

## FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA COMO INDICADOR DE ESTRESSE SALINO EM FEIJÃO CAUPI

Wanderson José de Oliveira<sup>1</sup>, Edivan Rodrigues de Souza<sup>2</sup>, Hugo Rafael Bentzen Santos<sup>3</sup>, Ênio Farias de França e Silva<sup>4</sup>, Heitor Henrique Felix Duarte<sup>5</sup>, Diego Vandeval Maranhão de Melo<sup>6</sup>

### RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da salinidade sobre a fluorescência de clorofila em feijão caupi cv. IPA 206 cultivados com Neossolo Flúvico em casa de vegetação. A irrigação foi realizada com água com seis níveis de condutividades elétricas (0; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5 dS m<sup>-1</sup>) formuladas com NaCl e uma misturas de sais, em blocos ao acaso com arranjo fatorial 6x2 e 4 repetições. Foram determinados a condutividade elétrica e o potencial osmótico no início e no final do experimento no extrato da pasta saturada e ao longo do período experimental nos tempos 17; 35; 46 e 60 dias após o plantio na solução da capsula extratora. A fluorescência da clorofila *a* e os pigmentos fotossintéticos foram determinados aos 33 dias após o plantio. Foi verificado aumento da condutividade elétrica e redução do potencial osmótico do solo durante o experimento. A fluorescência da clorofila e os pigmentos fotossintéticos apresentaram reduções com o aumento da condutividade elétrica indicando presença de estresse. Todas as alterações contribuíram para a conclusão de que a fluorescência da clorofila pode ser usada para detectar a presença de estresse salino em feijão caupi.

**Palavras-chave:** estresse abiótico, salinidade, *vigna unguiculata*

## CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AS INDICATIVE OF THE SALT STRESS ON COWPEA BEANS

### ABSTRACT

The objective of study was evaluate the effect of salinity in chlorophyll fluorescence in cowpea cv. IPA 206 cultivated with Fluvic Neosol under greenhouse conditions and irrigated with water with six levels of electrical conductivity (0, 2.5, 5, 7, 5, 10, 12.5 dS m<sup>-1</sup>) formulated

<sup>1</sup> Doutorando em Engenharia Agrícola, UFRPE, e-mail: w.joliveira@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Prof. Adjunto, Departamento de Agronomia, UFRPE, e-mail: edivanrs@hotmail.com

<sup>3</sup> Pós-Doutorando Departamento de Agronomia, UFRPE, e-mail: hugobentzen@hotmail.com

<sup>4</sup> Prof. Associado, Departamento de Engenharia Agrícola, UFRPE, e-mail: effsilva@uol.com.br

<sup>5</sup> Doutorando em Tecnologia Energéticas e Nucleares, UFPE, e-mail: duartehef@gmail.com

<sup>6</sup> Mestrado em Agronomia, UFRPE, e-mail: diegovmmelo@hotmail.com

with NaCl and a salt mixtures, in randomized blocks with 6x2 factorial arrangement and 4 replicates. The electrical conductivity and the osmotic potential were determined at the beginning and end of the experiment in the saturated past extract and throughout the experimental period at times 17, 35, 46, 60 days after planting in the extractive capsule solution. The chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments were determined at 33 days after planting. Increased electrical conductivity and were observed during the experimente. The chlorophyll fluorescence presented changes and the photosynthetic pigments presented reductions with the increase of electrical conductivity indicating the presence of stress. All changes contributed to the conclusion that chlorophyll fluorescence can be used to detect the presence of saline stress in cowpea. All changes contributed to the conclusion that chlorophyll fluorescence can be used to detect the presence of saline stress in cowpea.

**Keywords:** abiotic stress, salinity, *vigna unguiculata*

## INTRODUÇÃO

Estima-se que aproximadamente 20% de todas as áreas irrigadas no mundo são afetadas pela salinidade em diferentes níveis, sendo por isso, a salinidade um problema de nível mundial e limitante para produção agrícola (CHA-UM et al., 2013).

As alterações fisiológicas ocasionadas devido a exposição das plantas ao estresse salino podem resultar na degradação de pigmentos fotossintéticos, destruição de cloroplasto, diminuição da fluorescência da clorofila e conseqüentemente redução na taxa fotossintética líquida. A diminuição do conteúdo de clorofila sob estresse salino é um fenômeno comumente relatado, e em vários estudos, o conteúdo de clorofila foi usado como um indicador sensível do estado metabólico celular, uma vez que pode estar relacionado a deterioração da membrana cloroplastídica, devido ao acúmulo de íons tóxicos (CHUTIPAIJIT et al., 2011).

O Fotossistema II é um componente sensível da maquinaria fotossintética no que diz respeito ao estresse salino, uma vez que é verificado reduções na eficiência desse fotossistema e na cadeia de transporte de elétrons, acarretando em diminuição da atividade fotossintética (PARIHAR et al., 2015). Dessa forma, o estudo funcional do aparato fotossintético é considerado um indicador fisiológico muito útil para verificar a sensibilidade das plantas ao estresse abiótico ambiental, principalmente por ser

uma análise não invasiva, altamente sensível, rápida e confiável.

