

PROTOCOLO OJIP DE FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA COMO INDICADOR DE ESTRESSE SALINO EM MUDAS DE UMBUZEIRO

Tainá Alves da Silva¹, Kleyton Karlos Correia dos Santos², Rebeka dos Anjos Oliveira², Natalia Pimentel Esposito Polesi³, Celso Felype Rodrigues Andrade², Marcos Eric Barbosa Brito⁴

Resumo: A salinidade compromete o crescimento e a produção de frutíferas, a exemplo do umbuzeiro, que é endêmica do bioma Caatinga, observando-se no uso de condicionadores de solo uma alternativa para otimizar o cultivo. Assim, objetivou-se identificar respostas de mudas de umbuzeiro à salinidade da água quando cultivadas em substratos a base de lodo de esgoto por meio do protocolo OJIP de fluorescência da *clorofila a*. Para tanto, realizou-se um experimento em ambiente protegido, adotando-se o delineamento experimental de blocos casualizados, usando o esquema de parcela subdividida, cinco níveis de salinidade da água (0,14, 1,5, 3,0, 4,5 a 6,0 dS m⁻¹) na parcela, que foram aplicadas as plantas que estavam sendo cultivadas em citropotes preenchidos com seis substratos sendo repetidos em quatro blocos. Avaliou-se a fluorescência da clorofila na fase escura usando o protocolo OJIP quando as plantas estavam aptas ao transplante ao campo, sendo os dados submetidos a análise de regressão para o fator salinidade em cada substrato estudado. A salinidade reduz na atividade fotoquímica com reduções dos valores das variáveis do protocolo OJIP nos substratos 3, 4 e Chesf, indicando a tentativa de adaptação ao estresse pelas plantas.

Palavras-chave: *Spondias tuberosa*, Salinidade da água de irrigação, lodo de esgoto

CHLOROPHYLL A FLUORESCENCE OJIP PROTOCOL AS AN INDICATOR OF SALINITY STRESS IN UMBU TREE SEEDLINGS

Abstract: Salinity impairs the growth and yield of fruit crops, such as the umbu tree, which is endemic to the Caatinga biome. The use of soil conditioners is a potential strategy to optimize

¹ Mestranda em Recursos Hídricos, Programa de Pós-graduação em Recursos Hídricos, Universidade Federal de Sergipe (UFS), CEP 49107-230, São Cristóvão, SE, Brasil, e-mail: tainaa035@gmail.com;

² Graduando a em Engenharia Agrônoma, Departamento de Engenharia Agrônoma (DEAS), Campus do Sertão, Universidade Federal de Sergipe (UFS);

³ Profa. Doutora, Depto. Educação em Ciências Agrárias e da Terra, UFS-Campus do Sertão, Nossa Sra. da Glória – SE;

⁴ Prof. Dr. DEAS, CAMPUSSER, UFS, SE, Bolsista de produtividade do CNPq.

cultivation. This study aimed to assess the responses of umbu tree seedlings to irrigation water salinity using sewage sludge-based substrates and the chlorophyll a fluorescence OJIP protocol. The experiment employed a randomized complete block design with split plots. Main plots included five irrigation water salinity levels (0.14, 1.5, 3.0, 4.5, and 6.0 dS m⁻¹), applied to plants in citropots with six substrates. Treatments were replicated four times. Chlorophyll fluorescence in dark-adapted seedlings was measured at the field transplantation stage with the OJIP protocol. Data were analyzed for regression in salinity within each substrate. Salinity reduced photochemical activity, shown by decreases in OJIP variables in substrates 3, 4, and Chesf, suggesting an adaptive response to stress.

Keywords: *Spondias tuberosa*, Irrigation water salinity, sewage sludge

INTRODUÇÃO

O Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) é uma frutífera do bioma Caatinga de valor econômico (Moreira et al., 2021). No entanto, essa espécie tem sido suprimida pelas ações antrópicas, principalmente à remoção da vegetação natural para cultivo de pastagens e a criação de animais (Silva et al., 2021). Por outro lado, a necessidade de conservar a natureza implica em adotar técnicas que otimizem os modelos produtivos e preservem os ecossistemas. Uma das maneiras de se fazer isso é através da produção de mudas de umbu, a qual pode contribuir para a sobrevivência dessa espécie.

