

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**TEOR DE LIGNINA E RESPOSTAS ANTIOXIDANTES DE
MILHO FORRAGEIRO SOB ESTRESSE SALINO E ÁCIDO
SALICÍLICO EXÓGENO**

Domingos da Costa Ferreira Júnior

Engenheiro Agrônomo

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**TEOR DE LIGNINA E RESPOSTAS ANTIOXIDANTES DE
MILHO FORRAGEIRO SOB ESTRESSE SALINO E ÁCIDO
SALICÍLICO EXÓGENO**

Domingos da Costa Ferreira Júnior

Orientadora: Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).**

2018

F383t Ferreira Júnior, Domingos da Costa
Teor de lignina e respostas antioxidantes de milho forrageiro sob estresse salino e ácido salicílico exógeno / Domingos da Costa
Ferreira Júnior. -- Jaboticabal, 2018
ix, 59 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018
Orientadora: Durvalina Maria Mathias dos Santos
Banca examinadora: Carlos Alberto Martinez y Huaman, Rogério
Falleiros Carvalho
Bibliografia

1. *Zea mays* L. 2. Salinidade. 3. Regulador Vegetal. 4. Estresse oxidativo. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.811:633.15

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: TEOR DE LIGNINA E RESPOSTAS ANTIOXIDANTES DE MILHO FORRAGEIRO SOB ESTRESSE SALINO E ÁCIDO SALICÍLICO EXÓGENO

AUTOR: DOMINGOS DA COSTA FERREIRA JÚNIOR

ORIENTADORA: DURVALINA MARIA MATHIAS DOS SANTOS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dra. DURVALINA MARIA MATHIAS DOS SANTOS
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. CARLOS ALBERTO MARTINEZ Y HUAMAN
Departamento de Biologia / Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras / USP / Ribeirão Preto


Prof. Dr. ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 23 de março de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Domingos da Costa Ferreira Júnior, natural de Santos-SP, é engenheiro agrônomo formado em 2015 pela Universidade Federal de Uberlândia, campus Uberlândia. Durante a graduação foi bolsista do Programa de Educação Tutorial e participou de estudos na área de Agrometeorologia, Fitossanidade e Nutrição da cultura do milho. Ingressou no mestrado em Agronomia (Produção Vegetal) em 2016 pela Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Câmpus Jaboticabal, dedicando-se ao estudo da fisiologia de estresses abióticos em plantas cultivadas.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Domingos da Costa Ferreira e Irene Domingues Ferreira, por sempre me apoiarem e acreditarem no meu potencial.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Fisiologia Vegetal, com ênfase para Gilmar da Silveira Sousa Júnior, pela “irmandade” de orientação e apoio na condução do experimento; Carla Constanza Manganelli, por auxiliar invariavelmente em todas as vezes que necessitei; aos técnicos Sônia e Jamil, por todo o apoio e amizade durante o trabalho.

À professora Dr.^a Durvalina Maria Mathias dos Santos, pelo tempo e atenção dedicados durante minha formação.

À Nelida Quiñonez, pelo companheirismo e lealdade ao longo do percurso, essenciais para persistência nos momentos de maior dificuldade.

Aos amigos da pós-graduação Sergio, Miguel, Suzana, Angel, Marcos, Robson, Joel, Chapo, Bob e demais, pelos melhores momentos que vivi nos últimos dois anos.

Aos professores Dr. Rogério Falleiros Carvalho e Dr.^a Priscila Lupino Gratão, pelos inúmeros conhecimentos transmitidos nas áreas de Fisiologia e Bioquímica Vegetal, sugestões e parcerias ao longo do mestrado.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Laboratório de Bioquímica Vegetal da Universidade Estadual de Maringá (UEM), pela instrução na análise de lignina.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A cultura do milho	3
2.2. Estresse salino	4
2.3. Metabolismo oxidativo	7
2.4. Osmólitos compatíveis	8
2.4.1. Prolina	9
2.4.2. Glicina betaína	10
2.5. Lignina	10
2.6. Ácido salicílico	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Material vegetal e condições de crescimento	14
3.2. Exposição ao estresse salino e a AS	15
3.3. Delineamento experimental	15
3.4. Avaliações de crescimento	16
3.5. Avaliações fisiológicas e bioquímicas	16
3.5.1. Lignina	16
3.5.2. Peroxidação lipídica	17
3.5.3. H ₂ O ₂	17
3.5.4. Extração e determinação de proteínas totais	18
3.5.5. SOD	18
3.5.6. CAT	19
3.5.7. Prolina	19
3.5.8. Glicina betaína	19
3.5.9. Teor foliar de macronutrientes e Na ⁺	20
3.5.11. Análise Estatística	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÃO	42
6. REFERÊNCIAS	43

TEOR DE LIGNINA E RESPOSTAS ANTIOXIDANTES DE MILHO FORRAGEIRO SOB ESTRESSE SALINO E ÁCIDO SALICÍLICO EXÓGENO

RESUMO - Muitos estudos apontam que o ácido salicílico (AS) está envolvido na adaptação de plantas a estresses abióticos. Entretanto, pouco se sabe sobre a ação deste hormônio na síntese de importantes metabólitos secundários em condições de estresse, como a lignina. Para tanto, foram estudados neste trabalho os efeitos de AS exógeno no crescimento, lignificação, metabolismo antioxidativo, acúmulo de osmólitos compatíveis e acúmulo de Na⁺ e macronutrientes em folhas de milho sob concentrações crescentes de NaCl. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4, representado pelas concentrações de AS (0,0 e 0,5 mM) e concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM). As plantas foram submetidas aos tratamentos no estágio fenológico V4 (quatro folhas completamente desenvolvidas), enquanto que as avaliações foram realizadas no estágio V6 (seis folhas completamente desenvolvidas). Foram avaliados os seguintes parâmetros na parte aérea: área foliar, massa seca, teor de lignina, peroxidação lipídica, teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), teor de prolina (Pro) e glicina betaína, relação Na⁺/K⁺ e teor de macronutrientes (N, P, Ca, Mg, S). O estresse salino reduziu o crescimento da parte aérea da planta, além de induzir maior acúmulo de Pro e GB, peroxidação lipídica, atividade da CAT e lignificação foliar. A adição de AS à solução nutritiva atenuou o efeito da salinidade sobre o crescimento vegetal até a concentração de 100 mM de NaCl, o que pode estar relacionado à maior lignificação, aumento na atividade da SOD e teores de Pro e H₂O₂, maior teor de N e Ca, além de reduções nos níveis foliares de Na⁺ e peroxidação de lipídios. Dessa forma, conclui-se que o AS exógeno atenua os efeitos deletérios de estresse salino baixo e moderado por três vias: maior lignificação foliar, o que pode se relacionar à maior produção de H₂O₂; menor peroxidação lipídica, relacionada à maior atividade de SOD; e menor teor foliar de Na⁺, aliado a aumento nos teores de Ca²⁺ e N.

Palavras-chave: *Zea mays* L., salinidade, regulador vegetal, lignificação, estresse oxidativo.

LIGNIN CONTENT AND ANTIOXIDANT RESPONSES OF GRAZING CORN UNDER SALT STRESS AND EXOGENOUS SALICYLIC ACID

ABSTRACT - Several studies demonstrate that salicylic acid (SA) is involved in the adaptation responses of plants to abiotic stresses. However, not much is known about the action of this hormone on the synthesis of important secondary metabolites, as lignin. For this purpose, in this work it was assessed the effects of exogenous application of SA on the growth, lignification, antioxidant metabolism, compatible osmolytes content, and concentration of Na⁺ and in maize leaves under increasingly NaCl concentrations. It was adopted a completely randomized design and a 2x4 factorial layout, representing SA concentrations (0.0 and 0.5 mM) and NaCl concentrations (0, 50, 100 and 150 mM) in hydroponics. Plants were exposed to the treatments at the V4 phenological stage (with four completely developed leaves), and evaluations were performed at V6 stage (six completely developed leaves). The following parameters were assessed on shoots: leaf area, dry weight, lignin content, lipid peroxidation, enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), proline (Pro) and glycinebetaine (GB) contents, Na⁺/K⁺ ratio and macronutrients concentration (N, P, Ca, Mg and S). Salt stress impaired shoot growth, also inducing higher accumulation of Pro and GB, lipid peroxidation, CAT activity, leaf lignification and also lower content of all evaluated nutrients. The application of SA alleviated the deleterious effects of salinity on maize shoot growth until 100 mM of NaCl, what can be related to an enhancement of SOD activity, lignin, proline and H₂O₂ contents, higher N and Ca contents, as to lower lipid peroxidation and Na⁺ content. This way, it is concluded that exogenous SA mitigates the negative effects of low and moderate salt stress on maize through three main ways: higher leaf lignification, which can be correlated with higher H₂O₂; lower lipid peroxidation, explained by higher SOD activity; and lower Na⁺ content, followed by increased leaf contents of Ca²⁺.

Keywords: *Zea mays* L., salinity, plant growth regulator, lignification, oxidative stress.

1. INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos principais fatores limitantes à produção agrícola, afetando mundialmente ao menos 20% das áreas cultivadas (SHRIVASTAVA; KUMAR, 2015). Algumas regiões do planeta, como as áridas e semiáridas, possuem naturalmente solos afetados pela salinidade. Entretanto este processo vem se intensificando em terras aráveis devido às mudanças climáticas globais e por práticas como irrigação com águas de má qualidade, expandindo-se cerca de 10% a cada ano (SHRIVASTAVA; KUMAR, 2015; ABDELGAWAD et al., 2016).

A maioria das espécies vegetais é considerada glicófitas, por ser adaptada a ecossistemas com baixos níveis de salinidade do solo. Com o excesso de sais solúveis, o desenvolvimento destas espécies é prejudicado por duas vias principais: estresse osmótico, resultando em menor absorção de água pelas raízes e desidratação interna; e estresse iônico pelo acúmulo excessivo de íons salinos, afetando o metabolismo celular (MUNNS; TESTER 2008; CARRASCO-RÍOS; PINTO, 2014; ABDELGAWAD et al., 2016).

O metabolismo aeróbico inevitavelmente gera espécies reativas de oxigênio (EROs), como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila ($\cdot OH$), oxigênio *singlet* (1O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em organelas como mitocôndrias e cloroplastos (MITTLER, 2017). Todavia, perturbações metabólicas do estresse salino conduzem a desequilíbrio entre a produção e consumo destas EROs, desencadeando estresse oxidativo que resulta na degradação de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, com consequente morte celular (MITTLER, 2017). Para manutenção de níveis adequados destas moléculas, as plantas contam com agentes antioxidantes enzimáticos, como a superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Além disso, compostos como os osmólitos compatíveis prolina (Pro) e glicina-betaína (GB), podem também degradar diretamente e indiretamente os níveis de EROs (SIGNORELLI et al., 2014; MALEKZADEKH, 2015).

A lignificação da parede celular secundária é uma das respostas da planta a estresses ambientais, sendo relatada a intensificação deste processo em diversas espécies sob salinidade (FREI, 2013). Esta resposta é dependente do metabolismo antioxidativo, uma vez que a biossíntese da lignina é mediada por H_2O_2 , o qual atua

tanto como molécula sinalizadora em eventos em cascata, quanto como receptor de elétrons no processo de polimerização de monolignóis, tais como peroxidases (SU et al., 2005; FREI, 2013). O entendimento do processo de lignificação é de grande importância, pois ao mesmo tempo em que esta molécula contribui com a tolerância a estresses abióticos, ainda é considerada limitante à expansão celular por se relacionar ao enrijecimento da parede (PARIZOTTO et al., 2015).

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie glicófita, tendo seu metabolismo e desenvolvimento prejudicados por altas concentrações de sais solúveis. Nesta espécie, um dos efeitos da salinidade é o aumento da lignificação dos tecidos das raízes (KARAHARA et al., 1994). Entretanto, o acúmulo da lignina na parte aérea em plantas de milho carece de mais estudos, pelo fato de que nesta espécie diferentes órgãos podem apresentar alterações metabólicas completamente distintas em resposta ao estresse salino (ABDELGAWAD et al., 2016). Além disso, o teor de lignina da biomassa da parte aérea de milho está relacionado à qualidade da matéria-prima para alimentação animal, geração de bioenergia e resistência a vários estresses ambientais (FORNALÉ et al., 2012; FREI, 2013).

A utilização de compostos exógenos para atenuação de estresses nas plantas está se constituindo em uma prática agrícola. Dentre estes, o ácido salicílico (AS) vem sendo considerado um promissor atenuador dos efeitos deletérios do estresse salino. O AS, composto fenólico que atua como hormônio vegetal, era inicialmente conhecido por desencadear respostas à infecção patogênica, porém vem sendo estudado sua função em respostas a estresses abióticos (MISRA; MISRA, 2012; JAYKANNAN et al. 2015b; KHAN et al., 2015b). Em milho, benefícios da aplicação exógena de AS já foram reportadas sob estresse salino (GUNES et al., 2007; GAUTAM; SINGH, 2009; AGAMI, 2013; TONEL et al., 2013). Entretanto, são escassos os relatos dos efeitos desse hormônio no metabolismo secundário, como o processo de lignificação.

Baseando-se na hipótese que AS atenua os efeitos deletérios da salinidade nas plantas, plantas de milho foram expostas à AS exógeno e diferentes concentrações de NaCl para avaliar se a modificação no acúmulo foliar de lignina está entre as vias de mitigação do estresse salino induzidas pelo AS, assim como seus efeitos em outros parâmetros de resposta à salinidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie originária do sul do México, surgida a partir da domesticação do teosinto (*Zea mays* spp. *parviglumis* Iltis & Doebley) iniciada a cerca de 6000 a 9000 anos (BEADLE, 1939; SHABAZ; ASHRAF, 2013).

O milho é o terceiro cereal mais importante do mundo, após o arroz e o trigo (FAROOQ et al., 2015). O Brasil se destaca como um dos principais produtores mundiais, sendo superado somente por Estados Unidos e China. A produtividade nacional de milho na safra 2016/2017 foi de 5.562 kg ha⁻¹, o que resultou numa produção de 97.842,8 mil toneladas de grãos (CONAB, 2018). Nas últimas sete décadas, a produção brasileira de milho aumentou 4,61 vezes, acompanhada de uma expansão de apenas 3,86 de áreas cultivadas (GALVÃO et al., 2014), reflexo da constante adoção de novas tecnologias na cadeia produtiva da cultura. Entretanto, a produção deve seguir crescente para garantia da segurança alimentar mundial, pois não há perspectiva para estabilização da população mundial neste século, podendo atingir entre 9,6 e 12,3 bilhões de pessoas até 2100 (GERLAND et al., 2014).

O ciclo produtivo da cultura do milho é negativamente impactado pela salinidade, desde a germinação de sementes (KAYA et al., 2015) até à iniciação floral e formação de espigas (HENRY et al., 2015). Estes efeitos deletérios são resultado da interferência do estresse salino sobre vários parâmetros fisiológicos da espécie, sendo bem documentados na literatura (AZEVEDO NETO et al., 2005; GUNES et al., 2007; GAUTAM; SINGH, 2009; CARRASCO-RIOS; PINTO, 2014; ABDELGAWAD et al., 2016; JIANG et al., 2016).

2.2. Estresse salino

A presença de sais no solo é um fenômeno de ocorrência natural, com o qual os seres humanos convivem desde os primórdios da civilização (JACOBSEN; ADDAMS, 1958). Alguns solos são classificados como solos salinos, quando marcados pela presença excessiva de sais solúveis, enquanto que outros possuem excesso de íons Na^+ na solução e adsorvidos à fração sólida, sendo denominados de sódicos (QADIR et al., 2008). Segundo D’Odorico et al. (2013), é estimado que em âmbito mundial aproximadamente 831 milhões de hectares são afetados pela salinidade. Algumas regiões do planeta, em especial as áridas e semiáridas, podem naturalmente ter solos afetados pela salinidade, por causa de fatores como baixa precipitação pluviométrica e altas temperaturas locais (ABDELGAWAD et al., 2016).

Entretanto, diversas regiões no mundo vêm registrando problemas crescentes com a concentração de sais nos solos (ROY et al., 2014; HAJ-AMOR et al., 2016; GONZÁLEZ et al., 2017; MARCHESINI et al., 2017). Segundo Rengasamy (2006), a salinização dos solos é definida como o acúmulo de sais solúveis em água na parte superior do perfil do solo a um nível prejudicial à produção agrícola, sustentabilidade de um ecossistema e/ou a estabilidade econômica e social. Apesar de a salinização ser um processo natural e contínuo, vem ocorrendo intensificação pela salinização “secundária” resultante de atividades humanas (JAYAKANAAM et al., 2015b).

Dentre as atividades humanas que levam à salinização secundária, a irrigação se destaca. O manejo inadequado de irrigação e drenagem pode expandir as áreas com problemas de sais e sódio trocável, inviabilizando-os para a agricultura (TAVARES FILHO et al., 2012). É estimado que entre 2 e 3×10^7 hm^2 de terras irrigadas no mundo estão prejudicadas pela salinização, dos quais até 1,5% podem ser consideradas permanentemente inviáveis para atividades agrícolas (ZENG et al., 2014). Tal constatação é preocupante diante do fato de que a irrigação com água salina vem se tornando uma realidade em função da escassez e deterioração de recursos hídricos, inclusive em potências agrícolas como os Estados Unidos, China e Brasil (JIANG et al., 2012; DUAN; FEDLER, 2013; SILVA et al., 2014; HAJ-AMOR et

al., 2016). Segundo Payen et al. (2016), a contaminação de recursos hídricos por sais atinge até um terço da área global.

Problemas com salinidade já são recorrentes no Brasil, com destaque para a região Nordeste. Esta região compreende cerca de 58% do território nacional, e grande parte da água utilizada para irrigação nessa região possui alto teor de sais (SILVA et al., 2014). Nos estados de Pernambuco, Ceará e Paraíba, cerca de 30%, 25% e 40% das áreas irrigadas, respectivamente, são afetadas por altas concentrações sais e/ou sódio nos solos (FAGERIA; GHEYI, 1997; TAVARES FILHO et al., 2012).

As plantas podem ser classificadas como halófitas ou glicófitas em função de sua tolerância à salinidade. As halófitas são as espécies vegetais capazes de completar seu ciclo de vida em ambientes com concentrações salinas iguais ou superiores a 200 mM (FLOWERS et al., 1986). Estas espécies ocupam ambientes como desertos salinos, áreas costeiras e manguezais, representando apenas 0,14% das espécies vegetais catalogadas até o momento (FLOWERS; COLMER, 2015). As demais espécies, adaptadas para ecossistemas com solos com baixo nível de sódio e que mantêm baixos teores de sódio em seus tecidos aéreos, são denominadas glicófitas (CHEESEMAN, 2015), grupo ao qual o milho e a maioria das culturas agrícolas se integram.

O estresse salino apresenta dois efeitos em potencial sobre o crescimento de plantas glicófitas: diminuição do potencial hídrico do substrato e toxicidade por excesso de íons salinos, em especial Na^+ e Cl^- , com consequente desequilíbrio na absorção e transporte de nutrientes minerais (FAROOQ et al., 2015). Munns (1993) propôs que a redução do crescimento e desenvolvimento de plantas expostas à salinidade ocorre segundo um modelo bifásico: a primeira marcada pelo estresse osmótico, e a segunda predominantemente pela toxicidade iônica.

O estresse osmótico está relacionado ao acúmulo de íons na solução do solo, reduzindo seu potencial hídrico e diminuindo a absorção de água pelas raízes (MUNNS; TESTER, 2008). As células sob estresse osmótico apresentam menor pressão de turgor sobre as paredes celulares, o que diminui o crescimento do vegetal. Além da menor expansão celular, que é o processo mais sensível à deficiência hídrica,

o estresse osmótico também afeta negativamente processos como síntese de paredes celulares e proteínas, condutância estomática e fotossíntese (TAIZ et al., 2017).

Os íons mais relacionados à salinidade são Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} e HCO_3^- (YADAV et al., 2011). Interessantemente, estes íons frequentemente são constituintes de adubos utilizados na agricultura, evidenciando como a ação antrópica pode contribuir para intensificação deste processo. Dentre eles, os mais estudados são Na^+ e Cl^- , por sua natureza tóxica quando em excesso no meio celular e pela competição com outros elementos na absorção pelas raízes.

