

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS – FCAV/UNESP
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DO DÉFICIT HÍDRICO E SALINIDADE EM
PLANTAS DE MICROTOMATEIRO**

Efraim Pereira Pimenta

Jaboticabal – SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS – FCAV/UNESP
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DO DÉFICIT HÍDRICO E SALINIDADE EM
PLANTAS DE MICROTOMATEIRO**

EFRAIM PEREIRA PIMENTA

Orientadora: Prof. Dra. Priscila Lupino Gratão

Trabalho apresentado á Faculdade de Ciencias Agrárias
e Veterinarias – UNESP, Campus de Jaboticabal, para
obtenção do titulo de Bacharel em Ciencias Biológicas

P644a

Pimenta, Efraim Pereira

Avaliação do efeito combinado do déficit hídrico e salinidade em plantas de microtomateiro / Efraim Pereira Pimenta. -- , 2025

24 f.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Priscila Lupino Gratão

1. Desidratação (Hídrica). 2. Estresse oxidativo. 3. Tomate. I. Título.

NOME COMPLETO DO AUTOR
EFRAIM PEREIRA PIMENTA

TÍTULO DO TRABALHO ACADÊMICO:
AValiação DO EFEITO COMBINADO DO DÉFICIT HÍDRICO E SALINIDADE
EM PLANTAS DE MICROTOMATEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

Área de Concentração:

Data da defesa: 27/06/2025

(X) Aprovado

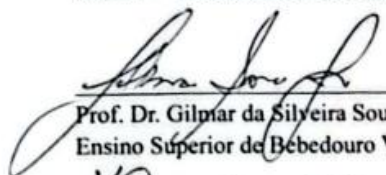
() Reprovado

Banca Examinadora:



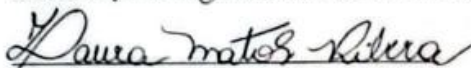
Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal



Prof. Dr. Gilmar da Silveira Souza Junior

Ensino Superior de Bebedouro Victório Cardassi (IMESB) - Bebedouro - SP

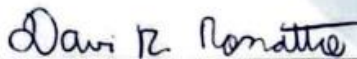


Me. Laura Matos Ribera

Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal)

FCAV/UNESP

Aprovado em Reunião Departamental em: 15/07/2025



Prof. Dr. Davi Rodrigo Rossatto

Chefe do Departamento

“Esta canção é nova para mim, mas é uma honra fazer parte dela”
Frase mencionada em *Outer Wilds*

DEDICATÓRIA

Dedico agora meu mais sincero agradecimento à minha família. Começo pelos meus irmãos, Esdras Pereira Pimenta e Ebenezio dos Reis Pimenta Junior, que estiveram presentes na maior parte da minha vida e sempre me apoiaram em todos os meus sonhos. À minha mãe, Rosilane, que foi, e continua sendo, meu maior exemplo de resiliência. Cresci acompanhando, em sua trajetória, o verdadeiro significado de seguir em frente, independentemente dos desafios. Ao meu pai, Ebenezio, que me ensinou, com seu exemplo de vida, o valor da bondade, da responsabilidade e da integridade. Por você, tenho o mais profundo respeito e me inspiro diariamente para me tornar, ao menos em parte, a pessoa que você é. Apesar das dificuldades, sou imensamente grato pelo amor incondicional e pelos cuidados ao longo de toda a minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas e instituições que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Início agradecendo ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por meio do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), pelo financiamento desta pesquisa. O incentivo à ciência, especialmente entre os jovens, é essencial para a formação de futuros pesquisadores e para o avanço científico do país.

Agradeço profundamente à minha orientadora, Priscila Lupino Gratão, pelo apoio constante, pela confiança depositada e pela dedicação em cada etapa deste processo. Os aprendizados adquiridos ao longo dessa trajetória foram fundamentais para minha formação acadêmica e pessoal.

Aos colegas de laboratório, meu muito obrigado pelas trocas, pelo convívio e pelo companheirismo. Um agradecimento especial à Milena, Carol, Mateus, Laura, Kauane e Clebson, por todas as experiências compartilhadas e pelo apoio ao longo da caminhada no Laboratório de Fisiologia Vegetal.

Um carinho especial à Sônia, pelo acolhimento, cuidado e afeto. Você é, sem dúvida, uma das pessoas mais generosas que conheci — com um dos melhores abraços também.

Ao Gilmar, minha gratidão mais sincera. Você me ofereceu algo muito maior do que uma oportunidade: confiou em mim. Essa confiança foi transformadora para minha vida pessoal e profissional. Sou profundamente grato pelos conselhos e pelos ensinamentos, que levo comigo com muito apreço por onde for.

Aos colegas que fiz ao longo da graduação, e em especial aos amigos mais próximos — Hosana, Mateus e Bruno —, obrigado por estarem ao meu lado durante toda essa jornada e por todos os momentos de alegria, risadas e histórias vividas ao longo de quase dez semestres.

Aos colegas das comissões organizadoras das quais participei, agradeço pela confiança, pelas experiências enriquecedoras e pelo aprendizado coletivo, que contribuíram significativamente para minha formação enquanto biólogo.