Essa produção no semiárido, necessita da irrigação, uma vez que o balanço hídrico na região é negativo e as plantas, mesmo de espécies nativas, necessitam de suprimento hídrico, já que o déficit de água pode ocasionar diminuição na frequência da abertura estomática e fotossíntese (Usman et al., 2022; Soares et al., 2023). Ainda, a disponibilidade de água na região é limitada devido aos altos teores de sais e seu uso prolongado pode causar salinização dos solos (Sá et al., 2021). Ou ainda, ocasionar efeitos do tipo osmótico e ou iônico, provocando desequilíbrios fisiológicos e nutricionais nas plantas (Santos et al., 2020).

Além da água da irrigação, outro aspecto importante na produção de mudas é o substrato utilizado, já que, pode influenciar diretamente na qualidade da muda. A fibra de coco (*Cocos nucifera* L.) é um material passível de uso na formulação de substratos, pois, apresenta alta porosidade e boa capacidade de retenção de água, características capazes de minimizar os efeitos negativos dos sais, por proporcionar uma boa lavagem e sua drenagem (Silva et al., 2018). No entanto, é importante associar seu uso com materiais que forneçam nutrientes, como

o lodo de esgoto, a fim de suprir a demanda e incrementar a matéria orgânica (Mota et al., 2021).

A identificação de uma melhor composição de substrato para produção de mudas de Spondias, e o uso de uma água de qualidade inferior pode assegurar a produção de mudas de forma mais adequada e gerar uma tecnologia passível de uso na região semiárida, contribuindo na renda e no desenvolvimento sustentável da agricultura.

Assim, objetivou-se identificar respostas de mudas de umbuzeiro à salinidade da água quando cultivadas em substratos a base de lodo de esgoto por meio do protocolo OJIP de fluorescência da *clorofila a*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido por meio de experimento, realizado em ambiente protegido (casa de vegetação) da Universidade Federal de Sergipe, Campus do Sertão, localizado no município de Nossa Senhora da Glória, Sergipe, SE (10°12'18" de latitude S e 37°19'39" de longitude W e altitude de 294 m).

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com tratamentos formados a partir de parcelas subdivididas, sendo estudados, na parcela, cinco níveis de salinidade da água de irrigação, correspondentes as condutividades elétricas da água (CEa) de 0,14, 1,5, 3,0, 4,5 e 6,0 dS m⁻¹. Já na subparcela foram preparados quatro substratos a partir da mistura de lodo de esgoto tratado, casca de coco triturada, e solo coletado na região, usando proporções distintas em suas composições, de modo a possibilitar o uso de resíduos sólidos e otimizar o sistema de produção de mudas, adicionou-se, ainda, dois substratos comercial, um a base de casca de pinus, humus e vermiculita, e outro usado na produção de mudas de Spondias no viveiro de mudas da Chesf composto por solo e esterco, estando descritos na Tabela 1.

As águas de irrigação foram provenientes da mistura de águas do Rio São Francisco e de poço tubular localizado no município de Nossa Senhora da Glória Sergipe, até se obter as águas com as condutividades elétricas desejadas. A irrigação foi realizada de forma manual, com uso de um Becker graduado, sendo o volume determinado por meio de balanço hídrico, obtido por lisimetria de pesagem, adicionando-se uma fração de lixiviação de 10%.

Tabela 1. Detalhamento da formulação dos diferentes substratos utilizados no experimento.

Substrato	Proporções Dos Componentes
1	50% de casca de coco, 20% de lodo de esgoto e 30% de solo local
2	40% de casca de coco, 30% de lodo de esgoto e 30% de solo local
3	30% de casca de coco, 40% de lodo de esgoto, 30% de solo local
4	20% de casca de coco, 50% de lodo de esgoto e 30% de solo local
Chesf	Substrato usado pelo viveiro da Chesf - Al
Comercial Tropstrato®	composto por casca de pinus, humus e vermiculita

O material vegetal de *Spondias tuberosa*, foi propagado a partir de sementes da mesma matriz afim de manter uma uniformidade, até os 90 dias após a semeadura (DAS) as mudas receberam águas com baixa condutividade elétrica, água do São Francisco, a partir deste período, foram aplicadas águas com os diferentes níveis de condutividade elétrica até as plantas estarem aptas ao transplante, que ocorreu aos 180 DAS após a semeadura.

