRALDE, F.; ARANDA, X.; SAVE, R.; BIEL, C. C. Water relations and vulnerability to embolism are not related: experiments with eight grapevine cultivars. **VITIS-Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v. 46, n. 1, p. 1, 2015.

BABU, R. C.; PATHAN, M. S.; BLUM, A.; NGUYEN, H. T. Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 1, p. 150-158, 1999.

BALL, R. A.; OOSTERHUIS, D. M. Measurement of root and leaf osmotic potential using the vapor-pressure osmometer. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 53, n. 1, p. 77-84, 2005.

BARTLETT, M. K.; SCOFFONI, C.; ARDY, R.; ZHANG, Y.; SUN, S.; CAO, K.; SACK, L. Rapid determination of comparative drought tolerance traits: using an osmometer to predict turgor loss point. **Methods in Ecology and Evolution**, London, v. 3, n. 5, p. 880-888, 2012.

BAYUELO-JIMENEZ, J. S.; JASSO-PLATA, N.; OCHOA, I. Growth and physiological responses of Phaseolus species to salinity stress. **International Journal of Agronomy**, Cairo, v. 2012, 2012

CALLISTER, A. N.; ARNDT, S. K.; ADAMS, M. A. Comparison of four methods for measuring osmotic potential of tree leaves. **Physiologia Plantarum**, Helsinki, v. 127, n. 3, p. 383-392, 2006.

CHA-UM, S.; BATIN, C.; SAMPHUMPHUNG, T.; KIDMANEE, C. Physio-morphological changes of cowpea (*Vigna unguiculata* Walp.) and jack bean (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) in responses to soil salinity. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 7, n. 13, p. 2128, 2013.

CHEESEMAN, J. M. Mechanisms of salinity tolerance in plants. **Plant physiology**, Rockville, v. 87, n. 3, p. 547-550, 1988.

CHEN, Z.; CUIN, T. A.; ZHOU, M.; TWOMEY, A.; NAIDU, B. P.; SHABALA, S. Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 15-16, p. 4245-4255, 2007.

COELHO, J.; BARROS, M. D. F.; NETO, E. B.; CORREA, M. M. Comportamento hídrico e crescimento do feijão vigna cultivado em solos salinizados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 4, p. 379-385, 2013.

CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Water relations and yield in Azospirillum-inoculated wheat exposed to drought in the field. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 82, n. 2, p. 273-281, 2004.

DEVKOTA, M.; MARTIUS, C.; GUPTA, R. K.; DEVKOTA, K. P.; MCDONALD, A. J.; LAMERS, J. P. A Managing soil salinity with permanent bed planting in irrigated production systems in Central Asia. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 202, p. 90-97, 2015.

EL-OMARI, R.; NHIRI, M. Adaptive response to salt stress in sorghum (*Sorghum bicolor*). **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, Karachi, v. 15, n. 7, p. 1351-1360, 2015.

FLOWERS, T. J.; MUSCOLO, A. Introduction to the special issue: halophytes in a changing world. **AoB plants**, Oxford, v. 7, p. plv020, 2015.

FLOWERS, T. J.; YEO, A. R. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next?. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 22, n. 6, p. 875-884, 1995.

HERNANDEZ, J. A.; CAMPILLO, A.; JIMENEZ, A.; ALARCON, J. J.; SEVILLA, F. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. **New Phytologist**, Lancaster, v. 141, n. 2, p. 241-251, 1999.

JACHETTA, J. J.; APPLEBY, A. P.; BOERSMA, L. Use of the pressure vessel to measure concentrations of solutes in apoplastic and membrane-filtered symplastic sap in sunflower leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 82, n. 4, p. 995-999, 1986.

KAMELI, A.; LÖSEL, D. M. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. **Journal of plant physiology**, Jena, v. 145, n. 3, p. 363-366, 1995.

KIRKHAM, M. B. **Principles of soil and plant water relations**. Academic Press, 2014.

LOHAUS, G.; PENNEWISS, K.; SATTELMACHER, B.; HUSSMANN, M.; HERMANN MUEHLING, K. Is the infiltration- centrifugation technique appropriate for the isolation of apoplastic fluid? A critical evaluation with different plant species. **Physiologia Plantarum**, Helsinki, v. 111, n. 4, p. 457-465, 2001.

MAKSIMOVIĆ, J. J. D.; ŽIVANOVIĆ, B. D.; MAKSIMOVIĆ, V. M.; MOJOVIĆ, M. D.; NIKOLIC, M. T.; VUČINIĆ, Ž. B. Filter strip as a method of choice for apoplastic fluid extraction from maize roots. **Plant Science**, Limerick, v. 223, p. 49-58, 2014.

MARTINEZ-BALLESTA, M. C.; MARTINEZ, V.; CARVAJAL, M. Osmotic adjustment, water relations and gas exchange in pepper plants grown under NaCl or KCl. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 52, n. 2, p. 161-174, 2004.

MEINZER, F. C.; MOORE, P. H. Effect of apoplastic solutes on water potential in elongating sugarcane leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 86, n. 3, p. 873-879, 1988.

MENEGUZZO, S.; NAVARI-IZZO, F.; IZZO, R. NaCl effects on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedlings. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 156, n. 5-6, p. 711-716, 2000.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, cell & environment**, New York, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

NETONDO, G. W.; ONYANGO, J. C.; BECK, E. Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. **Crop Science**, Madison, v. 44, n. 3, p. 797, 2004.

O'LEARY, B. M.; RICO, A.; MCCRAW, S.; FONES, H. N.; PRESTON, G. M. The infiltration-centrifugation technique for extraction of apoplastic fluid from plant leaves using *Phaseolus vulgaris* as an example. **Journal of Visualized Experiments**, Oxford, n. 94, p. e52113-e52113, 2014

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and environmental safety**, Amsterdam, v. 60, n. 3, p. 324-349, 2005.

PATAKAS, A.; NIKOLAOU, N.; ZIOZIOU, E.; RADOGLU, K.; NOITSAKIS, B. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. **Plant science**, Limerick, v. 163, n. 2, p. 361-367, 2002.

SALIENDRA, NICANOR Z.; MEINZER, FREDERICK C. Symplast Volume, Turgor, Stomatal Conductance and Growth in Relation to Osmotic and Elastic Adjustment in Droughted Sugarcane1. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 10, p. 1251-1259, 1991.

SAYYAD-AMIN, P.; BORZOU EI, A.; JAHANSOOZ, M-R. Biochemical responses of sorghum cultivars under salinity at vegetative and reproductive stages. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 20, n. 4, p. 324-332, 2015.

SLAMA, I.; GHNAYA, T.; HESSINI, K.; MESSEDI, D.; SAVOURÉ, A.; ABDELLY, C. Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 10-17, 2007.

SOUZA, M. S. de; ALVES, S. S. V.; DOMBROSKI, J. L. D.; DE FREITAS, J. D. B.; AROUCHA, E. M. M. Comparação de métodos de mensuração de área foliar para a cultura da melancia. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 2, p. 241-245, 2012.

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

SCHULTE, P. J.; HINCKLEY, T. M. A comparison of pressure-volume curve data analysis techniques. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 36, n. 10, p. 1590-1602, 1985.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia do estresse. **Fisiologia vegetal**, v. 4, p. 738-772, 2004.

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

TURNER, N. C. Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. **Irrigation science**, Berlin, v. 9, n. 4, p. 289-308, 1988.

TYREE, M. T.; JARVIS, P. G. Water in tissues and cells. In: **Physiological plant ecology II**, Berlin, p. 35-77, 1982

VOLKMAR, K. M.; HU, Y.; STEPPUHN, H. Physiological responses of plants to salinity: a review. **Canadian journal of plant science**, Ottawa, v. 78, n. 1, p. 19-27, 1998.

WARDLAW, I. F. Consideration of apoplastic water in plant organs: a reminder. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 32, n. 6, p. 561-569, 2005.

WENKERT, W. Measurement of tissue osmotic pressure. **Plant Physiology**, Rockville, v. 65, n. 4, p. 614-617, 1980.

WIN, K. T.; AUNG, Z. O.; HIRASAWA, T.; OOKAWA, T.; YUTAKA, H. Genetic analysis of Myanmar Vigna species in responses to salt stress at the seedling stage. **African Journal of Biotechnology**, Ebène, v. 10, n. 9, p. 1615-1624, 2011.

XIN, Z. H. A. O.; YONG, S. H. I.; YANG, L. I. U.; RONG-LIANG, J. I. A.; XIN-RONG, L. I. Osmotic adjustment of soil biocrust mosses in response to desiccation stress. **Pedosphere**, Beijing, v. 25, n. 3, p. 459-467, 2015.

YEO, A. R. Physiological criteria in screening and breeding. In: **Soil Mineral Stresses**, Berlin, p. 37-59, 1994

ZHOU, Q.; YU, B. J. Accumulation of inorganic and organic osmolytes and their role in osmotic adjustment in NaCl-stressed vetiver grass seedlings. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 56, n. 5, p. 678-685, 2009.

3 TROCAS GASOSAS, FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA E PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS EM FEIJÃO-CAUPI E SORGO IRRIGADOS COM ÁGUA SALINA

RESUMO

Investigações sobre respostas fisiológicas e morfológicas em plantas sob estresse abiótico são ferramentas importantes para identificar níveis de tolerância. Um dos principais fenômenos que responde ao estresse salino é a fotossíntese, ao mesmo tempo que está envolvido diretamente no crescimento vegetal. Nesse sentido, esse trabalho teve como objetivo avaliar a concentração das clorofilas a (Cl(a)); e b(Cl(b)) ; a cinética da fluorescência da clorofila a, e seu efeito na eficiência do fotossistema II; fotossíntese líquida (A); condutância estomática (gs) e transpiração (E) em *Sorghum bicolor* (sorgo) e *Vigna unguiculata* (feijão-caupi) sob estresse salino. O estudo foi conduzido em ambiente protegido localizado no Departamento de Agronomia (DEPA) da sede da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso, com sete tratamentos (concentrações de NaCl de 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹) e cinco repetições. Foram utilizados vasos de 10L para ambas as culturas e o experimento durou 48 dias nas plantas de caupi e 40 dias nas plantas de sorgo. Observou-se diferenças entre os dados de teores de Cl(a) e Cl(b) em sorgo e em caupi, os pigmentos reduziram com o aumento da salinidade tanto no sorgo como no caupi. Enquanto os dados de fluorescência apontaram para redução da eficiência do fotossistema II com o aumento das concentrações de NaCl no caupi, no sorgo esse parâmetro foi pouco afetado. Quanto as trocas gasosas, tanto o sorgo como o caupi tiveram os valores de A, gs e E reduzidos.