Por fim, sou imensamente grato à UNESP – FCAV e a todos os seus funcionários, que se dedicam diariamente tanto ao cuidado com a instituição quanto à excelência na formação dos alunos. Agradeço a cada professor com quem tive o privilégio de aprender e por todo o conhecimento compartilhado, que despertou em mim um encantamento duradouro pela Biologia.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo geral	11
3. METODOLOGIA	11
3.1. Análises	15
3.1.1. Produção de biomassa.....	15
3.1.2. Análise de pigmentos.....	15
3.1.3. Caracterização do estresse oxidativo	15
3.2. Análise estatística.....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5. CONCLUSÃO	20
6. REFERÊNCIAS.....	21

RESUMO

As mudanças climáticas têm intensificado a ocorrência simultânea de estresses abióticos, como déficit hídrico e salinidade, comprometendo significativamente a produtividade agrícola. Este estudo avaliou as respostas fisiológicas e bioquímicas do micro-tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) sob condições combinadas desses estresses. O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3x3, sendo três níveis de déficit hídrico (0, -0.4, -1.0 MPa com PEG 6000) e três níveis de salinidade: (0, 40, 120 mM NaCl), com coletas final aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos. Os resultados demonstraram que a combinação dos estresses exacerbou a produção de ERO e também os danos oxidativos, indicados pelo aumento de MDA, especialmente nos tratamentos severos. Além disso, observou-se uma redução drástica de biomassa seca no tratamento combinado severo, enquanto os tratamentos isolados tiveram impacto significativamente menor. Os resultados demonstraram que a combinação dos estresses compromete mais severamente o metabolismo vegetal, afetando tanto o desempenho fotossintético quanto a integridade celular.

Palavras-chave: Estresse hídrico. Estresse oxidativo. Micro-Tom. *Solanum lycopersicum*.

ABSTRACT

Climate change has intensified the simultaneous occurrence of abiotic stresses, such as water deficit and salinity, significantly compromising agricultural productivity. This study evaluated the physiological and biochemical responses of micro-tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) under combined stress conditions. The experiment was conducted in a greenhouse, using a completely randomized design in a 3×3 factorial scheme, with three levels of water deficit (0, -0.4, -1.0 MPa using PEG 6000) and three levels of salinity (0, 40, 120 mM NaCl), with final data collection at 60 days after treatment application. The results showed that the combination of stresses exacerbated ROS production and oxidative damage, indicated by increased MDA levels, especially under severe treatments. In addition, a drastic reduction in dry biomass was observed under the severe combined treatment, while the isolated stresses had a significantly lower impact. The findings demonstrated that the combination of stresses more severely compromises plant metabolism, affecting both photosynthetic performance and cellular integrity.

Keywords: Draught stress. Oxidative stress. Micro-Tom. *Solanum lycopersicum*.

1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas têm intensificado a ocorrência de estresses abióticos nas lavouras. Segundo o IPCC (Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas), a escassez hídrica tende a afetar vastas regiões do planeta (Ferreira, 2019).

Na natureza, os estresses raramente ocorrem de maneira isolada e muitos agem de forma sinérgica. Pesquisas indicam que as respostas das plantas a estresses abióticos combinados são específicas e não podem ser explicadas apenas pelos mecanismos ativados diante um único estressor (Rawat *et al.*, 2021). Dessa forma, alguns autores têm destacado a importância de estudar os estresses abióticos combinados, ao invés de analisá-los de maneira separada (Lawas *et al.* 2018, Zandalinas *et al.* 2018, García-Martí *et al.* 2019; Rawat *et al.* 2021).

A limitação da produtividade agrícola causada por estresses abióticos é amplamente relatada na literatura, principalmente devido às alterações fisiológicas nas plantas. Dentre os estresses mais danosos, destacam-se o déficit hídrico e o estresse salino (Lawlor, 2002; Rellán-Álvarez *et al.*, 2006; Jaleel *et al.*, 2007; Turkyilmaz *et al.*, 2012; Hayat *et al.*, 2014; Akram *et al.*, 2016; Chiconato *et al.*, 2020).

A deficiência hídrica está relacionada tanto à escassez de água quanto à sua disponibilidade para absorção pelas raízes (Jaleel *et al.*, 2007), afetando significativamente o desenvolvimento das culturas (Song *et al.*, 2012). Estima-se que o déficit hídrico seja o principal fator responsável pela redução da produtividade agrícola, superando, inclusive, o impacto combinado de patógenos (Gupta *et al.*, 2020). A irregularidade das precipitações e as práticas inadequadas de irrigação intensificam ainda mais esse cenário (Song *et al.*, 2012; Sakcali *et al.*, 2008). Embora os efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento vegetal sejam amplamente conhecidos, os mecanismos bioquímicos ainda são pouco compreendidos (Shao *et al.*, 2008).

Assim, como a deficiência hídrica, a salinidade do solo é um problema global que limita o crescimento e produtividade das safras, comprometendo a sustentabilidade da agricultura moderna. Mais de um terço das terras irrigadas do mundo são afetadas pela salinização (Pedrotti *et al.* 2015). O estresse salino inibe o acúmulo de biomassa vegetal, retarda o desenvolvimento das plantas e reduz a atividade fotoquímica (García-Sánchez *et*

al., 2020). Três mecanismos principais são descritos como responsáveis pelos danos induzidos pela salinidade: o desequilíbrio osmótico, a interrupção da homeostase iônica e o estresse oxidativo (Yang *et al.* 2018). A redução do potencial osmótico, por exemplo, leva ao fechamento estomático das plantas, o que consequentemente limita a absorção de água (García-Sánchez *et al.* 2020).

A combinação de estresses abióticos difere significativamente quando comparados com o estresse individual (Atkinson, Urwin 2012, Jin *et al.* 2016). Pellinen *et al.*, (2002) relataram que as mudanças ambientais, acarretam as problemáticas em relação aos estresses causados pelo déficit hídrico e salinidade são uma fonte de estresse ao qual as plantas costumam responder pela produção excessiva de ERO.

O dano às membranas, evidenciado pelo aumento do conteúdo de malondialdeído (MDA), é mais acentuado sob estresse combinado (Jin *et al.*, 2016). Além disso, há ocorrências de respostas adicionais, como estresse osmótico, desnaturação proteica e inibição da atividade enzimática (He *et al.*, 2018; Ghannoum, 2009). A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o H_2O_2 , é uma resposta comum e pode atuar tanto como sinalizadora quanto como agente de dano celular (Vranová *et al.*, 2002).