A fluorescência da clorofila a foi analisada utilizando-se de um Fluorímetro de pulso modulado modelo OS30P da Opti Science, empregando o protocolo OJIP, a fim de determinar as variáveis de indução de fluorescência: Fluorescência inicial (O), a fluorescência transiente J (J), a fluorescência transiente I (I) e a fluorescência máxima (P). O que ocorreu após adaptação das folhas ao escuro por um período 40 minutos, usando-se de um clipe do equipamento, de modo a garantir que todos os aceptores primários estivessem oxidados, ou seja, os centros de reação estejam abertos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do protocolo OJIP (Figura 1) permite avaliar o estado fisiológico da planta com início em um ponto basal até um ponto máximo. Quando observadas as equações de fluorescência da clorofila a das plantas cultivadas no substrato 1, observa-se uma redução da fluorescência inicial (O) e transiente (J), essas, por sua vez representam as etapas iniciais da captura e transporte de elétrons, e podem ter o seu desempenho rapidamente afetado pela salinidade, pois, a sua eficiência está diretamente atrelado a integridade dos pigmentos do PSII, logo o impacto é sofrido antes da energia chegar aos estágios de transiente I (I) e máxima (P), as quais sofreram variações pouco expressivas (Wang et al., 2011).

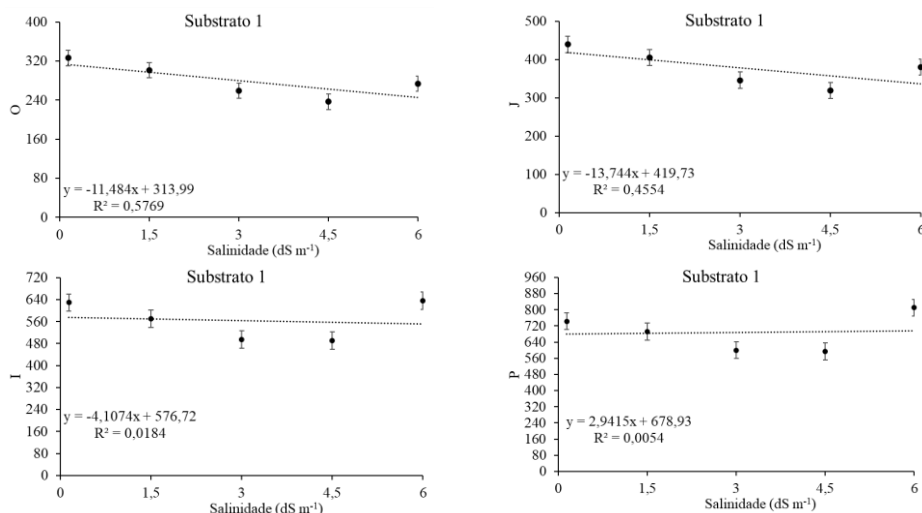


Figura 1. Relação entre a fluorescências da clorofila a e a salinidade da água de irrigação em plantas cultivadas no Substrato 1.

No substrato 2 (Figura 2), o comportamento foi semelhante ao visto no substrato 1 (Figura 1), identificou-se um efeito negativo mais evidente nas fases (O) e (J) quando há o aumento da salinidade da água, enquanto (I) e (P), apresentaram uma menor sensibilidade. Quanto mais elevado os níveis sais, menor pode ser a sobrevivência e crescimento das mudas, nessa situação elas podem ativar mecanismos de tolerância, como a eliminação de EROs e a homeostase para manter-se nesses ambientes (Mittler et al., 2022; Hussain et al., 2021).