Palavras-chave: Salinidade. Fotossíntese. Estresse.

GAS EXCHANGES, FLUORESCENCE OF CHLOROPHYLL AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN CAUPI BEANS AND SORGHUM IRRIGATED WITH SALINE WATER

ABSTRACT

Investigations on physiological and morphological responses in stress plants are important tools for identifying tolerance levels. One of the main phenomena that responds to saline stress is a photosynthesis, even though it is directly involved in plant growth. In this sense, this work had as objective to evaluate the concentration of chlorophyll a (Cl (a)); Eb (Cl (b)); The kinetics of chlorophyll a fluorescence, and its effect on the efficiency of photosystem II; Liquid photosynthesis (A); Stomatal conductance (gs) and transpiration (E) in Sorghum bicolor (sorghum) and Vigna unguiculata (cowpea) under salt stress. The Department of Agronomy (DEPA) of the headquarters of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). A randomized block design with seven treatments (NaCl concentrations of 0, 10, 20, 40, 60, 80 and 100 mmol L⁻¹) was used and five replicates. Ten L pots were used for the cultures and the experiment lasted 48 days in the caution plants and 40 days in the sorghum plants. Observing the differences between the Cl (a) and Cl (b) data in sorghum and cowpea, the pigments reduced with increasing salinity in both sorghum and cowpea. While the fluorescence data pointed to the reduction of the yield of photosystem II with increasing concentrations of NaCl in cowpea. In sorghum this parameter was not affected. About gas exchange, sorghum and cowboy had the values of A, gs and E reduced.

Keywords: Salinity. Photosynthesis. Stress.

3.1 Introdução

Estima-se que 20% das terras utilizadas na agricultura no mundo e quase 50% das terras agrícolas irrigadas sejam afetadas pela salinidade do solo (DEVKOTA et al., 2015). Em relação à resposta das plantas a salinidade, critérios fisiológicos são capazes de fornecer de forma direta informações mais confiáveis que os critérios meramente relacionados à produção no campo (YEO, 1994). Desse modo, estudos que abordem variáveis relacionadas com a fotossíntese são de grande relevância para pesquisas que tratam da resposta dos vegetais aos estresses abióticos, como a salinidade e a seca.

Em solos salinos o potencial osmótico mais reduzido pela presença de sais na solução do solo reduz a disponibilidade de água para as plantas e conseqüentemente a extração de água e de nutrientes, mesmo em situações de alto conteúdo de água no solo em potenciais mátricos próximos aos da capacidade de campo. Por este motivo parte das respostas fisiológicas do estresse salino são similares ao estresse hídrico.

Em outra frente ocorrem alterações na taxa fotossintética em virtude da presença em alta concentração de íons tóxicos principalmente de cloro (Cl^-) e sódio (Na^+). Alguns autores observaram que quando acumulados nos cloroplastos esses íons em excesso danificam a membrana dos tilacoides (OMOTO et al., 2010; TAYEF; NASRABADI, 2011). Mittal et al. (2012) também afirmam que o transporte de elétrons e a fosforilação são processos que podem ser afetados pelo aumento da concentração de íons salinos no tecido vegetal.

Por essa razão o aumento da concentração de sais na solução do solo interfere consideravelmente no processo de fotossíntese, pois promove danos em estruturas de organelas do cloroplasto e reduz a concentração de pigmentos fotossintetizantes (PAN et al., 2011). Além disso a exposição das plantas a contextos de menor disponibilidade de água (como em ambientes afetados por sais) repercutem em uma resposta adaptativa de redução da transpiração. Esse é um mecanismo de proteção a desidratação resultante da redução da condutância estomática (g_s). A g_s também é responsável pela aquisição de CO_2 atmosférico usado na fotossíntese, por isso em resposta ao estresse salino a redução da transpiração geralmente está associada a reduções nas taxas de fotossíntese (A). Por essa razão a avaliação de trocas gasosas oferece informação importante para a

compreensão dos efeitos da salinidade.

A clorofila presente na folha como um grupo proteico de pigmentos no fotossistema II (PSII) e do fotossistema I (PSI) atua no complexo de coleta de luz associado a cada um desses centros de reação. Em estresse salino, as alterações induzidas no conteúdo de clorofila estão associadas à diminuição da biossíntese do pigmento, resultado de sua degradação acelerada causada pela toxidez iônica (AKRAM; ASHRAF, 2011). Desse modo, respostas nos teores de clorofila a são indicativos de danos no aparelho fotossintético das plantas, mais relacionada ao efeito tóxico da salinidade que ao seu efeito osmótico.

Condições abióticas relacionadas à salinidade podem comprometer o PSII por meio de danos causados às membranas dos tilacoides implicando em redução da eficiência da fotossíntese (BAKER; ROSANQVIST, 2004).

A diminuição da fotossíntese em altas salinidades resulta de prejuízos em sua capacidade bioquímica e as quais tem consequências fotoquímicas (SOBRADO, 2005). Isso ocorre devido a uma inibição (síntese ou atividade) de várias enzimas relacionadas com a fotossíntese, tais como a Rubisco (RIVELLI et al., 2002). A redução da síntese de tais enzimas reduz a capacidade de processamento dos fotossistemas (I e II), visto que o transporte de elétrons é prejudicado, assim mesmo mantendo-se a quantidade de energia que incide sobre as plantas, quantidades cada vez menores do total de energia incidente é processada, seu excesso acaba excitando de forma excessiva os pigmentos fotossintetizantes, principalmente a clorofila (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Assim, quando a quantidade de energia que atinge o aparato de absorção de luz supera a capacidade de processamento de seus centros de reação há uma sobrecarga, as moléculas de clorofila se excitam de forma excessiva, e isso pode resultar na formação de radicais livres que podem causar degradação irreversível do aparato fotossintético (MAXWELL; JOHNSON, 2000).

Por isso, muitos autores (MAXWELLE; JOHNSON, 2000; MURCHIE; LAWSON, 2013) afirmam que a redução na eficiência quântica resulta de mecanismos de proteção que evitam que essa sobrecarga ao dissipar parte da energia que incide sobre a folha na forma de calor. Nesse sentido, a análise da eficiência quântica do PSII (Ph) e da dissipação de calor pelo quenching não fotoquímico (NPQ) são de grande valia para se entender o efeito da salinidade na capacidade de plantas em converterem energia captada da luz em energia química (MURCHIE; LAWSON, 2013).

Além do conteúdo de pigmentos fotossintetizantes, ferramentas não destrutivas que avaliem o estado fotossintético das plantas submetidas a estresses abióticos são de grande relevância. A fluorescência da clorofila *a* e as de trocas gasosas são dois parâmetros que possibilitam isso (ZANANDREA et al., 2006; SUASSUNA et al., 2011).

Parâmetros relacionados a fotossíntese, no entanto, mostram respostas diferentes em plantas expostas a diferentes níveis de salinidade, e variam entre espécies e até dentro de uma mesma espécie. Outro aspecto que causa variação é a duração do período de exposição ao tratamento. Portanto faz-se necessário um mapeamento de respostas de parâmetros relacionados à fotossíntese em diversas condições e espécies.

Esse trabalho visou avaliar a resposta à salinidade de duas culturas de grande impacto na segurança alimentar mundial, e de boa adaptabilidade a ambientes semiáridos, sujeitos a salinização, o Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e o Feijão Caupi (*Vigna unguiculata*). Para tanto foram utilizados parâmetros que permitiram avaliar o efeito da salinidade sobre aspectos fisiológicos relacionados a fotossíntese tais como, a concentração das clorofilas *a* e *b*; a cinética da fluorescência da clorofila *a*, e seu efeito na eficiência do fotossistema II; e variáveis da dinâmica da troca de gases como a fotossíntese líquida (*A*); condutância estomática (*gs*) e transpiração (*E*).

3.2. Material e Métodos

3.2.1 Localização, caracterização da área experimental e montagem do experimento

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, por um período de 48 dias no feijão-caupi e 55 dias no sorgo.

Para condução do experimento foi coletado um solo classificado com Neossolo Flúvico (EMBRAPA, 2013) na profundidade de 0-30cm na Zona Rural do Município de Pesqueira – PE. O local está localizado na fazenda Nossa Senhora do Rosário, cujas coordenadas são 8° 34'11" de latitude sul e 37°48'54" de longitude oeste e situa-se a 630 m acima do nível do mar. De acordo com a classificação de Köppen, o clima dessa região é BSh (extremamente quente e semiárido), com uma

precipitação média anual total de 730 mm e evapotranspiração média anual de referência de 1.683 milímetros.

Após a coleta o solo foi transportado para a UFRPE onde foi seco ao ar, homogeneizado, destorroado e passado em peneira de 4 mm de abertura de malha, para manutenção dos microagregados do solo.

Para a caracterização química (Tabela 1) e física (Tabela 2) do solo foram usadas amostras deformadas, passadas em peneira de malha de 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). Para a determinação da curva de retenção de água do solo (Tabela 2) foi usado o material peneirado a 4mm, pois dessa forma a densidade no solo na confecção da curva era correlata a usada no cultivo.