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é a segunda cultura vegetal com maior produção global depois da batata, com uma produção de 164 milhões de toneladas (Conab, 2020). Além de seu valor e importância nutricional (Adalid *et al.* 2010; Lin *et al.* 2014) o tomate é amplamente adotado como modelo experimental para pesquisas em fisiologia vegetal, especialmente em casos onde a *Arabidopsis* não é uma opção adequada (Carvalho *et al.* 2011). A cultivar Micro Tom (MT), inicialmente criada para uso como planta ornamental, possui ciclo curto (70–90 dias), porte reduzido, resultado de duas mutações recessivas chaves: anão (d) e miniatura (mnt) (Meissner *et al.* 1997) características genéticas que a tornaram ideal para estudos fisiológicos, bioquímicos e moleculares (Scott, Harbaugh. 1989; Campos *et al.* 2010).

Embora o tomate seja uma cultura de clima temperado, a cultura está sendo cultivada em diversas zonas climáticas, o que torna o cultivo do tomate mais desafiador (Chaudhary *et al.* 2019). Mudanças ambientais reduzem a disponibilidade de áreas agriculturáveis, levando o produtor a buscar novas regiões de plantio, muitas vezes impactadas por condições que inviabilizam sua produção. Nesse contexto, é fundamental compreender como as plantas respondem a múltiplos estresses para viabilizar o cultivo em ambientes marginais, evitando conflito entre produção agrícola e preservação ambiental.

Ainda que as plantas apresentem mecanismos de adaptação aos estresses, muitos desses processos ainda não são completamente compreendidos (Reddy *et al.*, 2004; KISHOR *et al.*, 2005). A complexidade das interações entre fatores estressantes e as respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas representa um desafio significativo para a ciência (Ashraf; Harris, 2004). Além disso, o melhoramento genético visando cultivares com elevado rendimento sob condições adversas continua sendo um dos principais objetivos da agricultura moderna (Blum, 1996).

Apesar dos avanços, estudos integrativos que avaliem os efeitos combinados do estresse hídrico e salino sobre a cultivar Micro-Tom ainda são escassos. Pesquisas mais recentes evidenciam que a resposta ao estresse combinado não é simplesmente a soma das respostas individuais, mas sim um processo fisiologicamente distinto (Zhong *et al.*, 2020). Trabalhos com essa cultivar têm demonstrado grande potencial para compreender as bases fisiológicas e bioquímicas da tolerância ao estresse (Leiva-Ampuero *et al.*, 2020), sendo, portanto, um modelo valioso para investigações com enfoque em múltiplos estresses abióticos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar alterações nos parâmetros fisiológicos e de crescimento, em plantas de micro tomateiro (*Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom) submetidas ao estresse hídrico e salino combinado, em diferentes condições e intensidade de exposição.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.

1. INTRODUÇÃO À REVISÃO

A crescente frequência de estresses abióticos simultâneos, como o déficit hídrico e a salinidade, representa um dos principais desafios à produção agrícola global. Ambos os fatores impactam negativamente a germinação, crescimento e produtividade das plantas, sendo agravados pelas mudanças climáticas. Compreender as respostas fisiológicas e

bioquímicas das plantas frente a esses estresses é essencial para o desenvolvimento de cultivares mais tolerantes.

O microtomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) destaca-se como modelo vegetal para estudos em condições controladas. Diferente de cultivares convencionais, o Micro-Tom permite análises em larga escala (com múltiplas repetições em pequenos espaços) e estudos genômicos rápidos devido ao seu ciclo ultracurto e bibliotecas mutantes disponíveis (Carvalho *et al.*, 2011; Chaudhary *et al.*, 2019).

Ainda que os efeitos individuais de estresses abióticos estejam relativamente bem documentados, a interação entre diferentes estresses, como a seca e a salinidade, pode desencadear respostas únicas, sinérgicas ou antagônicas, que permanecem pouco compreendidas.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. MICRO-TOMATEIRO COMO MODELO DE ESTUDO

O Micro-Tom é uma cultivar anã de tomateiro desenvolvida para facilitar estudos de fisiologia vegetal, biotecnologia e genética. Apresenta ciclo de vida curto (60 a 70 dias), baixa estatura, fácil manejo em ambiente controlado, além de ter seu genoma completamente sequenciado. Essas características permitem experimentações de alta reprodutibilidade com menor espaço físico e menor custo (Campos *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2011). É amplamente utilizado em pesquisas de respostas a estresses abióticos, incluindo salinidade, seca e metais pesados.

2.2. EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO EM SOLANÁCEAS

O estresse hídrico afeta diretamente o crescimento das plantas, levando à redução de biomassa, fechamento estomático, redução da taxa fotossintética e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Osakabe *et al.*, 2014; Cruz de carvalho, 2008). Em Solanaceae, como o tomateiro, a deficiência hídrica pode reduzir a produtividade em até 50% (Gupta *et al.*, 2020). Segundo Lawlor (2002), o fechamento estomático e a limitação metabólica reduzem a taxa fotossintética de forma significativa. Mecanismos como acúmulo

de osmólitos (ex.: prolina), aumento da atividade de enzimas antioxidantes e alterações no sistema radicular são comumente observados como estratégias de tolerância.

