

Mecanismos bioquímicos em *Moringa oleifera* Lam. para tolerância à salinidade

Elaine Cristina Alves da Silva¹, Pedro Gabriel Correia de Lucena¹, Rayane Maria do Nascimento¹, Cibele Alves dos Santos¹, Rafaela Pereira Souza de Araújo¹, Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE, Brasil.

Email autor correspondente: elainemanancial@gmail.com

Artigo enviado em 25/05/2017, aceito em 16/12/2017.

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar o mecanismo de tolerância à salinidade e identificar a concentração tolerável pela *Moringa oleifera*, com base em análises bioquímicas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 2, correspondendo a quatro tratamentos salinos (0, 40, 80 e 120 mM de NaCl) e dois períodos de avaliação (15 e 30 dias), com seis repetições por tratamento. Avaliou-se a porcentagem de dano das membranas, o índice de verde, pigmentos fotossintéticos, solutos orgânicos, atividade das enzimas antioxidativas e solutos inorgânicos. As plantas submetidas até 80 mM de NaCl, apresentaram o índice de verde (40,4), bem como os teores de clorofila *a* e *b* semelhantes estatisticamente ao tratamento controle, enquanto que para os carotenoides houve um aumento de 63%. O sistema antioxidativo da catalase, ascorbato peroxidase e guaiacol peroxidase se manteve semelhante ao tratamento controle, o que permitiu a atuação destas enzimas em minimizar os danos provocados pelo vazamento de eletrólitos que foi superior em 67%. Observou-se também altas concentrações de prolina nas folhas (0,5482 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) e de íons de Na⁺, para folhas (9,69 g.kg⁻¹), caules (8,02 g.kg⁻¹) e raízes (16,05 g.kg⁻¹), sem prejuízos na absorção de K⁺, Mg²⁺ e P. A moringa utiliza como estratégia de tolerância à salinidade a produção de carotenoide, a manutenção do sistema de defesa antioxidante, o acúmulo de prolina e de íons de Na⁺, o que permite seu desenvolvimento até a concentração de 80 mM de NaCl.

Palavras-chave: Salinidade, carotenoide, catalase, prolina, íons.

Biochemical mechanisms in *Moringa oleifera* Lam. for tolerance the salinity

Abstract: The objective of this work was to evaluate the mechanism of tolerance to salinity and identify the concentration tolerable by *Moringa oleifera*, based on biochemical analyzes. The experimental design was completely randomized, in a 4 x 2 factorial scheme, corresponding to four saline treatments (0, 40, 80 and 120 mM NaCl) and two evaluation periods (15 and 30 days), with six replicates per treatment. The percentage of membrane damage, green index, photosynthetic pigments, organic solutes, antioxidative enzyme activity and inorganic solutes were evaluated. Plants submitted up to 80 mM NaCl presented the green index

(40.4), as well as chlorophyll a and b levels similar to the control treatment, whereas for carotenoids there was a 63% increase. The antioxidative system of catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase was remained similar to the control treatment, which allowed the performance of these enzymes in minimizing the damage caused by the leakage of electrolytes that was superior in 67%. High proline concentrations in leaves ($0.5482 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) and Na^+ ions were also observed for leaves (9.69 g.kg^{-1}), stems (8.02 g.kg^{-1}) and roots (16.05 g.kg^{-1}), without losses in the absorption of K^+ , Mg^{2+} and P. The moringa uses as a strategy of tolerance to salinity carotenoid production, maintenance of the antioxidant defense system, accumulation proline and Na^+ ions, allowing its development to the concentration of 80 mM NaCl.

Keywords: Salinity, carotenoid, catalase, proline, ions.

Introdução

A *Moringa oleifera* é uma espécie pertencente à família Moringaceae, originária da Índia. Possui diversas aplicabilidades, tais como: alimentação humana, forragem animal, prevenção e tratamento de doenças, purificação de água e em indústrias de cosméticos. Na composição química de suas folhas, flores e sementes são encontrados diversos compostos químicos com atividade bactericida, molusquicida e inseticida. É uma rica fonte de antioxidantes e pode ser utilizada para reduzir os danos provocados pelos radicais livres, combatendo o envelhecimento precoce (NGAMUKOTE et al., 2016).

Foi introduzida no Brasil por volta de 1950, com finalidade de arborização, desde então, é amplamente difundida no Semiárido Brasileiro (MATOS, 2002). No entanto, esta região apresenta grandes áreas de solos salinizados, seja de causa natural ou por fatores antrópicos (FAGERIA et al., 2010).

Quando o vegetal se encontra num substrato salino, ao absorver a água, há também a absorção dos íons. No processo de transpiração a água é perdida para a atmosfera, enquanto os sais podem se acumular e

ocasionar necrose e queimaduras nas bordas das folhas. A elevada concentração de sais no interior das células provoca alterações nos processos metabólicos, interferindo no balanço iônico, além de afetar a absorção dos elementos minerais essenciais, ocasionando um desbalanço nutricional (MUNNS; TESTER, 2008).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são subprodutos das vias metabólicas, como a respiração celular e a fotossíntese, e sob condições de estresse, são produzidas em maior concentração. O combate às EROs deve ser realizado para garantir que o vegetal retorne a sua homeostase e tolere às condições adversas. Este combate é realizado por componentes do sistema antioxidante, tais como os carotenoides e enzimas antioxidantes (FOYER e NOCTOR, 2011).

As plantas tolerantes à salinidade diferem das plantas sensíveis na velocidade que o sal atinge níveis tóxicos nas folhas. Numa escala de tempo, as fases de tolerância podem ser de horas, dias, semanas ou meses a depender da espécie vegetal, do nível de salinidade ou até mesmo do tipo de sal (WILLADINO e CAMARA 2010).

Sendo assim, objetivo deste trabalho foi identificar o mecanismo de bioquímico desenvolvido pela *Moringa oleifera*, quando submetida à salinidade, bem como identificar a concentração tolerável pela espécie.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco. As condições climáticas durante a condução do experimento variaram entre 28°C a 35°C para a temperatura, 68% a 79% para a umidade relativa e um déficit de pressão de vapor de 0,89 a 1,02 KPa. As sementes foram coletadas no município de Patos, no sertão Paraibano, e armazenadas em temperatura ambiente.

As sementes foram postas para germinar em bandejas com areia lavada como substrato e após 15 dias de germinadas foram transplantadas para vasos de polietileno. Durante o período de aclimação (30 dias) as plantas foram regadas com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) a 1/2 força, em dias alternados com água.

O desenho experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x2, correspondendo a quatro níveis de sais e duas coletas, aos 15 e 30 dias de aplicação do estresse. Foram utilizadas 10 plantas por tratamento para a realização das análises bioquímicas.

Os níveis salinos utilizados foram: 0 (controle), 40, 80 e 120 mM de NaCl acrescido à solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1/2 força). Semanalmente, o drenado dos vasos foi coletado para a verificação da condutividade elétrica, a fim de assegurar que todos os vasos correspondessem a seus respectivos

tratamentos. Os valores das condutividades elétricas correspondentes aos tratamentos salinos de 0, 40, 80 e 120 mM de NaCl foi de 1,18; 4,49; 7,5 e 11,5 dS.m⁻¹, respectivamente.