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma das leguminosas mais plantadas e consumidas nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, uma vez que suas sementes e vagens são utilizadas tanto para o consumo humano como importante fonte de proteína, energia, fibras e minerais, quanto como matéria-prima para adubação verde e material orgânico (MANAF; ZAYED, 2015; PEREIRA et al., 2016).

Tendo em vista a grande área de solos salinizados no mundo e a importância do feijão caupi para a região Nordeste, o objetivo desse estudo foi investigar os efeitos da salinidade sobre o fotossistema II e o conteúdo de clorofila a fim de se esclarecer como isso se reflete no desenvolvimento da planta irrigada com água salina de diferentes fontes de sal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, coordenadas 08° 00' 59,9" S e 34° 56' 38,6" W, durante os meses de março a maio de 2014, totalizando 60 dias de acompanhamento.

Foram cultivadas plantas de feijão caupi cv. IPA 206 em vasos com capacidade para seis litros preenchidos com solo. O solo utilizado no experimento foi coletado no

Município de Pesqueira - PE, 8°34'11" S, 37°48'54" W e com altitude de 630m, região semiárida do Nordeste brasileiro, na profundidade de 0-30 cm; e classificado como Neossolo Flúvico (EMBRAPA, 2013), isento de problemas de salinidade e sodicidade. Posteriormente, o solo foi seco ao ar, destorroado, homogeneizado e passado em peneira de 4 mm.

Para a caracterização química do solo foram determinados na terra fina seca ao ar (TFSA) os cátions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ . O extrato de saturação foi obtido através do preparo da pasta de saturação (RICHARDS, 1954), onde mediu-se a condutividade elétrica e foram determinadas as bases solúveis (EMBRAPA, 1997).

No extrato de saturação o solo apresentou  $\text{pH}_{\text{es}} = 8,71$ ;  $\text{CE} = 0,99 \text{ dS m}^{-1}$ ; concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  respectivamente 1,00; 1,04; 5,34; 1,12 e 6,80  $\text{mmolc L}^{-1}$ . No complexo sortivo o pH foi de 7,7 e as concentrações  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , SB foram respectivamente 5,53; 2,22; 0,26; 0,5 e 8,51  $\text{cmolc kg}^{-1}$ .

Com base na caracterização química, para suprir as necessidades nutricionais da cultura, realizou-se a adubação de acordo com o manual de recomendação de adubação (CAVALCANTI, 2008).

Para a caracterização física foram feitas as análises segundo a EMBRAPA (1997); estimou-se a porosidade total utilizando-se os valores de densidades de partícula e do solo.

O solo possuía areia fina ( $312 \text{ g kg}^{-1}$ ), areia grossa ( $117 \text{ g kg}^{-1}$ ), silte ( $422 \text{ g kg}^{-1}$ ), argila ( $149 \text{ g kg}^{-1}$ ), argila dispersa em água ( $102 \text{ g kg}^{-1}$ ), densidade do solo ( $1,24 \text{ kg dm}^{-3}$ ), densidade de partícula ( $2,52 \text{ kg dm}^{-3}$ ), porosidade total (50,79 %), capacidade de campo ( $0,24 \text{ kg kg}^{-1}$ ) e ponto de murcha permanente ( $0,05 \text{ kg kg}^{-1}$ ).

Antes do plantio das sementes de feijão e durante a realização do experimento, os vasos foram irrigados de forma que ficassem com umidade correspondente a 80% da capacidade de pote. A escolha da umidade baseou-se na curva de retenção de água no solo.

Após sete dias da emergência das plantas do feijão caupi, deu-se início, de forma crescente para que não houvesse choque osmótico nas plantas, a irrigação do solo com águas de condutividades elétricas (CE) de 0; 2,5; 5; 7,5; 10 e 12,5  $\text{dS m}^{-1}$  elaboradas a partir de NaCl e de uma mistura de  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ , NaCl, e KCl, simulando a composição encontrada em poços na região de Pesqueira-PE (Tabela 1).

**Tabela 1** - Quantidades necessárias de sal ( $\text{g L}^{-1}$ ) para a obtenção dos valores de condutividade elétrica utilizadas para as águas de irrigação de ambas as fontes de sais e o potencial osmótico das soluções ( $\Psi_0$ , em MPa)

| CE<br><br>dS $\text{m}^{-1}$ | Fontes de Água            |                 |         |       |  |                   |       |                 |
|------------------------------|---------------------------|-----------------|---------|-------|--|-------------------|-------|-----------------|
|                              | NaCl                      |                 | Mistura |       |  |                   |       | $\Psi_0$<br>MPa |
|                              | NaCl<br>g $\text{L}^{-1}$ | $\Psi_0$<br>MPa | NaCl    | KCl   | MgCl <sub>2</sub><br>g $\text{L}^{-1}$ | CaCl <sub>2</sub> | Total |                 |
| 0                            | 0                         | 0               | 0       | 0     | 0                                      | 0                 | 0     | 0               |
| 2,5                          | 1,360                     | 0,104           | 1,051   | 0,005 | 0,306                                  | 0,244             | 1,606 | 0,117           |
| 5,0                          | 2,906                     | 0,223           | 1,990   | 0,013 | 0,556                                  | 0,443             | 3,002 | 0,233           |
| 7,5                          | 4,669                     | 0,359           | 3,201   | 0,016 | 0,886                                  | 0,693             | 4,796 | 0,346           |
| 10,0                         | 6,650                     | 0,510           | 4,650   | 0,027 | 1,297                                  | 1,006             | 6,980 | 0,538           |
| 12,5                         | 8,826                     | 0,676           | 6,501   | 0,040 | 1,823                                  | 1,409             | 9,773 | 0,706           |

Os tratamentos foram dispostos em blocos ao acaso, formado por quatro blocos em arranjo fatorial 6 x 2, sendo duas fontes de sais e seis níveis de condutividade elétrica, totalizando 48 parcelas. A umidade do solo foi

mantida de forma gravimétrica com pesagem diária, sendo irrigados com o volume referente a evapotranspiração.