Plantas C4 possuem uma pequena demanda de Na^+ em seu metabolismo, a um nível comparável ao de micronutrientes, apesar desta essencialidade não se aplicar a algumas espécies, como o milho (FURUMOTO et al., 2011; CHEESEMAN, 2015). Segundo Kronzucker et al. (2013), o íon Na^+ por si só não é tóxico ao metabolismo vegetal. Entretanto, sabe-se que em altas concentrações este íon prejudica a absorção e transporte de nutrientes através de interações competitivas ou pela modificação da seletividade iônica de membranas (FAHAD; BANO, 2012). O principal caso de competição iônica estudada é o antagonismo com o potássio (K^+), com frequentes relatos do aumento da relação Na^+/K^+ e distúrbio de processos metabólicos regulados pelo K^+ (QU et al., 2012; SHAHZAD et al., 2012; ABDELGAWAD, 2016; JIANG et al., 2016; FAUST; SCHUBERT, 2017).

O Cl^- é considerado um micronutriente, com participação na clivagem da molécula de H_2O na fotossíntese e regulação da movimentação estomática (KOPSELL; KOPSELL, 2015). Entretanto, em excesso prejudica o desenvolvimento vegetal, por vias como o antagonismo com os íons SO_4^- e NO_3^- (SHAHZAD et al., 2012). É considerado um soluto menos tóxico do que o Na^+ , entretanto algumas espécies são mais sensíveis ao Cl^- que ao Na^+ , como soja, abacate e videira (MUNNS; TESTER, 2008).

O excesso de sais no solo pode ainda causar danos indiretos. O aumento do teor de sais nos solos aumenta a disponibilidade de metais pesados às plantas mediante a formação de complexos entre o Cl^- e cátions como Pb^{2+} , Cd^{2+} e Mn^{2+} , intensificando a toxicidade às plantas em solos contaminados com metais pesados (WAHLA, KIRKHAM, 2008; ALMAROAI et al., 2014). Além disso, Na^+ promove

degradação física dos solos, estando relacionado à instabilidade de agregados, dispersão de minerais de argila e redução da condutividade hidráulica e aeração (ARIENZO et al., 2012; HE et al., 2013; HE et al., 2015; PAYEN et al., 2016).

2.3. Metabolismo oxidativo

O metabolismo aeróbico inevitavelmente resulta na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila ($\cdot OH$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio *singlet* (1O_2) (MITTLER, 2017). Nas plantas, são fontes significativas de EROs o apoplasto, os cloroplastos, peroxissomos e qualquer compartimento celular que possua proteína ou moléculas com potencial oxirredutor suficiente para reduzir ou excitar o oxigênio atmosférico (FISCHER et al., 2013; MITTLER, 2017). Em concentrações adequadas, estas moléculas podem atuar como mensageiros secundários para regulação de diversos processos metabólicos, como a fotofosforilação cíclica e os movimentos estomáticos em função de fatores ambientais (HUA et al., 2012; STRAND et al., 2015; GILROY et al., 2016; MITTLER, 2017). Contudo, sob estresse ambiental, como salinidade, déficit hídrico e temperaturas extremas, pode ocorrer perturbações à homeostase celular, resultando em acúmulo excessivo de EROs e desencadeando estresse oxidativo.

Dentre as EROs, o H_2O_2 se destaca por ser a mais estável, possuindo meia-vida de 1 ms, além de poder se translocar em distâncias maiores que as demais EROs (HOSSAIN et al., 2015; MITTLER, 2017). Pode ser produzido pelas plantas por diversas formas, como pela oxidação parcial da água no fotossistema II (POSPÍŠIL, 2009), pela oxidação do glicolato nos peroxissomos durante a fotorrespiração (KANGASJARVI et al., 2012; HOSSAIN et al., 2015) e pela dismutação do ânion $O_2^{\cdot-}$ pela enzima superóxido dismutase (SOD) (MIGNOLET-SPRUYT et al., 2016). A dismutação do $O_2^{\cdot-}$ também ocorre espontaneamente, entretanto a reação é 10 vezes mais rápida quando catalisada pela SOD (RESENDE et al., 2003). Em concentrações muito elevadas, causa danos às plantas por reagir principalmente com proteínas e com ácido desoxirribonucleico (MITTLER, 2017). Entretanto, H_2O_2 em baixas

concentrações é uma importante molécula sinalizadora, envolvida em respostas a estresses ambientais como ativação de canais de Ca^{2+} , síntese de AS, movimentos estomáticos, fotossíntese, produção de fitoalexinas e formação de paredes celulares (HOSSAIN et al., 2015; JAYAKANNAN et al., 2015b; GILROY et al., 2016).

As plantas possuem diversos mecanismos para regulação dos teores de EROs, como um complexo sistema enzimático antioxidativo. Neste grupo, dois exemplos bastante estudados são a SOD e CAT.

A SOD (EC.1.15.1.1.) é a primeira linha de defesa das plantas contra as EROs, catalisando a dismutação de $\text{O}_2^{\cdot-}$ à H_2O_2 (XU et al., 2013). Existem três isoformas desta enzima, diferindo entre si pelo grupo prostético e pelo sítio de atuação: MnSOD, FeSOD e Cu/ZnSOD (XU et al., 2013). A Cu/ZnSOD é a forma mais abundante na célula, sendo detectada no apoplasto, citosol, mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (HUSEYNOVA et al., 2014). A MnSOD está presente em mitocôndrias e peroxissomos (PALMA et al., 1998; HUSEYNOVA et al., 2014), enquanto que a FeSOD até o momento só foi observada em cloroplastos (NAVARI-IZZO et al., 1998; HUSEYNOVA et al., 2014).

A CAT (EC 1.11.1.6) é a enzima mais importante na tolerância do milho à salinidade, mantendo níveis adequados de H_2O_2 na planta GONDIM et al., 2012). Esta enzima se divide em três grupos principais: classe I, degradando o H_2O_2 resultante da fotorrespiração; classe 2, presente em tecidos vasculares e relacionadas a processos de lignificação de vasos condutores; e classe 3, presente principalmente em sementes e plântulas, removendo H_2O_2 resultante da oxidação de ácidos graxos (RESENDE et al., 2003).

2.4. Osmólitos compatíveis

Outra estratégia para manutenção do potencial hídrico celular em condições de estresse salino é o acúmulo de osmólitos compatíveis. Osmólitos compatíveis são definidos como compostos osmoticamente ativos de baixo peso molecular, altamente solúveis e capazes de serem acumulados em altas concentrações sem causarem

toxicidade à célula (ASHRAF; FOOLAD, 2007). Dentre os osmólitos compatíveis, dois podem ser destacados: Pro e GB.

2.4.1. Prolina (Pro)

Pro é um aminoácido que possui características que a denotam como uma molécula atuante no ajuste osmótico, tais como: alta solubilidade em água (162 g L^{-1} , a 25° C), neutralidade e mesmo em altas concentrações, não interfere na atividade de enzimas (STEWART; LEE, 1974). Além disso, diversos outros efeitos no desenvolvimento vegetal já foram atribuídos ao acúmulo de Pro mesmo em plantas não estressadas, como iniciação floral, fertilidade de órgãos masculinos, produção de sementes, síntese de paredes celulares, alongamento caulinar e produção e germinação de sementes (KISHOR et al., 2015).

A Pro possui ainda propriedades antioxidativas, sendo relacionada à degradação do radical OH^\bullet (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; SIGNORELLI et al., 2014). Já foi sugerido também que este osmólito poderia degradar $^1\text{O}_2$ (ALIA et al., 2001), embora tenha sido refutado por Signorelli et al. (2013), assim como a degradação do radical O_2^\bullet (SIGNORELLI et al., 2014). Há ainda evidências de que o metabolismo de prolina apresenta benefícios indiretos, contribuindo com a regeneração de NADP^+ em cloroplastos e evitando a produção excessiva de EROs em condições de estresse osmótico (SHARMA et al., 2011; SIGNORELLI, 2016). Após o estresse, a Pro pode ser utilizada como fonte de carbono e nitrogênio para reestabelecimento do crescimento (REJEB et al., 2014).

O acúmulo de Pro é uma das modificações mais proeminentes no metabolismo de plantas submetidas ao estresse salino, sendo muito relatado inclusive em milho (TURAN et al., 2009; FAHAD; BANO, 2012; CARRASCO-RÍOS et al., 2013; KAYA et al., 2015; MOLAZEM; BASHIRZADEH, 2015). Entretanto, o estudo do papel da Pro em plantas sob estresse salino ainda demanda mais conhecimentos, devido a fatores como a contraditoriedade entre dados publicados e a variabilidade de resultados em função da duração do estresse, concentrações salinas adotadas e estágio fenológico

da planta avaliada (MANSOUR; ALI, 2017a).

2.4.2. Glicina betaína (GB)

GB (N,N,N – trimetilglicina) é um composto quartenário de amônia frequentemente associado à prevenção de danos às plantas em condições de estresses (CHEN; MURATA, 2011). Esta molécula é considerada um dos principais osmólitos compatíveis devido a sua natureza zwitteriônica (cargas iônicas opostas em diferentes átomos da molécula), baixo peso molecular, alta solubilidade e formação de soluções de baixa viscosidade (KUREPIN et al., 2015).

É normalmente considerado que GB não possui atividade antioxidativa direta (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; CHEN; MURATA, 2011), apesar de que em estudo recente Malekzadekh (2015) propôs que a GB pode agir diretamente sobre o H_2O_2 , decompondo esta ERO em plântulas de soja sob estresse salino. Apesar das divergências sobre a natureza antioxidativa deste composto, é aceito que este osmólito compatível pode induzir ou estimular o sistema de defesa antioxidante (CHEN; MURATA, 2011; MANSOUR; ALI, 2017b).

2.5. Lignina

A lignina é um polímero hidrofóbico aromático de natureza fenólica que impregna as redes de celulose e hemicelulose da parede celular, enrijecendo a célula e a protegendo de interferências físicas e biológicas externas (BOSCH et al., 2011; VANHOLME et al., 2012). Além disso, este composto confere resistência mecânica às paredes dos vasos condutores para suportar a pressão negativa resultante do processo transpiratório (VINCENT et al., 2005).

A primeira etapa da síntese da lignina é a desaminação do aminoácido L-fenilalanina (proveniente da rota do ácido chiquímico) catalisada pela enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL), seguida pela hidroxilação do anel aromático pela enzima cinamato 4-hidroxilase, gerando p-coumarato (FREI, 2013; FERRO et al.,

2015). O p-coumarato então pode seguir vias distintas, resultando nos monolignóis álcool p-coumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico (VANHOLME et al., 2012; FERRO et al., 2015; PARIZOTTO et al., 2015). Os monolignóis passam então ao apoplasto e sofrem polimerização oxidativa catalisada por enzimas como peroxidases de parede (POX) e lacases (LAC) formando p-hidroxifenil, guaiacil e siringil, os monômeros constituintes da lignina, cujas proporções na molécula diferem entre as espécies e tecidos vegetais (WANG et al., 2013; PARIZOTTO et al., 2015). As enzimas POX utilizam H₂O₂ como receptor de elétrons na oxidação dos monolignóis, enquanto que as LAC reduzem O₂ neste processo (FREI, 2013; WANG et al., 2013).

A lignina possui grande importância para o desenvolvimento vegetal. Em milho, menor teor de lignina está associado a parâmetros agrônômicos indesejáveis, como menor produtividade e maior susceptibilidade ao quebramento de colmos (KHAN et al., 2015a). A deposição de lignina em paredes celulares também é uma das principais formas de defesa do milho contra o ataque de pragas (DE LANGE et al., 2014). Entretanto, a lignificação excessiva pode ser indesejável, tendo-se em vista que este composto fenólico está relacionado à menor extensibilidade de paredes celulares, podendo reduzir o crescimento vegetal (FAN et al., 2006; PARIZOTTO et al., 2015).

Quando as espécies vegetais são utilizadas como forrageiras, a lignina desempenha um papel importante na nutrição animal. Esta molécula é indigerível pela flora ruminal, diminuindo a ação de enzimas microbianas responsáveis pela degradação dos carboidratos vegetais e até mesmo causando toxicidade a alguns microrganismos (VAN SOEST, 1994; FREI, 2013).

Do ponto de vista ambiental, a lignina é um dos compostos mais importantes para o acúmulo de matéria orgânica em solos, afetando fatores como a estrutura dos solos, mineralização de nutrientes e o sequestro de carbono (FREI et al., 2013; HERNES et al., 2013). Em comparação com os demais compostos de origem vegetal, a lignina é mais resistente à decomposição microbiana nos solos (KÖGEL-KNABER, 2002), contribuindo para uma manutenção mais prolongada de resíduos vegetais sobre o solo e viabilizando a sustentabilidade agrícola através do plantio direto.

Em relação à produção de bioenergia, a lignina possui um papel controverso. Para a produção de biocombustíveis por processos fermentativos, como é o caso da

produção de bioetanol de segunda geração a partir da biomassa lignocelulósica de milho, é desejável um menor teor de lignina, pois esta substância promove a oclusão de monossacarídeos, dificultando o processo fermentativo (FORNALÉ et al., 2012; VANHOLME et al., 2013). Além disso, a degradação da lignina pode gerar produtos inibitórios à microrganismos fermentadores de monossacarídeos (KEATING et al., 2006).

Considerando-se a importância do H_2O_2 na síntese de lignina, observa-se que fatores ambientais que interfiram no metabolismo das EROs podem modificar a lignificação de tecidos vegetais. Para o milho, diversos estudos relataram alteração nos padrões de lignificação ou do teor de em diferentes órgãos em função de variados fatores ambientais (Tabela 1).

Tabela 1. Influência de fatores ambientais na lignificação de órgãos do milho.

Estresse	Órgão	Modificação	Referências
Déficit hídrico	Folhas	↑, ↓	Hu et al., 2009; Vincent et al., 2005
Salinidade	Raízes	↑	Karahara et al., 2004
Alumínio	Raízes	↑	Budíková, 1999; Alcântara et al., 2015
Injúrias mecânicas	Folhas	↑	Vélez-Bermudéz et al., 2015
Alelopatia	Raízes	↑	Siqueira-Soares et al., 2013; Ferro et al., 2015
Herbicidas	Parte Aérea	↑, ↓	Jasper et al., 2015
Hipoxia	Raiz	-	Drew et al., 1979
Metais pesados	Raiz e folhas	↑	Cunha et al., 2008
Deficiência de S	Folhas	↑	Bouranis et al. (2007)

2.6. Ácido salicílico (AS)

O AS, ou ácido 2-hidroxibenzoico, é um dos muitos compostos fenólicos sintetizados pelas plantas e por diversos organismos procarióticos e eucarióticos (LI et al., 2015; DEMPSEY; KLESSIG, 2017). Nos vegetais, sua síntese pode ocorrer nos cloroplastos, através da rota do isocorismato e no citoplasma, através da rota da PAL (JAYAKANNAN et al., 2015b). Este hormônio possui alta mobilidade entre tecidos,

principalmente em formas conjugadas, como a forma metilada (MeSA), a qual é volátil e facilmente difundida através de membranas (KUMAR, 2014; JAYAKANNAN et al., 2015b). Há inclusive relatos de sinalização por AS entre plantas vizinhas por via aérea (SHULAEV et al., 1997)

Há muito se conhece o papel do AS e de seus derivados como medicamentos, descobertos como componentes do extrato da casca de *Salix* spp. (KUMAR, 2014), árvore conhecida popularmente como salgueiro ou chorão. Entretanto, seu reconhecimento como hormônio vegetal é relativamente recente, quando comparado a demais moléculas como auxinas e giberelinas. A observação inicial da importância do AS no desenvolvimento vegetal foi seu envolvimento na regulação da termogênese de algumas espécies, fenômeno no qual inflorescências aumentam sua temperatura em até 12° C para volatilização de compostos atrativos à polinizadores (RASKIN et al., 1989; DEMPSEY; KLESSIG, 2017).

Atualmente, AS é conhecido principalmente por sua importância nas respostas vegetais à infecção por patógenos, como o envolvimento no processo de resistência adquirida (FU, 2013). Todavia, já foi reportado em condições de estresse abiótico a intercomunicação deste hormônio com outras substâncias reguladoras do crescimento vegetal, como ácido abscísico, giberelinas, etileno e óxido nítrico (RAI et al., 1986; GALLEGO-GIRALDO et al., 2011; SARUHAN et al., 2012; KHAN et al., 2015b; SHAN; WANG, 2017). Assim, sua utilização exógena vem sendo estudada para atenuação de estresses abióticos. Para o milho, efeitos benéficos do AS já foram relatados em plantas sob estresses como déficit hídrico (SARUHAN et al., 2012; SHAN; WANG, 2017), temperaturas extremas (GUAN et al., 2015; KHANNA et al., 2016), metais pesados (KRANTEV et al., 2008; GONDOR et al., 2016) e salinidade (GUNES et al., 2007; FAHAD; BANO, 2012; TONEL et al., 2013).

Entretanto, os efeitos do AS exógeno são variáveis, pois dependem de sua concentração, forma de aplicação e estágio de desenvolvimento da planta. Efeitos negativos sobre o crescimento e desenvolvimento do milho já foram obtidos, como inibição da germinação de sementes, menor acúmulo de elementos essenciais e maior peroxidação lipídica foliar (GUAN; SCANDALIOUS, 1995; GONDOR et al., 2016). Estes resultados ilustram que a utilização deste hormônio para atenuação de

estresses abióticos ainda demanda estudos para resultados mais precisos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material vegetal e condições de crescimento

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação, lotada no Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus Jaboticabal, São Paulo, Brasil. O experimento foi conduzido entre os meses de janeiro e fevereiro de 2017, período marcado por temperatura média de 25,9 °C e umidade relativa do ar de 76,4%.

O material de selecionado para o experimento foi o milho híbrido 2B688PW, proveniente da Dow Agrosiences Sementes e Biotecnologia Brasil Ltda (Jardinópolis-SP). Este híbrido apresenta as seguintes características: resistência a lagartas (evento transgênico PowerCore); ciclo precoce; tipo híbrido triplo; época de plantio ampla, podendo ser do início da safra à safrinha; exigência de 860 graus-dia para desenvolvimento do ciclo produtivo; destinação à produção de grãos e de silagem de planta inteira; grãos alaranjados e semiduros; densidade de plantio entre 55 a 65 mil plantas ha⁻¹ na safra de verão e entre 45 e 55 mil plantas ha⁻¹ na safrinha; alta resistência ao acamamento; altura de inserção de espiga de 1,15 metros; altura média de planta de 2,10 metros; e exigente de médio nível/alto de tecnologia (DOW SEMENTES, 2016).

A semeadura ocorreu no dia 13 de janeiro de 2017. Em vasos de Leonard (SANTOS et al., 2009) preenchidos com areia lavada e vermiculita na proporção 1:1 (v:v), foram colocadas duas sementes a 3 cm de profundidade. A parte inferior do vaso foi preenchida com solução nutritiva descrita por Hoagland & Arnon (1950), contendo as seguintes concentrações de macronutrientes, em mmol L⁻¹: 15 de N; 1 de P; 6 de K; 5 de Ca; 2 de Mg; 2 de S. Já as concentrações de micronutrientes, em μmol L⁻¹ foram: 46,3 de B; 0,31 de Cu; 16,93 de Cl; 89,53 de Fe; 9,1 de Mn; 0,1 de Mo e 0,76 de Zn.