Índice de clorofila e pigmentos fotossintéticos

O índice de clorofila foi determinado com o uso de um aparelho portátil, SPAD (minolta SP-210) e os pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, carotenoides) foram quantificados de acordo com a metodologia de Lichtenthaler e Buschmann (2001), calculou-se também a relação Clo *a*/ clo *b*). Foi utilizado 10 ml de álcool etílico (95%), como solvente, e o material armazenado por 24 horas em ambiente refrigerado, sendo as absorbâncias determinadas em espectrofotometro, nos comprimentos de onda de 664, 649 e 470 nm, para clorofila *a*, *b* e carotenoide, respectivamente.

Dano das membranas

O dano das membranas foi determinado pelo vazamento de eletrólitos, baseado na metodologia descrita por Alves et al. (2009). Para isso foram coletados dez discos do limbo foliar, estes foram colocados em tubos de ensaio com 10 mL de água destilada e incubado em banho-maria por 24 horas a 25°C. Após este período, foi verificada a condutividade elétrica deste meio (L1), com um condutímetro digital, em seguida o tubo de ensaio foi deixado em banho maria por 1 hora, a 100°C, e posteriormente feita novamente a leitura da condutividade elétrica (L2). O percentual de danos das membranas foi determinado pela equação: %DM= (L1/L2)x100.

Solutos orgânicos e enzimas antioxidativas

Para a quantificação dos solutos orgânicos e atividade enzimática coletou-se, aproximadamente 1 g de folha, raízes secundárias e raiz entumescida, este material foi macerado em tampão fosfato de potássio monobásico (100 mM), pH 7,0, contendo EDTA a 0,1 mM.

A determinação dos carboidratos totais solúveis foi pelo método do fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), os aminoácidos solúveis totais foram analisados pelo método da ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955), a prolina livre foi avaliada pelo método da ninhidrina ácida (BATES, 1973), e as proteínas totais foram determinadas pelo método do Bradford (1976), pelos respectivos comprimentos de onda de 490, 570, 520 e 595 nm.

A atividade da catalase (CAT. EC 1.11.1.6) foi determinada de acordo com Beers Júnior e Sizer (1952), a atividade da ascorbato peroxidase (APX. EC 1.11.1.11), segundo Nakano e Asada (1981), a atividade enzimática da CAT e APX foi expressa em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF min}^{-1}$ e a atividade da guaiacol peroxidase (GPX. EC 1.11.1.7), segundo Urbanek et al. (1991), nos comprimentos de onda de 240, 290 e 470 nm, respectivamente.

Solutos Inorgânicos

O extrato para a determinação dos solutos inorgânicos foi preparado pela digestão nitro-perclórica. Para isso foi pesado 500 mg do material seco e moído de folha, caule e raiz, colocados no tubo de vidro e adicionado 3 ml de ácido nítrico e 1 ml de ácido perclórico. Os tubos

foram levados para o bloco digestor nas temperaturas de 80°C, 120°C, 150°C e 200°C, por 1 hora em cada temperatura. Após 24 horas, foram adicionados 50 mL de água deionizada e os extratos foram armazenados em ambiente refrigerado até a realização das análises.

A determinação dos íons de Ca^{2+} e de Mg^{2+} foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica. Os íons de Na^+ e K^+ foram determinados em fotometria de chama, segundo Malavota et al., (1989), e os teores de P determinado por colorimetria (EMBRAPA, 2009). Também foram calculadas as relações Na/ Ca, Na/ Mg e Na/K.

Elaboração de uma ficha de descritores bioquímicos

De posse dos dados analisados, foram identificadas dentre as análises bioquímicas as que mais contribuíram para a identificação da espécie como tolerante à salinidade.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

Índice de clorofila e pigmentos fotossintéticos

O estresse salino afetou a o índice de clorofila e a produção dos pigmentos fotossintéticos ($P > 0,05$), onde desde a primeira coleta (15 dias) se observa diferenças significativas, sendo mais acentuadas com o prolongamento do estresse. O índice de clorofila foi reduzido apenas para as plantas submetidas ao nível de 120 mM de NaCl, em torno de

76%, para as duas coletas, em relação ao controle (Figura 1).

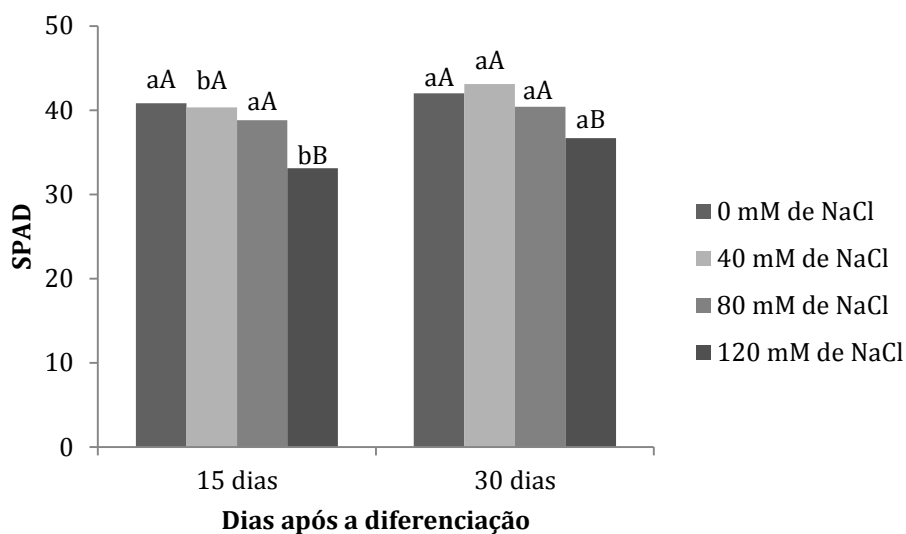


Figura 1. Índice de clorofila de plantas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas a diferentes níveis de NaCl aos 15 e 30 dias após a diferenciação, cultivadas em casa de vegetação. Médias seguidas por mesma letra, maiúsculas entre os tratamentos e minúsculas entre os períodos de estresse, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Houve redução nos teores de clorofila *a* e *b*, a partir do nível de 80 mM de NaCl, aos 15 dias de submissão ao estresse. No entanto, com o prolongamento do estresse, houve uma produção da clorofila *a* para este mesmo nível, atingindo valores semelhantes ao controle (Figura 2-A). O que não ocorreu para as plantas submetidas ao nível de 120

As plantas submetidas a 120 mM de NaCl, apresentaram os maiores valores nos teores dos carotenoides, tanto aos 15 dias (37%) quanto aos 30 dias (113%), demonstrando uma intensificação na produção deste pigmento (Figura 2-C). Observou-se uma maior relação Clo *a*/Clo *b*, apenas aos 15 dias de submissão ao estresse, para os dois últimos níveis. Aos 30 dias todos os tratamentos apresentaram valores semelhantes estatisticamente (Figura 2-D).