2.3. EFEITOS DA SALINIDADE EM HORTALIÇAS

A salinidade compromete o desenvolvimento vegetal por induzir dois tipos de estresse: osmótico e iônico (Munns; Tester, 2008; Volkov, 2014). O excesso de íons Na^+ e Cl^- causa toxicidade celular, enquanto o estresse osmótico dificulta a absorção de água pela planta (Ashraf; Harris, 2004). Tomateiros são particularmente sensíveis a concentrações salinas elevadas, com perdas de produtividade já observadas a partir de 50 mM de NaCl. Em Micro-Tom, a exposição a 100 mM de NaCl pode reduzir a fotossíntese e alterar significativamente a expressão de genes antioxidantes (Munns; Tester, 2008; Leiva-Ampuero *et al.*, 2020).

Alterações bioquímicas como o acúmulo de prolina e aumento na atividade de enzimas antioxidantes, incluindo a catalase (CAT), que decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio; a superóxido dismutase (SOD), responsável por converter o radical superóxido em peróxido de hidrogênio; e a ascorbato peroxidase (APX), que reduz o peróxido de hidrogênio utilizando ascorbato são respostas conservadas em plantas sob estresse combinado, conforme demonstrado em estudos com modelos vegetais (Mittler, 2006).

2.4. INTERAÇÃO DÉFICIT HÍDRICO + SALINIDADE

Embora os efeitos isolados de salinidade e déficit hídrico estejam bem estabelecidos (Seções 2.2 e 2.3), os mecanismos integrados de resposta permanecem pouco explorados, especialmente em fases fenológicas críticas como a floração. A combinação desses estresses pode levar a uma intensificação dos efeitos negativos sobre o crescimento, fotossíntese e integridade celular (JIN *et al.*, 2016). Embora existam poucos estudos abordando diretamente a combinação de salinidade e déficit hídrico em *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom, pesquisas com esse cultivar demonstram que estresses combinados, como deficiência de nitrogênio e hídrico, provocam respostas antioxidantes significativamente superiores às induzidas por estresses isolados, com aumento de até 202 % na atividade da superóxido dismutase (SOD) (Pelarque-Ruiz *et al.*, 2022). De forma complementar, em cultivares comerciais de tomate (*S. lycopersicum*), a exposição simultânea à irrigação salina (até 6 g NaCl/L) e a níveis moderados de déficit hídrico (40–70 % da capacidade de campo)

também induziu efeitos sinérgicos positivos no crescimento, qualidade dos frutos e eficiência do uso da água (Gao *et al.*, 2022), reforçando a importância de investigar as interações entre múltiplos estresses abióticos nesse gênero.

O acúmulo de osmólitos, como prolina e glicina-betaína, pode atuar como mecanismo de tolerância cruzada. Segundo Kishor *et al.* (2005), o acúmulo de prolina induzido pela salinidade pode atenuar parcialmente o estresse osmótico causado pela seca, mas sua eficácia em condições combinadas ainda não foi quantificada no Micro-Tom.

4. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada no Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da UNESP/FCAV – Câmpus de Jaboticabal. As sementes de microtomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) foram germinadas em bandejas contendo um substrato composto por uma mistura de Basaplant® e vermiculita na proporção 1:1 (v/v), com adição de calcário dolomítico a 5% em volume.

Após 15 dias da semeadura, realizou-se o transplântio das mudas para vasos tipo Leonard, contendo como substrato uma mistura de Basaplant® e solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada por Pino-Nunes (2005). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3×3 (três níveis de déficit hídrico e três níveis de salinidade), com quatro repetições.

Os vasos receberam solução nutritiva modificada em um processo de aclimação composto por três etapas: inicialmente com concentração de 25% por 48 horas, seguida por 50% por mais 48 horas e, por fim, 100%. Após a aclimação, os vasos permaneceram com a solução nutritiva na concentração de 100% até o final do experimento. As trocas da solução foram realizadas semanalmente, mantendo-se o volume de 250 mL por vaso a cada substituição.

Para o estresse hídrico, as intensidades foram simuladas em solução nutritiva contendo polietilenoglicol 6000 (PEG 6000), com potenciais osmóticos de 0,00 MPa (controle), -0,40 MPa (moderado) e -1,00 MPa (severo) e o estresse salino foi aplicado por meio de solução nutritiva com NaCl nas concentrações de 0 mM (controle), 40 mM (moderado) e 120 mM (severo).

Os tratamentos foram iniciados 48 horas após o término do período de aclimação e mantidos continuamente até a coleta final dos dados. Após o período de 60 dias em exposição

aos estresses as plantas foram coletadas e as amostras foram armazenadas em ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior realização das análises laboratoriais.

4.1. *Analises*

4.1.1. *Produção de biomassa*

As biomassas secas (g) foram analisadas através da secagem do material vegetal em estufa a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, até obtenção de peso constante. Foram amostradas três plantas por tratamento.

4.1.2. *Análise de pigmentos*

Para a análise de pigmentos dois discos foliares (0,025 a 0,030 g) foram retirados de três plantas por tratamento e colocados imediatamente em tubos de 2 mL, protegidos da luz, contendo 2 mL de acetona P.A. As amostras permaneceram sob agitação em agitador tipo shaker por 96 horas, a 60 rpm e a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro, utilizando cubetas de quartzo, nos seguintes comprimentos de onda: 470 nm para carotenoides, 645 nm e 662 nm para clorofilas a e b, respectivamente. O branco da leitura foi composto por acetona pura. Conforme Hartmut e Lichtenthaler *et al.* (1987).

4.1.3. *Caracterização do estresse oxidativo*

A Caracterização do estresse oxidativo: foi realizada pela análise da peroxidação lipídica, através da quantificação do conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), dentre as quais se destaca o MDA. Por meio desta análise caracterizamos os danos aos lipídios das membranas, que são um dos principais e primeiros alvos dos fatores de estresse. A peroxidação lipídica foi realizada pelo teste do TBA (ácido 2-tiobarbitúrico). O teor de substâncias reativas ao ácido (TBARS) é quantificado como produtos finais do processo de peroxidação de lipídios, com leituras a 535 e 600nm. O teor de MDA foi calculado conforme a equação específica para a reação (Mihara *et al.* 1980).