As determinações da CE e do potencial osmótico foram realizadas a partir da coleta

da solução do solo da cápsula extratora aos 17, 35, 46 e 60 DAP e do extrato da pasta saturada no início e no final do experimento. Sendo que a CE do solo foi determinada em condutivímetro enquanto que a osmolalidade determinada em osmômetro de pressão de vapor (VAPRO WESCOR Modelo 5600) e o potencial osmótico estimado pela equação de Van't Hoff segundo a metodologia descrita por Silveira et al. (2009).

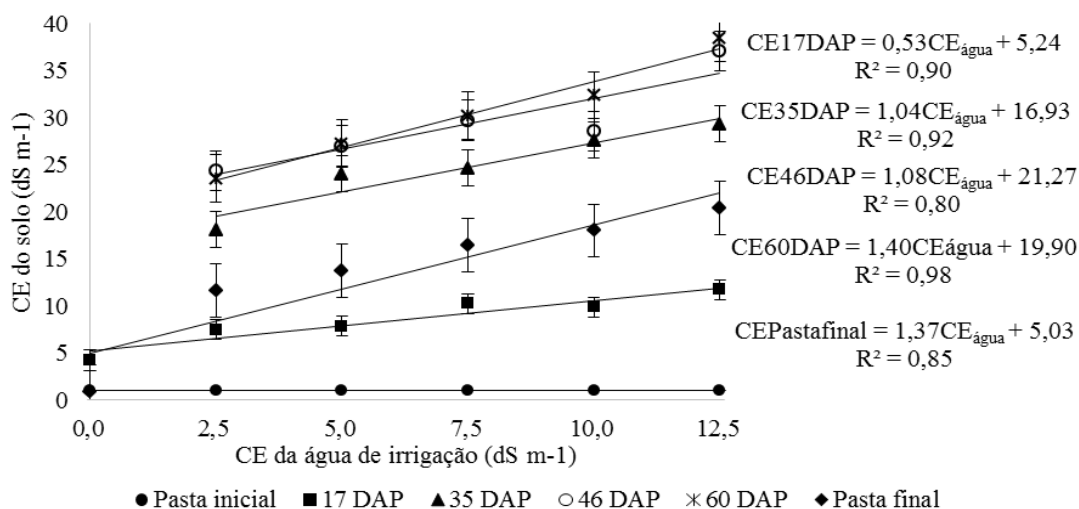
A fluorescência da clorofila foi avaliada com o auxílio do fluorômetro FluorPen, modelo F100 (Photon Systems Instruments) aos 33 dias após o plantio (DAP). As medições foram feitas em folhas do terço médio, sadias, completamente expandidas e adaptadas ao escuro por 30 minutos com o auxílio de pinças. A partir das intensidades de fluorescência medidas foram calculados os parâmetros estabelecidos pelo Teste - JIP obtidas das análises da fluorescência da clorofila *a* de acordo com Strasser et al. (2004).

Destas mesmas folhas foi realizada, a quantificação das clorofilas *a*, *b*, e dos carotenoides seguindo a metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001).

Os resultados obtidos foram interpretados por meio de análises de variância (ANOVA) e de regressão para os níveis de salinidade e teste de comparação de médias para as fontes de sal na água de irrigação. O critério para a escolha do modelo foi o maior valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) através do programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa entre as fontes de sal (NaCl e Mistura) nas águas de irrigação para a CE do solo ( $P < 0,05$ ). A caracterização inicial do solo apresentou CE com valor próximo a  $1 \text{ dS m}^{-1}$  antes do experimento, mostrando que o solo estava isento de salinidade, conforme mostra a Figura 1.



**Figura 1.** Evolução da condutividade elétrica da solução do solo extraída com pasta saturada durante no início e no fim do experimento e aos 17, 35, 46, 60 dias após o plantio extraído com a capsula extratora.

Após início da irrigação salina, a CE do solo aumentou progressivamente com o passar do tempo, comportando-se de forma linear, chegando a alcançar aos 60 DAP valores de 23,55; 27,68; 30,23; 32,40 e 38,44  $\text{dS m}^{-1}$ , respectivamente para os tratamentos salinos de 2,5; 5,0; 7,5; 10 e 12,5  $\text{dS m}^{-1}$

(Figura 1). A pasta de saturação do final do experimento apresentou uma CE máxima de  $20,45 \text{ dS m}^{-1}$  para o tratamento de  $12,5 \text{ dS m}^{-1}$ .

Pode-se verificar no tratamento controle ( $0 \text{ dS m}^{-1}$ ) que a partir da avaliação aos 35DAP não foi possível quantificar a

evolução de sua CE do solo (Figura 1), devido a cápsula extratora não apresentar solução.