Após a emergência e completo desenvolvimento da primeira folha

(aproximadamente cinco dias), foi realizado o desbaste, permanecendo uma única plântula por vaso. Neste mesmo instante, iniciou-se a aclimatação da espécie à solução nutritiva, permanecendo por cinco dias em 50% da concentração original. Após esta aclimatação, a solução nutritiva passou a ser formulada com 100% da concentração. O pH da solução nutritiva foi corrigido para 5,6 no momento de sua formulação. No decorrer do experimento, a reposição de perdas por evapotranspiração foi realizada com solução nutritiva

3.2. Exposição ao estresse salino e a AS

O período de exposição ao estresse salino foi o intervalo de tempo no qual o potencial produtivo do milho é determinado, isto é, entre os estádios fenológicos V4, com quatro folhas completamente desenvolvidas, e V6, com seis folhas completamente desenvolvidas (RITCHIE et al., 1993)

Quando as plantas atingiram o estágio V4, foi aplicado o estresse salino, explorado em quatro concentrações de NaCl (Sigma-Aldrich): 0 mM, 50 mM, 100 mM e 150 mM, correspondendo às condutividades elétricas de 2,99 dS m⁻¹, 8,75 dS m⁻¹, 13,01 dS m⁻¹ e 16,61 dS m⁻¹. Cinco dias após a aplicação do estresse salino, foi adicionado 0,5 mM de AS (Sigma-Aldrich) às soluções salinas. A concentração de AS foi determinada com base em pré-testes e resultados de outros autores (GUNES et al., 2007; LI et al., 2015).

3.3. Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com o esquema fatorial 2x4, representando concentrações de AS exógeno (0,0; 0,5 mM) e concentrações de NaCl (0; 50; 100; 150 mM). Cada tratamento foi constituído por quatro repetições, com cinco vasos por repetição.

3.4. Avaliações de crescimento

Quando as plantas atingiram o estágio V6 foi verificada a área foliar, considerando-se apenas folhas com a bainha evidente, utilizando-se o software Image Analysis System (Delta-T Devices, Cambridge, UK).

Após determinação da área foliar, todo o material, incluindo folhas imaturas do cartucho e o primórdio de colmo, foi disposto em sacolas de papel e colocadas para secagem em estufa de circulação forçada de à 60 °C por 72 horas. Após este intervalo, o material foi pesado em balança analítica de precisão.

3.5. Avaliações fisiológicas e bioquímicas

Para as análises fisiológicas e bioquímicas o material foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido após a coleta e levado para freezer a -80° C. As avaliações foram realizadas na folha +2, a segunda folha completamente expandida a partir do ápice, com aurícula visível.

3.5.1. Lignina

As amostras foram submetidas a pré-tratamento para remoção de proteínas e outras substâncias responsivas ao comprimento de onda de 280 nm, o qual é utilizado para determinação da lignina. Para tanto, foi adotada metodologia de Ferrarese et al. (2002). 300 mg de massa seca (MS) de folhas de milho foram finamente moídos e homogeneizados em 7 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) com uso de pistilo e almofariz, e então transferidos para um tubo de centrífuga. O material foi centrifugado por 5 minutos a 1400xg para formação de precipitado, o qual foi posteriormente lavado através de enxágues e centrifugações consecutivas na presente sequência: duas vezes com 7 mL de tampão fosfato (pH 7,0); três vezes com 7 mL de solução 1% (v/v) de Triton X-100 em tampão de pH 7,0; duas vezes com 7 mL de NaCl 1M em tampão pH 7,0; duas vezes com 7 mL água destilada; e duas vezes com 5 mL de acetona. O precipitado foi então disposto em estufa a 60 °C por

24 horas, e o material seco foi resfriado em um dessecador. O material resultante consistia em amostras de parede celular livres de proteínas.

O teor de lignina foi determinado pelo método do brometo de acetila, descrito por Moreira-Vilar et al. (2014). 20 mg da amostra de parede celular livre de proteínas foram misturados com 0,5 mL de brometo de acetila (v/v, em ácido acético glacial) e permaneceram a 70° C por 30 minutos até completa digestão. Após isso, a amostra foi resfriada em banho de gelo e então foram adicionados 100 uL de hidroxilamina-HCl 5 M, 0,9 mL de NaOH 2 M e 6 mL de ácido acético glacial. A mistura foi centrifugada por 5 minutos a 1400g, o sobrenadante coletado e levado para espectrofotômetro para leitura a 280 nm. Os resultados foram expressos como mg de lignina g⁻¹ de parede celular.

3.5.2. Peroxidação lipídica

Foi avaliada através da estimativa da concentração de malondialdeído (MDA), obtida por meio da quantificação de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) (HEATH; PARKER, 1968). 0,25 g de massa fresca (MF) foliar foi macerado em nitrogênio líquido e homogeneizado em 2 mL ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e PVPP insolúvel (20%). O produto foi centrifugado a 10000 g por 15 minutos a 4°C. Foram coletados 0,25 mL do sobrenadante e adicionados a 1,0 mL de TBA 0,5% (preparado em TCA 20%). A mistura foi homogeneizada e os tubos levados para um banho seco a 90° C por 30 minutos. Após este intervalo, os tubos foram imersos em gelo por 10 minutos, e centrifugados a 10000 g por 5 minutos a 4 °C para clarificação. A concentração de equivalentes de MDA foi determinada em espectrofotômetro com leituras a 535 e 600 nm, adotando-se coeficiente de extinção molar de 1.55×10^{-5} mol cm⁻¹.

3.5.3. H₂O₂

O teor de H₂O₂ foi determinado pela reação com iodeto de potássio (KI), conforme descrito por Alexieva et al. (2001). Macerou-se 0,25g de MF foliar em nitrogênio líquido, com posterior homogeneização em 2 mL ácido tricloroacético (TCA)

0,1% (m/v) e PVPP insolúvel (20%). Após isso, a amostra foi centrifugada por 15 minutos a 10000 rpm a 15 °C.

Transferiu-se 200 µL de sobrenadante para um eppendorf, e em seguida foram adicionados 200 µL de tampão fosfato de potássio (pH 7,0) e 800 µL de solução de KI 1 M. Os eppendorfs permaneceram em gelo no escuro por uma hora. Após este intervalo, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 390 nm, e os resultados expressos em µmol de H₂O₂ g⁻¹ de MF

3.5.4. Extração e determinação de proteínas totais

Amostra de 0,5 g de MF de folha foram triturados em nitrogênio líquido com pistilo e cadinho resfriados. A amostra triturada foi então homogeneizada na proporção 1:3 (m/v) em tampão de extração contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), 1 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), DL-ditioneitol 3 mM e polivinilpolipirrolidona 5% (m/v) (BOARETTO et al., 2014). O homogenato foi centrifugado por 30 minutos a 10.000 g a 4 °C, e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -80 °C para posterior determinação de atividade de enzimas.

O teor de proteínas foi determinado utilizando albumina sérica bovina, conforme proposto por Bradford (1976).

3.5.5. Superóxido dismutase

A atividade da SOD (EC 1.15.1.1) foi determinada em meio de reação contendo 15 µL EDTA 0,1 mM, 971 µL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,5), 19,5 µL de riboflavina 2µM, 94,5 µL de azul de nitrotetrazólio 0,075 mM, 391 µL de metionina 50 mM e 10µL de extrato enzimático, totalizando 1,5 mL (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). A reação foi conduzida por 5 minutos em câmara de fechada, sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W, a 25 °C. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 560 nm, e os resultados expressos em unidades de SOD mg⁻¹ de proteína.

3.5.6. Catalase

A atividade da CAT (EC 1.11.1.6) foi determinada em espectrofotômetro conforme Kraus et al. (1995), com modificações propostas por Azevedo et al. (1998). Adicionou-se 10 µL de extrato enzimático em 1 mL de tampão de reação formulado a partir de 10 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 25 µL de H₂O₂. Monitorou-se a degradação do H₂O₂ a 240 nm durante o período de 1 minuto, tomando-se valores a cada 10 segundos em temperatura ambiente. O resultado final foi expresso em µM/min/mg proteína.

3.5.7. Prolina

O teor de Pro foi determinado segundo Bates et al. (1973). 0,5 gramas de MF foram previamente macerados em nitrogênio líquido, e posteriormente em 2 mL de ácido sulfossalicílico, com posterior adição de mais 8 mL do mesmo reagente. O material macerado foi duplamente filtrado através de um funil de vidro com papel de filtro.

Após a filtragem, foram pipetados em um tubo de ensaio de vidro 1 mL de ácido acético glacial, 1 mL de ácido níhídrico e 1 mL do extrato vegetal. Os tubos foram então agitados e dispostos em banho-maria a 100 °C por uma hora. Os tubos então foram colocados em gelo para cessar a reação e se adicionou a eles 2 mL de tolueno com posterior agitação de 20 segundos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 520 nm, adicionando-se 0,5 mL do sobrenadante em uma cubeta de quartzo.

3.5.8. Glicina betaína

A determinação do teor de GB da parte aérea das plantas foi realizada de acordo com a metodologia de Grieve e Grattan (1983). Para tanto, as folhas coletadas foram acondicionadas em sacos de papel, previamente e levadas para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 80°C durante quatro dias, para posterior moagem. Foram preparados extratos com adição de 10 mL de água deionizada para 0,25 g de

material moído, os quais permaneceram sob agitação por 24 horas a 25 °C. Os extratos foram então filtrados e armazenados a -17 °C até a realização da análise.

Os extratos foram descongelados a temperatura ambiente e misturados na proporção de 1:1 com H₂SO₄ 2M, sendo em seguida mantidos em água gelada por 1 hora. Após isso, adicionou-se 0,1 mL de KI-I₂ aos tubos, que então foram agitados e mantidos a 4° C durante 16 horas. A solução de KI-I₂ foi preparada previamente, através da diluição de 15,7g de iodo e 20g de KI em 100 ml de água destilada.

Em seguida, os tubos foram centrifugados a 3500 g por 15 minutos à 0 °C. O sobrenadante foi descartado, permanecendo cristais de periodato no tubo, os quais foram dissolvidos em 4,5 mL de 1,2-dicloroetano. 2 horas e 30 minutos depois foi realizada a leitura da absorvância no comprimento de onda de 365 nm no espectrofotômetro Beckman DU 640.

3.5.9. Teor foliar de macronutrientes e Na⁺

Material proveniente de massa seca foi triturado em pó fino, para posterior determinação dos teores de Na⁺ e K⁺ das folhas por fotometria de chama, segundo Bloise e Moreira (1976). Os teores dos demais nutrientes foram determinados de acordo com Bataglia et al. (1983).

3.5.11. Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e na presença de diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05). Os resultados foram apresentados através da média ± erro padrão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de área foliar evidenciaram que a presença de AS não teve resultados significativos (Figura 1). Na ausência de AS, a área foliar foi 15,5% menor em 50 mM de NaCl, enquanto nas concentrações de 100 mM e 150 mM a redução foi 21,96% e 44%, respectivamente. Com AS, as reduções em relação à testemunha foram de 14,88% em 50 mM, 32,20% em 100 mM e 43% em 100 mM de NaCl.

A redução de área foliar é um resultado frequente em milho sob estresse salino (GONDIM et al., 2013; CARRASCO-RÍOS et al., 2013; SILVA et al., 2014). Uma das evidências para esse fenômeno é a menor extensibilidade de células epidérmicas, já que em genótipos de milho sensíveis à salinidade, o estresse salino reduz em até 50% a transcrição de β expansinas (GEILFUS et al., 2010) e afeta a capacidade de redução do pH do apoplástico (ZÖRB et al., 2015), prejudicando o crescimento ácido mediado por auxinas. Apesar de diminuir a área fotossinteticamente ativa, a redução de área foliar é considerada um mecanismo de escape da planta ao estresse salino, minimizando a perda de água por transpiração (AGAMI, 2013).

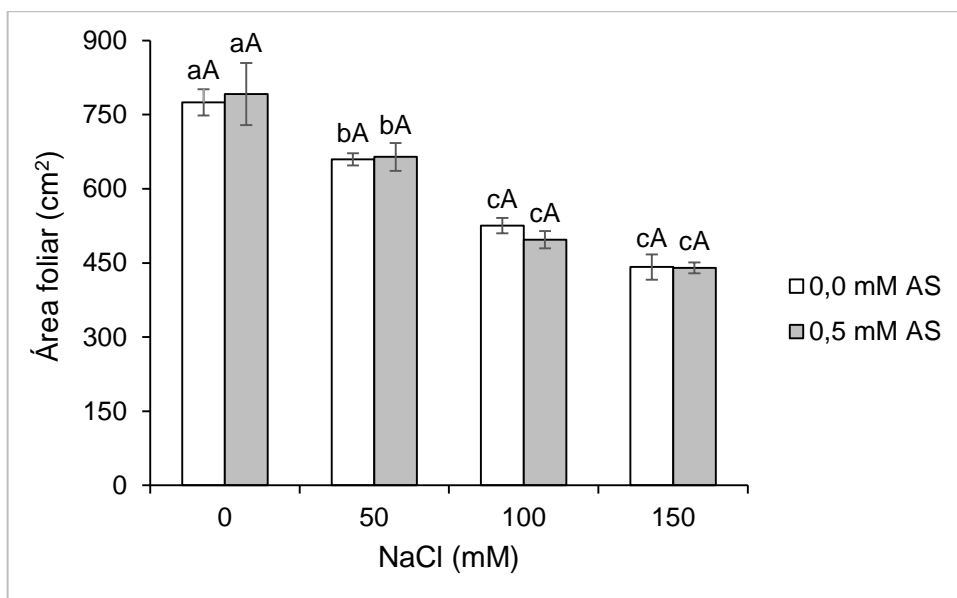


Figura 1. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre área foliar de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

O estresse salino reduziu significativamente a massa seca de parte aérea em plantas de milho nas concentrações de 100 mM e 150 mM de NaCl, tanto na presença quanto na ausência de AS (Figura 2). Entretanto, este decréscimo foi menor em plantas tratadas com 0,5 mM de AS. Na ausência de AS, as concentrações de 100 mM e 150 mM de NaCl reduziram em 28,21% e 30,13% o acúmulo de biomassa na parte aérea em relação ao controle; já com a adição de AS, as reduções foram de 16,06% e 23,94%. Além disso, em plantas sob 50 mM e 100 mM de NaCl, foi observado que o AS aumentou em 18,28% e 23,66%, respectivamente, o acúmulo de massa seca da parte aérea (Figura 2).

O menor acúmulo de massa seca é um dos efeitos mais evidentes do estresse salino em milho. Sob 50 mM de NaCl, Pitann et al. (2013) observaram reduções entre 27% e 15%, variando em função do genótipo. Jiang et al. (2016) observaram redução de 26% de massa seca de parte aérea após a exposição de plântulas de milho a 100 mM de NaCl, enquanto Shahzad et al. (2012) relataram redução de 50% sob a mesma concentração. Geilfus et al. (2010) obtiveram redução de 65% e 11% neste parâmetro em cultivares de milho sensíveis e tolerante à salinidade, respectivamente, evidenciando a importância do genótipo nas respostas a este estresse.

O incremento de massa seca de parte aérea pelo AS sob 50 mM e 100 mM de NaCl pode ser atribuído ao maior teor de lignina também observado nestes tratamentos (Figura 3). Segundo Gallego-Giraldo et al. (2011), plantas deficientes na síntese de lignina geralmente apresentam crescimento severamente reduzido, o que foi associado a mau desenvolvimento do sistema vascular. De fato, o espessamento de vasos xilemáticos através da deposição de lignina confere maior rigidez ao tecido condutor, aumentando a tolerância a estresses abióticos (SHAFI et al., 2014). Agami et al. (2013) observaram que o pré-tratamento de plantas de milho com AS induziu tolerância à salinidade e maior espessura de vasos xilemáticos, o que pode estar relacionado à maior lignificação observada neste trabalho.

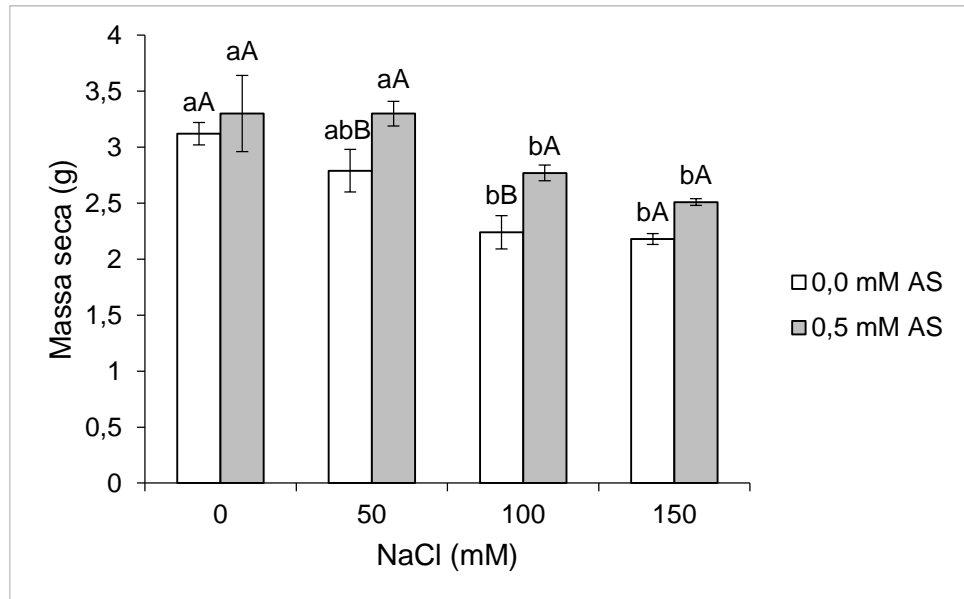


Figura 2. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre massa seca de parte aérea de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Na presença de AS, observou-se que a lignificação nos tecidos foliares foi maior em todas as concentrações salinas, em comparação com o tratamento sob 0,0 mM de NaCl (Figura 3). O AS exógeno causou aumento significativo da lignina em plantas sob 50 mM de NaCl (28,71%) e sob 100 mM de NaCl (18,13%), em comparação com plantas não tratadas com AS sob os mesmos níveis de NaCl. Por outro lado, na ausência de AS, apenas na concentração de 150 mM de NaCl houve diferença significativa para o teor de lignina, com aumento de 34,01 % em comparação ao tratamento sem sal.

Estresses abióticos podem modificar a lignificação de tecidos e órgãos da planta de milho (Tabela 1). No caso de raízes sob estresse salino, ocorre maior deposição de lignina na estria de Caspary, espessando-a (KARAHARA et al., 2004), o que diminui a passagem de íons Na^+ aos vasos do xilema. Não foram encontrados relatos específicos de maior lignificação de órgãos aéreos em função da salinidade, entretanto estudos prévios fornecem embasamento para os resultados aqui obtidos. Sun et al. (2015) observaram que o estresse salino resultou em maior teor foliar de

fenilalanina, precursor da lignina, e sugeriram que isto poderia aumentar a lignificação. Além disso, em folhas de milho sob estresse salino a enzima PAL tem maior atividade (GOHLIZADEH; KOHNEHROUZ; 2010) o que favoreceria a biossíntese de lignina a partir da fenilalanina, já que a lignificação da parede celular ocorre concomitantemente com maior atividade da PAL (SIQUEIRA-SOARES et al., 2013).

Segundo Su et al. (2005) e Kim e Triplett (2008), o maior acúmulo de H_2O_2 está relacionado à lignificação de tecidos; isto poderia explicar a maior lignificação de plantas de milho sob 50 mM e 100mM de NaCl na presença de AS exógeno, já que estes tratamentos também apresentaram aumento no teor de H_2O_2 . Essa ERO é essencial na lignificação de paredes celulares catalisada por peroxidases (POD – EC 1.11.1.7), sendo empregada como receptora de elétrons no processo oxidação dos monolignóis constituintes da lignina (SU et al., 2005; WANG et al., 2013). Além disso, possui natureza sinalizadora e estimula a atividade de enzimas como a PAL (ZHANG et al., 2013), essencial na síntese de lignina e compostos fenólicos que auxiliam as plantas na tolerância a estresses ambientais.

Aponta-se ainda que, a maior lignificação nos tratamentos de 50 mM e 100 mM com AS exógeno também pode ser relacionada à maior atividade da SOD, devido ao envolvimento desta enzima na produção de H_2O_2 . Shafi et al. (2014) observaram que a superexpressão de SOD em *Arabidopsis thaliana* sob estresse salino aumentou a produção de H_2O_2 e a lignificação em tecidos vasculares, aumentando a tolerância ao estresse. Maior atividade da SOD também foi relacionada à lignificação de tecidos por Kim e Triplett (2008).