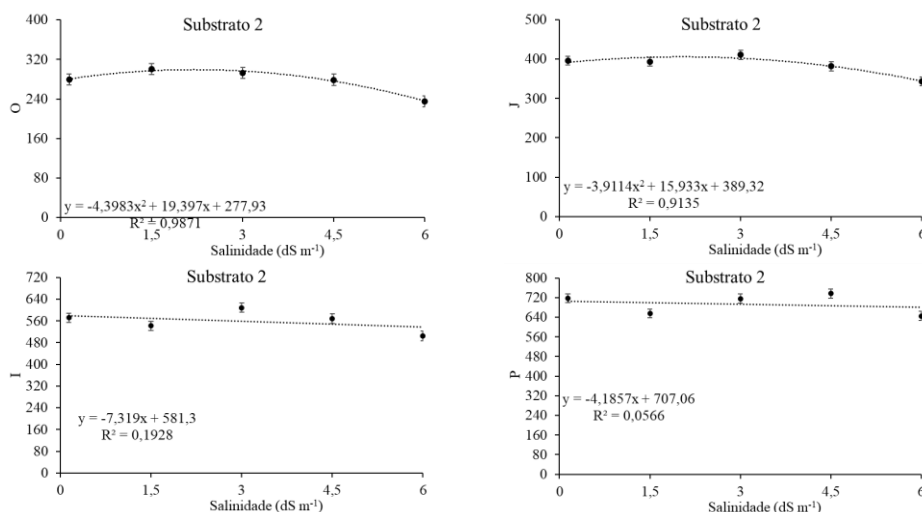


Figura 2. Relação entre a fluorescências da clorofila a e a salinidade da água de irrigação em plantas cultivadas no Substrato 2.

Uma alternativa a manter as plantas vivas nesses ambientes é com o uso de substratos com capacidade de atenuar os efeitos deletérios da salinidade, e promover o seu desenvolvimento. O lodo de esgoto, por sua vez quando incorporado a outros materiais melhora

o percentual de matéria orgânica e estrutura do solo, além de contribuir positivamente nas trocas gasosas e crescimento de plântulas Souza et al., (2021).

No substrato 3 (Figura 3), o comportamento em resposta a salinidade foi semelhante ao um e dois, conforme os teores de sais aumentam, as fases (O) e (J) tem reduções levemente acentuadas, já, as alterações na fluorescência na transiente (I) e máxima (P) foram menos intensas. Valores de fluorescência inicial baixos indicam menor absorção de luz pela clorofila, enquanto na transiente J, representa a menor eficiência no transporte de elétrons, e na transiente I, a baixa estabilidade da fluorescência após a luz saturante (Hammami et al., 2024).

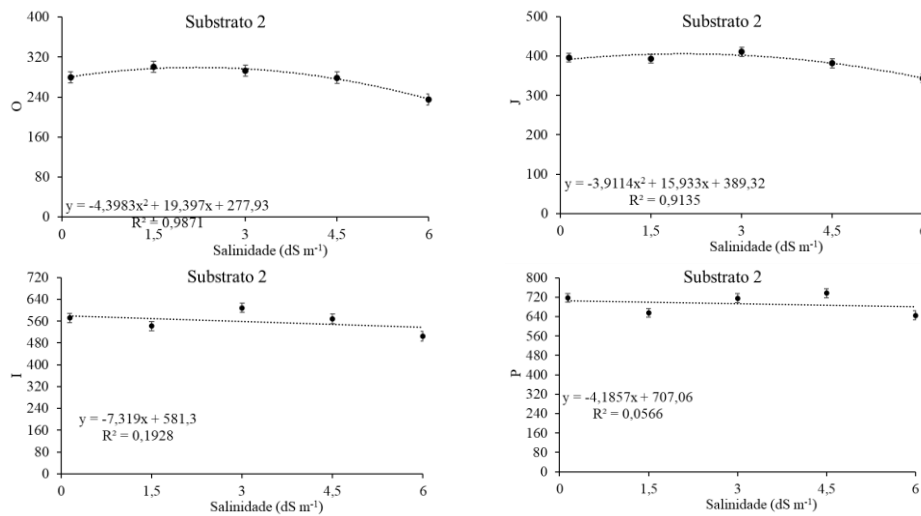
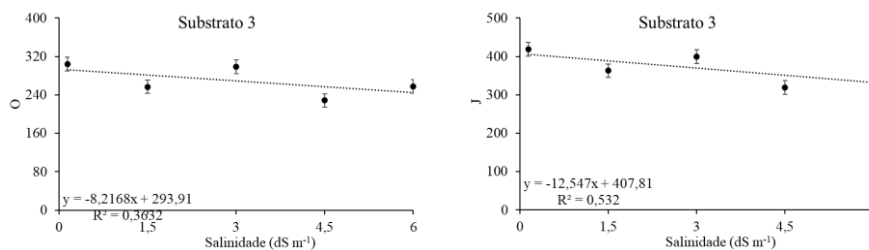


Figura 3. Relação entre a fluorescências da clorofila a e a salinidade da água de irrigação em plantas cultivadas no Substrato 3.