Essa ausência de solução pode estar relacionada a provavelmente algum defeito na cápsula extratora, ou então, a uma alta absorção de água pelas raízes das plantas não permitindo a entrada na cápsula porosa, uma vez que estas plantas apresentaram uma alta demanda hídrica, pois estavam em boas condições (sem salinidade) para o seu pleno desenvolvimento.

Esse aumento da CE com o passar do tempo se deve ao fato da maior parte da água da irrigação ser removida pela evapotranspiração, já que não existe drenagem da água aplicada e não foi usada de fração de lixiviação, por essa razão os sais só são retirados do solo quando extraídos pelas plantas, acumulando-se provocando o aumento da CE e diminuição do potencial osmótico.

Essa condição é característica da situação de muitos agricultores do semiárido nordestino, que não possuem sistema de drenagem e não usam fração de lixiviação. Estando sujeitos ao uso de água de menor qualidade esse fator só intensifica os efeitos deletérios da salinidade no solo.

Os valores alcançados pela CE da solução do solo no fim do experimento tanto pelo extrator quanto pela pasta saturada, superam o recomendado para o feijão-caupi, mostrando que em apenas um ciclo o cultivo poderia ser inviabilizado. A redução dos valores de CE obtidos pela pasta de saturação em relação a CE obtida pela solução extraída da cápsula extratora, está relacionado ao fato que a pasta de saturação do solo é diluída com o acréscimo de água no seu preparo. A CE na capacidade de campo é aproximadamente igual ao o dobro da encontrada na pasta de saturação.

Fageria et al. (2010) estudando a susceptibilidade de diversos genótipos de feijão caupi afirmaram que os genótipos testados foram moderadamente tolerantes a salinidade, podendo suportar, sem perdas expressivas na produção, salinidade em torno de  $4,9\text{dS m}^{-1}$ . Da mesma forma que Almeida

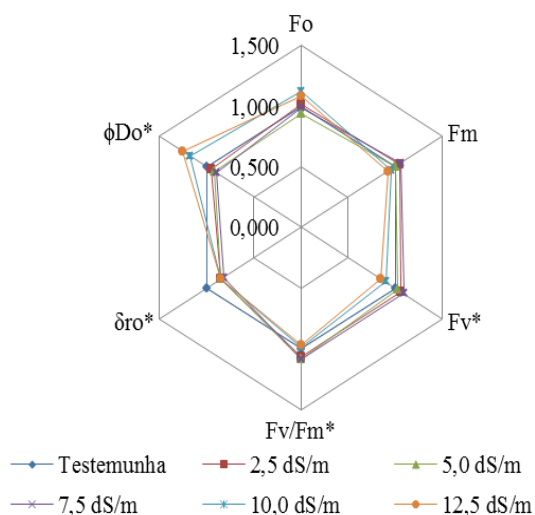
et al. (2011) relataram que o grau de tolerância dessa cultura ao estresse salino varia entre genótipos. Os autores estudaram a produção de matéria seca em dez genótipos e diferentes níveis de salinidade.

Apesar disto, pesquisas têm demonstrado que a elevação da salinidade do solo decorrente da irrigação com água salina pode inibir o desenvolvimento das plantas em consequência de alterações nos parâmetros fisiológicos (OLIVEIRA et al., 2017), de crescimento e de rendimento da cultura (OLIVEIRA et al., 2016). Fato este comprovado em trabalho desenvolvido por Coelho et al. (2013), ao estudarem o comportamento hídrico e crescimento do feijão vigna sob quatro níveis de salinidade, observaram redução em torno de 60% na produção de biomassa seca da parte aérea nos tratamento mais severo ( $12\text{dS m}^{-1}$ ) quando comparado ao controle.

A salinidade pode afetar diretamente o Fotossistema II (PSII), inibindo a quebra da molécula de água para obtenção dos elétrons necessários ao fotoquímica, bem como diminuindo o teor de pigmentos fotossintéticos. A fluorescência da clorofila é sensível a esse efeito e se houver dano causado pelo estresse salino ele pode ser observado com essa técnica.

A fluorescência inicial ( $F_0$ ) e fluorescência máxima ( $F_m$ ) não apresentaram diferença significativa entre os tipos de sais utilizados ou entre as CE's ( $P < 0,05$ ). Já a fluorescência variável ( $F_v$ ), rendimento quântico ( $F_v/F_m$ ), a eficiência com que um elétron pode mover dos aceptores de elétrons do intersistema reduzidos para os aceptores finais do FSI ( $\delta R_0$ ) e o rendimento quântico fotoquímico para dissipação de calor ( $\phi Do$ ) apresentaram diferença significativa entre as CE's utilizadas ( $P < 0,05$ ).

Na figura 2 pode ser observada a diferença relativa entre os parâmetros extraídos da fluorescência da clorofila, em relação ao controle, em feijão Caupi cultivadas sob estresse salino.



**Figura 2.** Diferença relativa entre os parâmetros extraídos da fluorescência da clorofila, em relação ao respectivo controle, em feijão Caupi cultivadas sob estresse salino. \* Significativo a 5% pelo teste F.