4.2. *Análise estatística*

A análise estatística dos dados foi realizada pelo software estatístico Agrostat (Barbosa e Maldonado Júnior, 2011) e submetidos à análise de variância pelo teste F. As diferenças significativas entre os tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variável biomassa seca das plantas de microtomateiro foi significativamente influenciada pelos diferentes tratamentos de estresse (Figura 1).

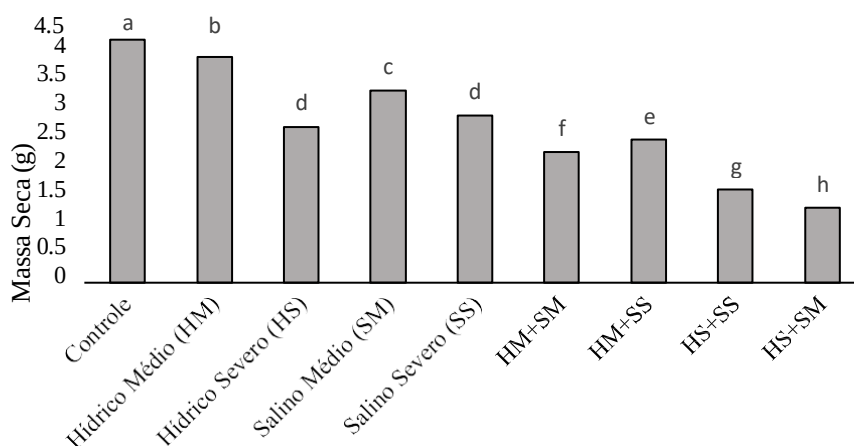


Figura 1. Biomassa seca de plantas de microtomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) submetidas a diferentes níveis de estresse hídrico e salino, isolados e combinados. Letras minúsculas iguais não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O tratamento controle apresentou o maior valor de massa seca, sendo indicado pela letra “a”, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, conforme indicado pelo teste de Tukey. O déficit hídrico severo e o estresse salino severo apresentaram reduções expressivas na biomassa. As combinações dos estresses (hídrico + salino) resultaram nas menores massas secas, onde “e” “f” “g” “h” foram mais significativos, indicando um efeito sinérgico negativo. Todos esses valores diferiram estatisticamente do controle e dos estresses isolados, reforçando a intensificação dos efeitos deletérios quando os estresses são aplicados simultaneamente.

Esses resultados corroboram os achados de Ma *et al.* (2020) que observaram reduções acentuadas na massa seca de plantas de tomate submetidas a estresses combinados de salinidade e déficit hídrico, indicando que tais condições interferem negativamente na absorção de água e nutrientes, no metabolismo fotossintético e no crescimento vegetal.

Os teores de clorofila total (a + b) foram significativamente afetados pelos tratamentos de estresse hídrico e salino, isolados e combinados (Figura 2A). As plantas do tratamento controle apresentaram os maiores valores de clorofila, diferindo estatisticamente da maioria dos tratamentos submetidos a estresse. Os tratamentos com déficit hídrico severo, salinidade severa, e principalmente as combinações HS+SM e HS+SS, apresentaram os menores teores, evidenciando os efeitos deletérios dos estresses severos sobre os pigmentos fotossintéticos.

Em contrapartida, os tratamentos HM, SM e HM+SM mantiveram teores de clorofila semelhantes aos do controle, indicando que níveis moderados de estresse não comprometem drasticamente a integridade dos pigmentos fotossintéticos. Esses resultados sugerem que a clorofila pode ser um dos primeiros indicadores afetados pela intensificação do estresse, refletindo danos estruturais aos cloroplastos e prejuízos à capacidade fotossintética das plantas.

Os teores de carotenoides mostraram comportamento inverso ao observado nas clorofilas (Figura 2B). O controle apresentou o menor valor médio, enquanto os tratamentos com estresses, especialmente os combinados, resultaram em elevações significativas nos teores de carotenoides, com destaque para HM+SM, HS+SS e HS+SM.

