

APRIMORANDO A TOLERÂNCIA DOS CITROS: RESPOSTAS MEDIADAS POR ÁCIDO SALICÍLICO A DÉFICIT HÍDRICO E SALINIDADE¹

Camila Valentim Silva Sousa², Milton Carriço Sá³, Raul Antônio Araújo do Bonfim³, Gustavo Kawan Almeida Costa², Laélcio Novato Ribeiro Filho³, Marcela Ferraz e Silva³, Paulo Araquém Ramos Cairo⁴

RESUMO

A citricultura é altamente influenciada por fatores abióticos como déficit hídrico e estresse salino. Esses fatores, isoladamente ou em concomitância, acarretam na diminuição do desenvolvimento e produtividade da cultura. O déficit hídrico induz ao fechamento estomático, reduzindo a fotossíntese, enquanto o excesso de salinidade provoca estresse osmótico e toxidez iônica por acúmulo de Na⁺ e Cl⁻ nas células vegetais. Nesse cenário, reguladores de crescimento vegetal, como o ácido salicílico (AS), surgem como uma alternativa para a indução de respostas de tolerância às condições adversas. O AS é um hormônio presente nas plantas que interage com o ácido abscísico regulando o fechamento estomático, além de contribuir para a estabilidade das membranas celulares. Com o objetivo de avaliar a aplicação desse composto fenólico em plantas cítricas sob estresse hídrico e salino, a taxa de extravasamento de eletrólitos e o nível de espécies reativas de oxigênio foram avaliados. A aplicação de AS, sobretudo na concentração de 2 mM, atenuou o extravasamento de eletrólitos e o acúmulo de ânion superóxido (O₂⁻) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) sob condições de deficiência hídrica e salinidade, isolados ou simultâneos. Dessa forma, a aplicação de AS foi eficiente para mitigar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio e preservar integridade das membranas celulares sob estresse.

PALAVRAS-CHAVE: Combinação de estresses abióticos; Deficiência hídrica; Espécies reativas de oxigênio; Estresse oxidativo; Peroxidação lipídica; Reguladores de crescimento vegetal.

IMPROVING CITRUS TOLERANCE: SALICYLIC ACID- MEDIATED RESPONSES TO WATER DEFICIT AND SALINITY¹

ABSTRACT

Citriculture is highly influenced by abiotic factors such as water deficit and salt stress. These factors, whether acting individually or simultaneously, lead to reduced plant development and crop productivity. Water deficit induces stomatal closure, decreasing photosynthesis, while excess salinity causes osmotic stress and ionic toxicity due to the accumulation of Na⁺ and Cl⁻. In this context, plant growth regulators such as salicylic acid (SA) emerge as a strategy to enhance stress tolerance. SA is a plant hormone that interacts with abscisic acid to regulate stomatal closure and contributes to membrane stability. To evaluate the application of this phenolic compound in citrus plants under water and salt stresses, electrolyte leakage and the levels of reactive oxygen species were measured. The application of 2 mM SA alleviated electrolyte leakage and the accumulation of anion superoxide (O₂⁻) and hydrogen peroxide (H₂O₂) under water deficit and salinity conditions, either alone or simultaneously. Thus, SA application proved

¹ Apoio financeiro: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).

² Graduando em Engenharia agrônoma, Programa de Iniciação Científica (UESB).

³ Engenheiro Agrônomo, discente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA/UESB).

⁴ Professor Titular, Departamento de Fitotecnia e Zootecnia (DFZ/UESB).

effective in mitigating reactive oxygen species accumulation and preserving cell membrane integrity under abiotic stress.

KEYWORDS: Combined abiotic stresses; Lipid peroxidation; Oxidative stress; Plant growth regulators; Reactive oxygen species; Water deficit.

INTRODUÇÃO

A tolerância das plantas cítricas frente a condições de estresse ambiental é um grande desafio para garantir a produtividade, uma vez que a cultura dos citros é altamente influenciada por condições abióticas, como o déficit hídrico e a salinidade. O déficit hídrico induz ao fechamento estomático, comprometendo as trocas gasosas e a taxa fotossintética. Já o estresse salino manifesta-se pelo estresse osmótico ou pelos efeitos iônicos. No primeiro caso, observa-se a desnaturação de proteínas e a desestabilização das membranas celulares, decorrentes da desidratação (Afzal et al., 2023). Na fase dos efeitos iônicos, ocorre a acumulação de íons Na^+ e Cl^- nas folhas, levando à inibição da fotossíntese, além de interferir na absorção de nutrientes (Zahra et al., 2022).

Além disso, esses fatores em concomitância ocasionam a formação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), podendo desencadear um processo catalítico de degradação dos compostos celulares. As EROs são constantemente produzidas no metabolismo aeróbico e são mantidas em equilíbrio por sistemas antioxidantes. No entanto, sob condições de estresse, esse equilíbrio é rompido, resultando em acúmulo excessivo que leva ao estresse oxidativo (Thiruvengadam et al., 2024).