O aumento do Fo indica dano e inativação dos centros de reações do PSII (MEHTA et al., 2010). Seu aumento é comumente encontrado em plantas sob estresse salino e a ausência de diferenças entre Fo nas diferentes CE's encontrada neste trabalho indica tolerância da planta a salinidade.

Tratando-se da Fm seu aumento pode indicar uma tentativa de compensação do processo fotossintético a danos causados pela salinidade, aumentando sua atividade para obter maior assimilação de CO<sub>2</sub>. Sua redução indica uma desaceleração na atividade fotossintética visando minimizar os efeitos tóxicos da salinidade (FLOWERS; FLOWERS, 2005).

A ausência de diferenças encontradas neste trabalho na Fm com o aumento da salinidade da água de irrigação assim como na Fo também indica tolerância da planta a salinidade e segundo Nascimento et al. (2011) o feijão caupi (IPA 206), cultivar desenvolvida no Instituto de Pesquisa

Agropecuária de Pernambuco, é amplamente utilizada devido à sua tolerância às condições de estresse hídrico e salino, bem como em solos com baixa fertilidade (NASCIMENTO et al., 2011).

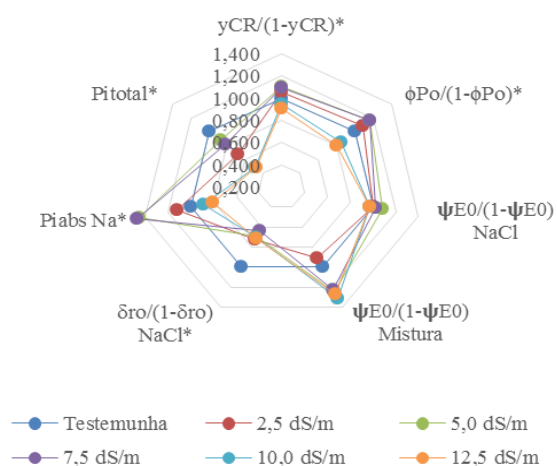
Quando analisadas separadas Fo e Fm não puderam indicar alterações no processo fotossintético, porém a fluorescência variável (Fv) mostrou-se mais sensível a identificação de estresse salino. O que pode ser visto com a diminuição da Fv nas CEs 10 e 12,5 dS m<sup>-1</sup> (Figura 3).

Para o rendimento quântico do PSII (Fv/Fm) (Figura 3), as CEs 10 e 12,5 dS m<sup>-1</sup> novamente apresentaram redução dos valores em relação ao tratamento controle indicando inibição da atuação do aparelho fotossintético.

As diferenças encontradas em Fv/Fm são resultado das diferenças que existem na Fo e Fm, mesmo que não significativa. Segundo Inbaraj e Muthuchelian (2011) pequenas diferenças em Fo podem resultar em grandes diferenças em Fv/Fm. Segundo Kalaji e Guo (2008) Fv/Fm é considerado amplamente como sensível a indicação do desempenho fotossintético da planta. E também sensível ao estresse salino (LI et al., 2010). Ou seja, a diminuição de Fv/Fm indica dano ao aparato fotossintético, neste caso causado pela alta CE da água de irrigação.

Corroborando com o estudo Mathobo et al. (2017) estudando *Phaseolus vulgaris* em condições de estresse hídrico também encontraram diminuição de Fv/Fm. Zanandrea et al. (2006) trabalhando com o mesmo feijão também encontram redução de Fv/Fm no tratamento mais salino.

A eficiência com que um elétron pode mover dos aceptores de elétrons do intersistema reduzidos para os aceptores finais do PSI ( $\delta Ro$ ) (Figura 3) diminuiu com o aumento da salinidade para todos os tratamentos salinos.



**Figura 3.** Valores relativos dos índices de performance obtidos a partir da fluorescência transiente da clorofila a, em relação ao respectivo controle, em feijão Caupi cultivadas sob estresse salino com água de irrigação com NaCl e uma mistura de sais (\* Significativo a 5% pelo teste F).

Essa diminuição da  $\delta Ro$  resulta em uma sobra energética no centro de reação, surgindo a necessidade de dissipação de energia, seja pela forma de fluorescência ou pela dissipação de calor. Se não dissipada esse excesso de energia pode resultar na formação de espécies reativas de oxigênio (NISHIYAMA et al., 2011).

Corroborando com o comportamento de  $\delta Ro$  o rendimento quântico fotoquímico para dissipação de calor ( $\phi Do$ ) (Figura 3) aumentou para os mesmos valores de CE's. Como ocorreu diminuição de  $Fv/Fm$  e  $\delta Ro$  mais energia acaba tendo que ser dissipada, e uma das formas é pela dissipação de calor.

Avaliando este último parâmetro fica evidente que a salinidade afetou a fotossíntese da planta principalmente nas CE's 10 e 12,5  $dS m^{-1}$ . Segundo Oliveira et al. (2017) a salinidade provoca redução da fotossíntese líquida em caupi. Zahedi et al. (2012) encontrou efeitos da salinidade sobre o caupi já na germinação das plantas, diminuindo o desenvolvimento da plúmula. O que consequentemente resultará em menor área foliar e reduzirá a fotossíntese da planta.

Observando os índices de performance obtidos com a fluorescência da clorofila foi verificado que a densidade de clorofila por

centro de reação [ $\gamma RC/(1-\gamma RC)$ ] (Figura 3) diferiu significativamente para as CE's da água de irrigação ( $P < 0,05$ ), indicando uma diminuição na concentração dos pigmentos fotossintéticos nos tratamentos mais salinos.