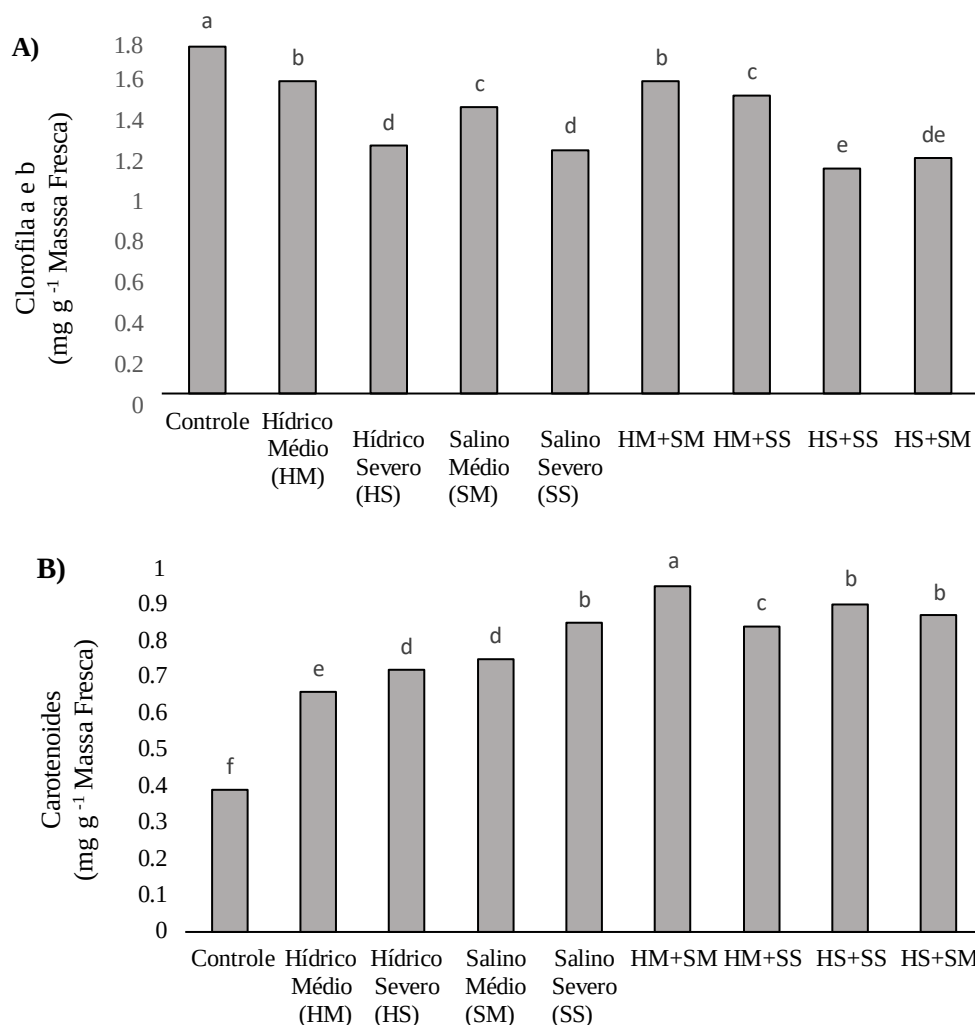


Figura 2. (A) Teores de clorofila total (a + b) e (B) Teores de carotenoides em plantas de microtomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico e salinidade, isolados e combinados. Letras minúsculas iguais não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O aumento nos teores de carotenoides sob estresses abióticos está diretamente relacionado à sua função antioxidante, uma vez que esses pigmentos auxiliam na proteção das membranas e dos complexos fotossintéticos, principalmente por sua capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio, como radicais livres, dissipando energia em excesso como calor e evitando a peroxidação lipídica (Wang *et al.*, 2024). A elevação dos teores de carotenoides pode, portanto, representar um mecanismo adaptativo das plantas frente às condições adversas. Assim, ao passo que a clorofila total é reduzida em função da severidade dos estresses, os carotenoides aumentam, sugerindo um reposicionamento funcional dos pigmentos para priorizar a defesa antioxidante em detrimento da fotossíntese (Leiva-Ampuero *et al.*, 2020). Resultados semelhantes foram observados por Leiva-Ampuero *et al.*

(2020) para o tomate Micro-Tom, que relataram diminuição na capacidade fotossintética e aumento na expressão de genes e acúmulo de carotenoides sob estresse salino. Em geral, a literatura reconhece que os carotenoides atuam como escudos antioxidantes, protegendo as membranas lipídicas e os complexos fotossintéticos ao quimicamente eliminar espécies reativas de oxigênio como o oxigênio singlete e radicais peroxila e dissipar o excesso de energia via quenching não-fotoquímico (NPQ) por meio do ciclo das xantofilas (Choudhury & Behera, 2001; Hlipi *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2024). Por outro lado, a clorofila é amplamente utilizada como indicador sensível de danos ao sistema fotossintético, pois sua degradação e alteração da fluorescência sinalizam diretamente falhas nos fotossistemas e estresse oxidativo (Guidi *et al.*, 2019).

A concentração de H_2O_2 e de MDA aumentou significativamente nas plantas de microtomateiro submetidas aos diferentes níveis de estresse hídrico e salino (Figuras 3A e 3B).