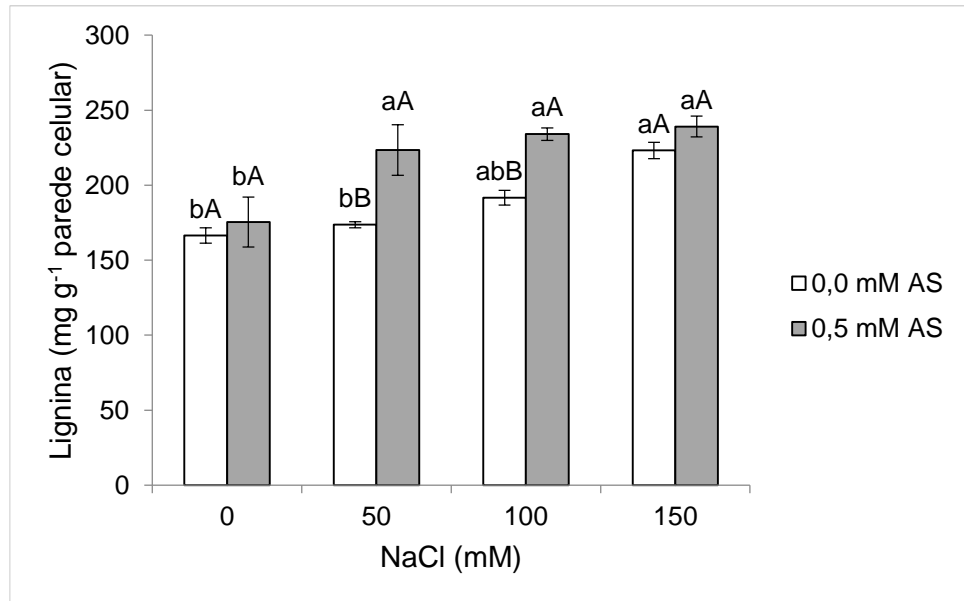


Figura 3. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o teor de lignina em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Nas plantas sob 50 mM e 100 mM de NaCl, a presença de AS provocou aumento significativo de 21,49% e 55,02%, respectivamente, no teor foliar de H_2O_2 (Figura 4). Na presença de AS, o menor acúmulo de H_2O_2 ocorreu com 150 mM de NaCl, sendo menor que os demais tratamentos, incluindo o tratamento sem NaCl. Considerando os tratamentos sem AS, verificou-se que o aumento do estresse salino não modificou os teores de H_2O_2 (Figura 4).

Gunes et al. (2007) também não registraram aumento no teor de H_2O_2 em milho exclusivamente sob estresse salino. Apesar de ser uma das principais EROs, o teor de H_2O_2 por si só não pode ser tomado como indicativo do grau de estresse oxidativo sofrido pelas plantas, já que esta molécula também atua como molécula sinalizadora, participando de processos como fotossíntese, produção de fitoalexinas, movimentos estomáticos e aclimação a estresses (HOSSAIN et al., 2015).

Maior teor foliar de H_2O_2 em plantas de milho sob estresse salino após aplicação de AS já foi observado por Gunes et al. (2007). O incremento no teor foliar de H_2O_2 em milho em função do AS exógeno aqui observado é uma resposta positiva,

já que esta ERO já foi apontada como importante molécula sinalizadora no processo de aclimação da espécie ao estresse salino (AZEVEDO NETO et al., 2005). O H_2O_2 e o AS estão interrelacionados, já que um pode aumentar a síntese do outro em plantas. O aumento da ERO em questão pelo AS já foi observado em outras espécies por outros autores e atribuído a inibição de enzimas degradadoras do H_2O_2 (DURNER; KLESSIG, 1995; HORVÁTH et al., 2002). Por sua vez, o H_2O_2 está relacionado à síntese de AS em plantas, agindo indiretamente como fonte de O_2 (através de degradação do H_2O_2 pela CAT) e ativando a enzima ácido benzoico 2-hidroxilase (BA2H), a qual catalisa a conversão de ácido benzoico a AS (LEÓN et al., 1995; JAYKANNAN et al., 2015b).

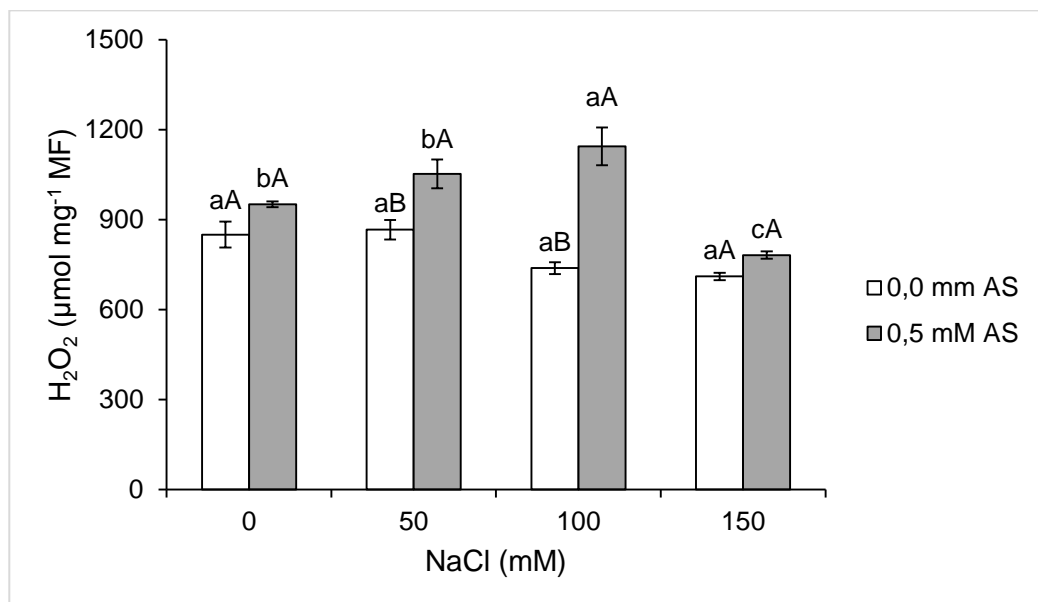


Figura 4. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre teor de H_2O_2 em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Na presença de AS exógeno, não ocorreu alteração nos teores de MDA em plantas sob salinidade em comparação com as plantas não estressadas (Figura 5). A presença de AS causou significativa redução do MDA nas concentrações de 50 mM (25,31%), 100 mM (27,25%) e 150 mM (17,18%) de NaCl (Figura 5). Na ausência de AS e com o aumento das concentrações de NaCl, houve aumento no conteúdo de

MDA (43,54%, 68,61% e 34,81% sob 50 mM, 100 mM e 150 mM de NaCl, respectivamente) em relação ao tratamento controle.

A avaliação do teor de MDA, produto da oxidação de lipídios de cadeia poli-insaturada sob condições ambientais estressantes, avaliada, é um forte indicativo da produção descontrolada de EROs e da consequente danificação irreversível de membranas (ZHANG et al., 2015). Aumento do teor de MDA em folhas de milho em função do estresse salino também foi relatado por Carrasco-Ríos e Pinto (2014), Kaya et al. (2015) e AbdElgawad et al. (2016).

Por outro lado, diversos autores também relatam diminuição do teor de MDA em folhas de milho sob estresse após tratamento com AS, relacionando-a principalmente a maior eficiência do metabolismo antioxidante (GUNES et al., 2007; KRANTEV et al., 2008; GAUTAM; SINGH, 2009; SARUHAN et al., 2012), resultado também obtido no presente trabalho. Para milho já foi observado que o AS, além de aumentar a atividade enzimas antioxidativas em condição de estresse, contribui para menor oxidação de lipídios através da diminuição da atividade da enzima lipoxigenase (WANG et al., 2009). Em todos os níveis de salinidade foi verificado efeito atenuador do AS exógeno. O aumento do acúmulo de massa seca de parte aérea em plantas de milho sob salino em função do AS exógeno (Figura 2) pode ser em parte justificado pela ação deste hormônio na diminuição da peroxidação lipídica (Figura 5).

O aumento da lignificação pode ser uma das causas do menor teor de MDA sob 150 mM de NaCl em comparação à 100 mM; e em plantas sob 50 mM e 100 mM de NaCl após aplicação de AS (Figura 3 e Figura 5). Maior lignificação da parede celular pode resultar em maior proteção contra peroxidação lipídica, pois a natureza hidrofóbica da lignina inibe a perda de água líquida e/ ou vapor d'água ao meio circundante, atenuando o estresse osmótico induzido pela salinidade (LI et al., 2013).

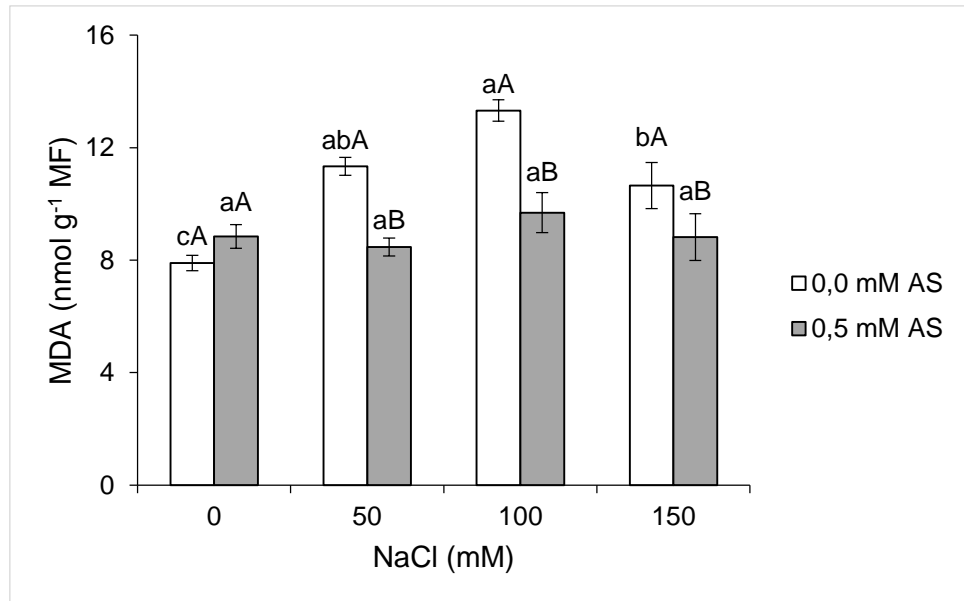


Figura 5. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre peroxidação lipídica em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

A SOD é a primeira enzima da linha de defesa das plantas contra o estresse oxidativo, dismutando o radical $O_2^{\cdot -}$ a H_2O_2 (SHAFI et al., 2014). Entretanto, a avaliação da atividade desta enzima revelou que não houve alteração significativa da atividade da SOD com as concentrações crescentes de NaCl, tanto na presença quanto na ausência de AS (Figura 6). Por outro lado, a aplicação exógena de AS contribuiu para um aumento na atividade desta enzima, tanto em plantas estressadas (50 mM, 100 mM e 150 mM de NaCl) quanto não-estressadas (0 mM de NaCl).

Os resultados aqui apresentados condizem com Gondim et al. (2010) e Gondim et al. (2013), os quais não identificaram efeito do estresse salino na atividade da SOD em milho após 5 e 10 dias e após 6 dias de estresse, respectivamente. AbdElgawad et al. (2016) avaliando até 150 mM de NaCl, tampouco observaram modificações na atividade da SOD em folhas de diferentes idades, identificando maior atividade da enzima apenas nas raízes. Entretanto, Carrasco-Ríos e Pinto (2014) observaram que o estresse salino reduz a atividade da SOD, divergindo de Fahad e Bano (2012) que observaram incremento na atividade da SOD em milho sob salinidade. Isso é um

indicativo da grande variabilidade da atividade de enzimas antioxidativas em função do genótipo de milho (MOLAZEM; BASHIRZADEH, 2015).

A maior atividade da SOD na presença de AS pode ser explicada pela ação ativadora deste hormônio sobre a enzima NADPH oxidase, a qual produz ânions $O_2^{\cdot-}$ para sinalização de respostas em cascata (KALACHOVA et al., 2013). Desta forma, a maior atividade da SOD se faz necessária para redução dos níveis adequados de $O_2^{\cdot-}$, gerado tanto pelo estresse salino quanto pela ativação de NADPH oxidases. Maior atividade da SOD em função do AS também já foi reportada por Fahad e Bano (2012) em milho sob estresse salino. Saruhan et al. (2012), avaliando AS em pulverização de folhas de milho sob déficit hídrico, também observaram maior atividade da SOD com a aplicação do hormônio.

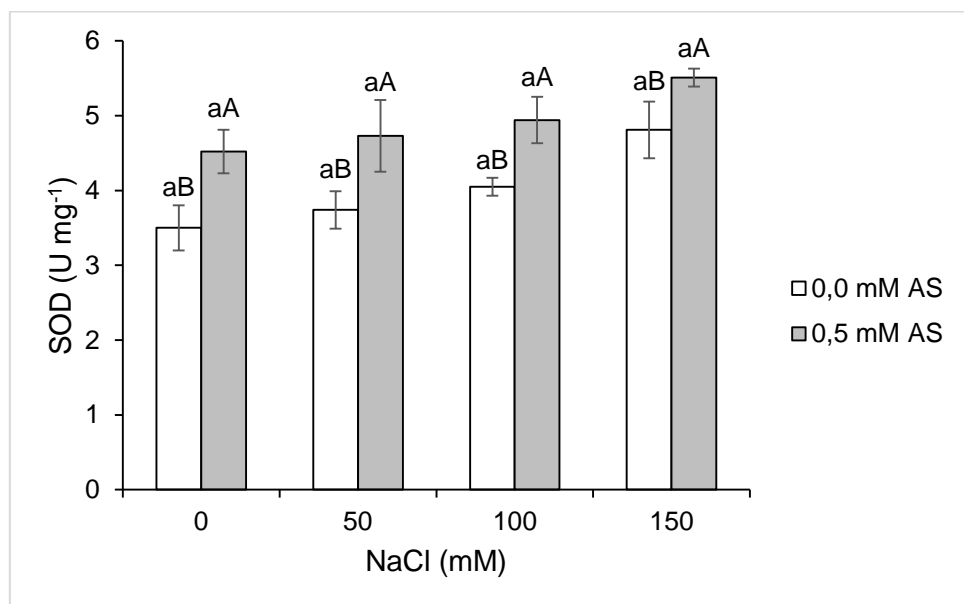


Figura 6. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre a atividade de SOD em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Diferentemente da SOD, a atividade da CAT não foi afetada pelo AS exógeno, independentemente das concentrações salinas empregadas (Figura 7), assim como

observado por Tonel et al. (2013) ao avaliar AS em tratamento de sementes. Houve efeito significativo apenas da salinidade, sendo que nas concentrações de 50 e 100 mM de NaCl a atividade medida foi superior à da testemunha (respectivamente 22,03% e 31,15% na ausência de AS; 37,08% e 36,14% com AS exógeno). Na presença de 150 mM de NaCl, a atividade enzimática voltou a se equiparar ao controle.

Já foi sugerido que a CAT é a enzima antioxidativa mais importante na regulação dos níveis de H₂O₂ em folhas de milho sob estresse salino (AZEVEDO NETO et al., 2005; GONDIM et al., 2012). Gondim et al. (2010) observaram que o estresse salino reduziu a atividade da CAT em folhas de milho no desenvolvimento inicial da espécie; entretanto, após 16 dias de estresse, a atividade da enzima foi maior que as plantas controle, indicando que o momento de coleta e avaliação do material interfere nos resultados disponíveis na literatura. Os resultados aqui obtidos também são corroborados por Gohlizadeh e Kohnehrouz (2010), Molazem e Bashirdazeh (2015) e AbdElgawad et al. (2016), os quais observaram aumento da CAT pelo estresse salino tanto em folhas novas quanto em folhas maduras de milho.

O decréscimo da atividade da CAT sob a concentração de 150 mM de NaCl em comparação às demais concentrações salinas pode indicar que nesta condição o estresse é tão severo que pode inibir ou saturar a atividade de enzimas antioxidantes, como já observado por Gondim et al. (2012), Tonel et al. (2013) e Estrada et al. (2013)

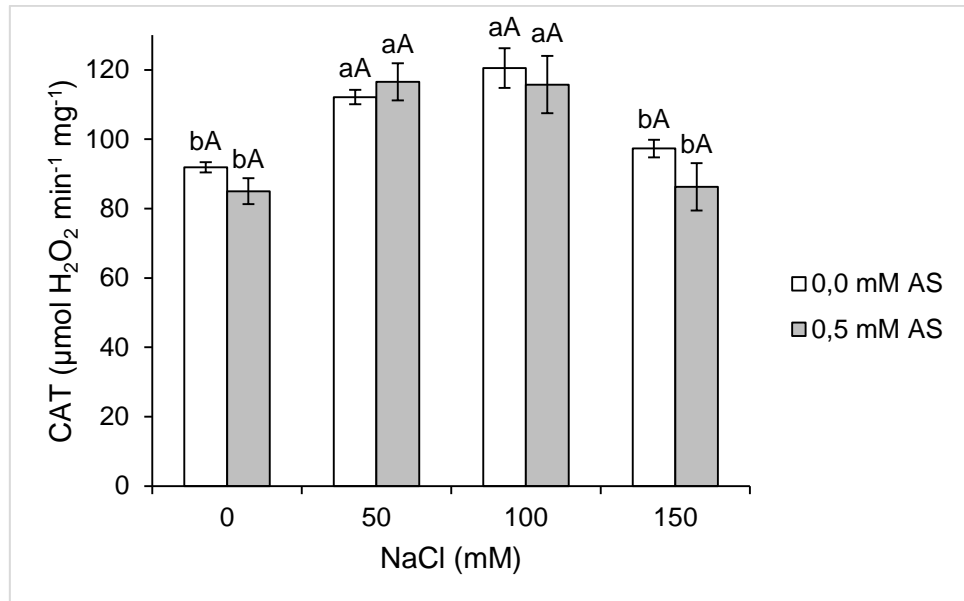


Figura 7. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre a atividade de CAT em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Em plantas não estressadas (0,0 mM NaCl) e em plantas sob 50 mM e 100 mM de NaCl, a aplicação de AS proporcionou maior acúmulo de Pro, com respectivos aumentos de 85,19%, 65,3% e 35,89% (Figura 8). Entretanto, na concentração mais elevada, 150 mM de NaCl, o AS exógeno não resultou em diferença significativa. Tanto na presença quanto na ausência de AS exógeno, houve maior acúmulo de Pro com o aumento da concentração de NaCl.

O aumento do conteúdo foliar de Pro sob estresse salino é um fenômeno bem documentado para milho (GAUTAM; SINGH, 2009; AGAMI, 2013; CARRASCO-RÍOS et al., 2013; MOLAZEM; BASHIRZADEH, 2015). Sob estresse salino, as plantas aumentam a concentração de prolina através de maior atividade das enzimas γ -glutamil cinase, pirrolina-5-carboxilato sintase (P5CS) e menor atividade de prolina oxidase, a qual oxida a prolina a glutamato (AHMAD et al., 2010; REJEB et al., 2014).

Frequentemente é reportado um aumento do teor de Pro em plantas tratadas com AS (FAHAD; BANO, 2012; KAYA et al., 2013; EL-BAKY; ALI, 2014; SHAN; WANG, 2017). Radwan e Soltan (2013) e Agami (2013) obtiveram maior acúmulo foliar

deste osmólito compatível até em plantas de milho na ausência de estresse após aplicação de AS, assim como descrito neste trabalho. Este aumento pode ser atribuído a mais de um fator: aumento na assimilação de nitrogênio (IQBAL et al., 2014), sendo que já foi observado em milho que o AS estimula a nitrato redutase (JAIN; SRIVASTAVA, 1981; EL-BAKY; ALI, 2014); e à maior atividade de enzimas envolvidas na síntese da prolina, como a pirrolina-5-carboxilato redutase (P5CR) e a γ -glutamil cinase (MISRA; MISRA, 2012).