O conteúdo de clorofila é geralmente utilizado para quantificar

mM de NaCl, as quais apresentaram 1,33 mg.g⁻¹MF, enquanto as plantas do tratamento controle, 1,82 mg.g⁻¹MF, aos 30 dias. Para os teores de clorofila *b*, apenas as plantas submetidas ao nível mais elevado apresentaram reduções (20%) em relação ao controle, após 30 dias de estresse (Figura 2-B).

a senescência foliar de plantas submetidas à salinidade. Estudos demonstram uma redução na concentração deste pigmento sob substratos salinos, que pode estar relacionada com a inibição da síntese destes pigmentos e também ao comprometimento do complexo antena no fotossistema II (LÓPES-AGUILAR et al., 2012; MELO et al., 2015).

Os carotenoides são pigmentos que atuam na fotoproteção das moléculas de clorofila, dissipando a energia dos fótons capturados na forma de calor ou fluorescência,

diminuindo o risco de fotoinibição (LIMA et al., 2004). Mudanças nas concentrações dos pigmentos fotossintéticos podem ser indicadas como importantes para a manutenção do crescimento e indicativo de tolerância aos estresses abióticos (AKÇA; SAMSUNLU, 2012). Nouman et al. (2012), ao estudarem o efeito da salinidade em mudas de *Moringa oleifera* observaram que os pigmentos fotossintéticos foram mais afetados no nível de 12 dS.m⁻¹, o que equivale a aproximadamente 120 mM de NaCl.

Dano das membranas

Aos 15 dias de exposição ao estresse observou-se um aumento significativo no vazamento de eletrólitos apenas nas plantas submetidas ao nível de 120 mM de NaCl (32%). Com o prolongamento do estresse, após 30 dias, as plantas submetidas a todos os níveis salinos apresentaram aumento significativo médio de 70%, em relação ao controle (Figura 3).

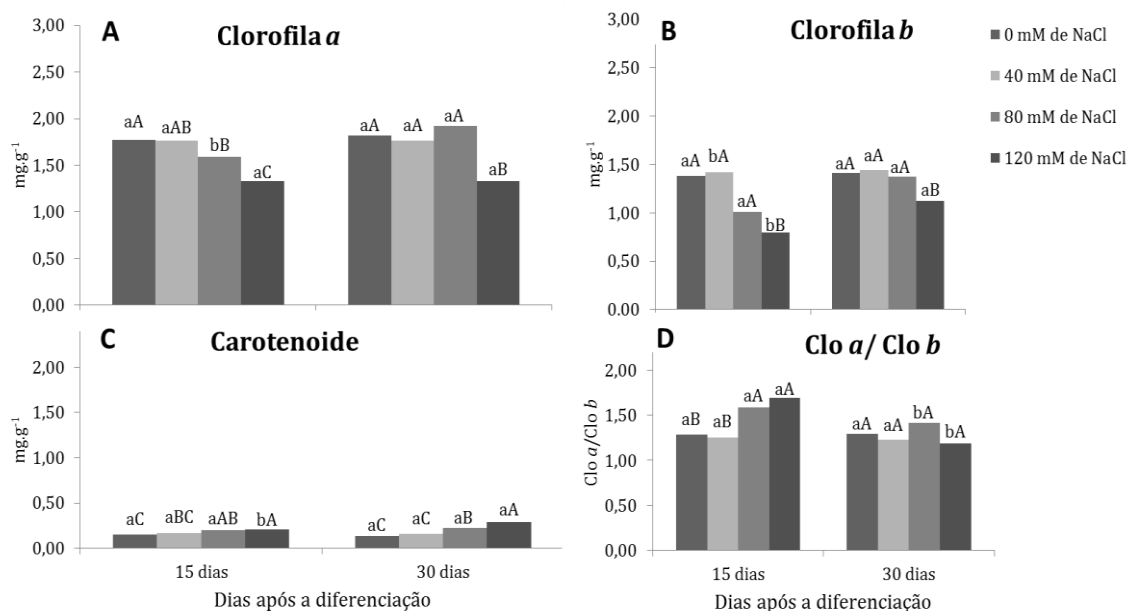


Figura 2. Concentração de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), carotenoide (C) e relação Clo *a*/ clo *b* (D) de plantas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas a diferentes níveis de NaCl aos 15 e 30 dias após a diferenciação, cultivadas em casa de vegetação. Médias seguidas por mesma letra, maiúsculas entre os tratamentos e minúsculas entre o período de estresse, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

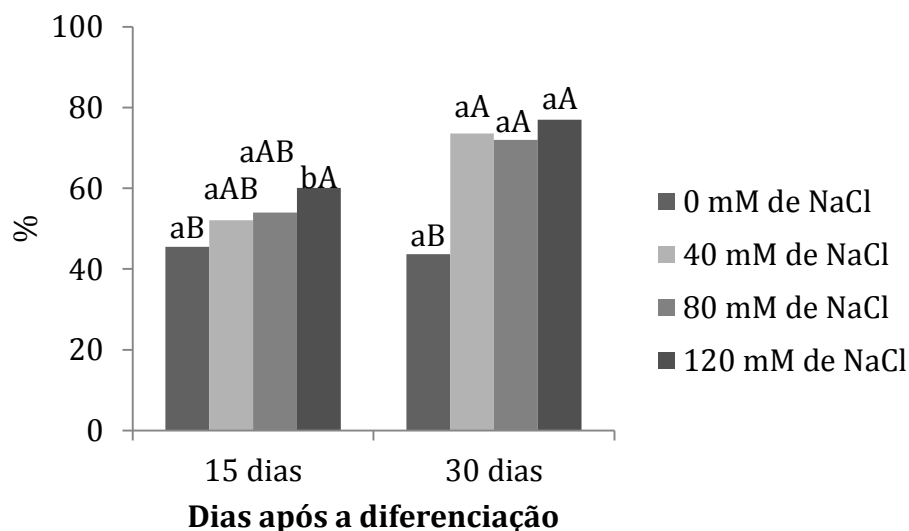


Figura 3. Porcentagem de dano nas membranas (DM) de plantas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas a diferentes níveis de NaCl aos 15 e 30 dias após a diferenciação, cultivadas em casa de vegetação. Médias seguidas por mesma letra, maiúsculas entre os tratamentos e minúsculas entre o período de estresse, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A membrana plasmática é o principal local afetado pela absorção dos íons e a elevada concentração de sais de Na⁺ pode provocar danos nas membranas plasmáticas e alterar sua seletividade (PACHECO et al., 2013). Conforme se observou, a salinidade provocou danos nas membranas plasmáticas das células de *M. oleifera*, a partir de 15 dias de estresse, apenas para o nível mais elevado. Mas com o prolongamento do estresse, esses danos foram evidenciados nos demais tratamentos. No entanto, os danos não foram prejudiciais ao desenvolvimento das plantas até o nível de 80 mM de NaCl, as quais mantiveram seu crescimento.

