

## CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILA E DE PROLINA EM GENÓTIPOS DE ARROZ SUBMETIDOS À SALINIDADE

*Chlorophyll and proline concentration in genotypes of rice submitted the salinity*

Luiz Augusto Salles das Neves<sup>1</sup>

Cristiele Spat<sup>2</sup>

**Resumo:** Cultivares de arroz são extensivamente estudados com relação à salinidade. Entretanto, atualmente, há híbridos de arroz nos quais esses efeitos têm sido pouco descritos. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação com as cultivares BRS Talento e BRS Agrisul, consideradas resistente e suscetível a salinidade, respectivamente e o híbrido Tiba, a fim de analisar os efeitos da concentração de NaCl (25, 50, 75, 100, 125 e 150 mM) nos teores de clorofila a, b e total e no de prolina, aos 30 dias após a salinização do solo. A salinidade reduziu os teores de clorofila a, b e total nos genótipos de arrozes, sendo que o híbrido mostrou-se mais resistente que as cultivares. O teor de prolina foi maior na BRS Agrisul, sendo que a BRS Talento e o híbrido Tiba demonstraram resultados semelhantes, podendo ser considerados tolerante e resistente ao estresse salino, respectivamente.

**Palavras-chave:** Genótipos de arroz. Pigmentos fotossintéticos. Prolina. NaCl

**Abstract:** The cultivate of rice extensively are studied with regard to the salinity. However, currently, it has rice hybrids in which these effects had not yet been described. The experiment was conducted in greenhouse with the cultivars BRS and BRS Talento Agrisul, considered resistant and susceptible to salinity, respectively, and hybrid Tiba in order to examine the effects of concentration of NaCl (25, 50, 75, 100, 125 e 150mM) in contents of chlorophylls a, b and total and in contents of proline, some 30 days after the soil salinization. The salinity reduced chlorophylls contents in the genotypes of rice, and the hybrid Tiba was more resistant than the cultivars. The proline content was higher in BRS Agrisul, and a BRS Talento and Tiba hybrid showed similar results can be considered tolerant and resistant to salt stress, respectively. The hybrid Tiba shows greater resistance to salt stress, as in all the parameters used here was superior cultivars used as the comparative resistance and susceptible to salinity.

**Key words:** Genotype of rice, photossintetic pigments, proline, NaCl

1 Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas

2 Mestre pela Universidade Federal de Santa Maria

## INTRODUÇÃO

O arroz é uma das culturas, atualmente, mais tecnificadas, ocupando grande destaque sobre o ponto de vista econômico e social no Brasil. O Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor nacional e é responsável por cerca de 65% da produção nacional desse cereal (IBGE, 2012).

As lavouras orizícolas gaúchas ocupam cerca de 1 milhão de hectares no Rio Grande do Sul, sendo que o ecossistema de várzeas na planície litorânea é quase toda ocupada com essa cultura. Nessa região, há abundância de recursos hídricos derivados da Laguna dos Patos e dos rios litorâneos. Apesar do grande volume de água disponível, há períodos de menor precipitação que coincide com a necessidade de maior volume de água requerido pela cultura. Devido as estiagens, a água do mar invade a Laguna dos Patos e rios adjacentes, salinizando as águas destinadas a irrigação das lavouras.

O nível de tolerância à salinidade nas cultivares de arroz não é muito grande, pois todas elas apresentam redução de altura das plantas, do número de perfilhos e da fitomassa da parte aérea e das raízes, com o aumento de NaCl da água de irrigação (Fageria, 1984). Esse mesmo autor, estudando o comportamento de 162 cultivares submetidos à salinidade, verificou que 11% foram tolerantes, 11% moderadamente tolerantes, 17% moderadamente sensíveis e as demais sensíveis ao estresse salino.

Apesar do grande número de cultivares de arroz serem sensíveis à salinidade, as cultivares índicas de arroz Pokkali e Nona Bokra possuem suficiente tolerância à salinidade e normalmente são incluídas em programas de melhoramento (Akbar et al., 1985). Da mesma forma, cultivares

usados no sul do Brasil como El Paso L 144 e BRS Bojurú apresentam resistência à salinidade. Entretanto, BRS Agrisul e IAS 12-9 Formosa são altamente sensíveis ao estresse salino (Lima et al., 2004; Galina, 2004). Por sua vez, a cultivar BRS Talento apresentou-se tolerante à salinidade até a concentração de 204 mM, enquanto que a BRS Ligeirinho mostrou-se sensível na mesma concentração com redução de 76,6% da massa fresca da raiz, em relação ao controle (Benitez, 2008).

O estresse salino provoca a redução na taxa de absorção de água pelas plantas, além da redução de pigmentos fotossintéticos, dos teores de açúcares e proteínas, acúmulo de prolina nas células das folhas de arroz (Sultana et al., 1999; Lima et al., 2004), reduzindo, portanto, o crescimento das plântulas (Cramer et al., 1991; Cramer e Novak, 1992).