O maior acúmulo de Pro sob 150 mM de NaCl pode ser apontada como uma das explicações para a redução da peroxidação lipídica observada nesta concentração salina na ausência de AS, em comparação ao tratamento sob 100 mM de NaCl (Figura 5). A Pro é sugerida como agente degradador do radical $\text{OH}\cdot$ (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; SIGNORELLI et al., 2014;). Zhu et al. (2011) também atribuíram menor acúmulo de MDA em milho sob déficit hídrico ao maior teor de Pro.

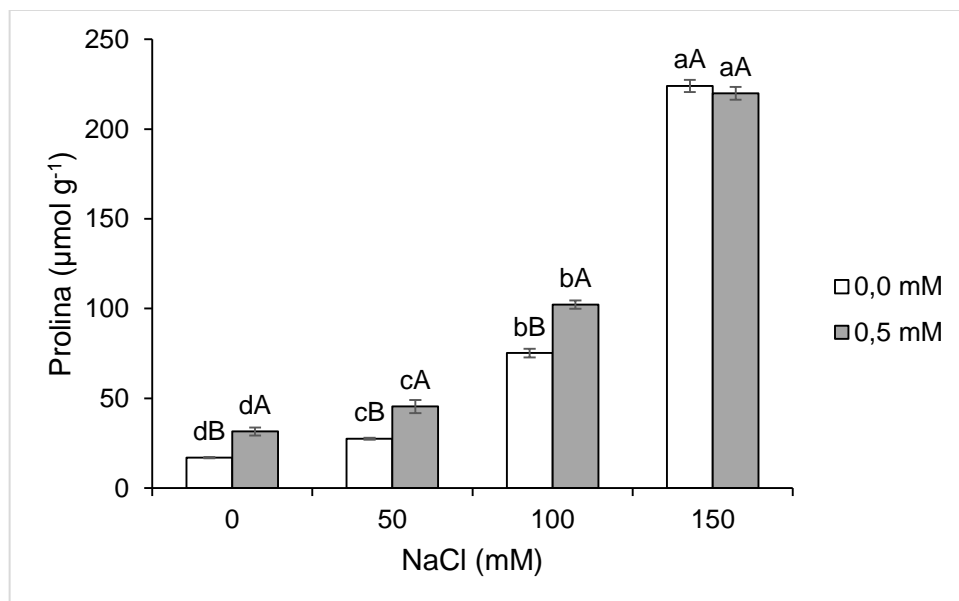


Figura 8. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o acúmulo de Pro em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Os resultados de GB evidenciaram respostas diferentes das encontradas para Pro, pois foi verificado que a presença de AS não provocou alteração significativa no

acúmulo de GB, com exceção de plantas sob 150 mM de NaCl, no qual houve diminuição de 18,50% em relação ao tratamento sem AS na mesma concentração salina. (Figura 9). Tanto na presença quanto na ausência de AS, houve maior acúmulo de GB com o aumento da concentração de NaCl, apesar de este aumento ter sido menos pronunciado na presença de AS.

No presente experimento, o maior acúmulo de GB em plantas sob 150 mM de NaCl pode ser uma das causas do menor teor de MDA observado nesta concentração salina em comparação às plantas sob 100 mM de NaCl (Figura 5). A GB possui a habilidade de proteger e estabilizar o aparato fotossintético em condições de estresse, em especial o fotossistema II, o qual está relacionado à geração de EROs como 1O_2 e H_2O_2 (ALLAKHVERDIEV et al., 2007; POSPÍŠIL, 2009; FISCHER et al., 2013; KUREPIN et al., 2015). Esta habilidade protetiva já se comprovou para o milho sob estresse salino, no qual a aplicação de GB aumentou a eficiência e consequentemente a produtividade quântica do FS (YANG; LU, 2005). Destaca-se ainda que a maior produção de GB na concentração de 150 mM de NaCl poderia compensar a queda de atividade da CAT nesta concentração salina, já que este osmólito compatível pode ser capaz de degradar H_2O_2 (MALEKZADEKH, 2015); esta possibilidade é reforçada ainda pelos resultados de Kaya et al. (2013), que observaram menor atividade da CAT em milho após pulverização com GB.

Por outro lado, foi observado efeito inibitório do AS no acúmulo de GB na concentração de 150 mM de NaCl. Resultado semelhante foi obtido por Hussain et al. (2010) em milheto (*Pennisetum glaucum* L.). Estes resultados sugerem que o AS pode afetar negativamente a síntese de GB por vias pouco elucidadas, já que sua síntese e catabolismo em plantas sob estresse salino envolvem diversos mecanismos celulares, muitos deles ainda não conhecidos (MANSOUR; ALI, 2017b).

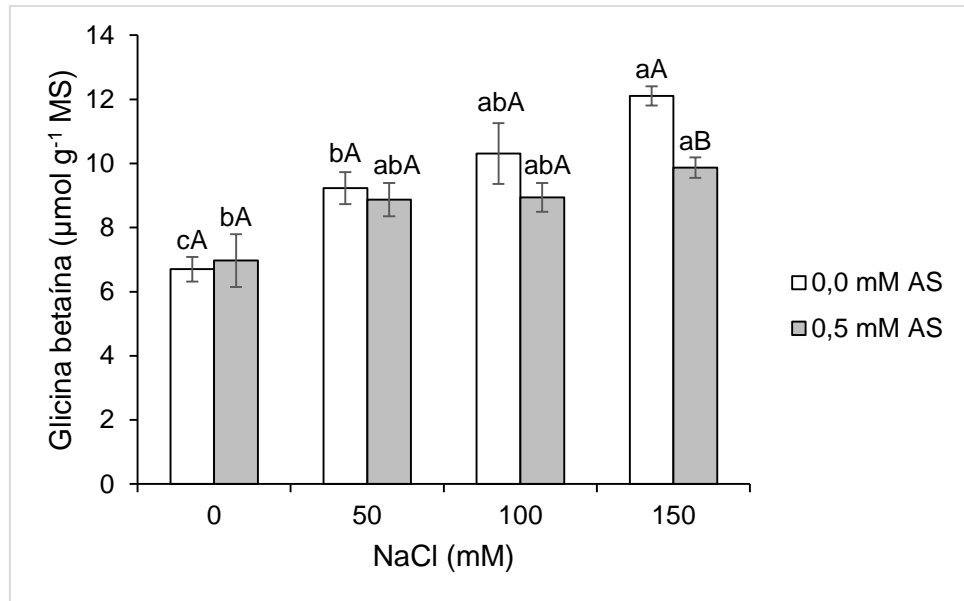


Figura 9. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o acúmulo de GB em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

A adição de 0,5 mM de AS diminuiu o teor foliar de Na^+ em todos os tratamentos salinos, com reduções de 19,15% em 50 mM, 24,19% em 100 mM e 24% em 150 mM de NaCl (Figura 10a). Entretanto, o maior acúmulo de Na^+ ocorreu conforme o aumento das concentrações salinas, tanto na presença quanto na ausência de AS (Figura 10a). Apesar disso, a adição de AS à solução nutritiva implicou em menor acúmulo foliar deste cátion, com exceção do tratamento controle, o qual não apresentava NaCl em sua constituição. Em relação ao K^+ , o estresse salino mais moderado (50 mM de NaCl) já foi o suficiente para reduzir o acúmulo foliar deste macronutriente, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos sob estresse, sendo que este acúmulo não foi afetado pela aplicação de AS (Figura 10b). Como consequência dos efeitos dos tratamentos sobre os teores foliares destes cátions, observou-se que a relação Na^+/K^+ aumentou em função da concentração de NaCl, tanto na presença quanto na ausência de AS (Figura 10c). Apesar disso, a aplicação de AS resultou em menores valores desta relação, com exceção para o tratamento isento de NaCl.

O íon Na^+ , por si só, não é tóxico ao metabolismo vegetal, como são os metais pesados (KRONZUCKER et al., 2013). Entretanto, este cátion prejudica o desenvolvimento da espécie ao interferir na homeostase do K^+ , seja pela inibição ou competição por proteínas de transporte, como membros das famílias proteicas KUP/HAK/KT, AKT e HKT (ADAMS; SHIN, 2014; WANG et al., 2015a); inibição da transcrição de genes codificadores destas proteínas (PILOT et al., 2003; NIEVES-CORDONES et al., 2010) ou estímulo ao efluxo celular de K^+ através da desregulação indireta de canais envolvidos na extrusão radicular de K^+ , como KOR (*outward-rectifying K^+ channels*) e NCSS (canais não-seletivos de cátions) (BOSE et al., 2013; JAYAKANNAN et al., 2013; JAYAKANNAN et al., 2015a). A perturbação na homeostase do íon K^+ pelo Na^+ em milho sob estresse salino, com consequente aumento na relação Na^+/K^+ , também foi relatada por Shahzad et al. (2012), Qu et al. (2012), Carrasco-Río e Pinto (2014), AbdElgawad et al. (2016) e Jiang et al. (2016). Com decréscimo da concentração foliar de K^+ e aumento da relação Na^+/K^+ , diversos processos metabólicos regulados pelo K^+ são afetados. Um exemplo em milho é a interferência na síntese proteica tanto em raízes quanto em folhas (CHENG et al., 2014; FAUST; SCHUBERT, 2017), o que poderia estar relacionado à queda na atividade da CAT na máxima concentração salina (150 mM) observada neste trabalho (Figura 7). Além disso, o K^+ está relacionado à produção de ROS ao contribuir com maior eficiência da cadeia de transporte de elétrons fotossintética e com inibição de NADPH oxidases ligadas a membranas (SHABALLA; POTOSSIN, 2014)

A menor absorção de Na^+ em plantas tratadas com AS exógeno também foi observada por Gunes et al. (2007), Fahad e Bano (2012). Jayakannan et al. (2015a) observaram que o AS interfere na absorção de sódio pelas raízes através da ativação do gene NPR1 (*non-expresser of pathogenesis related gene1*), o qual aumenta atividade de transportador antiporte SOS1 e diminui o influxo de Na^+ às raízes e seu transporte a tecidos aéreos. Os mesmos autores verificaram ainda que o AS evita perdas de K^+ em *Arabidopsis* sob estresse salino através da regulação de canais de extrusão de potássio ativados por despolarização da membrana (KOR - *outward-rectifying K^+*) e canais não seletivos ativados por EROs, apesar de no presente estudo o AS exógeno não ter alterado o teor deste nutriente.

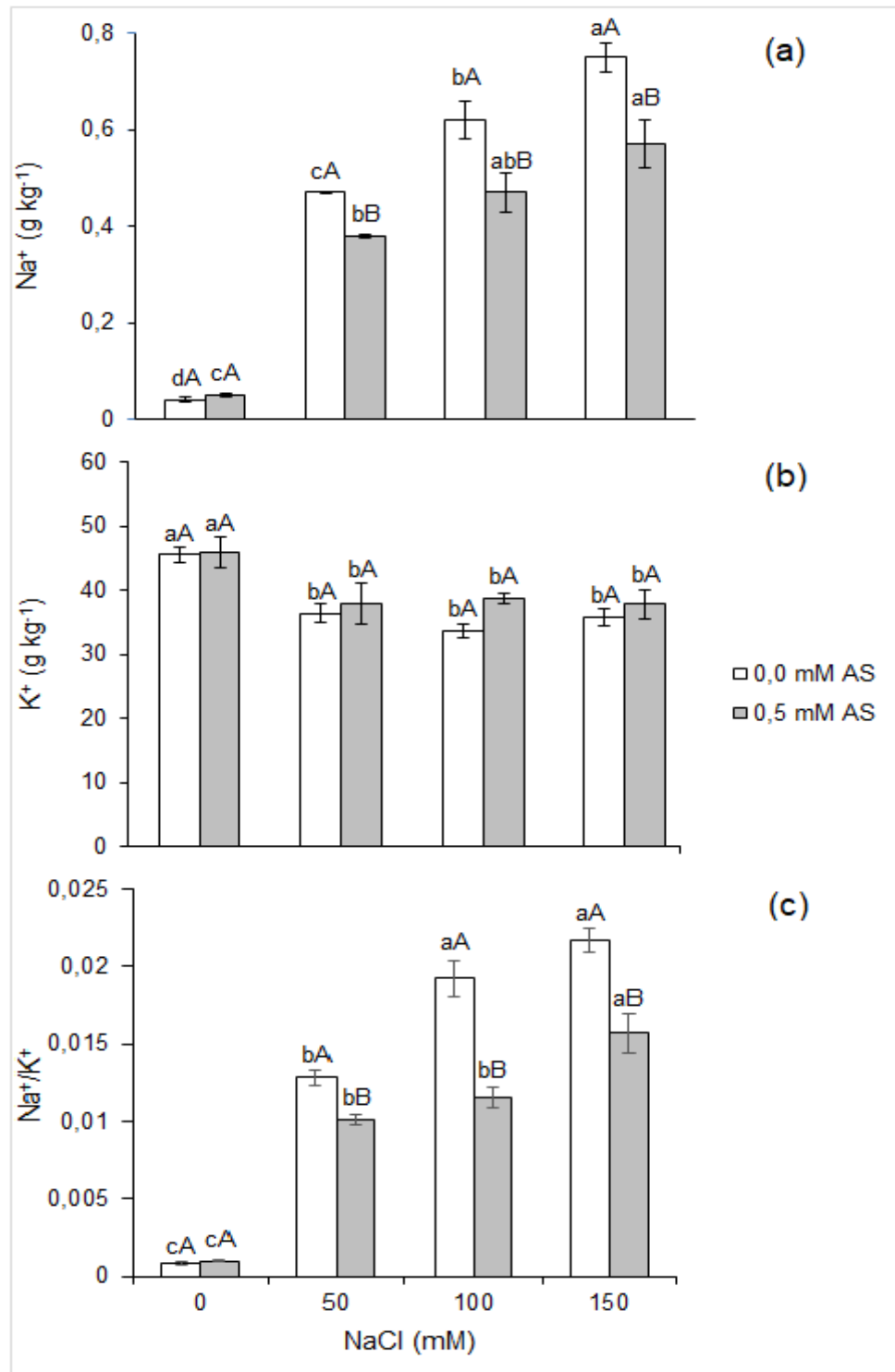


Figura 10. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o acúmulo de Na⁺ (a), K⁺ (b) e relação Na⁺/K⁺ (c) em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Os valores representam médias de quatro repetições (n = 4); barras verticais indicam erro padrão (± EP).

Tanto na presença quanto na ausência de AS exógeno, o estresse salino induziu redução no teor de N, ocasionando em 150 mM de NaCl reduções de 17,52% e 17,78%, respectivamente. Observou-se também que o AS no geral resultou em maior acúmulo de N, apesar de aumento significativo apenas nas concentrações de 0 e 50 mM de NaCl.

O menor teor de N em folhas de milho sob estresse salino já é bem documentado (GUNES et al., 2005; GUNES et al., 2007; TURAN et al., 2010; KAYA et al., 2015; HÜTSCH et al., 2016). Em solos salinizados, o nitrato (NO_3^-) é a principal forma de aquisição de N pelas plantas (HÜTSCH et al., 2016). Entretanto, quando há alta concentração de sais solúveis no substrato, a absorção radicular de NO_3^- é diminuída pela competição com Cl^- por transportadores ou por alterações na integridade da membrana celular (TURAN et al., 2010; PAN, 2011). Shahzad et al. (2012) observaram que o antagonismo com o Cl^- reduziu em 54% a concentração de NO_3^- em folhas de milho em expansão. Além disso, o menor aporte de NO_3^- às folhas resulta na repressão da atividade da enzima nitrato redutase, diminuindo a incorporação de N em formas orgânicas (HÜTSCH et al., 2016).

O aumento do teor de N após aplicação de AS já foi reportado para o milho sob estresse por salinidade, baixas temperaturas e infecção por patógenos (GUNES et al. 2007; GAUTAM; SINGH, 2009; AHMAD et al., 2015; EL-BAKY; ALI, 2014). Estes aumentos são atribuídos ao efeito estimulante do AS sobre a atividade da nitrato redutase, aumentando a assimilação do N em tecidos foliares sob a forma de proteínas e outros compostos nitrogenados (JAIN; SRIVASTAVA, 1981; EL-BAKY; ALI, 2014). Gunes et al. (2007) observaram que a aplicação de 0,5 mM de AS também ocasionou menor aporte de Cl^- às folhas de milho, sugerindo que o maior teor de N foliar possa ser consequência de menor competição com o Cl^- .

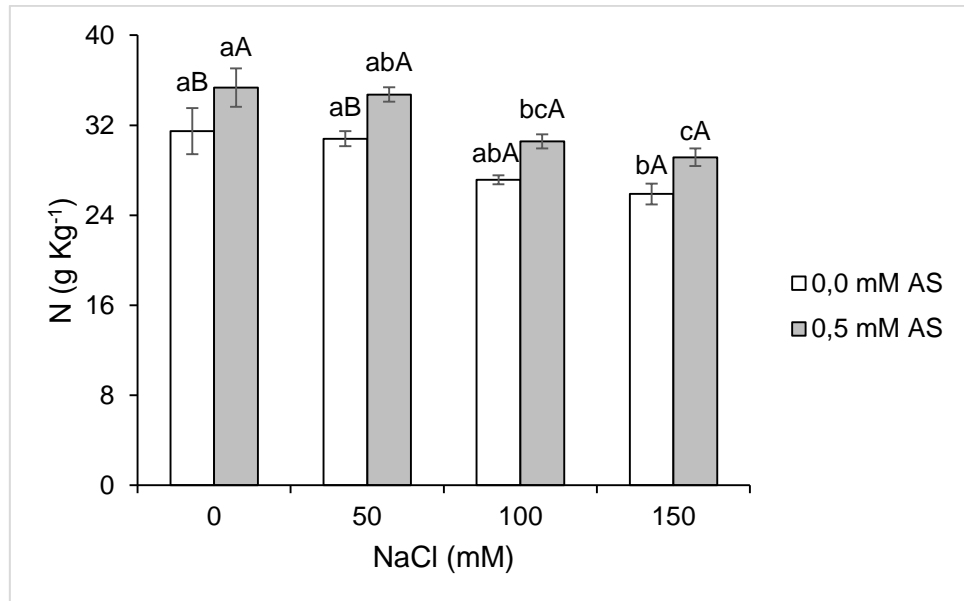


Figura 11. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o teor de N em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Até a concentração de 100 mM de NaCl, o efeito da salinidade não foi significativo sobre o teor foliar de P (Figura 12). Entretanto, sob a máxima concentração de NaCl, atingindo uma redução média de 19,67% ao comparar a testemunha com o tratamento de 150 mM de NaCl (Figura 12). O AS exógeno não afetou significativamente o acúmulo foliar deste nutriente.

Os resultados aqui obtidos condizem com Feng et al. (2002), os quais tampouco observaram efeito significativo da salinidade até 100 mM de NaCl. A redução do teor foliar de P pelo estresse salino é um resultado comum em plantas de milho (CARRASCO-RÍOS; PINTO, 2013; KAYA et al., 2015; LIU et al., 2016). A deficiência de P induzida pelo estresse salino contribui para o desenvolvimento deficiente da espécie, já que este nutriente está envolvido em processos complexos como armazenamento e transferência de energia, transporte de carboidratos e regulação enzimática (CARRASCO-RÍOS; PINTO, 2013), sendo que o incremento na concentração deste nutriente na parte aérea favorece o desenvolvimento da espécie em solos salinos (LIU et al., 2016).