Solutos orgânicos e enzimas antioxidativas

A salinidade afetou significativamente as concentrações dos solutos orgânicos avaliados nos

diferentes órgãos da *Moringa oleifera* (Figura 4). Para as folhas, observou-se uma diminuição no teor dos carboidratos solúveis totais para as plantas submetidas ao nível de 120 mM de NaCl, reduzindo 51% e 21% aos 15 e 30 dias, respectivamente, em relação ao controle. Os teores de proteínas também foram reduzidos neste mesmo nível de salinidade, em 82%, aos 30 dias de estresse. Os teores de aminoácidos foram afetados apenas aos 15 dias, se reestabelecendo aos 30 dias, onde todos os tratamentos foram semelhantes significativamente. Já os teores de prolina livre, aos 15 dias, foram reduzidos, em relação ao controle, em 60% e 70% para os tratamentos de 80 e 120 mM de NaCl, respectivamente. Mas aos 30 dias, houve um aumento de 80% e 60%, em relação ao controle, para estes mesmos níveis salinos.

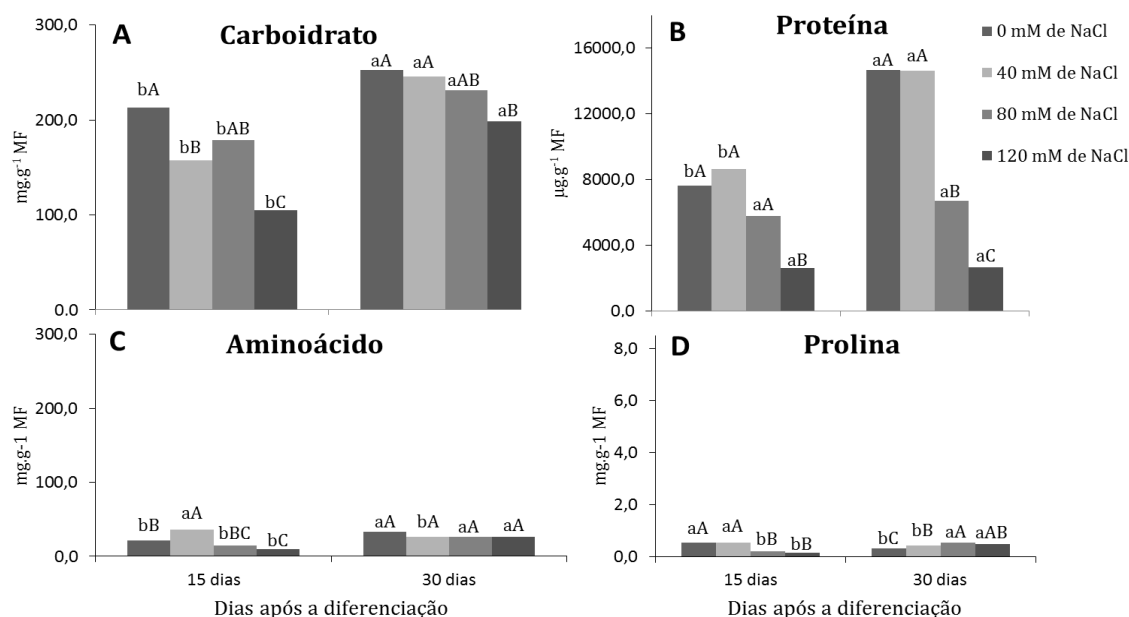


Figura 4. Concentração de carboidratos totais solúveis (A), proteínas totais (B), aminoácidos livres totais (C) e prolina livre (D) em folhas de *Moringa oleifera* Lam. submetidas a diferentes níveis de NaCl aos 15 e 30 dias após a diferenciação, cultivadas em casa de vegetação. Médias seguidas por mesma letra, maiúsculas entre os tratamentos e minúsculas entre o período de estresse, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os teores de carboidratos solúveis nas raízes foram reduzidos com o incremento da salinidade, sendo observados os menores valores desde os primeiros 15 dias de submissão ao estresse, atingindo reduções de 42%, 47% e 61%, para os níveis de 40, 80 e 120 mM de NaCl, respectivamente (Figura 5-A). Resultados semelhantes foram observados para os teores de proteínas totais, onde as reduções foram observadas à medida que o

nível salino era aumentado (Figura 5-B). Já para os teores de aminoácidos, foi verificado que as plantas submetidas ao nível de 120 mM de NaCl apresentaram um aumento de 200 vezes aos 15 dias de estresse e de 80%, aos 30 dias, em relação ao controle. Este mesmo aumento foi observado para os teores de prolina livre, onde aos 15 dias houve uma produção de 86% e aos 30 dias, 180%, destas plantas em relação ao tratamento controle.