Tabela 1- Características químicas do extrato de saturação e do complexo Sortivo do solo utilizado para o cultivo do sorgo e do feijão-caupi sob diferentes níveis de salinidade

Extrato de Saturação*							
pHes	CE ($dS m^{-1}$)	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl^-	RAS
-----mmol L^{-1} -----							
7,3	3,36	13,51	2,13	9,12	8,63	25,47	4,54
Complexo Sortivo**							
pH (1:2,5)	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	H^+	(SB)	PST (%)
-----cmol _c kg^{-1} -----							
6,75	1,65	1,2	4,35	3,14	1,54	10,34	15,96

CE= Condutividade Elétrica; SB= Soma de Bases; PST= Porcentagem de Sódio Trocável; RAS = Relação de adsorção de Sódio*(Richards, 1954; **EMBRAPA, 1997).

Tabela 2- Características físicas solo utilizado para o cultivo do sorgo e do feijão-caupi sob diferentes níveis de salinidade

Areia	Silte	Argila	ADA	Ds	Dp	GF	GD	PT	CC	PMP
-----g kg^{-1} -----		-----g cm^{-3} -----			-----%-----			U (%)		
433,09	466,04	100,87	50,4	1,37	2,63	50	50	48	19,1	8,1

ADA= Argila Dispersa em Água; GF= Grau de Flocculação; GD= Grau de Dispersão; PT= Porosidade Total; CC = Capacidade de campo; PMP = Ponto de murcha permanente; U(%) Umidade gravimétrica (EMBRAPA, 1997).

3.2.2. Cultivar e semeio

As cultivares IPA 2502 (sorgo) e cultivar IPA 206 (feijão-caupi) foram adotadas para o cultivo, foram semeadas quatro sementes por vaso, sendo posteriormente realizado desbaste, quando foram mantidas apenas duas plantas por vaso, selecionando os exemplares mais vigorosos e saudáveis.

3.2.3 Confeção das águas e manejo hídrico

O cultivo foi realizado em vasos de 10 litros. O solo foi mantido a 65% da capacidade de pote, em uma umidade de 19% em base de massa, equivalente ao potencial mátrico de 0,01Mpa (capacidade de campo do solo). A água perdida por evapotranspiração foi medida diariamente por pesagem dos vasos ao fim da tarde, para manutenção da umidade pré-estabelecida. Para irrigação foram confeccionadas águas com as concentrações de 0 (Testemunha), 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl. A reposição de água se dava com auxílio de uma proveta.

3.2.4 Cinética da fluorescência da clorofila a

A fluorescência da clorofila foi determinada com um fluorômetro portátil (Modelo Fluorpen FP 100) em folhas não destacadas, saudáveis e totalmente expandidas da região do terço médio. Foram avaliadas folhas expostas ao sol e folhas adaptadas ao escuro selecionando-se sempre uma única folha (a mesma usada nas análises de trocas gasosas e de teores de clorofila) por planta aos 40 e 46 dias após o semeio no sorgo e feijão-caupi respectivamente.

Para avaliar as folhas adaptadas ao escuro realizou-se o procedimento de pinçamento de uma região circular da folha (impedindo o acesso da luz ao local de determinação da fluorescência) por um período de 30 minutos. Esse procedimento é importante por promover a abertura dos centros de reação do PSII, ou seja, condição em que todos os receptores primários encontram-se oxidados e para que a perda de calor fosse mínima.

Realizou-se então as leituras de fluorescência antes e após o procedimento de pinçamento. Determinando assim a fluorescência inicial em plantas adaptadas a luz (F_o'), Fluorescência máxima em plantas adaptadas a luz (F_m'), fluorescência inicial em plantas adaptadas ao escuro (F_o) e Fluorescência máxima em plantas adaptadas ao escuro (F_m).

A fluorescência inicial (F_o e F_o') foram determinadas a partir da incidência de

um pulso de luz modulada de baixa intensidade ($< 0,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para não repercutir em influências na fluorescência variável (MURCHIE; LAWSON, 2013).

A fluorescência máxima (F_m e F_m') foram obtidas a partir da incidência de um pulso de luz saturante 0,3s de duração. A F_v foi determinada pela diferença entre F_o e F_m (MURCHIE; LAWSON, 2013). De modo que:

$$F_v = F_o - F_m$$

A partir dos resultados de F_v e F_m obteve-se a relação F_v/F_m , sendo essa relação considerada a eficiência quântica do fotossistema II (Ph), onde:

$$Ph = F_v/F_m.$$

A partir dos resultados de F_m e F_m' foi calculado o Quenching não fotoquímico (NPQ), conforme equação abaixo. Considerando que no escuro o ciclo bioquímico da fotossíntese é desativado o mecanismo de proteção do complexo proteico de pigmentos não opera e, portanto, não há liberação do excesso de energia na forma de calor, por isso em plantas adaptadas no escuro essa perda é considerada igual a 0. Como em plantas adaptadas a luz a fotossíntese está em completa atividade, ocorre perdas pelo calor. Desse modo F_m' é menor que F_m , e a diferença representa a dissipação do excesso de energia que o aparato fotossintético não consegue processar (MURCHIE; LAWSON, 2013).

$$NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$$

3.2.5 Teores das clorofilas a e b

O teor de clorofila a, clorofila b foi determinado após a extração com etanol P.A. Por ocasião da coleta, folhas de plantas de sorgo e caupi sadias e completamente expandidas foram coletadas no terço médio da planta.

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

As folhas coletadas foram lavadas, secas a temperatura ambiente e tiveram a nervura central removida manualmente. Em seguida foram maceradas em cadinho, sendo posteriormente realizada pesagem do tecido vegetal, valores próximos a 0,1g (os valores exatos foram anotados e usados na equação de determinação dos

teores).

Para extração dos pigmentos utilizou-se 10 mL de etanol a P.A. O material ficou acondicionado em geladeira por 48 h até ocasião da leitura de sua densidade óptica em fotocolorímetro na faixa de absorbância de 665 e 649.

As concentrações de clorofila a (CII a) e b (CII b) foram obtidas através das equações propostas por Ritche (2006)

3.2.6 Trocas gasosas

A avaliação da performance ecofisiológica das trocas gasosas das plantas de sorgo e caupi foi realizada medindo-se a condutância estomática (gs), a taxa fotossintética líquida (A), a transpiração (E), e a concentração interna de CO₂ (C_i) por meio de um Analisador Portátil de Gás Infravermelho (IRGA), modelo LICOR Li-6400. Para perceber o efeito desse parâmetros antes e após o tratamento foram realizadas duas leituras, a primeira aos 15 dias após o semeio, um dia antes do início do tratamento com concentrações crescentes de NaCl (aos 15 dias após o semeio); e aos 40 dias no sorgo e aos 46 dias no caupi, ao fim do tratamento salino em ambas as culturas. As avaliações das trocas gasosas foram realizadas entre às 8h e 12h, como o aparato da câmara de luz não foi usado, em dias de sol pleno (sem nuvens).

3.2.7. Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com sete tratamentos, correspondentes aos níveis de salinidade (0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mmol L⁻¹ de NaCl) e cinco repetições, totalizando 35 unidades experimentais para cada cultura teste. Os dados tiveram sua normalidade verificada pelo teste de Kolgomorov-Smirnov. Quando necessário foram realizadas exclusão de outliers e transformação de dados. Após esse procedimento os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Também foram realizados testes de correlação.

3.3. Resultados e Discussão

3.3.1 Conteúdo de pigmentos fotossintetizantes

Em feijão-caupi houve redução significativa da concentração de clorofila a (Cla) com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação a partir do quarto

nível de concentração (40 mmol L⁻¹ de NaCl). As maiores concentrações do pigmento foram observadas no nível controle 0, 10 e 20 mmol L⁻¹ de NaCl com valores de 0,89, 0,92 e 0,83 mg g⁻¹ MF (Tabela 3). A menor concentração do pigmento foi observada no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl com valor de 0,54 mg g⁻¹MF (Tabela 3).

Tabela 3- Efeito do cloreto de sódio (NaCl) no conteúdo de clorofila a (Cl(a)) e clorofila b(Cl(b)) do sorgo e do caupi

NaCl (mmol L ¹)	Cl (a) (mg g ⁻¹ MF)	Cl (b) (mg g ⁻¹ MF)	Cl (a) (mg g ⁻¹ MF)	Cl (b) (mg g ⁻¹ MF)
	-----Sorgo-----		-----Caupi-----	
0	1,66 a	0,31a	0,89a	0,35a
10	1,64 a	0,31a	0,92a	0,36a
20	1,61 a	0,30a	0,83a	0,32a
40	1,57ab	0,29a	0,56b	0,31a
60	1,23bc	0,18b	0,55b	0,21b
80	1,08 c	0,18b	0,52b	0,23b
100	1,09 c	0,16b	0,54b	0,22b
F	10,81**	8,27**	16,09**	12,97**
CV(%)'	12,83	21,81	14,62	13,94

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Quanto a Cl (b) em feijão-caupi houve comportamento similar ao da Cl(a) com redução significativa na concentração desse pigmento com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação. A redução, no entanto, só foi significativa a partir do nível de 60 mmol L⁻¹ de NaCl. As maiores concentrações de Cl (b) foram observadas nos níveis controle, 10, 20 e 40 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 3), com valores de 0,34; 0,36; 0,32 e 0,31 mg g⁻¹ MF respectivamente. Já as menores concentrações do pigmento foram observadas nos tratamentos 60, 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl, com valores de 0,21, 0,23 e 0,22 mg g⁻¹ MF respectivamente (Tabela 3).

Em sorgo também houve redução significativa da concentração de Cl (a) com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação, essa redução só foi percebida a partir do nível de 60 mmol L⁻¹ de NaCl. A maior concentração do pigmento foi observada no controle com valor de 1,66 mg g⁻¹ MF (Tabela 3). As menores concentrações do pigmento foram observadas nos tratamentos de 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl, com valores de 1,08 e 1,09 mg g⁻¹MF respectivamente.

Quanto a Cl (b) do sorgo foi notada redução significativa com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação ao nível de 60 mmol⁻¹ de NaCl. O nível em que se percebeu a maior concentração desse pigmento foi o controle com valor de 0,31 mg g⁻¹ MF (Tabela 3). A menor concentração observada foi de 0,16 mg g⁻¹ MF no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 3).