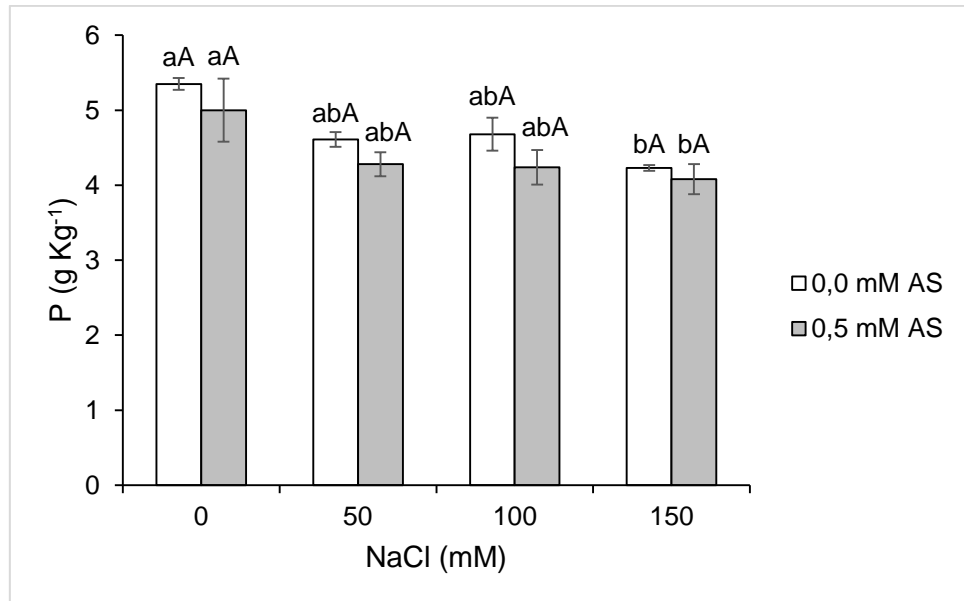


Figura 12. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o teor de P em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

O acúmulo foliar de Mg foi reduzido na presença de estresse salino, não sendo modificado pela aplicação de 0,5 mM de AS (Figura 13). Na concentração de 50 mM de NaCl, já houve redução significativa no teor deste nutriente (29,45% na ausência de AS e 19,49% com AS exógeno), não ocorrendo diferença significativa entre as demais concentrações de NaCl.

A interferência do estresse salino sobre a homeostase do Mg em milho já foi demonstrada por Gunes et al. (2007), Qu et al. (2012), Kaya et al. (2015). A absorção reduzida de Mg se dá pela competição com Na^+ em condições de salinidade (SHAHZAD et al. 2012). O menor acúmulo deste nutriente já foi associado à menor síntese de pigmentos clorofilianos em folhas de milho sob estresse salino (QU et al., 2012), pelo fato de a molécula de clorofila ter Mg como átomo central.

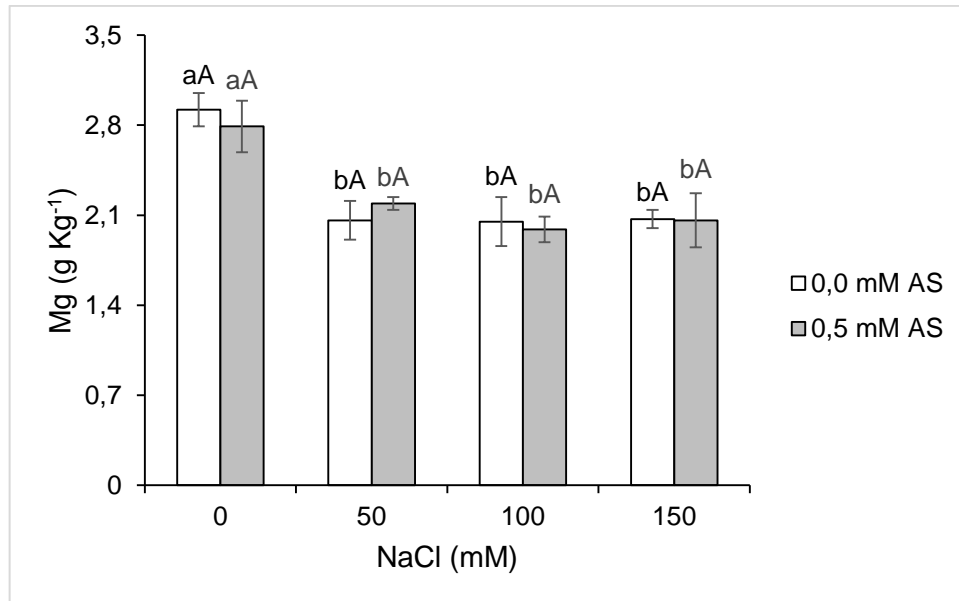


Figura 13. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o teor de Mg em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Na presença de AS, o teor foliar de Ca só diferiu da testemunha sob 150 mM de NaCl, ocorrendo redução de 14,06% (Figura 14). Já na ausência de AS, o efeito da salinidade foi verificado em todos os tratamentos com NaCl, com redução de 20,71% em 50mM de NaCl, 30,28% em 100 mM de NaCl e 19,51% sob 150 mM de NaCl. A adição de 0,5 mM de AS aumentou a concentração de Ca em 29,65% e 42,29% sob 50 mM e 100 mM de NaCl, respectivamente (Figura 14).

Menor teor de Ca em milho estresse salino também foi reportado por Shahzad et al. (2012), Kaya et al. (2013) Kaya et al. (2015). O menor acúmulo foliar de Ca foi apontado por Shahzad et al. (2012) como uma das causas de menor expansão da área foliar em milho sob salinidade, já que este nutriente participa da estabilidade celular com formação de ligações cruzadas entre moléculas de pectina em paredes celulares (COSGROVE, 2005), o que pode também em parte ser atribuído aos resultados aqui observados (Figura 1).

O maior teor de Ca na presença de AS pode ser apontado como um dos pontos da maior tolerância à salinidade. Segundo Qu et al. (2012), o Ca^{2+} desempenha

importante papel na manutenção da seletividade entre K^+ e Na^+ em milho sob estresse salino. Além disso, o Ca^{2+} é importante sinalizador celular no processo de adaptação sistêmica adquirida em resposta a estresses abióticos, envolvendo-se inclusive na transdução de sinais mediada pelo AS (KAWANO et al., 1998; GILROY et al., 2016).

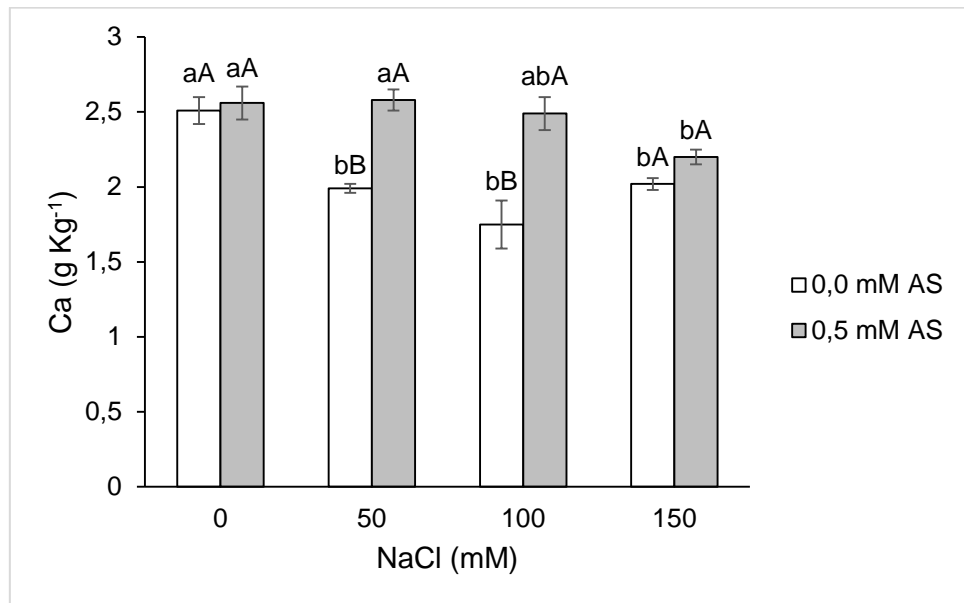


Figura 14. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o teor de Ca em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

O teor foliar de S decresceu com a salinidade, ocorrendo redução significativa na concentração de 150 mM de NaCl, tanto na presença quanto na ausência de AS (Figura 15). Sem AS exógeno, a redução em 150 mM foi de 26,86%, enquanto na presença de AS a redução em 150 mM foi de 28,06% em relação à testemunha.

A absorção radicular de SO_4^{2-} , principal forma de absorção de S pelas plantas, é reduzida por concentrações elevadas de Cl^- (VITTI et al., 2006). A maioria dos canais aniônicos identificados em membranas celulares possuem pouca especificidade, sendo permeáveis a mais de um elemento, inclusive já se conhecendo canais permeáveis a SO_4^{2-} e Cl^- (WHITE; BROADLEY, 2001). Assim, a alta concentração de

Cl⁻ em função dos tratamentos com NaCl pode ter implicado na redução foliar de S. Bouranis et al. (2007) observaram que plantas de milho sob privação de S apresentam maior lignificação de tecidos foliares, o que pode ser relacionado com os resultados aqui obtidos (Figura 3).

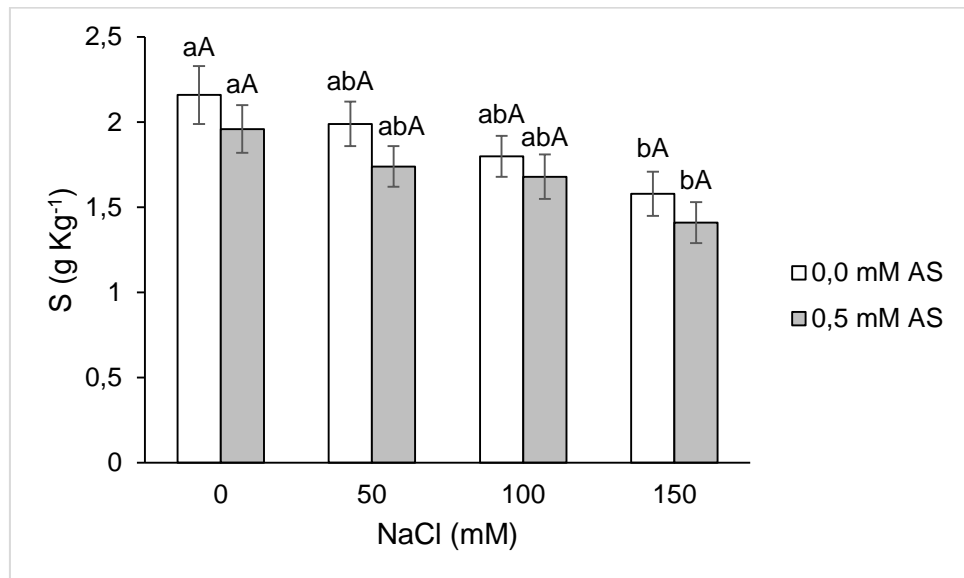


Figura 15. Efeito do estresse salino e AS exógeno sobre o teor de S em folhas de milho. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre concentrações de NaCl) e mesma letra maiúscula (entre concentrações de AS) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

5. CONCLUSÃO

O AS exógeno atenuou os efeitos do estresse salino até 100 mM de NaCl, evidenciado pela maior massa seca e menor peroxidação lipídica. Houve maior teor foliar de lignina, demonstrando que a tolerância induzida pelo AS à salinidade pode se relacionar à lignificação de tecidos. AS exógeno reduziu ainda o teor foliar de Na⁺ e aumentou os teores de Ca²⁺ e N, o que pode ter contribuído para maior crescimento da espécie.

6. REFERÊNCIAS

- ABDELGAWAD, H.; ZINTA, G.; HEGAB, M.M.; PANDEY, R.; ASARD, H.; ABUELSOUD, W. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. **Frontiers in Plant Science**, v.7, art. 276, 2016. doi: 10.3389/fpls.2016.00276.
- ADAMS, E.; SHIN, R. Transport, signaling, and homeostasis of potassium and sodium in plants. **Journal of Integrative Biology**, v.56, n.3, p.231-249, 2014. doi: 10.1111/jipb.12159
- AGAMI, R.A. Alleviating the adverse effects of NaCl stress in maize seedlings by pretreating seeds with salicylic acid and 24-epibrassinolide. **South African Journal of Botany**, v.88, p.171-177, 2013. doi: 10.1016/j.sajb.2013.07.019
- AHMAD, I.; BASRA, S.M.A.; HUSSAIN, S.; HUSSAIN, S.A.; REHMAN, H.; REHMAN, A.; ALI, A. Priming with ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide improves seedling growth of spring maize at suboptimal temperature. **Journal of Environmental & Agricultural Sciences**, v.3, p.14-22, 2015.
- AHMAD, P.; JALEEL, C.A.; SHARMA, S. Antioxidant defense system, lipid peroxidation, proline-metabolizing enzymes, and biochemical activities in two *Morus alba* genotypes subjected to NaCl stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.57, n.4, p.509-517, 2010. doi: 10.1134/S1021443710040084
- ALCÂNTARA, B.K.; MACHEMER-NOONAN, K.; SILVA JÚNIOR, F.G.S.; AZEVEDO, R.A. Dry priming of maize seeds reduces aluminum stress. **PLoS One**, v.12, e.0145472, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0145742.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on Growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v.24, n.12, p.1337-1344, 2001. doi: 10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x.
- ALIA, P.M.; MOHANTY, J.; MATYSIK. Effect of proline on the production of singlet oxygen. **Amino Acids**, v.21, p.195-200, 2001.
- ALLAKHVERDIEV, S.I.; LOS, D.A.; MOHANTY, P. NISHIYAMA, Y.; MURATA, N. Glycinebetaine alleviates the inhibitory effect of moderate heat stress on the repair of photosystem II during photoinhibition. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1767, p.1363-1371, 2007.
- ALMAROAI, Y.A.; USMAN, A.R.A.; AHMAD, M.; MOON, D.H.; CHO, J-S.; JOO, Y.K.; JEON, C.; LEE, S.S.; OK, Y.S. Effects of biochar, cow bone, and eggshell on Pb availability to maize in contaminated soil irrigated with saline water. **Environmental Earth Sciences**, v.71, n.3, p.1289-1296, 2014. doi: 10.1007/s12665-013-2533-6.
- ARIENZO, M.; CHRISTEN, E.W.; JAYAWARDANE, N.S.; QUAYLE, W.C. The relative effects of sodium and potassium on soil hydraulic conductivity and implications for winery wastewater management. **Geoderma**, v. 173–174, n.3, p. 303–310, 2012. doi: 10.1016/j.geoderma.2011.12.012

- ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p.206-216, 2007. doi: 10.1016/j.envexpbot.2005.12.006.
- AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v.104, n.2, p.280-292, 1998. doi: 10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x
- AZEVEDO NETO, A.D.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; MEDEIROS, J.R.; GOMES-FILHO, E. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.1114-1122, 2005. doi: 10.1016/j.jplph.2005.01.007.
- BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: IAC, 1983. 48p. (Boletim técnico, 78).
- BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BEADLE, G.W. Teosinte and the origin of maize. **Journal of Heredity**, v.30, n.6, p.245-247, 1939. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a104728.
- BOARETTO, L.F.; CARVALHO, G.; BORGIO, L.; CRESTE, S.; LANDELL, M.G.A.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R.A. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.74, p.165-75, 2014. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.11.016.
- BOSCH, M.; MAYER, C-D.; COOKSON, A.; DONNISON, I.S. Identification of genes involved in cell wall biogenesis in grasses by differential gene expression profiling of elongating and non-elongating maize internodes. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.10, p.3545-3561, 2011. doi: 10.1093/jxb/err045.
- BOSE, J.; XIE, Y.; SHABALA, S. Haem oxygenase modifies salinity tolerance by controlling K⁺ retention via regulation of the plasma membrane H⁺ -ATPase and by altering SOS1 transcript levels in roots. **Journal of Experimental Botany**, v.64, n.2, p.471-481, 2013. doi: 10.1093/jxb/ers343
- BOURANIS, D.L.; CHORIANOPOULOU, S.N.; PROTONOTARIOS, V.E.; SIYIANNIS, V.F.; HAWKESFORD, M.J. Localization of reactive oxygen species and lignification in leaves of young sulphate-deprived maize plants. **Functional Plant Science and Biotechnology**, v.1, n.2, p.347-354, 2007.
- 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, n.1-2, p.248-254, 1976. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- BUDÍKOVÁ, S. Structural changes and aluminum distribution in maize root tissues. **Biologia Plantarum**, v.42, p.259-266, 1999.
- CARRASCO-RÍOS, L.; PINTO, M. Effect of salt stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in leaves in two contrasting corn, 'Luteño' and 'Jubilee'. **Chilean**

Journal of Agricultural Research, v.73, n.3, p.205-212, 2013 10.4067/S0718-58392013000300001.

CARRASCO-RÍOS, L.; ROJAS, C.; PINTO, M. Constrasting physiological responses to high salinity between two varieties of corn 'Luteño' (salt tolerant) and 'Jubilee' salt sensitive). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.74, n.1, p.89-95, 2014

CHEESEMAN, J.M. The evolution of halophytes, glycophytes and crops, and its implications for food security under saline conditions. **New Phytologist**, v.206, p.557-570, 2015. doi: 10.1111/nph.13217

CHEN, T.H.H.; MURATA, N. Glycinebetaina protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. **Plant, Cell & Environment**, v.32, p.1-20, 2011. doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02232.x

CHENG, Y.; CHEN, G.; HAO, D.; LU, H.; SHI, M.; MAO, Y.; HUANG, X.; ZHANG, Z.; XUE, L. Salt-induced root prpotein profile changes in seedlings of maize inbred lines ith differing salt tolerances. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.74, n.4, p.468-476, 2014. doi: 10.4067/S0718-58392014000400014.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: v.5 - Safra 2017/18, n.4, 4º levantamento**. Brasília, 2018.132p.

COSGROVE, D.J. Growth of the plant cell wall. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.6, p.850-861, 2005. doi: 10.1038/nrm1746.

CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A.; PIMENTEL, R.M.M.; ACCIOLY, A.M.A.; SILVA, A.J. Disponibilidade, acúmulo e toxidez de cádmio e zinco em milho cultivado em solo contaminado. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v.32, n.3, p.1319-1328, 2008. doi: 10.1590/S0100-06832008000300039.

DE LANGE, E.S.; BALMER, D.; MAUCH-MANI, B.; TURLINGS, T.C.J. Insect and pathogen attack and resistance in maize and its wild ancestors, the teosintes. **New Phytologist**, v.204, p.329-341, 2014. doi: 10.1111/nph.13005

DEMPSEY, D. A.; KLESSIG, D. F. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? **BMC Biology**, v. 15, n. 1, p. 23, 2017. doi: 10.1186/s12915-017-0364-8.

D'ODORICO, P.; BHATTACHAN, A.; DAVIS, K.F.; RAVI, S.; RUNYAN, C.W. Global desertification: Drivers and feedbacks. **Advances in Water Resources**, v.51, p.326-344, 2013. doi: 10.1016/j.advwatres.2012.01.013

DOW SEMENTES. **Catálogo de Híbridos de Milho 2016**. Disponível em http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDAS/dh_0965/0901b803809657e4.pdf?filepath=br/pdfs/noreg/013-05179.pdf&fromPage=GetDoc. Acesso em 29 de maio de 2017.