A densidade de clorofila nos tratamentos com CE de 2,5; 5 e 7,5  $dS m^{-1}$  foram maiores que os valores da testemunha, depois ocorreu uma diminuição com o aumento da CE (10 a 12,5  $dS m^{-1}$ ), indicando que foi nestas CE's que ocorreu a maior redução nos pigmentos fotossintéticos. Como as clorofilas diminuíram de forma linear o aumento inicial da desses valores indicam uma ativação de mais centros de reações, aumentando eficiência de transferência de energia para as outras CE's.

As reações redox da fotoquímica primária [ $\phi Po/(1-\phi Po)$ ] (Figura 4) apresentaram diferença significativa para as CEs ( $P < 0,05$ ), ocorreu um aumento do desempenho a partir da CE 2,5  $dS m^{-1}$  com um ponto de máxima em 7,5  $dS m^{-1}$ . Pode ser observado que para as CE's 10 e 12,5  $dS m^{-1}$  ocorreu redução do desempenho de [ $\phi Po/(1-\phi Po)$ ].

O desempenho das reações das fases terminais da fotoquímica [ $\psi Eo/(1-\psi Eo)$ ] (Figura 4), diferiu significativamente entre os tipos de sais ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos com NaCl, apresentaram seus valores próximos ao da testemunha. Os tratamentos com mistura de sais acima da CE 2,5  $dS m^{-1}$  apresentaram maior desempenho das reações da fase terminal da fotoquímica, indicando que os principais danos causados a fotoquímica ocorrem na fase inicial da fotossíntese.

Para o índice de desempenho das reações redox dos aceptores finais no lado acceptor do FSI [ $\delta Ro/(1-\delta Ro)$ ] (Figura 4) ocorreu diferença significativa para as CEs ( $P < 0,05$ ), no qual com o aumento do nível de salinidade provocaram a diminuição desse parâmetro.

O índice de vitalidade para conservação de energia para redução do instersistema (PIabs) (Figura 4) apresentou diferença

significativa ( $P < 0,05$ ) entre as CE. Os tratamentos com 2,5; 5 e 7,5  $\text{dS m}^{-1}$  apresentaram aumento do índice enquanto os tratamentos com CE de 10 e 12,5  $\text{dS m}^{-1}$  apresentaram redução de PIabs.

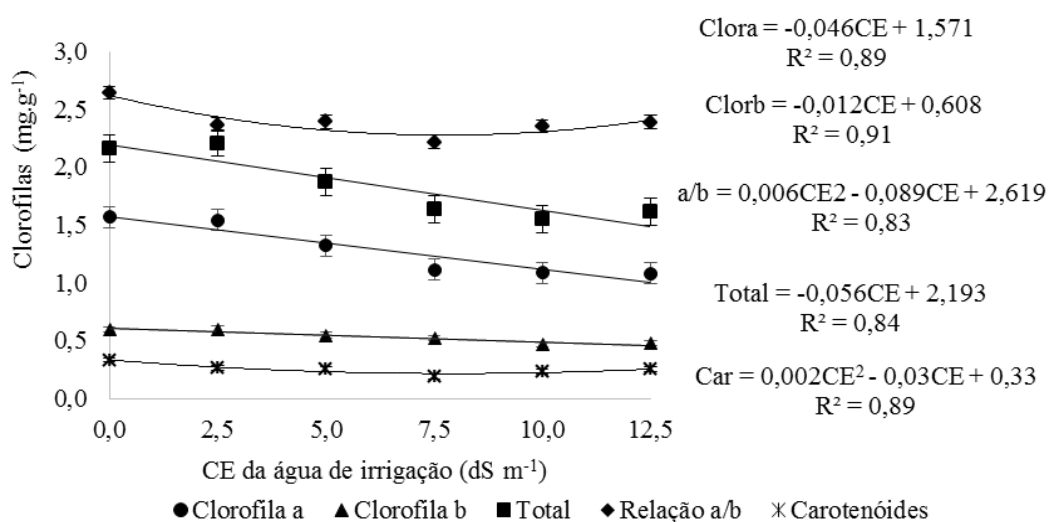
O índice de vitalidade para conservação de energia para redução dos aceptores finais do FSI (PI total) (Figura 4) também apresentou diferença significativa para a CE ( $P < 0,05$ ). Todas as CE's apresentaram redução de PI total.

PIabs e PI total se mostram como os mais sensíveis ao estresse hídrico, pois são compostos pelos desempenhos parciais que englobam toda fotossíntese. Para Yusuf et al. (2010) este parâmetro é o mais

sensível do Teste JIP porque incorpora vários parâmetros que são avaliados a partir da fluorescência.

Oukarroum et al. (2015), trabalhando com lentilha cultivada sobre estresse salino encontraram um decréscimo significativo no PI total em função do aumento da concentração salina. Jafarinia e Shariati (2012) encontraram diminuição do PIabs em canola com o aumento da concentração salina da solução nutritiva.

O conteúdo de clorofila *a*, *b* e total decresceu de forma linear e com alta correlação à medida que os níveis da CE na água de irrigação nos tratamentos aumentaram (Figura 4).