O teor de pigmentos fotossintetizantes em folhas é um parâmetro em que há pouco consenso na literatura para as culturas estudadas (sorgo e caupi). Os estudos sobre teores de pigmentos em plantas de caupi e sorgo tem apontado variação nos resultados apresentados, tem sido notado três respostas distintas: redução, aumentando e manutenção dos teores de Cl(a) e Cl(b) com o aumento da concentração de NaCl (CHA-UM et al., 2013; EL-OMARI; NHIRI, 2015; THIAM et al., 2013). Os resultados do presente estudo encontram similaridades com alguns estudos.

Cha-Um et al. (2013) realizaram um estudo comparando duas espécies de Fabaceae (*Vigna unguiculata* (caupi) e *Canavalia ensiformis* (feijão-de-porco)) em níveis crescentes de NaCl: 0, 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹. Assim como no presente estudo, os autores observaram decréscimo nos valores de Cl (a) e Cl (b) em ambas as espécies. Em seu trabalho, em Cl (a) no caupi observaram valores de 0,828, 0,588 e 0,538 mg g⁻¹ MF nos tratamentos 0, 50 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl respectivamente, percebendo diferença entre os níveis de Cl (a) a partir do nível de 50 mmol L⁻¹ de NaCl, esses valores se enquadram no observado no presente estudo (Tabela 3).

Ainda no caupi, em Cl(b) observaram valores de 0,605, 0,577 e 0,442 mg g⁻¹ MF nos tratamentos 0, 50 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl respectivamente, notando diferença entre os níveis de Cl(b) apenas ao nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl. Os valores de Cl(a) e Cl(b) observados por Cha-Um et al. (2013) foram diferentes do observado no presente trabalho (tabela 3). Entretanto seu comportamento foi similar, visto que ocorreu redução dos teores de ambos os pigmentos com o incremento da concentração de NaCl na água de irrigação.

Por outro lado, outros trabalhos observaram resultados diferentes, a exemplo de Mahamadou et al. (2013) que ao estudarem a resposta de linhagens de caupi ao aumento da concentração de NaCl em duas linhagens de caupi (Yacine e a 58-191). Observou-se redução nos teores de Cl (a) no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl e manutenção da Cl (b) de Yacine em todos os tratamentos. Já na variedade 58-191

só foi percebida redução da Cl(a) ao nível de 200 mmol L⁻¹ de NaCl, e não sendo também notada diferença nos teores de Cl(b).

Sayyad-Amin et al. (2016) realizaram um estudo sobre pigmentos fotossintetizantes em espécies de sorgo forrageiro (cultivar Pegah) e granífero (cultivar Kima) submetendo-os a cinco níveis crescentes concentração de NaCl na água de irrigação (0, 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹ de NaCl) em diferentes estádios fenológicos. Nesse estudo os resultados observados foram similares ao do presente trabalho, pois houve redução da Cl(a) e Cl(b), ocorrendo redução significativa do conteúdo de ambos os pigmentos desde o nível de 50 mmol L⁻¹ de NaCl, tanto no estágio vegetativo como no estágio reprodutivo em ambas as cultivares.

Por outro lado, El-Omari e Nhiri (2015) com comportamento diferente sobre respostas adaptativas ao estresse salino provocado por NaCl em sorgo no que tange aos teores de pigmentos fotossintetizantes. Os autores observaram o conteúdo de Cl (a) e Cl (b) em quatro níveis de concentração de NaCl na água de irrigação (0, 50, 100 e 150 mmol L⁻¹ de NaCl). Nesse trabalho observou-se que os teores de pigmentos fotossintetizantes Cl (a) e Cl(b) aumentaram com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação. Os autores justificaram esse resultado embasados na variação entre espécies em níveis de tolerância à salinidade, sugerindo que o aumento da concentração de pigmentos fotossintetizantes com o aumento da concentração de NaCl, se relaciona a tolerância do sorgo à salinidade.

Visto que tanto na espécie de sorgo como em caupi há uma considerável amplitude de respostas divergentes quanto aos teores de pigmentos fotossintéticos, parte dessa discrepância pode ser explicada além da variação do nível de tolerância entre espécies, devido a ampla variabilidade gênica no tocante à tolerância a salinidade dentro de uma mesma espécie.

Além disso, a variação nos resultados em estudos sobre teores de pigmentos fotossintéticos entre espécies e mesmo dentro de uma mesma espécie apontam para a necessidade de não se observar esse parâmetro de forma isolada, mas sim contextualizá-lo de forma associada a outros, a exemplo da fluorescência da clorofila a.

Outro aspecto a ser notado é que as concentrações de Cl (a) foram maiores que os teores de Cl (b) independente do tratamento ou cultura envolvida. Isso ressalta que a Clorofila (a) exerce maior captação de energia luminosa do que a

clorofila (b), sendo esta última considerada um pigmento acessório (TAIZ; ZEIGER 2013).

3.3.2 Cinética da fluorescência do fotossistema II (PSII) em caupi

O aumento da concentração de NaCl na água de irrigação promoveu o aumento da fluorescência inicial (F_o) em plantas de caupi nos dois tratamentos com níveis mais elevados de NaCl (80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl). No tratamento controle foi observado o menor valor de F_o , o maior valor de F_o foi observado no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 4). Além disso com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação houve redução de F_m apenas no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 4).

Tabela 4- Efeito do cloreto de sódio (NaCl) na fluorescência da clorofila do caupi

NaCl (mmol L ⁻¹)	F_o	F_m	NPQ	Ph (u.r)
0	6765b	38194 a	0,54 c	0,823 a
10	7068b	36769ab	0,54 c	0,808ab
20	7408b	36605ab	0,63 c	0,797ab
40	7671b	36318ab	0,63 c	0,788ab
60	7811b	35319ab	0,69bc	0,778 b
80	9423a	33920ab	0,92ab	0,723 c
100	9630a	33497 b	1,03 a	0,713 c
F	14,88**	3,04*	12,47**	29,16**
CV(%)'	8,17	5,97	17,00	2,25

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. F_o = Fluorescência inicial (adaptado no escuro); F_m = Fluorescência máxima (adaptado no escuro); NPQ = Quenching (dissipação) não-fotoquímico, equivale a $(F_m - F_m')/F_m'$ em que F_m' = Fluorescência máxima (no claro); F_v/F_m = Eficiência quântica do Fotossistema II (Ph); F_v = incremento na fluorescência, equivale a $F_o - F_m$

Aragão et al. (2005) compararam a resposta do aumento da concentração de NaCl na água de irrigação na cinética da fluorescência em duas variedades de caupi que diferiam na capacidade de sobrevivência em ambientes salinos, Vita 3, uma cultivar mais tolerante e Vita 5, uma cultivar mais sensível. Para tanto utilizaram dois tratamentos, um nível controle, 0 mmol L⁻¹ de NaCl, e adicionando-se 100 mmol L⁻¹ de NaCl na solução nutritiva. O comportamento de Vita 3 foi de redução do valor de F_o e aumento de F_m com a adição de NaCl. Por sua vez o comportamento de Vita 5 foi inverso, ocorrendo o aumento de F_o e redução de F_m com o aumento da

concentração de NaCl. O comportamento da cultivar IPA 206 foi similar à Cultivar Vita 5, como pode ser observado na Tabela 4.

Em plantas de caupi o Quenching não-fotoquímico (NPQ) observado aumentou conforme a elevação na concentração de NaCl na água de irrigação a partir do tratamento de 60 mmol L⁻¹ de NaCl. No tratamento controle foi observado NPQ de 0,54, sendo esse o menor valor observado (Tabela 4). O maior valor foi observado no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl em que NPQ foi de 1,03 (Tabela 4).

Em plantas de caupi a eficiência quântica do Fotossistema II (Ph) diminuiu com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação. Notou-se diferença também a partir do tratamento de 60 mmol L⁻¹. No tratamento controle foi observado Ph de 0,823 sendo esse o maior valor observado (Tabela 4). O menor valor foi observado no tratamento de 100 mmol L⁻¹.

Cha-Um et al. (2013) também observaram aumento do NPQ e redução de Ph com o aumento do estresse provocado por NaCl em plantas de caupi. O aumento de NPQ foi notado de forma significativa apenas a partir do nível de 150 mmol L⁻¹ e em Ph a redução só foi percebida a partir do nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl na água de irrigação.

Sousa et al. (2011) em trabalho com caupi submetido a quatro concentrações de NaCl na água de irrigação (0, 50, 100, e 200 mmol L⁻¹ de NaCl) também observaram aumento de NPQ a partir do tratamento de 50 mmol L⁻¹ de NaCl. No entanto não perceberam variação significativa de Ph com o tratamento salino, atribuindo tal resultado a resistência da cultivar de caupi usada em seu trabalho.

As diferenças nos resultados encontrados por Cha-Um et al. (2013), Sousa et al. (2011) e o presente estudo apontam para especificidades para cada cultivar de caupi em relação a eficiência do PS II. Tendo em vista que os resultados Fo e Fm (tabela 5) observados para a cultivar utilizada no presente estudo (IPA 206) tenham se assemelhado ao resultado da cultivar Vita 5 (mais sensível) em Aragão et al. (2005), é possível que o aumento de NPQ e redução de Ph em concentrações inferiores às observadas por Cha-Um et al. (2013) resultem da maior sensibilidade da cultivar IPA 206 em relação a cultivar observada por Cha-Um et al. (2013).

3.3.2 Cinética da fluorescência do fotossistema II (PSII) em sorgo

Notou-se decréscimo de Fo a partir do tratamento com 40 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 5). Além disso o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação

resultou em redução de Fm em plantas de sorgo, sendo a diferença percebida desde o tratamento de 20 mmol L⁻¹ de NaCl na água de irrigação tornando-se mais pronunciada a partir da concentração de 60 mmol L⁻¹ de NaCl (Tabela 5).