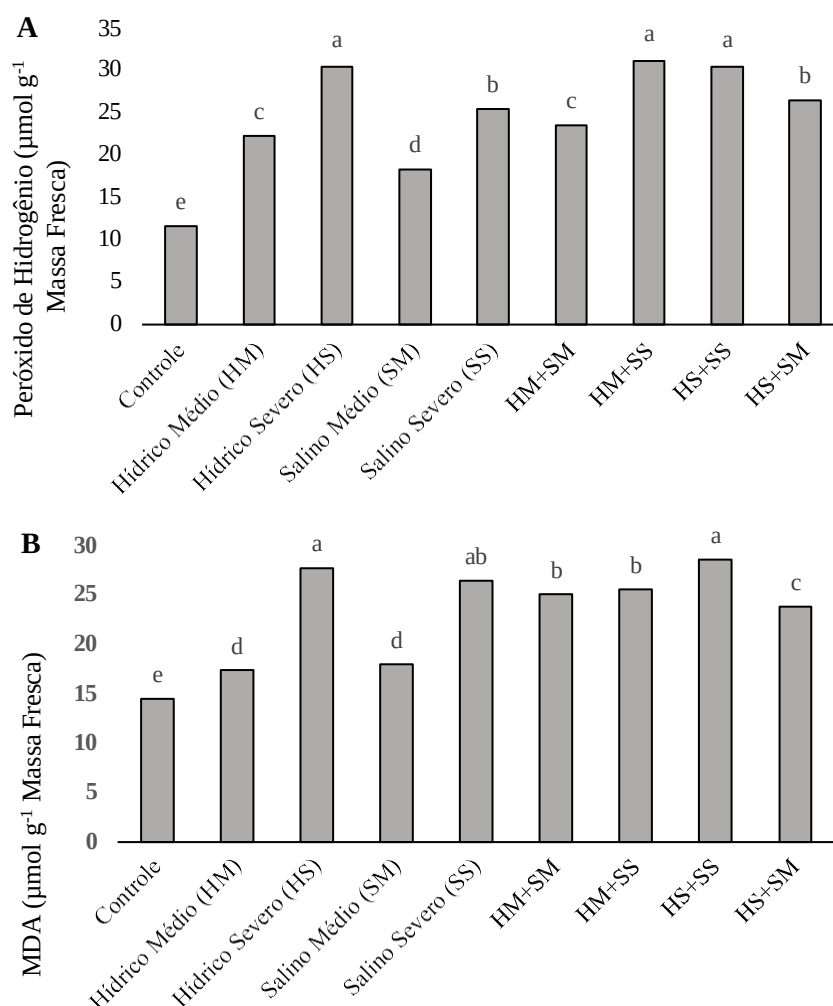


Figura 3. (A) Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e (B) Concentração de malondialdeído (MDA) em plantas de microtomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico e salinidade, isolados e combinados. Letras minúsculas iguais não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O tratamento controle apresentou os menores valores médios de H_2O_2 , sendo estatisticamente representado pela letra “e”, enquanto os tratamentos com déficit hídrico severo (HS), e as combinações HM+SS e HS+SS evidenciaram os maiores acúmulos, todos com a letra “a”, indicando diferenças estatisticamente significativas em relação aos demais. O H_2O_2 atingiu valores máximos de $31,24 \mu\text{mol g}^{-1}$ MF no tratamento HM+SS e $30,56 \mu\text{mol g}^{-1}$ MF no HS+SS, revelando quadro acentuado de estresse oxidativo. Em contraste, os tratamentos com estresse moderado (HM, SM, HM+SM), identificados com as letras “c” e “d”, apresentaram valores intermediários, enquanto o tratamento SS (salino severo) foi classificado com a letra “b”, demonstrando que, isoladamente, a salinidade severa não gerou tanto acúmulo quanto os tratamentos combinados representando a letra “a”.

O H_2O_2 atingiu valores máximos de $31,24 \text{ nmol g}^{-1}$ MF no tratamento HM+SS e $30,56$ no HS+SS, enquanto o MDA chegou a $28,5 \text{ nmol g}^{-1}$ MF no HS+SS, revelando um quadro de peroxidação lipídica severa, associada à intensificação do estresse. Sob estresse combinado de deficiência hídrica e salinidade, plantas de tomate demonstram acúmulo acentuado de H_2O_2 ($>30 \text{ nmol g}^{-1}$ MF) e MDA ($>25 \text{ nmol g}^{-1}$ MF), em níveis significativamente maiores que sob estresses isolados, refletindo maior dano oxidativo e peroxidação de membranas (Kaur & Asthir, 2015; Ramegowda & Senthil-Kumar, 2015).

Esses dados demonstram que tanto o estresse hídrico quanto o salino, especialmente quando combinados, induzem desequilíbrios redox que comprometem a integridade das membranas celulares, como amplamente relatado por Mittova *et al.* (2002) e Gapińska *et al.* (2008). Esses compostos são amplamente reconhecidos como indicadores bioquímicos da intensidade do estresse abiótico e da eficácia dos mecanismos de defesa antioxidante das plantas (Van Breusegem *et al.*, 2001).

6. CONCLUSÃO

O estresse combinado, especialmente em níveis severos, intensificou os danos fisiológicos às plantas, com reduções acentuadas na biomassa seca e nos teores de clorofilas, indicando prejuízo à fotossíntese. Além disso, o aumento expressivo nos níveis de H₂O₂, MDA e carotenoides reforça a ocorrência de estresse oxidativo intenso, associado à peroxidação lipídica e à ativação de mecanismos antioxidantes compensatórios. Esses resultados evidenciam que a exposição simultânea à salinidade e ao déficit hídrico compromete significativamente o equilíbrio redox e a integridade celular, revelando a sensibilidade do cultivar Micro-Tom a estresses abióticos combinados, fator relevante para o manejo em condições adversas e futuras estratégias de tolerância.

7. REFERÊNCIAS

- ADALID, A. M.; ROSELLÓ, S.; NUEZ, F. Avaliação e seleção de acessos de tomate (*Solanum seção Lycopersicon*) para teor de licopeno, β -caroteno e ácido ascórbico. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 613-618, 2010.
- AKRAM, M. S. *et al.* Decifrando *Staphylococcus sciuri* SAT-17 mediado por mecanismos de defesa anti-oxidativos e modulações de crescimento em milho estressado com sal (*Zea mays* L.). **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 867, 2016.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, n. 1, p. 3-16, 2004.
- ATKINSON, N. J.; URWIN, P. E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 10, p. 3523-3543, 2012.
- BLUM, A. Respostas das culturas à seca e a interpretação da adaptação. In: **Tolerância à seca em plantas superiores: análise genética, fisiológica e molecular**. Dordrecht: Springer, 1996. p. 57-70.
- CAMPOS, M. L. *et al.* Pequeno e notável: o sistema de modelos Micro-Tom como uma ferramenta para descobrir novas funções e interações hormonais. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 3, p. 267-270, 2010.
- CARVALHO, R. F. *et al.* Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2011.
- CHAUDHARY, J. *et al.* Advances in omics approaches for abiotic stress tolerance in tomato. **Biology**, v. 8, n. 4, p. 90, 2019.

CHICONATO, D. A. *et al.* Adaptação de plantas de cana-de-açúcar ao solo salino. **Environmental and Experimental Botany**, v. 162, p. 201-211, 2019.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Produção de tomate tem alto custo no País, aponta estudo da Conab**. 2019.