Nesse cenário, o ácido salicílico (AS) surge como estratégia de tolerância para a mitigação dos efeitos adversos desses estresses. Esse hormônio, juntamente com o ácido abscísico, regula o fechamento estomático, reduzindo a perda de água, além de contribuir para a estabilidade das membranas celulares, atenuando o estresse oxidativo (Wang et al., 2022). Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de ácido salicílico em plantas jovens de citros sob déficit hídrico e salinidade, isoladamente e simultaneamente.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), em Vitória da Conquista, BA, adotando-se delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4×4 , com quatro repetições e uma planta por vaso, totalizando 64 unidades experimentais. O primeiro fator foi constituído pelas seguintes condições de crescimento: (1) ausência de estresse, caracterizada por regime de irrigação a 90% da capacidade de vaso, sem adição de solução salina; (2) deficiência

hídrica (DH), caracterizada por regime de irrigação a 45% da capacidade de vaso, sem adição de solução salina; (3) salinidade (S), caracterizada por regime de irrigação a 90% da capacidade de vaso, utilizando solução de NaCl a 50 mM; e (4) deficiência hídrica e salinidade (DH + S), caracterizada por regime de irrigação a 45% da capacidade de vaso, utilizando solução de NaCl a 50 mM. O segundo fator foi a aplicação de ácido salicílico a 0, 1, 2 e 4 mM.

A taxa de extravasamento de eletrólitos foi obtida a partir de discos foliares imersos em 20 mL de água deionizada a 25 °C por 24 h. Após esse período, mediuse a condutividade elétrica inicial (C1) com condutivímetro (Tecnal – TEC 4MP). Em seguida, as amostras foram aquecidas a 100 °C por 20 minutos e a condutividade final (C2) foi registrada. O percentual de extravasamento de eletrólitos (EE) foi calculado pela fórmula: $EE (\%) = (C1/C2) \times 100$ (Valentovic et al. 2006).

Peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi quantificado a partir de 0,1 g de tecido foliar fresco, homogeneizado em banho frio com 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% (p/v). O extrato foi centrifugado a 11.000 g por 15 min a 4 °C. Uma alíquota de 0,2 mL do sobrenadante foi misturada com 0,4 mL de tampão KH₂PO₄ 50 mM (pH 7,0) e 0,8 mL de iodeto de potássio (KI) 1 M, sendo mantida no escuro por 10 minutos. A absorbância foi medida a 390 nm, e os resultados expressos em mmol g⁻¹ de massa fresca (Velikova et al. 2000).

Ânion superóxido (O₂⁻) foi quantificado a partir de 0,1 g de tecido fresco, homogeneizado com 1,7 mL de tampão KH₂PO₄ 50 mM (pH 7,8) e 0,3 mL de PVP 1%. O extrato foi centrifugado a 11.000 g por 15 min a 4 °C, e 0,3 mL do sobrenadante foi misturado com 0,3 mL de PVP 1% e 0,7 mL de água deionizada. A absorbância foi medida a 530 nm, e os resultados expressos em μmol g⁻¹ de massa fresca (Yang et al. 2011).

Os dados foram avaliados quanto à homogeneidade, pelo teste de Bartlett, e quanto à distribuição normal dos resíduos, pelo teste de Lilliefors. Em seguida, foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$) utilizando-se o programa estatístico SISVAR (versão 5.8).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição das mudas de citros aos estresses abióticos, de forma isolada ou combinada, resultou em impactos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos significativos, evidenciando o desequilíbrio na homeostase celular. O aumento no extravasamento de eletrólitos sob S e sob DH+S revelou comprometimento da integridade das membranas celulares, indicando maior dano oxidativo (Figura 1A). Contudo, a aplicação de 2 mM de AS atenuou esse efeito, alcançando os menores valores de extravasamento de

eletrólitos em ambas as condições (59,2% sob S e 64,4% sob DH+S). Por outro lado, a concentração de 4 mM intensificou a peroxidação lipídica sob S, elevando o extravasamento para 83,2%, o que sugere um efeito tóxico resultante da elevada concentração de AS sob essa condição de crescimento.

A produção de EROs também foi modulada pelos estresses. O_2^- aumentou sob DH, sendo significativamente reduzido com a aplicação de AS, principalmente na concentração de 4 mM (Figura 1B). Já o conteúdo de H_2O_2 elevou-se sob DH e S, sendo mitigado pela aplicação de AS, com destaque para 4 mM sob DH e 2 mM sob S (Figura 1C).