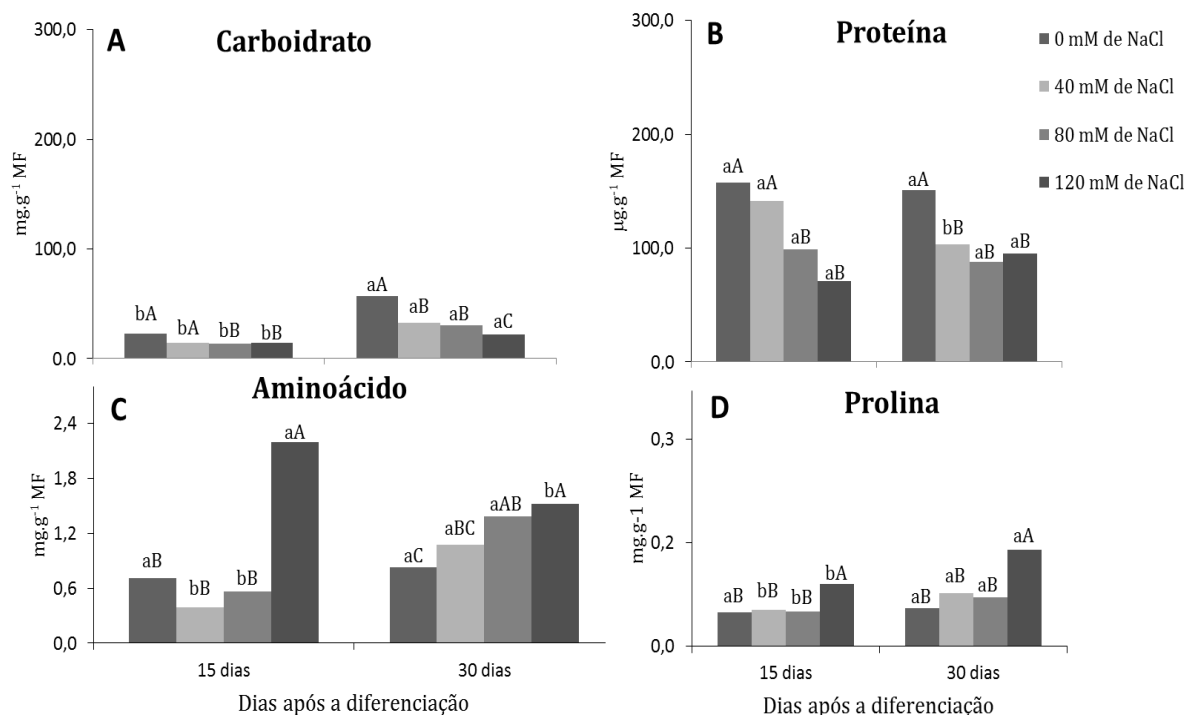


Figura 5. Concentração de carboidratos totais solúveis (A), proteínas totais (B) e aminoácidos livres totais (C) em raízes de *Moringa oleifera* Lam. submetidas a diferentes níveis de NaCl aos 15 e 30 dias após a diferenciação, cultivadas em casa de vegetação. Médias seguidas por mesma letra, maiúsculas entre os tratamentos e minúsculas entre o período de estresse, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para os teores dos solutos orgânicos analisados na raiz entumecida observa-se que os mesmos foram afetados pela salinidade, quando aos 15 dias houve uma redução de 47% nos teores de carboidratos solúveis nas plantas submetidas ao nível de 120 mM de NaCl, chegando esta redução a 71% (30 dias) (Figura 6-A). Já para a concentração de proteínas totais, houve um aumento na raiz entumecida das plantas do tratamento mais severo apenas aos

15 dias (26%), em relação ao tratamento controle (Figura 6-B). O mesmo ocorreu para os teores de aminoácidos, os quais foram encontrados em uma concentração de 4x a mais, para as duas coletas, para o nível mais concentrado de NaCl em relação ao controle (Figura 17-D). Os teores de prolina livre na raiz entumecida foram maiores nas plantas submetidas ao nível mais elevado de salinidade, 120 mM de NaCl, aumentando em até 4 vezes aos 30 dias de estresse (Figura 6-C).

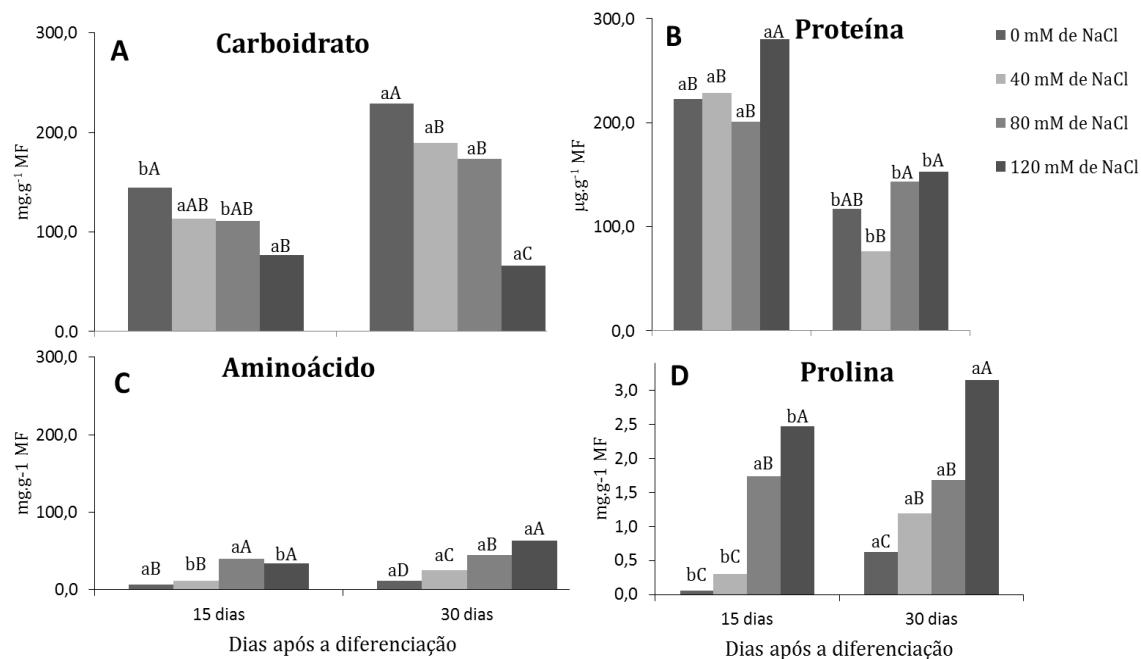


Figura 6. Concentração de carboidratos totais solúveis (A), proteínas totais (B) e aminoácidos livres totais em raiz entumecida de *Moringa oleifera* Lam. submetidas a diferentes níveis de NaCl aos 15 e 30 dias após a diferenciação, cultivadas em casa de vegetação. Médias seguidas por mesma letra, maiúsculas entre os tratamentos e minúsculas entre o período de estresse, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A diminuição nos teores dos carboidratos solúveis totais nas folhas, raízes e raiz entumecida com o incremento da salinidade pode indicar o consumo deste soluto para a manutenção da sobrevivência das plantas e pelo comprometimento da fotossíntese pela salinidade. Kumari et al. (2012) observaram uma diminuição nos teores deste soluto com o aumento da salinidade em *Azadirachta indica*, *Cassia fistula*, *Catharanthus roseus* e *Aloe barbadensis*.

Dentre os órgãos avaliados constataram-se suas diferentes funções, sendo a folha o órgão de maior concentração de carboidratos, e pelo processo de translocação, observa-se um acúmulo de açúcares na raiz entumecida, órgão de reserva, em relação à raiz. Este mesmo comportamento foi observado para as

proteínas, e outra molécula que merece destaque é a prolina, a qual sob condições de estresse, foi observada uma maior concentração deste soluto, principalmente na raiz entumecida.

A capacidade de produção e acúmulo de solutos orgânicos no interior das células é uma estratégia que algumas espécies desenvolvem para permitir a sua sobrevivência em situações de estresse, estratégia esta observada na *Moringa oleifera* na presente pesquisa (ALI et al., 2014; AZEVEDO NETO et al., 2004).

Com relação às enzimas antioxidativas, observa-se uma redução na atividade da ascorbato peroxidase, apenas para o nível mais elevado (120 mM de NaCl), a partir de 15 dias de estresse, sendo estas reduções de 12, 42 e 33% para as folhas, raiz entumecida e raízes. Não

houve diferença significativa para a atividade da catalase nos diferentes órgãos avaliados. Já para a guaiacol peroxidase, observou-se que para a folha e raiz entumecida as maiores atividades foram verificada no tratamento de 40 mM de NaCl (1,803 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF min}^{-1}$), enquanto que para o controle foi de 0,99 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF min}^{-1}$. Para a raiz, aos 15 dias, o tratamento de 80 mM de NaCl apresentou um aumento de 82%, em relação ao controle, e aos 30 dias, o aumento foi de 97% para os níveis de 40 e 80 mM de NaCl (Tabela 1). O aumento na concentração de Na^+ observada nas plantas do tratamento controle aos 30 dias, em relação aos 15 dias, se justifica pelo fato destas terem recebido rega com solução nutritiva, a qual possuía o reagente EDTA, e este por sua vez possui em sua composição sódio. Embora tenha sido esta a única fonte de íons de Na^+ , foi suficiente para serem absorvidos nestas plantas.