**Figura 4.** Valores médios dos teores de clorofila *a*, *b*, total, relação *a/b* e carotenóides em folhas de feijão caupi em função dos valores de condutividade elétrica da água de irrigação (CE) aos 33 dias após o plantio.

No tratamento mais severo, de 12,5  $\text{dS m}^{-1}$  a redução foi de 31, 20 e 25 % em relação aos seus tratamentos controles, respectivamente para clorofila *a*, *b* e total. Pode-se verificar que o declínio da quantidade de clorofila total foi provocado principalmente pela redução no conteúdo de clorofila *a* que é mais sensível ao estresse salino.

A relação *a/b* (Figura 5B) apresentou comportamento quadrático com um ponto de mínima em 7,5  $\text{dS m}^{-1}$ , uma redução de 16% em relação a testemunha. Os teores de carotenóides também apresentaram comportamento quadrático com um ponto de mínima em 7,5  $\text{dS m}^{-1}$ , uma redução de 42%

em relação a testemunha (0,33  $\text{mg g}^{-1}$ ) (Figura 5).

Cha-um et al. (2013) também encontraram um declínio da concentração da clorofila *a*, *b*, total e carotenóides em função do aumento da salinidade do solo tanto em feijão caupi quanto em feijão de porco. Manai et al. (2014) encontraram declínio no teor de clorofila *a*, *b* e total cultivando tomate sobre estresse salino. Essa diminuição evidencia o dano causado ao aparato fotossintético da planta.

A maior redução da clorofila *a* apresentada em relação a clorofila *b* sob estresse salino implica numa menor capacidade de coleta de luz do ambiente pelas



proteínas do centro de reação do PSI (KIANI- POUYA; RASOULI, 2014). Essa redução é verificada nas plantas em estresse salino, segundo Zhang et al. (2010), porque a salinidade induz inchaços e rompimento dos tilacóides e da camada involucra dos cloroplastos, ocasionados devido ao acúmulo de íons de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  que também inibem a síntese de novas moléculas de clorofilas.

Jain & Gould (2015) encontraram um decréscimo significativo na relação  $a/b$  cultivando *Disphyma* irrigadas com solução de NaCl. Jiang et al. (2014) cultivando *Populus cathayana* sobre estresse salino também encontraram decréscimo na relação  $a/b$ .

A diminuição das concentrações das clorofilas faz com que as moléculas de clorofila que continuam atuando fiquem mais excitadas, podendo formar radicais livres que provocariam a peroxidação de lipídios e afetariam mais moléculas de clorofila e outras membranas do processo fotossintético, provocando fotooxidação e a morte da planta.

Por isso nas CE's 10 e 12,5  $\text{dS m}^{-1}$  onde ocorre os maiores decréscimos nos teores de clorofila e na eficiência das reações redox da fase inicial da fotossíntese ocorre uma tendência de aumento nos teores de carotenoides, que são responsáveis por dissipar a energia excedente.

Os carotenoides são protetores da clorofila no tocante a fotoinibição, pois ajudam na capacidade de dissipação de energia radiante pela rota das xantofilas, contudo sua redução apresentada em função do incremento da condutividade elétrica, pode influenciar na capacidade de desintoxicação das plantas ao excesso de espécies reativas (TAIBI et al., 2016).

## CONCLUSÕES

Os valores alcançados pela CE da solução do solo no fim do experimento medidos tanto pelo extrator quanto pela pasta saturada superaram os limites estabelecidos para o caupi, inviabilizando o cultivo sob as condições salinas acima de 2,5 $\text{dS m}^{-1}$ .

Os níveis de condutividade elétrica tiveram maior influência nas respostas fisiológicas das plantas de caupi do que em relação ao tipo de sal utilizado (NaCl ou Mistura).

Fv/Fm, PIabs e PI total foram os parâmetro mais sensível para indicar alterações na fase fotoquímica da fotossíntese.

A salinidade provocou de maneira geral diminuição dos teores de pigmentos fotossintéticos principalmente nas condutividades elétricas mais elevadas

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, W. S.; FERNANDES, F. R.; BERTINI, C. H. D. M.; PINHEIRO, M. D. S.; TEÓFILO, E. M. Emergência e vigor de plântulas de genótipos de feijão-caupi sob estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 10, p.1047-1054, 2012.

CAVALCANTI, F. J. A. **Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco: 2ª aproximação**. 2 ed. rev. Recife: IPA, 2008. 147p.

CHA-UM, S.; BATIN, C.; SAMPHUMHUNG, 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**, v. 7, n. 13, p. 2128-2135, 2013.

CHUTIPAIJIT, S.; CHA-UM, S.; SOMPORNPAILIN, K. High contents of proline and anthocyan in increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. indica. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 10, p. 1191–1198, 2011.