Na Figura 4 é possível observar que o maior efeito da salinidade foi na transiente (I), o que compromete o transporte de elétrons durante a fotossíntese, resultando em acúmulo excessivo no PSII, o que pode causar danos em si e no pool QA, QB e PQ, gerando sobrecarga fotoquímica e aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Mihaljevi et al., 2023; Kissi et al., 2020).



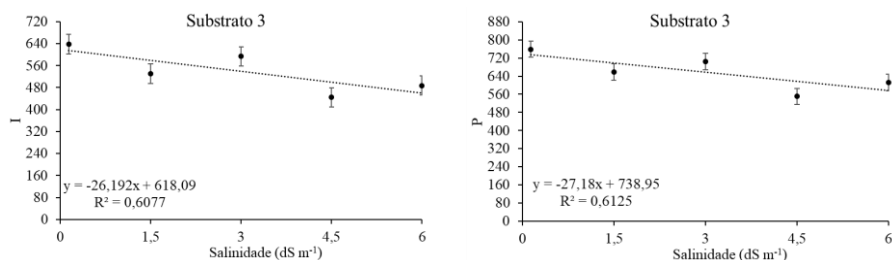


Figura 4. Relação entre a fluorescências da clorofila a e a salinidade da água de irrigação em plantas cultivadas no Substrato 4.

Analisando o protocolo OJIP das plantas cultivadas no substrato oriundo da Chesf (Figura 5), é visto que a salinidade ocasiona efeito negativo, com maior intensidade na transiente (I) e máxima (P). o que indica que as mudas de umbuzeiro cultivadas nesse ambiente sofreu perdas no desempenho fisiológico. Ainda, as inclinações negativas e os altos valores de R^2 sugerem que a salinidade é um fator preditivo importante no contexto desse substrato, possivelmente devido a menor capacidade de tamponamento iônico ou de retenção de água em condições salinas.

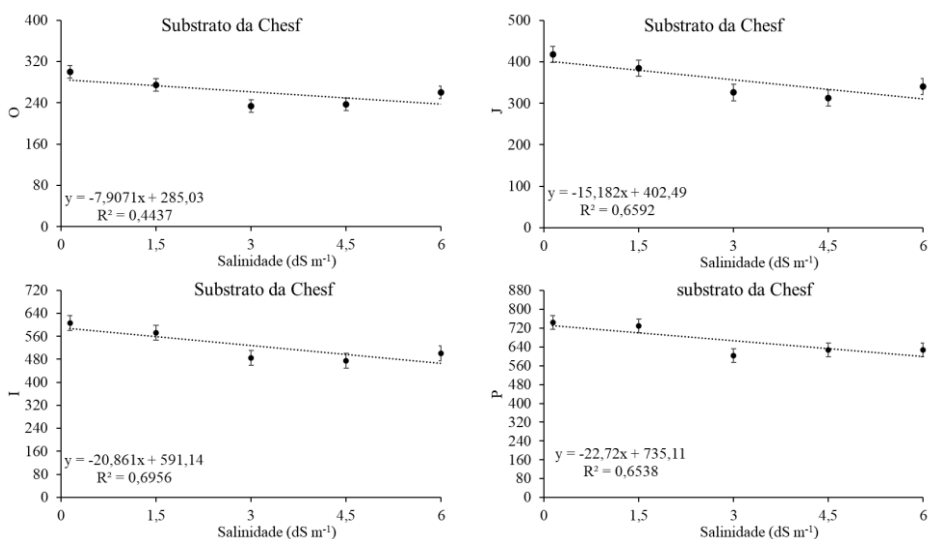


Figura 5. Relação entre a fluorescências da clorofila a e a salinidade da água de irrigação em plantas cultivadas no Substrato da Chesf.

Quanto mais elevado os níveis sais, menor pode ser a sobrevivência e crescimento das mudas, nessa situação elas podem ativar mecanismos de tolerância, como a eliminação de EROs e a homeostase para manter-se nesses ambientes (Mittler et al., 2022; Hussain et al., 2021). Outro efeito ocasionado pelos sais é o estresse oxidativo, principalmente nas folhas, devido ao desbalanço nos processos como a respiração, a fotorrespiração e o metabolismo celular (Vanlerberghe, 2016).