A concentração do íon de K^+ nas folhas foi mantida, exceto para o nível mais elevado de 120 mM de NaCl aos 30 dias, reduzindo em 46%, em relação ao controle. Já para a concentração deste íon no caule, a redução foi observada a partir de 80 mM de NaCl, em média de 40%, e para o nível de 120 mM de NaCl, 54%, para as duas coletas de 15 e 30 dias. E para a raiz, a redução foi de, aproximadamente, 50% para o nível de 80 mM de NaCl e 60% para 120

mM de NaCl, respectivamente, em relação ao controle.

Os teores de Ca^{2+} foram reduzidos nas folhas apenas aos 30 dias de estresse, onde para os níveis de 40 e 80 mM de NaCl, a redução foi de 25% e para o nível de 120 mM de NaCl, 38%. Para o caule, aos 15 dias observou-se uma redução de 36%, em relação ao controle, a partir de 40 mM de NaCl. Para a raiz, aos 15 dias, a redução foi a partir da concentração de 40 mM de NaCl, chegando a 60% para 120 mM de NaCl e aos 30 dias a redução foi apenas para este último nível, 30%, em relação ao controle.

Para os teores de Mg^{2+} nas folhas, aos 15 dias, apenas as plantas do tratamento de 120 mM de NaCl reduziram significativamente, em relação ao controle, em 18%. Com o prolongamento do estresse, 30 dias, a redução se acentuou, atingindo um valor médio de 3,5 mg.L^{-1} , enquanto o controle foi de 6,36 mg.L^{-1} . Para o caule e a raiz, os menores valores foram observados, tanto aos 15 quanto aos 30 dias, a partir de 80 mM de NaCl, em média 2,7 mg.L^{-1} .

Em relação à concentração de fósforo, a salinidade não afetou na absorção deste, nos diferentes tratamentos, coletas e órgãos, tendo sido observado uma maior concentração deste elemento no caule, em relação à folha e raiz.

Tabela 1. Valores médios da atividade enzimática de ascorbato peroxidase, catalase e guaiacol peroxidase em mudas de *Moringa oleifera* submetida à salinidade. Médias seguidas por mesma letra, maiúsculas entre os tratamentos e minúsculas entre o período de estresse, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tratamentos Salinos (mM de NaCl)	Ascorbato Peroxidase (mmol H ₂ O ₂ g ⁻¹ MF min ⁻¹)					
	Folha		Raiz entumecida		Raiz	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
0	4,55 aAB	5,74 aA	0,58 aA	0,62 aA	0,70 aA	0,46 bA
40	5,57 aA	5,65 aA	0,48 bAB	0,63 aA	0,45 aAB	0,63 aA
80	5,04 aA	5,83 aA	0,53 aA	0,60 aA	0,53 aA	0,39 aB
120	3,01 bB	5,06 aB	0,38 aB	0,40 aB	0,38 aB	0,40 aB
CV (%)	18,94		13,58		19,38	

Tratamentos Salinos (mM de NaCl)	Catalase (mmol H ₂ O ₂ g ⁻¹ MF min ⁻¹)					
	Folha		Raiz entumecida		Raiz	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
0	0,20 aA	0,34 aA	0,57 aA	0,55 aA	0,09 aA	0,05 bA
40	0,26 bA	0,34 aA	0,50 aA	0,65 aA	0,12 aA	0,07 bA
80	0,29 aA	0,32 aA	0,53 aA	0,6 aA	0,11 aA	0,05 bA
120	0,29 aA	0,26 aA	0,48 aA	0,59 aA	0,09 aA	0,06 bA
CV (%)	18,8		19,47		18,23	

Tratamentos Salinos (mM de NaCl)	Guaiacol peroxidase (mmol H ₂ O ₂ g ⁻¹ MF min ⁻¹)					
	Folha		Raiz entumecida		Raiz	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
0	0,99 aB	1,02 aB	0,57 bB	0,87 aA	2,94 aBC	1,78 bB
40	1,80 aA	1,65 aA	1,75 aA	0,62 bB	3,34 aB	3,51 aA
80	1,20 bB	1,62 aA	0,60 aB	0,58 aB	5,38 aA	3,50 bA
120	0,77 aB	0,27 bC	1,86 aB	0,60 aB	1,86 aC	2,10 aB
CV (%)	20,3		12,86		18,64	

CV- Coeficiente de Variação.

Nas folhas, aos 15 dias, foi observada uma maior relação Na/K, com um aumento de 14, 6 e 2,5 vezes, em relação às plantas do tratamento controle, para as plantas cultivadas nos níveis de 120, 80 e 40 mM de NaCl, respectivamente, permanecendo após 30 dias. No caule foi observada uma maior relação entre estes íons, com o aumento da salinidade, tanto aos 15 quanto aos 30 dias de estresse. Nas raízes, a relação entre Na/ K foi maior nos

tratamentos salinos, a partir de 15 dias e, em média, 2,3 para os tratamentos de 80 e 120 mM de NaCl, enquanto as plantas controle apresentaram 0,7, aos 30 dias de estresse.

As plantas apresentaram uma maior relação de Na/Ca, com o aumento da salinidade. Aos 15 dias, para as folhas, apenas para o nível mais elevado foi observado diferença significativa com um aumento de 17 vezes, em relação ao controle. Aos 30

dias, a diferença foi observada a partir de 80 mM de NaCl. Já para o caule e raiz, a diferença foi observada a partir de 40 mM de NaCl.

Para as folhas, foi observada uma maior relação Na/Mg nas plantas submetidas a 80 mM de NaCl, aos 15 dias. Já aos 30 dias, a partir de 40 mM de NaCl, o aumento nesta relação foi a partir de 40 mM de NaCl (0,831), sendo maior na concentração de 120 mM de NaCl (5,42), e o menor valor encontrado nas plantas do tratamento controle (0,348). Para o caule e a raiz, o aumento foi crescente nos níveis de 120, 80 e 40 mM de NaCl (Tabela 2). A salinidade promoveu um aumento na concentração de Na^+ nas folhas, conforme foi observado por Nouman et al. (2012), ao estudar *moringa* sob condições salinas, bem como uma diminuição nos teores de K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} .

Resultados semelhantes aos encontrados na presente pesquisa foram observados por Silva et al. (2015), que ao submeterem mudas de *Jatropha curcas* à salinidade observou um aumento crescente na concentração de Na^+ com o aumento da salinidade. Os autores atribuíram este aumento à capacidade de se ajustar osmoticamente sob estresse salino. E também observaram o antagonismo existente entre o Na^+ e o K^+ , pois a concentração deste último foi reduzida com a salinidade. A capacidade de manter em baixa concentração o Na^+ no sistema radicular deslocando este íon para a parte aérea, o qual se acumula nas folhas maduras, sendo

posteriormente eliminados pelo processo de abscisão foliar é uma característica de plantas tolerantes à salinidade (WANG et al., 2012). Alta concentração deste íon na raiz acarreta em distúrbios nos diversos processos do metabolismo, sendo assim uma estratégia é o envio deste para ser eliminado da planta (CARILLO et al., 2011; TURAN et al., 2012). O acúmulo de íons tóxicos nas células provoca um desbalço nutricional, conforme foi observado na presente pesquisa, de modo geral, para a concentração mais elevada. A presença de Na^+ inibiu a absorção de outros elementos essenciais, como K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , que são importantes para o metabolismo do vegetal. Vale salientar que não foi observado efeito antagônico entre o Na^+ e o P, uma vez que a alta concentração de Na^+ nas células da planta não afetou a absorção de P.