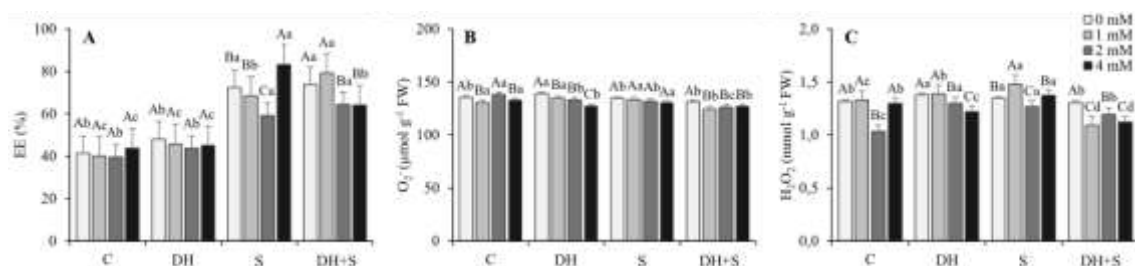


FIGURA 1. (A) Extravasamento de eletrólitos (EE), (B) Ânion superóxido (O_2^-) e (C) Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) de plantas jovens de citros sob ausência de estresse (C), deficiência hídrica (DH), salinidade (S) e deficiência hídrica + salinidade (DH+S), tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico. Barras em cada coluna indicam o erro padrão das médias ($n = 4$). Letras maiúsculas comparam as concentrações de ácido salicílico em cada condição de crescimento, enquanto letras minúsculas comparam as condições de crescimento em cada concentração de ácido salicílico, pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

Cada condição de estresse pode induzir ao acúmulo de EROs específicas. Sob DH, os danos oxidativos causados aos cloroplastos e mitocôndrias levaram ao aumento pronunciado da síntese de O_2^- . Espécies altamente reativas como O_2^- podem danificar diretamente os componentes celulares, além de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, comprometendo a integridade da membrana celular (Thiruvengadam et al. 2024). Sob S, por outro lado, a principal ERO gerada foi H_2O_2 . Em níveis moderados, H_2O_2 atua como molécula de sinalização, regulando as respostas da planta aos estímulos do ambiente. No entanto, sob condições de estresse, seu acúmulo causa danos oxidativos (Afzal et al. 2023).

A aplicação de AS auxiliou na manutenção do equilíbrio de EROs através da atenuação do acúmulo de O_2^- sob DH e DH+S, bem como de H_2O_2 em todas as condições de estresse, resultando na mitigação do aumento no extravasamento de

eletrólitos em condições estressantes. O AS atua como um precursor em rotas de síntese de compostos fenólicos através de reações de oxidação-redução que modificam sua estrutura química. Esses fenólicos neutralizam EROs e funcionam como moléculas de sinalização, regulando a expressão de genes de resposta ao estresse (Wang et al., 2022).

CONCLUSÕES

As diferentes condições de estresse induziram o acúmulo de espécies reativas de oxigênio específicas, ocasionando em danos oxidativos evidenciados pelo extravasamento de eletrólitos. A aplicação de ácido salicílico, sobretudo na concentração de 2 mM, atenuou esses efeitos adversos dos estresses ao minimizar o acúmulo de O_2^- sob deficiência hídrica e H_2O_2 sob salinidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Afzal, M.; Hindawi, S.E.S.; Alghamdi, S.S.; Migdadi, H.H.; Khan, M.A.; Hasnain, M.U.; Arslan, M. Rahman, M.H.; Sohaib, M. Potential breeding strategies for improving salt tolerance in crop plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 42, p. 3365-3387, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10797-w>
2. Thiruvengadam, R.; Venkidasamy, B.; Easwaran, M.; Chi, H.Y.; Thiruvengadam, M.; Kim, S. Dynamic interplay of reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS) in plant resilience: unveiling the signaling pathways and metabolic responses to biotic and abiotic stresses. *Plant Cell Reports*, v. 43, n. 198, 2024. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03281-0>
3. Valentovic, P.; Luxová, M.; Kolarovic, L.; Gasparíková, O. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant, Soil and Environment*, v. 52, n. 4, p. 186-191, 2006. <https://doi.org/10.17221/3364-PSE>
4. Velikova, V.; Yordanov, I.; Edreva, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
5. Wang, W.; Wang, X.; Lv, Z.; Khanzada, A.; Huang, M.; Cai, J.; Zhou, Q.; Huo, Z.; Jiang, D. Effects of cold and Salicylic Acid Priming on free proline and sucrose accumulation in winter wheat under freezing stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 41, p. 2171–2184, 2022. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10412-4>
6. Yang, H.; Wu, F.; Cheng, J. Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and the antioxidant response. *Food Chemistry*, v. 127, n. 3, p. 1237-1242, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.011>
7. Zahra, N.; Hinai, M.S.A.; Hafeez, M.B.; Rehman, A.; Wahid, A.; Siddique, K.H.M.; Farooq, M. Regulation of photosynthesis under salt stress and associated tolerance mechanisms. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 178, p. 55-69, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.03.003>