A fluorescências inicial (I) e a transiente (J) (Figura 6) mostra uma resposta quadrática, com desempenho máximo até a salinidade intermediária de $3,0 \text{ dS m}^{-1}$, e após isso uma queda

indicando efeito tóxico nas mudas. Já na transiente (I) e máxima (P), houve uma resposta linear positiva, o que sugere que essas variáveis não foram prejudicada pela salinidade, o que pode ser atrelado ao substrato. Esse, por sua vez é primordial para obter mudas de boa qualidade (SANTOS et al., 2022).

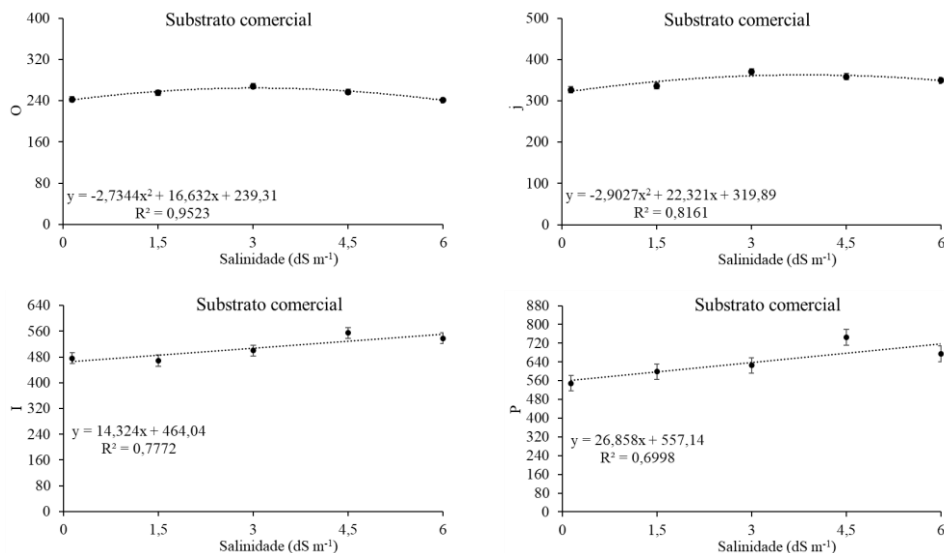


Figura 6. Relação entre a fluorescências da clorofila a e a salinidade da água de irrigação em plantas cultivadas no Substrato comercial.

CONCLUSÕES

A salinidade da água ocasiona mudanças na fluorescência da clorofila a com reduções de seus valores pela análise do protocolo OJIP nos substratos 3, 4 e Chesf, indicando a tentativa de adaptação ao estresse pelas plantas.

A salinidade ocasiona aumento na energia nas plantas são cultivadas no substrato 2 e comercial, o que leva dano ao aparato fotossintético.