O íon K^+ é responsável pelo ajustamento osmótico, mantendo o turgor das células, bem como estimulando a fotossíntese (SILVA et al., 2009). Esse íon, juntamente com o Ca^{2+} , também desempenha a função de manter a integridade das membranas. Foi observada uma relação entre o dano das membranas, aos 30 dias, e a menor concentração de Ca^{2+} no tecido foliar. Embora a concentração destes elementos tenham sido afetadas, não houve o comprometimento do desenvolvimento das plantas sob condições de salinidade.

Tabela 2. Valores médios das concentrações de solutos inorgânicos, em folha, caule e raízes em plantas de *Moringa oleifera* submetidas à salinidade. Médias seguidas por mesma letra, maiúsculas entre os tratamentos e minúsculas entre o período de estresse, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tratamento Salino mM NaCl	Na ⁺ (mg.kg ⁻¹)						K ⁺ (g.kg ⁻¹)					
	Folha		Caule		Raiz		Folha		Caule		Raiz	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
0	0,6 bC	2,2 aD	0,7 bD	2,5 aD	3,1 bC	7,0 aB	17,9 aA	17,3 aA	29,9 aA	28,6 aA	16,2 aA	10,0 aA
40	2,6 bC	5,4 aC	3,7 bC	6,6 aC	8,8 bB	15,1 aA	18,0 aA	17,4 aA	23,1 aA	18,8 aB	11,8 aA	11,2 aA
80	5,8 bB	9,6 aB	6,1 bB	8,0 aB	14,1 aA	16,0 aA	19,5 aA	19,8 aA	17,0 aB	16,3 aB	8,1 aB	8,9 aB
120	12,0 bA	20,6 aA	14,3 aA	14,5 aA	11,3 bAB	15,9 aA	21,5 aA	9,8 bB	14,8 aC	13,0 aB	6,6 aC	5,3 aC
CV	11,81		8,03		11,03		19,27		15,2		11,09	
Tratamento Salino mM NaCl	Ca ²⁺ (mg.L ⁻¹)						Mg ²⁺ (mg.L ⁻¹)					
	Folha		Caule		Raiz		Folha		Caule		Raiz	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
0	25,7 aA	24,2 aA	7,0 aA	4,1 bB	7,9 aA	5,2 bA	6,6 aA	6,3 aA	3,1 aA	3,0 aA	3,9 aA	3,0 aA
40	24,3 aA	18,0 bB	4,4 aB	4,6 aA	5,8 aB	5,3 aA	6,5 aAB	6,5 aA	3,3 aA	3,0 aA	3,4 aA	3,0 aA
80	29,7 aA	17,9 bB	3,3 aB	4,2 aA	4,8 aB	4,8 aAB	6,5 aAB	5,1 bB	2,7 aB	2,6 aA	2,7 aB	2,6 aB
120	26,5 aA	15,6 bB	4,5 bB	5,6 aA	3,1 aC	3,9 aB	5,4 aB	3,8 bC	2,6 aB	2,3 aA	2,5 aB	1,7 bC
CV	7,99		12,58		11,43		8,15		9,56		16,7	
Tratamento Salino mM NaCl	P (mg.g ⁻¹)						Na/ K					
	Folha		Caule		Raiz		Folha		Caule		Raiz	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
0	5,1 aA	4,39 aA	8,0 aA	6,2 aA	6,4 aA	6,2 aA	0,0 aC	0,1 aC	0,1 aC	0,6 aC	0,2 aB	0,7 aC
40	4,3 aA	4,47 aA	6,74 aA	7,1 aA	4,6 aA	6,9 aA	0,1 aB	0,2 aB	0,8 aB	1,4 aB	0,7 bB	1,3 aBC
80	4,4 aA	5,55 aA	8,5 aA	7,6 aA	6,4 aA	7,4 aA	0,2 aB	0,4 aB	1,8 aB	1,9 aAB	1,8 aA	1,9 aB
120	4,4 aA	5,28 aA	7,9 aA	6,0 aA	5,8 aA	5,1 aA	0,5 bA	2,3 aA	3,2 aA	2,6 bA	1,9 bA	2,7 aA
CV	11,98		19,5		29,01		43,5		19,63		20,6	
Tratamento Salino mM NaCl	Na/ Ca						Na/ Mg					
	Folha		Caule		Raiz		Folha		Caule		Raiz	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
0	0,1 aB	0,1 aC	0,1 aD	0,6 aC	0,3 bC	1,3 aC	0,1 aC	0,3 aC	0,2 bD	0,8 aC	0,8 bC	1,8 aD
40	0,1 aB	0,3 aBC	0,8 bC	1,4 aB	1,3 aC	2,8 aB	0,4 bBC	0,8 aB	1,1 bC	2,2 aB	2,6 bB	4,2 aC
80	0,1 bAB	0,5 aB	1,8 aB	1,9 aAB	3,0 aA	3,3 aAB	0,9 bB	1,8 aB	2,3 bB	3,0 aB	5,0 aA	6,0 aB
120	0,4 bA	1,3 aA	3,2 bA	2,6 bA	3,6 aA	4,0 aA	2,2 bA	5,4 aA	5,3 bA	6,1 aA	4,3 bA	9,3 aA
CV	32,71		19,63		19,75		15,21		13,38		18,94	

Descritores bioquímicos para mudas de Moringa oleifera Lam. submetidas à salinidade

Foram realizadas 51 análises, distribuídas em três níveis salinos (40, 80 e 120 mM de NaCl) em dois períodos de submissão ao estresse

(15 e 30 dias) nos diferentes órgãos avaliados. E observou-se que em 27 dessas análises, houve alterações bioquímicas na concentração de 40 mM de NaCl e 37 para a concentração de 80 mM de NaCl. Já para a

concentração de 120 mM de NaCl, houve alterações em 45 destas.

Para a concentração de 40 mM de NaCl, as alterações que ocorreram aos 15 dias de estresse foram reduções nos teores de carboidratos nas folhas e raízes, aumento atividade da guaiacol peroxidase na folha e na raiz entumescida, aumento nos teores de Na⁺ nas raízes. Aos 30 dias de estresse, além dessas alterações foi observado dano nas membranas, redução nos teores de aminoácidos e prolina, aumento de Na⁺ e redução nos teores de Ca²⁺, aumentando a relação Na/ Ca.