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

- EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2013. 353p.
- EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. 212p.
- FAGERIA, N. K.; SOARES FILHO, W. 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 aplicados. Fortaleza: INCT Sal, 2010, p. 206-218.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 35, p.1039-1042, 2011.
- FLOWERS, T.J.; FLOWERS, S.A. Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? **Agricultural Water Management**, v.78, n.1, p.15-24, 2005.
- INBARAJ, M. P.; MUTHUCHELIAN, K. Photoinhibition of photosynthesis in leaves of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp. P152) under boron and high irradiance stresses. **Journal of Biosciences Research**, v. 2, n. 2, p. 81-89, 2011.
- JAFARINIA, M.; SHARIATI, M. Effects of salt stress on photosystem II of canola plant (*Barassica napus* L.) probing by chlorophyll a fluorescence measurements. **Iranian Journal of Science & Technology**, v. 36, n. A1, p. 71-76, 2012.
- JAIN, G.; GOULD, K. S. Functional significance of betalain biosynthesis in leaves of *Disphyma australe* under salinity stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p.131-140, 2015.
- JIANG, Y.; DUAN, Y.; YIN, J.; YE, S.; ZHU, J.; ZHANG, F.; LU, W.; FAN, D.; LUO, K. Genome-wide identification and characterization of the Populus WRKY transcription factor family and analysis of their expression in response to biotic and abiotic stresses. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 22, p. 6629-6664, 2014.
- KALAJI, M. H.; GUO, P. **Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs**. In: SANCHEZ, A.; GUTIERREZ, S. J. (Eds.) Photochemistry Research Progress, New York: Nova Publishers, 2008, p. 439-463.
- KIANI-POUYA, A.; RASOULI, F. The potential of leaf chlorophyll content to screen bread-wheat genotypes in saline condition. **Photosynthetica**, v. 52, n. 2, p. 288-300, 2014.
- LI, G.; WAN, S.; ZHOU, J.; YANG, Z.; QIN, P. Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. **Industrial crops and products**, v. 31, n. 1, p. 13-19, 2010.
- LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV- VIS Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, F4.3.1-F4.3.8. 2001.
- MANAF, H. H.; ZAYED, M. S. Productivity of cowpea as affected by salt stress in presence of endomycorrhizae and *Pseudomonas fluorescens*. **Annals of Agricultural Science**, v. 60, n. 2, p. 219-226, 2015.
- MANAI, J.; KALAI, T.; GOUIA, H.; CORPAS, F. J. Exogenous nitric oxide (NO) ameliorates salinity-induced oxidative stress in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 14, n. 2, p. 433-446, 2014.
- MATHOBO, R.; MARAIS, D.; STEYN, J. M. The effect of drought stress on yield, leaf

- gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agricultural Water Management**, v. 180, p. 118-125, 2017.
- MEHTA, P.; JAJOO, A.; MATHUR, S.; BHARTI, S. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 1, p. 16–20, 2010.
- NASCIMENTO, S. P. D.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, E. M. D. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n. 8, p.853-860, 2011
- NISHIYAMA, Y.; SULEYMAN, I. A.; MURATA, N. Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. **Physiologia Plantarum**, v.142, n. 1, p.35-46, 2011.
- OLIVEIRA, W. J. D.; SOUZA, E. R. D.; ALMEIDA, B. G. D.; SILVA, E. F. D. F.; MELO, H. F. D.; LEAL, L. Y. Soil water energetic status and cowpea beans irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 8, p. 685-691, 2016.
- OLIVEIRA, W. J. D.; SOUZA, E. R. D.; CUNHA, J. C.; SILVA, E. F. D. F.; VELOSO, V. D. L. Leaf gas exchange in cowpea and CO<sub>2</sub> efflux in soil irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 32-37, 2017.
- OUKARROUM, A.; BUSSOTTI, F.; GOLTSEV, V. KALAJI, H. M. Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II in *Lemna gibba* L. plants under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 80-88, 2015.
- PARIHAR, P.; SINGH, S.; SINGH, R.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 6, p. 4056–4075, 2015.
- PEREIRA, T. S.; LIMA, M. D. R.; PAULA, L. S.; LOBATO, A. K. S. Tolerance to water deficit in cowpea populations resulting from breeding program: detection by gas exchange and chlorophyll fluorescence. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 21, n. 171-178, 2016.
- RICHARDS, L. A. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Washington: US Department of Agriculture, 1954. 160p.
- SILVEIRA, J.A.G.; ARAÚJO, S.A.M.; LIMA, J.P.M.S.; VIÉGAS, R.A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. **Environmental and Experimental Botany**, v.66, n. 1, p.1-8, 2009.
- STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. Analysis of fluorescence transient, In: Papageogiou, G. C.; Govindjee. Chlorophyll Fluorescence: a Signature of Photosynthesis. **Advances in Photosynthesis and Respiration**, 2004. p. 321-362.
- TAIBI, K.; TAIBI, F.; ABDERRAHIM, L. A.; ENNAJAH, A.; BELKHODJA, M.; MULET, J. M. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 306-312, 2016.
- YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLIMICHAEL, M.; GOVINDJEE, SARIN, N. B. Overexpression of  $\gamma$ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic Brassica juncea plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements.

**Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, n. 8, p. 1428-1438, 2010.

ZAHEDI, S, M.; ANSARI, N. A.; AZIZI, M. The study of the effect of salinity stress on the germination and the initial growth of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Journal of Agricultural Technology**, v. 8, n. 7, p. 2353-

2372, 2012.ZH

ANG, S. R.; SONG, J.; WANG, H.; FENG, G. Effect of salinity on seed germination, ion content and photosynthesis of cotyledons in halophytes or xerophyte growing in Central Asia. **Journal of Plant Ecology**, v. 3, n. 4, p. 259-267, 2010.