AGRADECIMENTOS

Ao INCT em Agricultura Sustentável no Semiárido Tropical-INCTAGriS (CNPq/Funcap/Capes), processos 406570/2022-1 (CNPq) e Processo INCT-35960-62747.65.95/51 (Funcap), e a CHESF.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GREG C. VANLERBERGHE. Alternative Oxidase: A Mitochondrial Respiratory Pathway to Maintain Metabolic and Signaling Homeostasis during Abiotic and Biotic Stress in Plants. **International Journal of Molecular Sciences.**, 14, 6805-6847, 2013.
- HAMMAMI, Z.; HAMMAMI, S. T.; NHAMO, N.; REZGUI, S.; TRIFA, Y. The efficiency of chlorophyll fluorescence as a selection criterion for salinity and climate aridity tolerance in barley genotypes. **Frontiers in Plant Science**, 15:1324388, 2024.
- HUSSAIN, S.; HUSSAIN, S.; ALI, B.; REN, X.; CHEN, X.; LI, Q.; SAQIB, M.; AHMAD, N. Recent progress in understanding salinity tolerance in plants: Story of 71 Na⁺ /K⁺ balance and beyond. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 160, p. 239-256, 2021.
- KISSI, Y. A.; MOTTA, I. DE SÁ.; DUBOC, E.; SANTIAGO, E. F. Influência da composição do substrato no desempenho morfofisiológico das mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume. **Revista Desafios**, v. 07, n. 04, 2020.
- MIHALJEVIĆ, I.; VULETIĆ, M.V.; TOMAŠ, V.; ZDUNIĆ, Z.; VUKOVIĆ, D.; DUGALIĆ, K. Assessment of photosynthetic capacity of two blackberry cultivars subjected to salt stress by the JIP fluorescence test. **J. Journal of Berry Research**, v. 14, p.1–13, 2023.
- MITTLER, R.; ZANDALINAS, S. I.; FICHMAN, Y.; BREUSEGEM, F. V. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, [s.l.], 2022.
- MOREIRA, M. N.; COSTA, É. K. DE. C.; RODRIGUES, S. L.; NARAIN, D. N. Perfil fitoquímico e propriedade antioxidante de diferentes genótipos de frutos do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara): uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n.16, e58101623116, 2021.
- MOTA, M. V. S.; DEMOLIN-LEITE, G. L.; GUANABENS, P. F. S.; TEIXEIRA, G. L.; SOARES, M. A.; SILVA, J. L.; SAMPAIO, R. A.; ZANUNCIO, J. L. Chewing insects, pollinators, and predators on *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Beth (Fabales: Fabaceae) plants fertilized with dehydrated sewage sludge. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, e248305, p. 1-8, Jul. 2021.
- SÁ, C. S. B.; SHIOSAKI, R. K.; DOS SANTOS, A. M.; CAMPOS, M. A. DA S. Salinization causes abrupt reduction in soil nematode abundance in the Caatinga area of the Submedio San Francisco Valley, Brazilian semiarid region. **Pedobiologia**, v.85–86, 2021.

SANTOS, F. P. DOS.; LIMA, A. P. L. DE.; LIMA, S. F.; SILVA, A. A. P. DA.; CONTARDI, L. M.; VENDRESCULO, E. P. Biochar and biostimulant in forming *Schinus terebinthifolius* seedlings. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.26, n. 7, p.520-526, Feb. 2022.

SANTOS, L. C.; ARAUJO S, S. T.; MEDEIROS, C. R.; SANTOS, A. V. D.; SILVA SEVERO, P. J.; MEDEIROS, J. E.; PEREIRA, J. D. A. Peróxido de hidrogênio como atenuante do estresse salino na formação de mudas de pitaia vermelha (*hylocereus costaricensis*). **Brazilian Journal of Development**. v.6, n.5, p.27295-27308, 2020.

SILVA, A. G. DA.; VILAR, L. O.; VILAR, V. O.; COELHO, F. P.; ACIOLI, N. R DOS. S.; RAMON, R. B. G. A.; MOREIRA, J. G.; DIARES, T. R.; SILVA, D. F. DA.; CRUZ, M. S. DA.; MOURA, R. G. DE. O MANEJO FLORESTAL SUSTENTÁVEL DA CAATINGA. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 5, p. 872–884, Mai. 2021.

SILVA, M. G. DA; OLIVEIRA, I. S.; SOARES, T. M.; GHEYI, H. R.; SANTANA, G. DE O.; PINHO, J. DE S. Growth, production and water consumption of coriander in hydroponic system using brackish waters. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 8, p. 547-552, Aug., 2018.

SOARES, L. A. DOS A.; FELIX, C. M.; LIMA, G. S. DE; GHEYI, H. R.; SILVA, L. A.; FERNANDES, P. D. Gas exchange, growth, and production of cotton genotypes under water deficit in phenological stages. **Revista Caatinga**, v.36, p.145-157, 2023.

USMAN, M.; BOKHARI, S. A. M.; FATIMA, B.; RASHID, B.; NADEEM, F.; SARWAR, M. B.; NAWAZ-UL REHMAN, M. S.; SHAHID, M.; AYUB, C. M. Drought stress mitigating morphological, physiological, biochemical, and molecular responses of guava (*Psidium guajava* L.) cultivars. **Frontiers in Plant Science**, v.13, e878616, 2022.

WANG, G.; CHEN, L.; HAO, Z.; LI, X.; LIU, Y. Effects of salinity stress on the photosynthesis of *wolffia arrhiza* as probed by the ojip test. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 20, p. 432-438, 2011.

ZUSHI, K.; MATSUZOE, N. Using of chlorophyll a fluorescence OJIP transients for sensing salt stress in the leaves and fruits of tomato. **Scientia Horticulturae**, v. 219, p. 216–221, 2017.