Para as plantas submetidas à concentração de 80 mM de NaCl, aos 15 dias de estresse, houve redução nos teores de clorofila *a* e *b*, e aumento dos carotenoides, alterações nas concentrações dos carboidratos, aminoácidos e prolina e as atividades das enzimas antioxidativas, catalase e ascorbato peroxidase se mantiveram semelhantes às plantas do tratamento controle. Aos 30 dias de estresse, além das alterações observadas aos 15 dias, constatou-se um aumento no danos das membranas e um maior acúmulo de sódio nas folhas, caules e raízes.

Conclusão

O desenvolvimento da *Moringa oleifera* não é afetado até a concentração de 80 mM de NaCl.

Os mecanismos utilizados pela espécie para tolerar esta concentração salina foram: sistema de defesa antioxidante eficiente, com produção de enzimas antioxidantes e carotenoide, além de acúmulo de prolina e translocação os íons de Na⁺ do sistema radicular para a parte aérea da planta.

Já para as plantas submetidas à 120 mM de NaCl, observa-se que aos 15 dias de estresse, a elevada concentração salina já provocou alterações na maioria das variáveis avaliadas, tais como redução nos pigmentos fotossintéticos e nos teores de carboidratos, bem como o acúmulo de aminoácidos e prolina. O sistema antioxidante foi prejudicado e as atividades das enzimas foram reduzidas o que não permitiu a redução dos danos provocados pelo vazamento de eletrólitos. Nestas plantas foi verificado além da toxicidade do sódio, o desbalanço nutricional, pois a elevada concentração de sódio afetou na absorção de potássio, cálcio e magnésio.

De modo geral, as alterações bioquímicas observadas nas plantas submetidas à concentração de 80 mM de NaCl, foram eficientes para minimizar os danos provocados pelo estresse, o que não aconteceu com as plantas submetidas à concentração de 120 mM de NaCl, em que todo metabolismo da planta foi afetado.

Referências

AKÇA, Y.; SAMSUNLU, E. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline and nutrient accumulation, and K/Na ratio in Walnut. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 5, p. 1513-1520, 2012.

ALI, K. S.; MOHAMED, B. F.; DREYLING, G. Salt Tolerance and Effects of Salinity on some Agricultural Crops in the Sudan. **Journal of Forest Products & Industries**, v. 3, n. 2, p. 56-65, 2014.

- ALVES, F. A. L.; SILVA, S. L. F.; SILVEIRA, J. A. G.; PEREIRA, V. L. A. Mecanismos fisiológicos envolvidos com a diminuição de K⁺ em raízes de cajueiro causada por NaCl. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 40, n. 4, p. 588-595, 2009.
- AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; CLAUDIVAN FEITOSA DE LACERDA, C. F.; SILVA, J. V.; COSTA, P. H. A.; GOMES-FILHO, E. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n. 1, p. 31-38, 2004.
- BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BEERS JUNIOR, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxidase by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 02, p. 133-140, 1952.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CARILLO P., PARISI D., WOODROW P., PONTECORVO G., MASSARO G., ANNUNZIATA M.G., FUGGI A., SULPICE R. Salt-induced accumulation of glycine-betaine is inhibited by high light in durum wheat. **Functional Plant Biology**, v. 38, p. 139-150, 2011.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Embrapa Informação tecnológica, 2009. 627p.
- FAGERIA, N. K.; FILHO, W. S. S.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético vegetal e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicativos**. Fortaleza, INCT Sal, 2010, cap. 13, p. 205-218.
- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 2-18, 2011.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley, 32p. 1950.
- KUMARI, S. P. K.; SRIDEVI, V.; LAKSHMI, M. V. V. C. Studies on effect of salt stress on some medicinal plants. **International Journal of Computational**, v. 2, n. 1, p. 143-149, 2012.
- LICHTENTHALER H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E.; ACREE, T. E.; AN, H.; DECKER, E. A.; PENNER, M. H.; REID, D. S.; SCHWARTZ, S. J.; SHOEMAKER, C. F.;

- SPORNS, P. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. John Wiley & Sons, Inc: New Jersey. Unit F4.3, p. F4.3.1-F4.3.8, 2001.
- LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, v. 63, n. 3, p. 335-340, 2004.
- LÓPEZ-AGUILAR, R.; MEDINA-HERNÁNDEZ, D.; ASCENCIO-VALLE, F.; TROYO-DIEGUEZ, E.; NIETO-GARIBAY, A.; ARCE-MONTOYA, MARIO.; LARRINAGA-MAYORAL, J.A.; GÓMEZ-ANDURO, G. A. Differential responses of Chiltepin (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) and Poblano (*Capsicum annuum* var. *annuum*) hot peppers to salinity at the plantlet stage. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 11, p. 2642-2653, 2012.
- MALAVOLTA, E. **ABC da adubação**. 5ª ed. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 1989. 292p.
- MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 4ª ed. Fortaleza: UFC, SEBRAE/CE, 2002.
- MELO, H. F.; SOUZA, E. R.; DUARTE, H. H. F.; CUNHA, J. C.; SANTOS, H. R. B. Gas exchange and photosynthetic pigments in bell pepper irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, p. 38-43, 2017.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, n.1, p.651-681, 2008.
- NAKANO Y.; ASADA, K. Hydrogenperoxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach-chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.
- NGAMUKOTE, S.; KHANNONGPHO, T.; SIRIWATANAPAIBOON, M.; SIRIKWANPONG, S.; DAHLAN, W.; ADISAKWATTANA, S. *Moringa oleifera* leaf extract increases plasma antioxidant status associated with reduced plasma malondialdehyde concentration without hypoglycemia in fasting healthy volunteers. **Chinese Journal of Integrative Medicine**. p 1-6, 2016.
- NOUMAN, W.; SIDDIQUI, M. T.; BASRA, S. M. A.; KHAN, R. A.; GULL, T.; OLSON, M. E.; MUNIR, H. Response of *Moringa oleifera* to Saline Conditions. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 14, n. 5, p. 757-762, 2012.
- PACHECO, C. M.; PESTANA-CALSA, M. C.; GOZZO, F. C. NOGUEIRA, R. J. M. C.; MENOSSI, M.; CALSA JUNIOR, T. Differentially Delayed Root Proteome Responses to Salt Stress in Sugar Cane Varieties. **Journal of Proteome Research**, v. 12, p. 5681-5695, 2013.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-manso submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437-445, 2009.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A.; RODRIGUES, C. R.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *jatropha curcas* is associated

with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K^+ , osmotic adjustment and K^+/Na^+ homeostasis. **Plant Biology**, v. 17, n. 5, p. 1-7, 2015.

TURAN, M. A.; ELKARIM, A. H. A.; TABAN, N.; TABAN, S. Effect of salt stress on growth and ion distribution and accumulation in shoot and root of maize plant. **African Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 7, p. 584-588, 2010.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, K. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 13, n. 1, p. 43-50, 1991.

WANG, H.; ZHANG, M.; GUO, R.; SHI, D.; LIU, B.; LIN, X.; YANG, C. Effects of salt stress on ion balance and nitrogen metabolism of old and young leaves in rice (*Oryza sativa* L.). **Bio Med Central Plant Biology**, v. 12, n.194, 11p. 2012.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n.11, 2010.

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