FERREIRA, A. **Localização cromossômica de retrotransposons do tipo rex em tambaqui** (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) casos aos cenários propostos pelo painel intergovernamental sobre mudanças climáticas-IPCC. 2019.

GAO, Y. *et al.* The optimal drought hardening intensity and salinity level combination for tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivation under high-yield, high-quality and water-saving multi-objective demands. **Agronomy**, v. 13, n. 9, p. 2351, 2022.

GAPIŃSKA, M., KWIATKOWSKI, W., *et al.* (2008). Effect of water stress and salinity on growth and physiology of tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom). **Acta Physiologiae Plantarum**, 30: 87–95

GARCÍA-MARTÍ, M. *et al.* Amelioration of the oxidative stress generated by simple or combined abiotic stress through the K⁺ and Ca²⁺ supplementation in tomato plants. **Antioxidants**, v. 8, n. 4, p. 81, 2019.

GARCÍA-SÁNCHEZ, A.; MIRANDA-DÍAZ, A. G.; CARDONA-MUÑOZ, E. G. The role of oxidative stress in physiopathology and pharmacological treatment with pro-and antioxidant properties in chronic diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, 2020.

GHANNOUM, O. C4 photosynthesis and water stress. **Annals of Botany**, v. 103, n. 4, p. 635-644, 2009.

GUPTA, A.; RICO-MEDINA, A.; CAÑO-DELGADO, A. I. The physiology of plant responses to drought. **Science**, v. 368, n. 6488, p. 266-269, 2020.

HAYAT, S. *et al.* Proteção do crescimento em resposta ao 28-homobrassinolídeo sob estresse de cádmio e salinidade em trigo. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p. 130-136, 2014.

HE, M.; HE, C. Q.; DING, N. Z. Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1771, 2018.

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

JALEEL, C. A. *et al.* Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, n. 3, p. 427-436, 2009.

JIN, R. *et al.* Physiological and metabolic changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in response to drought, heat, and combined stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1123, 2016.

- KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 4, p. 609–619, 2015.
- LAWAS, L. M. F. *et al.* Molecular mechanisms of combined heat and drought stress resilience in cereals. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 45, p. 212-217, 2018.
- LAWLOR, D. W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, v. 89, n. 7, p. 871-885, 2002.
- LEIVA-AMPUERO A, AGURTO M, *et al.* Salinity impairs photosynthetic capacity and enhances carotenoid-related gene expression and biosynthesis in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom). **PeerJ**. 2020 Sep 17;8:e9742.
- LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987. DOI: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.
- LIN, T. *et al.* Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. **Nature Genetics**, v. 46, n. 11, p. 1220-1226, 2014.
- MA, Ying; DIAS, Maria Celeste; FREITAS, Helena. Drought and salinity stress responses and microbe-induced tolerance in plants. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 591911, 2020.
- MEISSNER, R. *et al.* A new model system for tomato genetics. **The Plant Journal**, v. 12, n. 6, p. 1465-1472, 1997.
- MIHARA, M.; UEYAMA, M.; FUKUZAWA, K. Malondialdehyde generation in rat liver microsomes induced by carbon tetrachloride. **Analytical Biochemistry**, v. 86, n. 1, p. 271-278, 1978.
- MITTOVA, V., GUY, M., *et al.* (2002). Salt stress induced oxidative changes in tomato. **Plant & Cell Physiology**, 43(6): 609–615.
- PEDROTTI, A. *et al.* Causas e consequências do processo de salinização dos solos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1308-1324, 2015.
- PELARQUE-RUIZ, M. J.; GARCÍA-LÓPEZ, M.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, P. Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of young tomato plants (cv. Micro-Tom) to single and combined mild nitrogen and water deficit: not the sum of the parts. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, p. 375, 2022.
- PELLINEN, R. I. *et al.* Hydrogen peroxide activates cell death and defense gene expression in birch. **Plant Physiology**, v. 130, n. 2, p. 549-560, 2002.
- RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. Combined abiotic stress tolerance in plants: physiological, molecular and genetic perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1096, 2015.

- RAWAT, N.; SINGLA-PAREEK, S. L.; PAREEK, A. Membrane dynamics during individual and combined abiotic stresses in plants and tools to study the same. **Physiologia Plantarum**, v. 171, n. 4, p. 653-676, 2021.
- REDDY, A. R. *et al.* Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, v. 52, n. 1, p. 33-42, 2004.
- SAKCALI, M. S.; BAHADIR, H.; OZTURK, M. Ecophysiology of *Capparis spinosa* L.: a plant suitable for combating desertification. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, n. 4, p. 1481-1486, 2008.
- SCOTT, J.; HARBAUGH, B. **Micro-Tom**: a miniature dwarf tomato. Gainesville: Agricultural Experiment Station, University of Florida, 1989. 6 p.
- SHAO, H. B. *et al.* Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 3, p. 215-225, 2008.
- SONG, J. *et al.* Influence of deficit irrigation and kaolin particle film on grape composition and volatile compounds in Merlot grape (*Vitis vinifera* L.). **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 841-850, 2012.
- TURKYILMAZ, B. Effects of salicylic and gibberellic acids on wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 41, n. 1, p. 29-34, 2012.
- VAN BREUSEGEM, F., MILLER, G., *et al.* (2001). Reactive oxygen species and cell signalling. **Nature**, 411: 269–276.
- VRANOVÁ, E.; INZÉ, D.; VAN BREUSEGEM, F. Signal transduction during oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1227-1236, 2002.
- WANG, X. *et al.* Reactive oxygen species: multidimensional regulators of plant adaptation to abiotic stress and development. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 66, n. 1, p. 66–101, 2024.
- ZANDALINAS, S. I. *et al.* Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia Plantarum**, v. 162, n. 1, p. 2-12, 2018.