Tabela 5- Efeito do cloreto de sódio (NaCl) na fluorescência da clorofila do sorgo

NaCl (mmol L ¹)	Fo	Fm	NPQ	Ph (u.r)
0	7438 a	33995 a	0,37a	0,781a
10	6963ab	32797ab	0,42a	0,788a
20	6801ab	31205bc	0,38a	0,782a
40	6704 b	30936bc	0,36a	0,783a
60	6840ab	30573 c	0,35a	0,779a
80	6664 b	29776 c	0,38a	0,776a
100	6578 b	29157 c	0,36a	0,774a
F	4,03**	13,06**	0,91ns	0,67ns
CV(%)'	4,65	3,34	15,41	1,68

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fo = Fluorescência inicial(adaptado no escuro); Fm = Fluorescência máxima(adaptado no escuro); NPQ = Quenching(dissipação) não-fotoquímico, equivale a (Fm-Fm')/Fm' em que Fm' = Fluorescência máxima(no claro); Fv/Fm = Eficiência quântica do Fotossistema (Ph) II; Fv = incremento na fluorescência, equivale a Fo-Fm

Sharma e Hall (1992) realizaram um estudo sobre a resposta de sorgo (cultivar R109 A) a salinidade em que observaram as respostas de fluorescência da clorofila a sob quatro concentrações de NaCl na água de irrigação (0, 50, 100 e 200 mmol L⁻¹ de NaCl), notou-se redução de Fo a partir do nível de 50 mmol L⁻¹ de NaCl. Também foi percebida redução de Fm a partir do nível de 50 mmol L⁻¹ de NaCl, comportamento similar ao da cultivar estudada no presente estudo (Tabela 5).

O valor F₀ representa a emissão de luz pelas moléculas de Cl (a) excitadas antes da energia ser dissipada para o centro de reação do PSII e PSI (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Desse modo F₀ aumenta quando os centros de reação do PSII estão comprometidos, ou quando a transferência da energia de excitação da antena para os centros de reação for prejudicada (GUO et al., 2015). O aumento de Fo com o aumento da concentração de NaCl no caupi e redução no sorgo são indicativos da diferença do dano causado pelo estresse de NaCl no PSII em cada cultura.

Em plantas de sorgo o NPQ e Ph não apresentaram diferença estatística em resposta ao tratamento de acréscimo na concentração de NaCl na água de irrigação (Tabela 5). Os valores médios foram da ordem de 0,37 e 0,78 para todas as concentrações de NaCl para NPQ e Ph, respectivamente.

Até o limite de 100 mmol L⁻¹, Netondo et al. (2004) também não perceberam alterações em NPQ e Ph nas duas cultivares de sorgo (Serena e Seredo). As diferenças só foram notadas a partir do nível de 250 mmol L⁻¹ de NaCl, quando aconteceu redução de Ph e aumento do NPQ.

O NPQ é um processo foto-protetor que remove o excesso de energia que atinge o complexo proteico de clorofila e evita a formação de radicais livres degradantes. Nesse sentido age como um aparato de segurança suavizando excitação energética excessiva da clorofila. Quanto maior a capacidade da planta de realizar fotossíntese, mais energia seu complexo coletor é capaz de absorver e conseqüentemente menores são as perdas por calor representando um menor NPQ (MURCHIE; LAWSON, 2013). O aumento do NPQ no caupi e a manutenção do NPQ no sorgo (com o aumento da concentração salina), apontam para as diferenças da capacidade de processar a luz em energia em ambientes estressantes como no contexto de aumento da concentração de NaCl sofrido pelas espécies de caupi e sorgo no presente estudo.

O incremento da fluorescência de Fo até Fm é a fluorescência variável (Fv). Essa indica o fluxo de elétrons no PSII até o centro de reação (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Quando se observa a relação entre Fv e Fm ($Ph = Fv/Fm$) é possível notar quanto a variação da fluorescência se aproxima da fluorescência máxima, ou seja, observa a eficiência quântica do fotossistema, de modo que quanto mais próximo o valor de Fv ao valor de Fm, mais próximo a planta está de seu estado ótimo de realização de fotossíntese (MURCHIE; LAWSON, 2013). Por isso aumentos em Fo e reduções em Fm refletem impactos negativos no aparato fotossintetizante.

Essa relação tem permitido que Ph tenha sido usado como um indicador sensível à performance fotossintética de plantas. Valores entre 0,75 e 0,83 são esperados na maioria das espécies de plantas superiores em uma situação livre de estresses. O decréscimo de Ph no caupi e a manutenção no sorgo com um aumento das concentrações de NaCl corroboram as constatações já observadas em Fo, Fm e NPQ apontando para as diferenças entre as duas espécies sobre o efeito do aumento da salinidade (nesse caso específico do NaCl) em sua eficiência na realização de fotossíntese.

As respostas nos parâmetros de cinética da fluorescência do PSII indicam um comportamento de maior tolerância do sorgo às condições de salinidade provocadas pelo NaCl. Esse resultado encontra respaldo no fato de o sorgo ter um mecanismo

de exclusão de íons tóxicos nas bainhas das folhas (NETONDO et.al, 2004), enquanto no caupi não foi relatado qualquer mecanismo de exclusão de íons tóxicos.

3.3.3 Dinâmica das trocas gasosas

3.3.3.1 Trocas gasosas do caupi

Aos 46 dias após o semeio a fotossíntese líquida (A) foi de $17,3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para o tratamento controle (0 mmol L^{-1}), levando em conta o desvio padrão esse valor foi similar ao valor médio de A observado antes do início do tratamento salino aos 15 dias após o semeio ($24 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$). O menor valor observado foi ao nível de 100 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação, cujo valor de A observado foi de $3,6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Figura 1). Com o aumento das concentrações de NaCl notou-se reduções de 6,9%, 12%, 54%, 62%, 76% e 79% dos valores de A para os níveis de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L^{-1} de NaCl em relação ao tratamento controle (Figura 1).

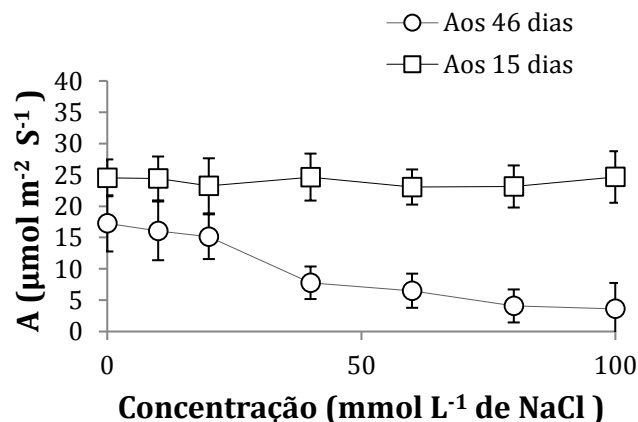


Figura 1 – Taxa de fotossíntese (A) antes (aos 15 dias) e depois (aos 46 dias) do aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação em caupi, as barras representam o desvio padrão das médias

Cha-Um et al. (2013) também observaram reduções nos valores de A com o aumento da concentração de NaCl. No tratamento controle eles observaram A de $14 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, no tratamento de 50 e 100 mmol L^{-1} de NaCl observaram valores de $5,2$ e $1,3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivamente. Portanto os valores de A encontrados por CHA-UM et al (2013) foram similares ao observados no presente estudo. Ainda que em termos absolutos tenham sido sensivelmente menores, em termos relativos a redução equivalente em cada concentração de NaCl foi similar visto que eles notaram em 50 mmol L^{-1} de NaCl A 62% menor que o controle e 90 % menor que o

controle ao nível de $100 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, valores muito próximo ao observado na Figura 1.

Aos 46 dias o nível controle do caupi apresentou o valor de condutância estomática (gs) mais elevado, $0,25 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Levando em conta o desvio padrão, esse valor foi similar ao valor médio de gs observado antes do início do tratamento salino aos 15 dias após o semeio ($0,32 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). O menor valor observado foi de $0,05 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para o tratamento de 100 mmol L^{-1} de NaCl (Figura 2). Com o aumento das concentrações de NaCl observaram-se reduções de 4,6%, 3,1%, 40%, 62%, 79% e 79% dos valores de gs para os níveis de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L^{-1} de NaCl em relação ao nível controle.

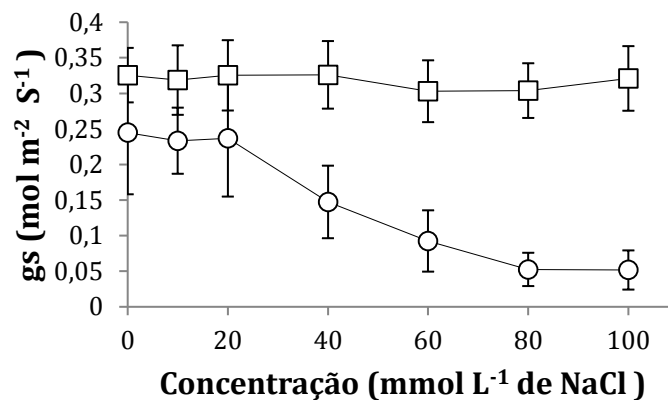


Figura 2 – Condutância estomática (gs) antes (aos 15 dias) e depois (aos 46 dias) do aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação em caupi, as barras representam o desvio padrão das médias

A transpiração (E) no caupi aos 15 dias foi em média de $6,2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, valor maior que o observado aos 46 dias no nível controle ($4,9 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) tendo em vista o desvio padrão das medições nas duas datas mencionadas (Figura 3). Os valores de E reduziram de forma acentuada a partir do nível de 40 mmol L^{-1} de NaCl. O menor valor de E observado foi ao nível de 80 mmol L^{-1} de NaCl na água de irrigação, $1,03 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Com o aumento das concentrações de NaCl notou-se reduções de 5%, 8%, 54%, 60%, 76% e 78% dos valores de E para os níveis de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L^{-1} de NaCl em relação ao nível controle.