DREW, M.C.; CHAMEL, A.; GARREC, J.P.; FOURCY, A. Cortical air spaces (Aerenchyma) in roots of corn subjected to oxygen stress. **Plant Physiology**, v.65, n.3, p.506-511, 1980. doi: 10.1104/pp.65.3.506

DUAN, R.; FEDLER, C.B. Salt management for sustainable degraded water land application under changing climatic conditions. **Environmental Science &**

- Technology**, v.47, n.18, p.10113-10114, 2013. doi: /10.1021/es403619m
- DURNER, J.; KLESSIG, D.F. Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.92, n.24, p.11312-11316, 1995. doi: 10.1073/pnas.92.24.11312
- EL-BAKY, G.K.A.; ALI, A.M. Does foliar application of salicylic acid protects nitrate reductase and enhances resistance in virus infected maize? **African Journal of Biotechnology**, 13, n.23, p.2330-2335, 2014. doi: 10.5897/AJB2014.13842
- ESTRADA, B.; AROCA, R.; BAREAM J.M.; RUIZ-LOZANO, J.M. Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. **Plant Science**, v.201-202, p.42-51, 2013. doi: 10.1016/j.plantsci.2012.11.009
- FAGERIA, N. K.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético das culturas e seleção de cultivares. In: Gheyi, H. R.; Queiroz, J. E.; Medeiros, J. M. (ed.). **Manejo e controle da salinidade na agricultura**. Campina Grande: UFPB-SBEA, 1997. p.363-383.
- FAHAD; SS.; BANO, A. Effect of salicylic acid on physiological and biochemical characterization of maize grown in saline area. **Pakistan Journal of Botany**, v.44, n.4, p.1433-1438, 2012.
- FAN, L.; LINKER, R.; GEPSTEIN, S.; TANIMOTO, E.; YAMAMOTO, R.; NEUMANN, P.M. Progressive inhibition by water deficit of cell wall extensibility and growth along the elongation zone of maize roots is related to increased lignin metabolism and progressive stelar accumulation of wall phenolics. **Plant Physiology**, v.140, n.2, p.603-612, 2006. doi: 10.1104/pp.105.073130
- FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; WAKEEL, A.; SIDDIQUE, K.H.M. Salt stress in maize: effects, resisatance mechanisms, and management. A Review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.35, n.2, p.461-481, 2015. doi: 10.1007/s13593-015-0287-0
- FAUST, F.; SCHUBERT, S. In vitro protein synthesis of sugar beet (*Beta vulgaris*) and maize (*Zea mays*) is differentially inhibited when potassium is substituted by sodium. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.118, p.228-234, 2017. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.06.016.
- FENG, G.; ZHANG, F.S.; LI, X.L.; TIAN, C.Y.; TANG, C.; RENGEL, Z. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in root. **Mycorrhiza**, v.12, n.4, p.185-190, 2002. doi: 10.1007/s00572-002-0170-0
- FERRARESE, M.L.L.; ZOTTIS, A.; FERRARESE FILHO, O. Protein-free quantification in soybean (*Glycine max*) roots. **Biologia**, v.57, p.541-543, 2002.
- FERRO, A.P.; MARCHIOSI, R.; SIQUEIRA-SOARES, R.C.; BONINI, E.A.; FERRARESE, M.L.L.; FERRARESE-FILHO, O. Effects of cinnamic acid and ferulic acids on growth and lignification of maize roots. **Journal of Allelochemical Interactions**, v.1, n.2, p.29-38, 2015.

- FISCHER, B.B.; HIDEG, E.; KRIEGER-LISZKAY, A. Production, detection, and signaling of singlet oxygen in photosynthetic organisms. **Antioxidants and Redox Signaling**, v.18, p. 2145–2162, 2013. doi: 1089/ars.2012.5124.
- FLOWERS, T.J.; COLMER, T.D. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. **Annals of Botany**, v.115, n.33, p.327-331, 2015. doi: 10.1093/aob/mcu267
- FLOWERS, T.J.; HAJIBAGHERI, M.A.; CLIPSON, N.J.W. Halophytes. **The Quarterly Review of Biology**, v.61, n.3, p.313-337, 1986. doi: 10.1086/415032
- FORNALÉ, S.; CAPELLADES, M.; ENCINA, A.; WANG, K.; IRAR, S.; LAPIERRE, C.; RUEL, K.; JOSELEAU, J.P.; BERENQUER, J.; PUIGDOMENECH, P.; RIGAU, J.; CAPARRÓS-RUIZ, D. Altered lignin biosynthesis improves cellulosic bioethanol production in transgenic maize plants down-regulated for cinnamyl alcohol dehydrogenase. **Molecular Plant**, v.5, n.4, p.817-830, 2012. doi: 10.1093/mp/ssr097.
- FREI, M. Lignin: Characterization of a Multifaceted Crop Component. **The Scientific World Journal**, v.2013, artigo 436517, 2013. doi: 10.1155/2013/436517.
- FU, Z.Q.; DONG, X. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. **Annual Review of Plant Biology**, v.64, p.839-863, 2013. doi : 10.1146/annurev-arplant-042811-105606
- FURUMOTO, T.; YAMAGUCHI, T.; OHSHIMA-ICHIE, Y.; NAKAMURA, M.; TSUCHIDA-IWATA, Y.; SHIMAMURA, M.; OHNISHI, J.; HATA, S.; GOWIK, U.; WESTHOFF, P.; BRÄUTIGAM, A.;WEBER, A.P.M.; IZUI, K. A plastidial sodim-dependent pyruvate transporter. **Nature**, v.476, p.472-475, 2011. doi: 10.1038/nature10250
- GALLEGO-GIRALDO, L.; ESCAMILLA-TREVINO, L.; JACKSON, L.A.; DIXON, R.A. Salicylic acid mediates the reduced growth of lignin down-regulated plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.108, n.51, p.20814-20819, 2011. doi: 10.1073/pnas.1117873108.
- GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V.; TROGELLO, E.; FRITSCHÉ-NETO, R. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Revista Ceres**, v.61, suplemento, p.819-828, 2014. doi: 10.1590/0034-737X201461000007
- GAUTAM, S.; SINGH, P.K. Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.31, p.1185-1190, 2009. doi: 10.1007/s11738-009-0338-8. doi: 10.1007/s11738-009-0338-8.
- GEILFUS, C-M.; ZORB, C.; MUHLING, K.H. Salt stress differentially affects growth-mediating b-expansins in resistant and sensitive maize (*Zea mays* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, n.12, p.993-998, 2010. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.09.011.
- GERLAND, P.; RAFTERY, A.E.; SEVCIKOVA, H.; KI, N.; GU, D.; SPOORENBERG, T.; ALKEMA, L.; FOSDICK, B.K.; CHUNN, J.; LALIC, N.; BAY, G.; BUETTNER, T.; HEILIG, G.K.; WILMOTH, J. World population stabilization unlikely this century. **Science**, v.346, n.6206, p.234-237, 2014. doi: 10.1126/science.1257469
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher

plants. **Plant Physiology**, v.59, n.2, p.309-314, 1977.

GILROY, S.; BIAŁASEK, M.; SUZUKI, N.; GÓRECKA, M.; DEVIREDDY, A.R.; KARPINSKY, S.; MITTLER, R. ROS, calcium, and electric signals: key mediators of rapid systemic signaling in plants. **Plant Physiology**, v.171, n.3, p.1606-1615, 2016. doi: 10.1104/pp.16.00434.

GOHLIZADEH, A.; KOHNEHROUZ, B. Activation of phenylalanine ammonia lyase as a key component of the antioxidative system of salt-challenged maize leaves. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.22, n.4, p.217-223, 2010.

GONDIM, F.A.; MIRANDA, R.S.; GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J.T. Enhanced salt tolerance in maize plants induced by H₂O₂ leaf spraying is associated with improved gas exchange rather than with non-enzymatic antioxidant system. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v.25, n.4, p.251-260, 2013. doi: 10.1590/S2197-00252013000400003

GONDIM, F.A.; GOMES-FILHO, E.; COSTA, J.H.; ALENCAR, N.L.M.; PRISCO, J.T. Catalase plays a key role in salt stress acclimation induced by hydrogen peroxide pretreatment in maize. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.56, p.62-71, 2012. doi: 10.1016/j.plaphy.2012.04.012.

GONDIM, F.A.; GOMES-FILHO, E.; LACERDA, C.F.; PRISCO, J.T.; AZEVEDO-NETO, A.D.A.; MARQUES, E.C. Pretreatment with H₂O₂ in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.22, n.2, p.103-122, 2010. doi: 10.1590/S1677-04202010000200004.

GONDOR, O.K.; PÁL, M.; DARKÓ, É.; JANDA, T.; SZALAI, G. Salicylic acid and sodium salicylate alleviate cadmium toxicity to different extents in maize (*Zea mays* L.). **PLoS One**, v.11, n.8, e0160157, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0160157

GONZÁLEZ, J.M.F.; CABRERA, J.S.; VEGA, M.B.; SOBRINHO, N.A.; GARCÍA, A.C.; DÍAZ, J.M.F. Effects of climate change on soils of cattler regions from the southern karst plaon Habana - Matanzas, Cuba. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v.5, n.1, p.139-151, 2017.

GRIEVE, C.M.; GRATTAN, S.R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, v.70, n.2, p.303-307, 1983. doi: 10.1007/BF02374789.

GUAN, L.; SCANDALIOS, J.G. Developmentally related responses of maize catalase genes to salicylic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.92, n.13, p.5930-5934, 1995.

GUAN, Y.; LI, Z.; HE, F.; HUANG, Y.; SONG, W.; HU, J. "On-Off" thermoresponsive coating agent containing salicylic acid applied to maize seeds for chilling tolerance. **PLoS One**, v.10, n.3, e0120695, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0120695

GUNES, A.; INAL, A.; ALPASLAN, M.; CICEK, N.; GUNERIA, E.; ERASLAN, F.; GUZELORDU, T. Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.). **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.51, n.6, p.687-695, 2005. doi: 10.1080/03650340500336075.

GUNES, A.; INAL, A.; ALPASLAN, M.; ERASLAN, F.; BAGCI, E.G.; CICEK, N. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. **Journal of Plant Physiology**, v.164, n.6, p.728-736, 2007. doi: 10.1016/j.jplph.2005.12.009

HAIJ-AMOR, Z.; IBRAHIMI, M-K.; FEKI, N.; LHOMME, J-P.; BOURI, S. Soil salinisation and irrigation management of date palms in a Sarahan environment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.188, n.8, e.497, 2016. doi: 10.1007/s10661-016-5488-8

HE, Y.; DESUTTER, T.M.; CLAY, D.E. Dispersion of pure clay minerals as influenced by calcium/magnesium ratios, sodium adsorption ratio, and electrical conductivity. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, n.6, p.2014-2019, 2013. doi: 10.2136/sssaj2013.05.0206n.

HE, Y.; DESUTTER, T.; CASEY, F.; CLAY, D.; FRANZEN, D.; STEELE, D. Field capacity water as influenced by Na and EC: Implications for subsurface drainage. **Geoderma**, v.245-246, p.83-88, 2015. 10.1016/j.geoderma.2015.01.020.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, v.125, n.1, p.189-198, 1968. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1

HENRY, C.; BLEDSOE, S.W.; GRIFFITHS, C.A.; KOLLMAN, A.; PAUL, M.J.; SAKR, S.; LAGRIMINI, L.M. Differential role for trehalose metabolism in salt-stressed maize. **Plant Physiology**, v.169, n.2 p.1072-1089, 2015. doi: 10.1104/pp.15.00729.

HERNES, P.J.; KAISER, K.; DYDA, R.Y.; CERLI, C. Molecular trickery in soil organic matter: hidden lignin. **Environmental Science & Technology**, v.47, p.9077-9085, 2013. doi: 10.1021/es401019n.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.

HORVÁRTH, E.; JANDA, T.; SZALAI, G.; PÁLDI, E. In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. **Plant Science**, v.163, p.1129-1135, 2002. doi: 10.1016/S0168-9452(02)00324-2.

HOSSAIN, M.A.; BHATTACHARJEE, S.; ARMIN, S-M.; QIAN, P.; XIN, W.; LI, H-Y.; BURRITT, D.J.; FUJITA, M.; TRAN, L-S.P. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in Plant Science**, v.6, art.420, 2015. doi: 10.3389/fpls.2015.00420

HU, Y.; LI, W-C.; XU, Y-Q.; LI, G-J.; LIAO, Y.; FU, F.L. Differential expression of candidate genes for lignin biosynthesis under drought stress in maize leaves. **Journal of Applied Genetics**, v.50, n.3, p.213-223, 2009.

HUA, D.; WANG, C.; HE, J.; LIAO, H.; DUAN, Y.; ZHU, Z.; GUO, Y.; CHEN, Z.; GONG, Z. A plasma membrane receptor kinase, GHR1, mediates abscisic acid- and hydrogen peroxide-regulated stomatal movement in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v.24, n.6, p.2546-2561, 2012. doi: 10.1105/tpc.112.100107.

- HUSEYNOVA, I.M.; ALIYEVA, D.R.; ALIYEV, J.A. Subcellular localization and responses of superoxide dismutase isoforms in local wheat varieties subjected to continuous soil drought. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.81, p.54-60, 2014. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.01.018.
- HUSSAIN, K.; NAWAZ, K.; MAJEDD, A.; KHAN, F.; LINF, F.; GHANI, A.; RAZA, G.; AFGHAN, S.; ZIA-UL-HUSSNAIN, S.; SHAHAZAD, A. Alleviation of salinity effects by exogenous applications of salicylic acid in pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) seedlings. **African Journal of Biotechnology**, v.9, n.50, p.8602-8607, 2010. doi: 10.5897/AJB10.850
- HÜTSCH, B.W., OSTHUSHENRICH, T., FAUST, F., KUMAR, A., SCHUBERT, S., 2016. Reduced sink activity in growing shoot tissues of maize under salt stress of the first phase may be compensated by increased PEP-carboxylase activity. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.202, n.5, p.384-393, 2016. doi: 10.1111/jac.12162.
- IQBAL, N.; UMAR, S.; KHAN, N.A.; KHAN, M.I.R. A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: regulation of proline metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, v.100, p.34-42, 2014. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.12.006
- JACOBSEN, T.; ADAMS, R.M. Salt and silt in ancient Mesopotamian agriculture. **Science**, v.1228, n.3334, p.1251-1258, 1958. doi: 10.1126/science.128.3334.1251.
- JAIN, A.; SRIVASTAVA, H.S. Effect of salicylic acid on nitrate reductase activity in maize seedlings. **Physiologia Plantarum**, v.51, n.4, p. 339-342, 1981. doi: 10.1111/j.1399-3054.1981.tb05565.x
- JASPER, S.P.; PICOLI JR, G.J.; VELINI, E.D.; SOUSA, S.F.G.; CARBONARI, C.A. Management of maize stover with underdose rates of glyphosate applications in no-tillage. **Planta Daninha**, v.33, n.3, p.543-550, 2015. doi: 10.1590/S0100-83582015000300016
- JAYAKANNAN, M.; BOSE, J.; BABOURINA, O.; RENGEL, Z.; SHABALA, S. Salicylic acid improves salinity tolerance in *Arabidopsis* by restoring membrane potential and preventing salt-induced K⁺ loss via a GORK channel. **Journal of Experimental Botany**, v.64, n.8 p.2255-2268, 2013. doi: 10.1093/jxb/ert085.
- JAYAKANNAN, M.; BOSE, J.; BABOURINA, O.; SHABALA, S.; MASSART, A.; POSCHENRIEDER, C.; RENGEL, Z. The NPR1-dependent salicylic acid signalling pathway is pivotal for enhanced salt and oxidative stress tolerance in *Arabidopsis*. **Journal of Experimental Botany**, v.66, n.7, p.1865-1875, 2015a. doi: 10.1093/jxb/eru528.
- JAYAKANNAN, M.; BOSE, J.; BABOURINA, O.; RENGEL, Z.; SHABALA, S. Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. **Plant Growth Regulation**, v.76, n.1, p.25-40, 2015b. doi: 10.1007/s10725-015-0028-z.
- JIANG, C.; CUI, Q.; FENG, K.; XU, D.; LI, C.; ZHENG, Q. Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. **Acta Physiologica Plantarum**, v.38, art. 82, 2016. doi: 10.1007/s11738-016-2101-2.
- JIANG, J.; HUO, Z.; FENG, S.; ZHANG, C. Effect of irrigation amount and water salinity

on water consumption and water productivity of spring wheat in Northwest China. **Field Crops Research**, v.137, p.78-88, 2012. doi: 10.1016/j.fcr.2012.08.019

KALACHOVA, T.; IAKOVENKO, O.; KRETININ, S.; KRAVETS, V. Involvement of phospholipase D and NADPH-oxidase in salicylic acid signalling cascade. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.66, p.127-133, 2013. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.02.006

KANGASJARVI, S.; NEUKERMANS, J.; LI, S.; ARO, E-M.; NOCTOR, G. Photosynthesis, photorespiration, and light signaling in defence responses. **Journal of Experimental Botany**, v.63, p. 1619-1636, 2012.

KARAHARA, I.; IKEDA, A.; KONDO, T.; UETAKE, Y. Development of the Casparian strip in primary roots of maize under salt stress. **Planta**, v.219, n.1, p.41-47, 2004. doi: 10.1007/s00425-004-1208-7

KAWANO, T.; SAHASHI, N.; TAKAHASHI, K.; UOZOMI, N.; MUTO, S. Salicylic acid induces extracellular superoxide generation followed by an increase in cytosolic calcium ion in tobacco suspension culture: the earliest events in salicylic acid signal transduction. **Plant Cell Physiology**, v.39, n.7, p.721-730, 1998.

KAYA, C.; ASHRAF, M.; SONMEZ, O.; TUNA, A.L.; POLAT, T.; AYDEMIR, S. Exogenous application of thiamin promotes growth and antioxidative defense system at initial phases of development in salt-stressed plants of two maize cultivars differing in salinity tolerance. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.37, e.1741, 2015. doi: 10.1007/s11738-014-1741-3.

KAYA, C.; SONMEZ, O.; AYDEMIR, S.; DIKILITAS, M. Mitigation effects of glycinebetaine on oxidative stress and some key growth parameters of maize exposed to salt stress. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.37, p.188-194, 2013. doi: 10.3906/tar-1205-18

KEATING, J.D.; PANGANIBAN, C.; MANSFIELD, S.D. Tolerance and adaptation of ethanologenic yeasts to lignocellulosic inhibitory compounds. **Biotechnology Bioengineering**, v.93, n.6, p. 1196–1206, 2006. doi: 10.1002/bit.20838.

KHANNA, P.; KAUR, K.; GUPTA, A.K. Salicylic acid induces differential antioxidant response in spring maize under high temperature stress. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.54, n.6, p.386-393, 2016.

KIM, H.J.; TRIPLETT, B. Involvement of extracellular Cu/Zn superoxide dismutase in cotton fiber primary and secondary cell wall biosynthesis. **Plant Signalling and Behavior**, v.3, n.12, p.1119-1121, 2008.

KHAN, N.A.; YU, P.; ALI, M.; CONE, J.W.; HENDRIKS, W.H. Nutrition value of maize silage in relation to dairy cow performance and milk quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 238-252, 2015a. doi: 10.1002/jsfa.6703

KHAN, M.I.R.; FATMA, M.; PER, T.S.; ANJUM, N.A.; KHAN, N.A. Salicylic-acid induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. **Frontiers in Plant Science**, v.6, artigo 462, 2015b. doi: 10.3389/fpls.2015.00462

KISHOR, P.B.K.; KUMARI, P.H.; SUNITA, M.S.L.; SREENIVASULU, N. Role of proline

in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. **Frontiers in Plant Science**, v.6, art. 544, 2015. doi: 10.3389/fpls.2015.00544

KÖGEL-KNABER, I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. **Soil Biology & Biochemistry**, v.34, p.139-162, 2002. doi: 10.1016/S0038-0717(01)00158-4.

KOMATSU, S.; KOBAYASHI, Y.; NISHIZAWA, K.; NAJO, Y.; FURUKAWA, K. Comparative proteomics analysis of differentially expressed proteins in soybean cell wall during flooding stress. **Amino Acids**, v.39, n.5, p.1435-1449, 2010. doi: 10.1007/s00726-010-0608-1.

KOPSELL, D.E.; KOPSELL, D.A. Chlorine. In: BARKER, V.A.; PILBEAM, D.J. **Handbook of Plant Nutrition**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2015. p.347-362.

KRANTEV, A.; YORDANOVA, R.; JANDA, T.; SZALAI, G.; POPOVA, L. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, v.165, n.9, p.920-931, 2008. doi: 10.1016/j.jplph.2006.11.014

KRAUS, T.E.; MCKERSIE, B.D.; FLETCHER, R.A. Paclobutrazol-induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve increased antioxidant enzyme activity. **Journal of Plant Physiology**, v.145, n.4, p.570-576, 1995. doi: 10.1016/S0176-1617(11)81790-6.

KRONZUKER, H.J.; OSKUN, D.; SCHULZE, L.M.; WONG, J.R.; BRITTO, D.T. Sodium as nutrient and toxicant. **Plant and Soil**, v.369, n.1-2, p.1-23, 2013. doi: 10.1007/s11104-013-1801-2.

KUMAR, D. Salicylic acid signaling in disease resistance. **Plant Science**, v.228, p.127-134, 2014. doi:10.1016/j.plantsci.2014.04.014

KUREPIN, L.V.; IVANOV, A.G.; ZAMAN, M.; PHARIS, R.P.; ALLAKHVERDIEV, S.I.; HURRY, V.; HUNER, N.P.A. Stress-related hormones and glycinebetaine interplay in protection of photosynthesis under abiotic stress conditions. **Photosynthesis Research**, v.126, p.221-235, 2015. doi: 10.1007/s11120-015-0125-x.