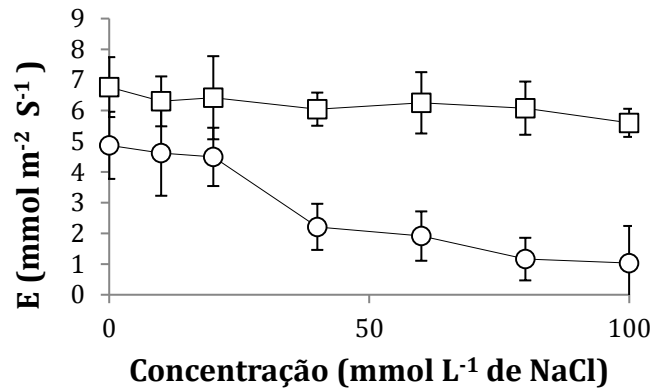


Figura 3 – Transpiração (E) antes (aos 15 dias) e depois (aos 46 dias) do aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação em caupi, as barras representam o desvio padrão das médias

Giraldo et al. (2010) em estudo com cinco níveis de NaCl (0, 30, 60, 90 e 120 mmol L⁻¹ de NaCl) em duas cultivares de feijão (Carioca e Cargamento) também observaram diminuição da condutância estomática e da transpiração com o aumento do NaCl na água de irrigação em ambas as cultivares. Hernandez et al. 1998 realizou um estudo com ervilha e notou resultado similar, em seu trabalho foi percebida redução da condutância estomática a partir do de 70 mmol L⁻¹ de NaCl.

3.3.3.2 Trocas gasosas do sorgo

Em sorgo, aos 40 dias após o semeio o tratamento de 10 mmol L⁻¹ de NaCl apresentou o valor de A mais elevado, 27,4 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, assim como no tratamento controle esse valor foi semelhante ao observado antes do início do tratamento salino, aos 15 dias, em que foi observado valor médio de A de 30,4 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. O menor valor observado foi no nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl na água de irrigação em que o valor de A atingiu 9,4 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Figura 4). Com o aumento das concentrações de NaCl notou-se reduções de 6,3%, 32%, 41%, 62% e 65% dos valores de A para os níveis de 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl em relação ao tratamento controle.

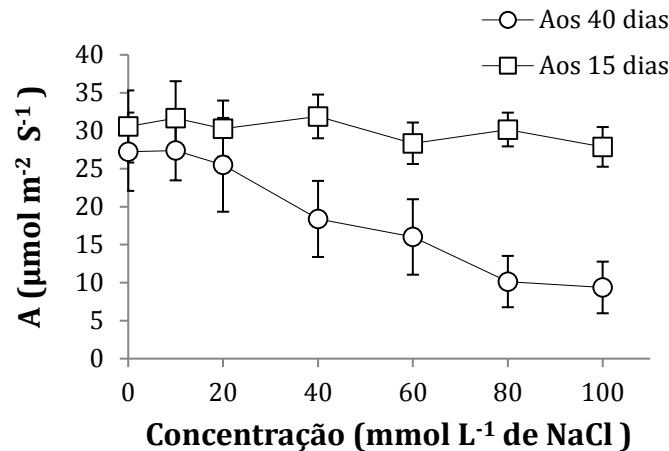


Figura 4 – Taxa de fotossíntese (A) antes (aos 15 dias) e depois (aos 46 dias) do aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação em sorgo, as barras representam o desvio padrão das médias

Netondo et al. (2004) e Nabati et al. (2013) também observaram redução do valor de A em sorgo com o aumento da concentração de NaCl. Eles perceberam reduções de até 90% de A no tratamento mais concentrado (200mmol L⁻¹ de NaCl). Já Nabati et al. (2013) notaram que após 21 dias de exposição aos tratamentos com maiores concentrações de NaCl (10,5 e 23,1 dS m⁻¹ de condutividade elétrica) houve redução de 18 e 26 % respectivamente em relação ao tratamento menos concentrado em NaCl cuja condutividade elétrica foi de 5,2 dS m⁻¹ (~52 mmol L⁻¹ de NaCl)

Em sorgo, aos 40 dias após o semeio o nível controle apresentou o valor de gs mais elevado, 0,29 mol m⁻² s⁻¹, valor próximo aos 0,28 mol m⁻² s⁻¹ observado aos 15 dias (antes do início do tratamento salino. O menor valor observado foi no nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl na água de irrigação em que o valor de gs atingiu 0,14 mol m⁻² s⁻¹ (Figura 5). Com o aumento das concentrações de NaCl foram observadas reduções de 4,6%, 18%, 19%, 28%, 48% e 51% dos valores de gs para os níveis de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl em relação ao nível controle.

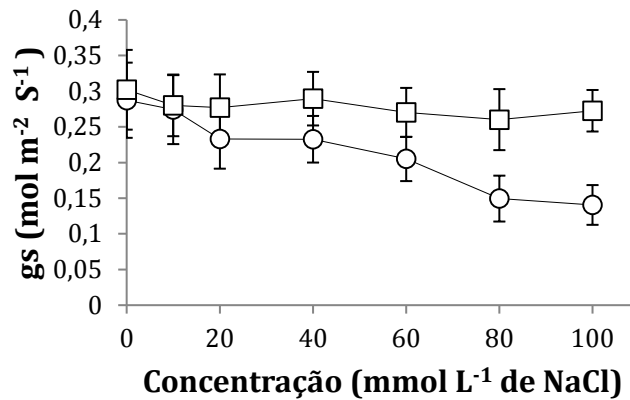


Figura 5 – Condutância estomática (gs) antes (aos 15 dias) e depois (aos 46 dias) do aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação em sorgo, as barras representam o desvio padrão das médias

Aos 40 dias o nível de 10 mmol L⁻¹ de NaCl apresentou o maior valor de E (7,7 mmol m⁻² s⁻¹) valor também semelhante ao observado antes do início do tratamento salino (6,2 mmol m⁻² s⁻¹). O menor valor observado foi no nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl na água de irrigação em que o valor de E atingiu 2,1 mmol m⁻² s⁻¹ (Figura 6). Com o aumento das concentrações de NaCl foi observado aumento de 0,37% no tratamento de 10 mmol L⁻¹ de NaCl, sendo posteriormente observadas reduções de 9%, 33%, 42%, 63% e 67% dos valores de E para os níveis de 20, 40, 60, 80 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl em relação ao nível controle.

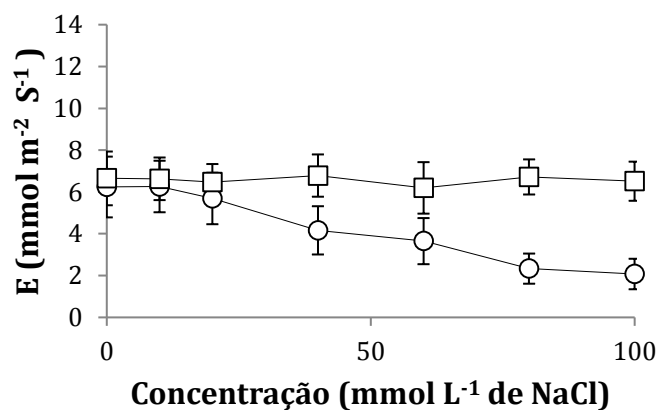


Figura 6 – Transpiração (E) antes (aos 15 dias) e depois (aos 46 dias) do aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação em sorgo, as barras representam o desvio padrão das médias

Sheng et al. (2008) estudando o efeito de micorrizas arbusculares na resposta de milho a salinidade provocada pelo aumento da concentração de NaCl na solução do solo também notaram redução da condutância estomática e da transpiração com

o aumento da salinidade em plantas não inoculadas, similar ao observado com sorgo no presente trabalho.

3.3.3 Correlação entre A, g_s e E e efeitos na eficiência do uso da água EUA

A eficiência do uso da água (EUA) foi mantida ao mesmo patamar do nível controle mesmo nas maiores concentrações de NaCl. Tanto em sorgo como em caupi o valores médio observado de EUA foram de 4,4 em sorgo e 3,5 em caupi (Figura 7).

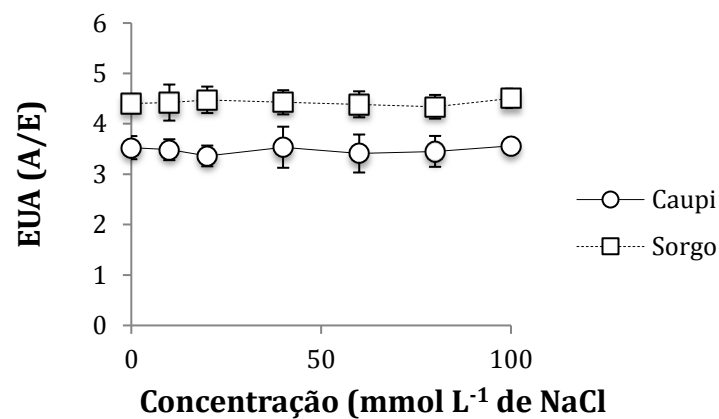


Figura 7 – Eficiência do uso da água (EUA) aos 46 dias em sorgo e caupi submetidos a concentrações crescentes de NaCl na água de irrigação. As barras representam o desvio padrão das médias

Cha-Um et al. (2013) também observaram resultado similar em seu estudo com caupi. Eles notaram que a EUA se manteve com o aumento da concentração de NaCl até o nível de 100 mmol L⁻¹ de NaCl, sendo percebida redução a partir do nível de 150 100 mmol L⁻¹ de NaCl. Sheng et al. (2008), em plantas não inoculadas com micorrizas, também não notaram variação de EUA em milho com o aumento de NaCl até a concentração de 1 g de NaCl por 1 kg de solo (concentração similar a observada no presente estudo).

Como essa variável é obtida pela relação entre A e E, isso pode ser explicado pelo fato de as variações de A e E terem ocorridos de modo proporcional, de modo que mesmo que a transpiração tenha reduzido com o aumento da concentração de NaCl não houve ganho de eficiência do uso da água, porque a taxa de fotossíntese também reduziu. Uma explicação para esse evento é o fato de que tanto A como E são dependentes da condutividade estomática (g_s) e no presente estudo foi notada alta correlação entre g_s e A e g_s e E (Figura 8).

Notou-se que conforme se reduziu a condutância estomática (g_s) também se reduziu a taxa de fotossíntese (A), tanto em sorgo como em caupi. A semelhança no comportamento de A e g_s foi verificada por meio de análise de correlação. O coeficiente de correlação de Pearson (R) observado foi de 0,945 em caupi e de 0,939 em sorgo (Figura 7). Também se notou semelhança entre o comportamento de g_s e transpiração (E) em ambas as culturas, para verificar tal similaridade foi realizada análise de correlação entre g_s e E . Nesse caso o coeficiente de correlação de Pearson (R) observado no caupi foi de 0,948 e em sorgo de 0,944 (Figura 8).

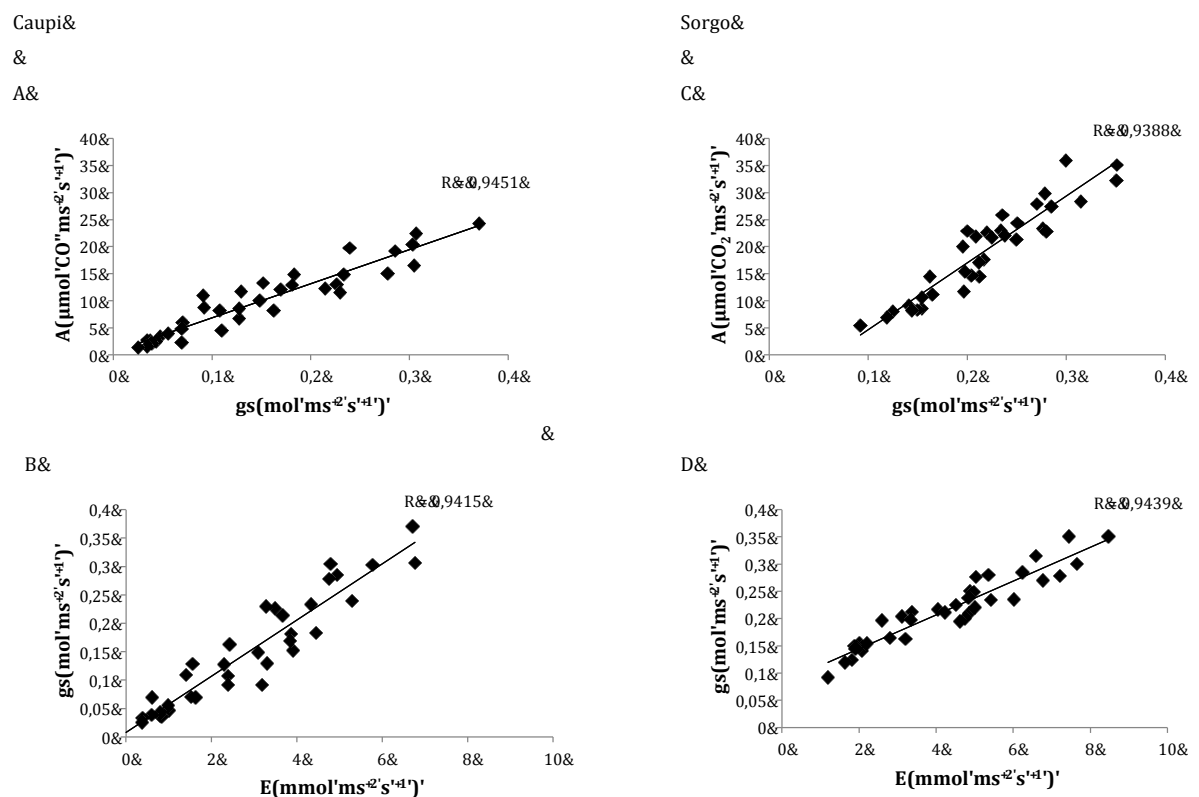


Figura 8 – Correlação entre taxa de fotossíntese (A) e condutância estomática e g_s e Transpiração (E) aos 46 dias em sorgo e caupi

Netondo et al. (2004) também notaram similaridades no comportamento de A e g_s , atribuíram a redução observada em A ao fechamento estomático, visto que foi verificada correlação positiva entre A e g_s nas duas cultivares de sorgo observadas em seu estudo, o coeficiente de correlação de Pearson (R) observado para a cultivar serena foi de 0,91, e na cultivar seredo 0,95. Esses dados respaldam o resultado observado na Figura 7, e permite inferir que também a redução de A nas duas espécies (sorgo e caupi) se deve a redução da condutividade estomática.

Sousa et al. (2011) realizaram um experimento com a cultivar Vita 7 de caupi, para observar o efeito do aumento da concentração de NaCl ao longo do tempo avaliando quatro tratamentos salinos (0, 50, 100 e 200 mmol L⁻¹ de NaCl) dos 28 aos 35 dias após o semeio. Nesse período foram realizadas leituras diárias dos parâmetros de trocas gasosas. A partir do segundo dia de tratamento houve redução de A no tratamento de 200 mmol L⁻¹ de NaCl, e a partir do terceiro dia ocorreu redução no tratamento de 100 mmol L⁻¹ de NaCl. De acordo com MUNNS (2002) o acúmulo de íons tóxicos no tecido vegetal ocorre em escala de tempo semanal, portanto o período de exposição foi curto (2 e 3 dias), não possibilitando o acúmulo de íons tóxicos no tecido da planta, o resultado desse estudo indica que reduções de A possivelmente se relacionam ao efeito osmótico da salinidade.

As plantas tiveram a resposta adaptativa de compensar a seca fisiológica causada pela menor disponibilidade da água do solo (consequência da redução de do potencial osmótico da solução do solo) reduzindo a condutância estomática para evitar perdas por transpiração, isso pode ser constatado pela forte correlação entre gs e E observado na figura 3. Ainda que as plantas de sorgo e caupi tenham sido bem sucedidas na redução da transpiração, como pode ser observado na (Figura 8 B e D), e pelo o aumento da eficiência do uso da água EUA de ambas as espécies (Figura 8), houve um custo energético para isso, visto que o fechamento estomático culminou também na redução de A em ambas as espécies (Figura 8 A e C).

3.3.4 Caracterização da solução do solo ao fim do experimento

Ao fim do experimento notou-se mudanças na solução do solo provocadas pelo tratamento de acréscimo de concentrações de NaCl na água de irrigação (Tabela 6). Tais alterações condicionaram as respostas observadas nos itens anteriormente mencionados.

Tabela 6- Caracterização da solução do solo ao fim do experimento em sorgo e caupi

NaCl	Ψ_o	CE	Cl^{-1}	K^+	Na^+	Ψ_o	CE	Cl^{-1}	K^+	Na^+
mmol L ⁻¹	MPa	dS m ⁻¹	-----mmol _c L ⁻¹ -----			MPa	dS m ⁻¹	-----mmol _c L ⁻¹ -----		
-----Caupi-----						-----Sorgo-----				
								-		
0	-0,06	2,8	33,5	0,5	14,8	-0,07	2,9	27,4	0,4	14,5
10	-0,14	4,3	91,0	0,5	21,2	-0,14	5,4	57,3	0,5	32,5
20	-0,23	8,9	142,3	0,96	94,3	-0,21	9,0	109,3	1,1	84,6
40	-0,39	12,8	213,4	1,5	134,9	-0,35	16,4	199,7	3,0	136,3
60	-0,70	17,9	273,9	1,7	230,0	-0,74	20,7	345,0	3,0	304,1
80	-1,3	20,8	547,8	3,1	450,8	-1,46	24,6	598,0	3,6	546,2
100	-1,5	28,5	623,9	3,5	610,5	-1,67	33,8	688,0	3,8	630,2

3.4 CONCLUSÕES

- Houve redução de clorofila a e b com o aumento da concentração salina em sorgo e em caupi.
- A cinética da fluorescência do caupi mostra que houve redução da eficiência do fotossistema II a partir do nível de 60 mmol L⁻¹ de NaCl.
- A eficiência do fotossistema II do sorgo foi pouco afetada com o aumento das concentrações de NaCl.
- As trocas gasosas do sorgo e do caupi foram afetadas de forma negativa pela salinidade causando reduções na taxa líquida de fotossíntese em ambas as espécies.
- A redução da transpiração das duas espécies indica resposta adaptativa das plantas em evitar déficit hídrico.
- A correlação positiva em ambas as espécies entre a condutividade estomática e transpiração evidenciam que a redução da condutividade estomática foi o mecanismo usado para reduzir a transpiração.
- A correlação positiva em ambas as espécies entre a condutividade estomática e taxa de fotossíntese apontam para um custo em termos de fotossíntese para a resposta adaptativa da planta de redução da transpiração.