LEÓN, J.; LAWTON, M.A.; RASKIN, I. Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco. **Plant Physiology**, v. 108, n.4, p.163-168, 1995.

LI, Z-G.; XIE, L-R.; LI, X-J. Hydrogen sulfide acts as a downstream signal molecule in salicylic acid-induced heat tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v.177, p.121-127, 2015. doi: 10.1016/j.jplph.2014.12.018.

LI, Z.; PENG, Y.; MA, X. Different responses on drought tolerance and post-drought recovery between the small-leafed and the large-leafed white clover (*Trifolium repens* L.) associated with antioxidative enzyme protection and lignin metabolism. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.35, p.213-22, 2013. doi: 10.1007/s11738-012-1066-z

LIU, S.; GUO, X.; FENG, G.; MAIMAITIALI, B.; FAN, J.; HE, X. Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi can alleviate salt stress and promote growth of cotton and maize in saline soils. **Plant and Soil**, v.398, n.1-2, p.195-206, 2016. doi: 10.1007/s11104-015-2656-5

- MALEKZADEKH, P. Influence of exogenous application of glycinebetaine on antioxidative system and growth of salt-stressed soybean seedlings (*Glycine max*). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.21, n.2, p.225-232, 2015. doi: 10.1007/s12298-015-0292-4.
- MANSOUR, M.M.F.; ALI, E.F. Evaluation of proline functions in saline conditions. **Phytochemistry**, v.140, p.52-68, 2017a. doi: 10.1016/j.phytochem.2017.04.016.
- MANSOUR, M.M.F.; ALI, E.F. Glycinebetaine in saline conditions: an assessment of the current state of knowledge. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.39, art.56, 2017b. doi: 10.1007/s11738-017-2357-1.
- MARCHESINI, V.A.; GIMÉNEZ, R.; NOSETTO, M.D.; JOBBÁGY, E.G. Ecohydrological transformation in the Dry Chaco and the risk of dryland salinity: Following Australia's footsteps? **Ecohydrology**, v.10, n.4, e1822, 2017. doi: 10.1002/eco.1822.
- MIGNOLET-SPRUYT, L.; XU, E.; IDÄNHEIMO, N.; HOEBERICHTS, F.A.; MÜHLENBOCK, P.; BROSCHE, M.; VAN BREUSEGEN, F.; KANGASJÄRVI, J. Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. **Journal of Experimental Botany**, v.67, n.13, p.3831-3844, 2016. doi: 10.1093/jxb/erw080
- MISRA, N.; MISRA, R. Salicylic acid changes plant growth parameters and proline metabolism in *Rauwolfia serpentina* leaves grown under salinity stress. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, v.12, p.1601–1609, 2012. doi: 10.5829/idosi.ajeaes.2012.12.12.1919.
- MITTLER, R. ROS are good. **Trends in Plant Science**, v.22, n.1, p.11-19, 2017. doi: 10.1016/j.tplants.2016.08.002.
- MOLAZEM, D.; BASHIRZADEH, A. Impact of salinity stress on proline reaction, peroxide activity and antioxidant enzymes in maize (*Zea mays* L.). **Polish Journal of Environmental Studies**, v.24, n.2, p.597-603, 2015. doi: 10.15244/pjoes/29691
- MOREIRA-VILAR, F.C.; SIQUEIRA-SOARES, R.C.; FINGER-TEIXEIRA, A.; OLIVEIRA, D.M.; FERRO, A.P.; ROCHA, G.J.; FERRARESE, M.L.L.; SANTOS, W.D.; FERRARESE-FILHO. The acetyl bromide method is faster, simpler, and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than Klason and thioglycolic acid Methods. **PLoS One**, v.9, n.10, e.110000, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0110000.
- MUNNS, R. Physiological processes limiting growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. **Plant, Cell & Environment**, v.16, n.1, p.15-24, 1993. doi: 10.1111/j.1365-3040.1993.tb00840.x.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p.651-681, 2008. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
- NAVARI-IZZO, F., QUARTACCI, M.F., PINZINO, C., VECCHIA, F.D., SGHERRI, C.L.M., 1998. Thylakoid bound and stromal antioxidative enzymes in wheat treated with excess copper. **Physiologia Plantarum**, v.104, n.4, p.630-638, 1998. doi: 10.1034/j.1399-3054.1998.1040416.x

- NIEVES-CORDONES, M.; ALEMÁN, F.; MARTÍNEZ, V.; RUBIO, F. The *Arabidopsis thaliana* HAK5 K⁺ Transporter Is Required for Plant Growth and K⁺ Acquisition from Low K⁺ Solutions under Saline Conditions. **Molecular Plant**, v.3, n.2, p.326-333, 2010.
- PALMA, J.M., HUERTAS, E.L.; CORPAS, F.J.; SANDALIO, L.M.; GOMEZ, M.; DEL RIO, L.A. Peroxisomal manganese superoxide dismutase: purification and properties of the isozyme from pea leaves. **Physiologia Plantarum**, v.104, n.4, p. 720-726. 1998. doi: 10.1034/j.1399-3054.1998.1040429.x
- PAN, W.L. Nutrient interactions in Soil Fertility and Plant Nutrition. In: HUANG, P.M.; LI, Y.; SUMNER, M.E. **Handbook of Soil Sciences: Resource Management and Environmental Impacts**. 2 ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2011, p. 1-14.
- PARIZOTTO, A.V.; BUBNA, G.A.; MARCHIOSI, R.; SOARES, A.R.; FERRARESE, M.L.L.; FERRARESE-FILHO, O. Benzoxazolin-2(3H)-one inhibits soybean growth and alters the monomeric composition of lignin. **Plant Signaling and Behavior**, v.10, n.2, e989059, 2015. doi: 10.4161/15592324.2014.989059
- PAYEN, S.; BASSET-MENS, C.; NÚÑEZ, M.; FOLLAIN, S.; GRUNBERGER, O.; MARLET, S.; PERRET, S.; ROUX, P. Salinisation impacts in life cycle assessment: a review of challenges and options towards their consistent integration. **International Journal of Life Cycle Assessment**, v.21, n.4, p.577-594, 2016. doi: 10.1007/s11367-016-1040-x
- PILOT, G.; GAYMARD, F.; MOULINE, K.; CHÉREL, I.; SENTENAC, H. Regulated expression of *Arabidopsis* Shaker K⁺ channel genes involved in K⁺ uptake and distribution in the plant. **Plant Molecular Biology**, v.51, n.5, p.773-787, 2003.
- PITANN, B.; MOHAMED, A.; NEUBERT, A.B.; SCHUBERT S. Tonoplast Na⁺ / H⁺ antiporters of newly developed maize (*Zea mays* L.) hybrids contribute to salt resistance during the second phase of salt stress. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.176, n.2, p.148–156, 2013. doi: 10.1002/jpln.201200597.
- POSPÍŠIL, P. Production of reactive oxygen species by photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1787, n.10, 1151–1160, 2009. doi: 10.1016/j.bbabi.2009.05.005
- QADIR, M.; TUBEILEH, A.; AKHTAR, J.; LARBI, A.; MINHAS, P.S.; KHAN, M.A. Productivity enhancement of salt-affected environments through crop diversification. **Land Degradation & Development**, v.19, n.4, p.429-453, 2008. doi: 10.1002/ldr.853
- QU, C.; LIU, C.; GONG, X.; LI, C.; HONG, M.; WANG, L.; HONG, F. Impairment of maize seedling photosynthesis caused by a combination of potassium deficiency and salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.75, p.134-141, 2012. doi: 10.1016/j.envexpbot.2011.08.019.
- RADWAN, D.E.M.; SOLTAN, D.M. The negative effects of clethodim in photosynthesis and gas-exchange status of maize plants are ameliorated by salicylic acid pretreatment. **Photosynthetica**, v.50, n.2, p.171-179, 2012. doi: 10.1007/s11099-012-0016-8.
- RAI, V.K.; SHARMA, S.S.; SHARMA, S. Reversal of ABA-induced stomatal closure by phenolic compounds. **Journal of Experimental Botany**, v.37, n.1, p.129-134, 1986.

doi: 10.1093/jxb/37.1.129

RASKIN, I.; TURNERT, I. M.; MELANDER, W. R. Regulation of heat production in the inflorescences of an Arum lily by endogenous salicylic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 86, n.7, p. 2214–2218, 1989.

REJEB, K.B; ABDELLY, C.; SAVOURÉ, A. How reactive oxygen species and proline face stress together. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.80, p.278-284, 2014. doi: . 10.1016/j.plaphy.2014.04.007

RENGASAMY, P. World salinization with emphasis on Australia. **Journal of Experimental Botany**, v.57, n.5, p.1017-1023, 2006. doi: 10.1093/jxb/erj108.

RESENDE, M.L.V.; SALGADO, S.M.L.; CHAVES, Z.M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.2, p.123-30, 2003. doi: 10.1590/S0100-41582003000200001.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1993. 26p. (Special report, 48).

ROY, K.; SASADA, K.; KOHNO, E. Salinity status of the 2011 Tohoku-oki tsunami affected agricultural lands in northeast Japan. **International Soil and Water Conservation Research**, v.2, n.2, p.40-50, 2014. doi: 10.1016/S2095-6339(15)30005-8.

SANTOS, C.E.R.S.; BEZERRA, R.V.; FREITAS, A.D.S.; SEIDO, S.L.; MARTINS, L.M.V.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R. **Modificação de vasos de Leonard com garrafas descartáveis do tipo PET**. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, 2009. 4p.

SARUHAN, N.; SAGLAM, A.; KADIOGLU, A. Salicylic acid pretreatment induces drought tolerance and delays leaf rolling by inducing antioxidant systems in maize genotypes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.34, n.1, p.97-106, 2012. doi: 10.1007/s11738-011-0808-7.

SHABALLA, S.; POTTOSIN, I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. **Physiologia Plantarum**, v.151, n.3, p.257-279, 2014. doi: 10.1111/ppl.12165.

SHABAZ, M.; ASHRAF, M. Improving salinity tolerance in cereals. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.32, n.4, p. 237-249, 2013. doi: 10.1080/07352689.2013.758544

SHAFI, A.; DOGRA, V.; GILL, T.; AHUJA, P.S.; SREENIVASULU, Y. Simultaneous Over-Expression of PaSOD and RaAPX in Transgenic *Arabidopsis thaliana* Confers Cold Stress Tolerance through Increase in Vascular Lignifications. **PloS One**, v.9, n.10, e. 110302, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0110302.

SHAHZAD, M.; WITZEL, K.; ZÖRB, C.; MUHLING, K.H. Growth-related changes in subcellular ion patterns in maize leaves (*Zea mays* L.) under salt stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 198, N.1, p.46- 56, 2011. doi: 10.1111/j.1439-037X.2011.00487.x

SHAN, C; WANG, Y. Exogenous salicylic acid-induced nitric oxide regulates leaf water condition through root osmoregulation of maize seedlings under drought stress. **Brazilian Journal of Botany**, v.40, n.2, p.591-597, 2017. doi: 10.1007/s40415-016-

0355-y.

SHARMA, S.; VILLAMOR, J.G.; VERSLUES, P.E. Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. **Plant Physiology**, v.157, n.1, p.292-304, 2011. doi: 10.1104/pp.111.183210

SHRISVATAVA, P.; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.22, p.123-131, 2015. doi: 10.1016/j.sjbs.2014.12.001.

SHULAEV, V.; SILVERMAN, P.; RASKIN, I. Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. **Nature**, v.385, p.718-721, 1997. doi: 10.1038/385718a0

SIGNORELLI, S. The fermentation analogy: a point of view for understanding the intriguing role of proline accumulation in stressed plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.7, art.1339, 2016. doi: 10.3389/fpls.2016.01339

SIGNORELLI, S.; IMPARATTA, C.; RODRÍGUEZ-RUIZ, M.; BORSANI, O.; CORPAS, F.J.; MONZA, J. *In vivo* and *in vitro* approaches demonstrate proline is not directly involved in the protection against superoxide, nitric oxide, nitrogen dioxide and peroxyxynitrite. **Functional Plant Biology**, v.43, n.9, p.870-879, 2014. doi: 10.1071/FP16060.

SIGNORELLI, S.; ARELLANO, J.B.; MELO, T.B.; BORSANI, O.; MONZA, J. Proline does not quench singlet oxygen: Evidence to reconsider its protective role in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.64, p.80-83, 2013. doi: 10.1016/j.plaphy.2012.12.017

SIGNORELLI, S.; COITIÑO, E.L.; BORSANI, O.; MONZA, J. Molecular mechanisms for the reaction between OH radicals and proline: insights on the role as reactive oxygen species scavenger in plant stress. **Journal of Physical Chemistry**, v.118, p.37-47, 2014. doi: 10.1021/jp407773u

SILVA, J.L.A.; MEDEIROS, J.F.; ALVES, S.S.V.; OLIVEIRA, F.A.; SILVA JUNIOR, M.J.S.; NASCIMENTO, I.B. Uso de águas salinas como alternativa na irrigação e produção de forragem no semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, suplemento, p.66-72, 2014. doi: 10.1590/1807-1929/agriambi.v18nsupps66-s72

SIQUEIRA-SOARES, R.C.; SOARES, A.R.; PARIZOTTO, A.V.; FERRARESE, M.L.L.; FERRARESE-FILHO, O. Root growth and enzymes related to the lignification of maize seedlings exposed to the allelochemical L-DOPA. **The Scientific World Journal**, v.2013, e.134237, 2013. doi: 10.1155/2013/134237

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, v.28, n.4, p.1057-1060, 1989. doi: 10.1016/0031-9422(89)80182-7

STEWART, G.R.; LEE, J.A. The role of proline accumulation in halophytes. **Planta**, v.120, p.279-289, 1974.

STRAND, D.D.; LIVINGSTON, A.K.; SATOH-CUZ, M.; FROEHLIC, J.E.; MAURINO, V.G.; KRAMER, D.M. Activation of cyclic electron flow by hydrogen peroxide in vivo.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v.112, n.17, p.5539-5544, 2015. doi: 10.1073/pnas.1418223112.

SU, G.; AN, Z.; ZHANG, W.; LIU, Y. Light promotes the synthesis of lignin through the production of H₂O₂ mediated by diamine oxidases in soybean hypocotyls. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.1297-1303, 2005.

SUN, C.; GAO, X.; FU, J.; ZHOU, J.; WU, X. Metabolic response of maize (*Zea mays* L.) plants to combined drought and salt stress. **Plant and Soil**, v.388, n.1-2, p.99-117, 2015. doi: 10.1007/s11104-014-2309-0

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.A.; MURPHY, A. Água e células vegetais. In: _____. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p.83-98.

TAVARES FILHO, A.N.; BARROS, M.F.C.; ROLIM, M.M.; SILVA, E.F.F. Incorporação de gesso para correção da salinidade e sodicidade de solos salinos-sódicos. **Revista Brasileira de engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.3, p.247-252, 2012.

TONEL, F.R.; MARINI, P.; BANDEIRA, J.M.; MORAES, D.M.; AMARANTE, L. Salicylic acid: physiological and biochemical changes in seeds and maize seedlings subjected to salt stress. *Journal of Seed Science*, v.35, n.4, p.457-465, 2013.

TURAN, M.A.; ELKARIM, A.H.A.; TABAN, N.; TABAN, S. Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. **African Journal of Agricultural Research**, v.4, n.9. p.893-897, 2009.

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. doi: 10.5897/AJAR09.677.

VANHOLME, R.; MORREEL, K.; DARRAH, C.; OYARCE, P.; GRABBER, J.H.; RALPH, J.; BOERJAN, W. Metabolic engineering of novel lignin in biomass crop. **New Phytologist**, v.196, n.4, p.978-1000, 2012. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04337.x

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

VÉLEZ-BERMÚDEZ, I.C.; SALAZAR-HENAO, J.E.; FORMALÉ, S.; LÓPEZ-VIDRIERO, I.; FRANCO-ZORRILLA, J.M.; GROTEWOULD, E.; GRAY, J.; SOLANO, R.; SCHMIDT, W.; PAGÉS, M.; RIERA, M.; CAPARROZ-RUIZ, D. A MYB/ZML Complex Regulates Wound-Induced Lignin Genes in Maize. **The Plant Cell**, v.27, p.3245-3259, 2015. doi: doi.org/10.1105/tpc.15.00545

VINCENT, D.; LAPIERRE, C.; POLLET, B.; CORNIC, G.; NEGRONI, L.; ZIVY, M. Water deficits affect caffeate O-methyltransferase, lignification, and related enzymes in maize leaves. A Proteomic investigation. **Plant Physiology**, v.137, n.3, p.949-960, 2005. doi: 10.1104/pp.104.050815.

- VITTI, G.C.; LIMA, E.; CICARONE, F. Cálcio, Magnésio e Enxofre. In: FERNADES, M.S. (Ed). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, p.299-325.
- WAHLA, I.H.; KIRKHAM, M.B. Heavy metal displacement in salt-water-irrigated soil during phytoremediation. **Environmental Pollution**, v.155, p.2711-283, 2008. Doi: 10.1016/j.envpol.2007.11.020
- WANG, H.; FENG, T.; PENG, X.; YAN, M.; TANG, X. Up-regulation of chloroplastic antioxidant capacity is involved in alleviation of nickel toxicity of *Zea mays* L. by exogenous salicylic acid. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p.1354-1362, 2009.
- WANG, Q.; GUAN, C.; WAN, P.; LU, M-L.; MA, Q.; WU, G-Q.; BAO, A-K.; ZHANG, J-L.; WANG, S-M. AtHKT1;1 and AtHAK5 mediate low-affinity Na⁺ uptake in *Arabidopsis thaliana* under mild salt stress. *Plant Growth Regulation*, v.75, n.3, p.615-623, 2015a.
- WANG, Y.; CHANTREAU, M.; SIBOUT, R.; HAWKINS, S. Plant cell wall lignification and monolignol metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v.4, art. 220, 2013. doi: 10.3389/fpls.2013.00220.
- WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. **Annals of Botany**, v.88, n.6, p.967-988, 2001. doi: 10.1006/anbo.2001.1540
- XU, J.; DUAN, X.; YANG, J.; BEECHING, J.R.; ZHANG, P. Enhanced Reactive Oxygen Species Scavenging by Overproduction of Superoxide Dismutase and Catalase Delays Postharvest Physiological Deterioration of Cassava Storage Roots. **Plant Physiology**, v.161, p.1517-1528, 2013. Doi: 10.1104/pp.112.212803.
- YADAV, S.; IRFAN, M.; AHMAD, A.; HAYAT, S. Causes of salinity and plant manifestations to salt stress: A Review. **Journal of Environmental Botany**, v.32, p.667-685, 2011.
- YANG, X.; LU, C. Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt-stressed maize plants. **Physiologia Plantarum**, v.124, p.343-352, 2005.
- ZENG, W.; XU, C.; WU, W.; HUANG, J. Soil salt leaching under different irrigation regimes: HYDRUS-1D modelling and analysis. **Journal of Arid Land**, v.6, n.1, p.44-58, 2014.
- ZHANG, R-Q.; ZHU, H-H-.; ZHAO, H-Q.; YAO, Q. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. **Journal of Plant Physiology**, v.170, p.74-79, 2013. doi: 10.1016/j.jplph.2012.08.022
- ZHANG, X.; ZHAO, X.; WANG, Z.; SHEN, W.; XU, X. Protective effects of hydrogen-rich water on the photosynthetic apparatus of maize seedlings (*Zea mays* L.) as a result of an increase in antioxidant enzyme activities under high light stress. **Plant Growth Regulation**, v.77, p.43-56, 2015. doi: 10.1007/s10725-015-0033-2.

ZHU, X.; SONG, F.; LIU, S. Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content and activity of antioxidant system. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v.9, n.2, p.583-587, 2011.

ZÖRB, C.; MÜHLING, K.H.; KUTSCHERA, U.; GEILFUS, C.M. Salinity stiffens the epidermal cell walls of salt-stressed maize leaves: is the epidermis growth-restricting? **PLoS One**, v.10, n.3, e0118406, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0118406.