Referências

- ARAGÃO, M. E. F. D.; GUEDES, M. M.; OTOCH, M. D. L. O.; GUEDES, M. I. F.; MELO, D. F. D.; LIMA, M. D. G. S. Differential responses of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activities of two *Vigna unguiculata* cultivars to salt stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Rio Claro, v. 17, n. 2, p. 207-212, 2005.
- BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, n. 403, p. 1607-1621, 2004.
- CHA-UM, S.; BATIN, C.; SAMPHUMPHUNG, T.; KIDMANEE, C. Physio-morphological changes of cowpea (*Vigna unguiculata* Walp.) and jack bean (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) in responses to soil salinity. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 7, n. 13, p. 2128, 2013.
- EL-OMARI, R.; NHIRI, M. Adaptive response to salt stress in sorghum (*Sorghum bicolor*). **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, Dubai, v. 15, n. 7, p. 1351-1360, 2015.
- GIRALDO, C. J.; CANO, M. A. O.; RIBAS, R. F. Respuesta fotosintética de diferentes ecotipos de frijol a la radiación y la salinidad. **Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, Bogotá, v. 10, n. 2, p. 129-140, 2010.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.
- MITTAL, S.; KUMARI, N.; SHARMA, V. Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. **Plant Physiology Biochemistry**, Amsterdam, v. 54, p.17-26, 2012.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell & Environment**, New York, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.
- MURCHIE, E. H.; LAWSON, T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, p. ert208, 2013.
- NABATI, J.; KAFI, M.; MASOUMI, A.; ZARE MEHRJERDI, M. Effect of salinity and silicon application on photosynthetic characteristics of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **International Journal of Agricultural Sciences**, Pune, ;v. 3, 2013.
- NETONDO, G. W.; ONYANGO, J. C.; BECK, E. *Sorghum* and salinity. **Crop Science**, Madison, v. 44, n. 3, p. 797-805, 2004.
- OMOTO, E.; TANIGUCHI, M.; MIYAKE, H. Effects of salinity stress on the structure of bundle sheath and mesophyll chloroplasts in NAD-malic enzyme and PCK type C4 plants. **Plant Production Science**, Kyoto, v. 13, p.169-176, 2010.

PAN, X.; LADA, R.R.; CALDWELL, C.D.; FALK, K.C. Water-stress and N-nutrition effects on photosynthesis and growth of *Brassica carinata*. **Photosynthetica**, Prague, v. 49, p. 309-315, 2011

RIVELLI, A. R.; LOVELLI, S.; PERNIOLA, M. Effects of salinity on gas exchange, water relations and growth of sunflower (*Helianthus annuus*). **Functional Plant Biology**, Collingwood, v.29, p.1405- 1415, 2002.

SAYYAD-AMIN, P.; JAHANSOOZ, M. R.; BORZOU EI, A.; AJILI, F. Changes in photosynthetic pigments and chlorophyll-a fluorescence attributes of sweet-forage and grain sorghum cultivars under salt stress. **Journal of Biological Physics**, Amsterdam v. 42, n. 4, p. 601-620, 2016.

SHARMA, PRABHAT K.; HALL, DAVID O. Changes in carotenoid composition and photosynthesis in sorghum under high light and salt stresses. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 140, n. 6, p. 661-666, 1992.

SHENG, M.; TANG, M.; CHEN, H.; YANG, B.; ZHANG, F.; HUANG, Y. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 18, n. 6-7, p. 287-296, 2008.

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

SOUZA, R. P.; MACHADO, E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; RIBEIRO, R. V. Fotossíntese e acúmulo de solutos em feijoeiro caupi submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 6, p. 586-592, 2011.

SUASSUNA, J. F.; DE MELO, A. S.; COSTA, F. S.; FERNANDES, P. D.; FERREIRA, R. S.; DA SILVA SOUSA, M. S. Eficiência fotoquímica e produtividade de frutos de meloeiro cultivado sob diferentes lâminas de irrigação. **Semina: Ciências Agrárias**, Campina Grande, v.32, p.1251-1262, 2011

TAYEFI-NASRABADI, H.; DEGHAN, G.; DAEIHASSANI, B.; MOVAFEGI, A.; SAMADI, A. Some biochemical properties of guaiacol peroxidases as modified by salt stress in leaves of salt-tolerant and salt sensitive sunflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. **African Journal of Biotechnology**, Ebène, v. 10, p. 751-763, 2011.

THIAM, M.; CHAMPION, A.; DIOUF, D.; OURÈYE SY, M. NaCl Effects on in vitro germination and growth of some senegalese cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivars. **ISRN Biotechnology**, Cairo, v. 2013, 2013.

ZANANDREA, I.; DE LIMA NASSI, F.; TURCHETTO, A. C.; BRAGA, E. J. B.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v. 12, p. 157-161, 2014.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

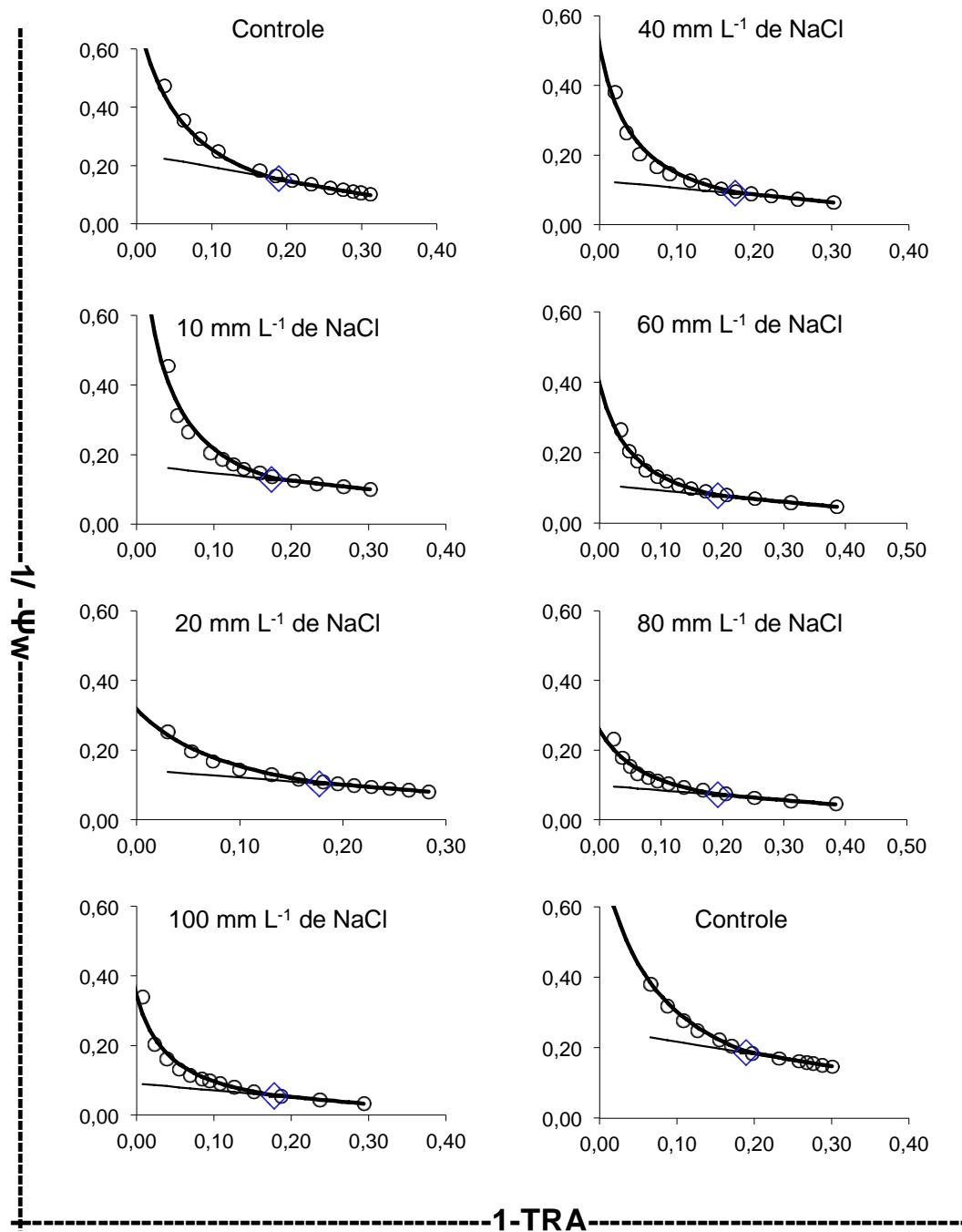
As plantas de sorgo e caupi apresentaram mecanismos de resposta a salinidade as quais permitiram sua sobrevivência e conclusão do ciclo em concentrações de até 100 mmol L^{-1} de NaCl, o que indica boa adaptabilidade das culturas para o seu cultivo em solos salinos.

A curva pressão volume se mostrou eficiente na correção dos erros provocados pela fração de água apoplástica na determinação de potencial osmótico. E ainda que a centrifugação não tenha corrigido os erros para patamares semelhantes aos da curva pressão volume, essa técnica mostrou-se capaz de coletar parcialmente a fração apoplástica. Em estudos posteriores é preciso esclarecer a viabilidade de se coletar maiores quantidades da água apoplástica das folhas por meio da infiltração de fluidos com menores tensões superficiais que a água pura, a exemplo de misturas de soluções de água e álcool, de modo que com uma mesma intensidade de centrifugação (1000g) se consiga coletar maiores quantidades do fluido.

As trocas gasosas foram reduzidas em resposta ao aumento dos sais na solução do solo. A correlação entre taxa de fotossíntese e condutância estomática, bem como a correlação entre condutância estomática e transpiração apontam que a redução na taxa de fotossíntese em plantas estressadas pelo aumento da salinidade (concentração de NaCl na solução do solo) parecem estar mais relacionadas aos efeitos osmóticos da salinidade que aos efeitos tóxicos. Em estudos futuros sobre os efeitos da salinidade em sorgo e caupi é importante comparar as respostas de trocas gasosas de condições salinas entre sais tóxicos e sais não tóxicos para assim esclarecer melhor os efeitos da toxidez iônica e osmóticos da salinidade nas trocas gasosas.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Curvas de pressão-volume (plotadas com o inverso do potencial hídrico multiplicado por menos 1 ($-\Psi_w$) no eixo y e o déficit hídrico ($1-TRA$) no eixo x) encontradas para diferentes níveis de NaCl na solução de irrigação e utilizadas na correção dos dados convencionais de potencial osmótico em máximo turgor do feijão-caupi



APÊNDICE B – Curvas de pressão-volume (plotadas com o inverso do potencial hídrico multiplicado por menos 1 ($-\Psi_w$) no eixo y e o déficit hídrico ($1-TRA$) no eixo x) encontradas para diferentes níveis de NaCl na solução de irrigação e utilizadas na correção dos dados convencionais de potencial osmótico em máximo turgor do sorgo.