A redução dos conteúdos de pigmentos fotossintéticos se dá pela ativação da enzima clorofilase, que degrada as moléculas de clorofila, com o incremento de NaCl, na água de irrigação (Sharma e Hall, 1991). Todavia, é possível se verificar redução da clorofila pela competição da molécula de Na<sup>+</sup>, em dissolução, com a de Mg<sup>+</sup> na formação da clorofila. Por isso, quando as plantas são submetidas a estresse salino, nas concentrações mais altas, há decréscimo significativo dos teores de clorofila a e b. Já o acúmulo de prolina nos tecidos vegetais, pode resultar da sua síntese a partir do ácido glutâmico, da inibição de sua oxidação, assim como, pela redução da síntese ou aumento da degradação das proteínas (Melander e Horvath, 1977; Torello e Rice, 1986).

O acúmulo de prolina nas células tem como objetivo proteger os tecidos vegetais contra

o estresse osmótico e/ou atuando como protetor enzimático (Liu e Zhu, 1997). Rodriguez et al. (1997) comentam que quando o estresse de sal é severo, o ajustamento osmótico envolve maior gasto de energia devido à síntese de solutos orgânicos, sendo que os solutos orgânicos no citossol contribuem para o equilíbrio osmótico intracelular, permitindo o crescimento do vegetal, mesmo que reduzido (Greenway e Munns, 1980).

Aumentos no teor de prolina foram verificados por Langdale et al. (1973), em poacea, e por Câmara et al. (1998), em calos de milho, quando compararam plântulas submetidas ao estresse de NaCl com plântulas crescidas em meio não salino. Vários autores encontraram significativa acumulação de prolina em resposta ao estresse osmótico entre eles Tuner e Stewart (1986) em cevada e Pinho e Ansel (1995) em milho e sorgo. Leite et al. (2000) verificaram aumento de prolina em folhas de caupi, quando submeteram as plântulas a vários níveis de déficit hídrico, observando que os níveis baixavam quando o regime hídrico voltava ao normal. Por fim, Demir (2000) observou que houve aumento do teor de prolina em folhas de plântulas de trigo submetidas à radiação ultravioleta. De modo geral, as plantas expostas aos diversos tipos de estresse ambiental, notadamente o estresse hídrico, podem apresentar acúmulo de prolina, que tem sido associado à tolerância das plantas a essa condição adversa, podendo representar um mecanismo regulador da perda de água, mediante o aumento da osmolaridade celular (Fumis e Pedras, 2002).

Atualmente, o mercado agrícola tem recebido sementes de arroz híbrido desenvolvido, principalmente, pela empresa RICETEC (RICETEC, 2009). Essa empresa desenvolveu genótipos híbridos de arroz a partir de cruzamentos

de duas linhagens parentais, objetivando ao vigor de híbrido. Isso permite a combinação de características e benefícios encontrados nas duas linhagens e somados numa única semente. Dentre os híbridos desenvolvidos pela RICETEC, estão o Avaxi, Avaxi CL, Sator CL, Tiba, Ecco e Inov.

A descrição desses híbridos tem sido somente de caráter comercial indicando serem de alta produtividade, tolerantes a toxicidade de ferro, à bruzone e manchas foliares (RICETEC, 2009). Entretanto, não há descrições ou estudos que indiquem o comportamento desses híbridos quanto à resistência ou não à salinidade. Baseado nos dados acima descritos, o presente trabalho tem como objetivo testar o híbrido Tiba ao estresse salino e compará-lo aos cultivares BRS Agrisul e BRS Talento que são sensíveis e tolerantes, respectivamente, à salinidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

---

O experimento foi conduzido nos meses de janeiro e fevereiro de 2007, em casa de vegetação do Laboratório de Genética Vegetal da Universidade Federal de Santa Maria. As sementes de arroz das cultivares BRS Talento e BRS Agrisul e do híbrido Tiba foram semeadas em bandejas plásticas, com capacidade para 12kg de substrato em três repetições. O substrato utilizado foi solo tipo Planossolo, retirado da camada superficial (0 a 0,2m). Quinze dias após a emergência das plântulas, foi adicionado ao solo cloreto de sódio nas concentrações 25, 50, 75, 100, 125, 150 mM, mais testemunha. O substrato solo foi sempre mantido próximo à capacidade de campo. A coleta foi realizada trinta dias após a salinização do solo.

### Determinação da clorofila total

A determinação da clorofila total seguiu a metodologia desenvolvida por Arnon (1949) Para tanto, usou-se 0,5g da parte aérea, por repetição, por tratamento, das plântulas coletadas aos 30 dias e macerou-se em gral com 20ml de etanol 80%, no escuro. Colocou-se o macerado em tubos de ensaio na geladeira durante a coleta. Logo após, centrifugou-se a 3.000 rpm por 10 minutos e coletou-se o sobrenadante em tubos de ensaio e novamente armazenou-se na geladeira. Após todas as coletas, realizou-se a leitura em espectrofotômetro E-225D no comprimento de onda de 662 nm para clorofila a e a 644 nm para a clorofila b. As leituras foram transformadas para as seguintes fórmulas:

Clorofila a (Clf a) =  $[(9,78 \cdot \text{leitura a } 622 \text{ nm}) - (0,99 \cdot \text{leitura a } 644 \text{ nm})] \cdot 0,25$  e Clorofila b (Clf b) =  $[(21,4 \cdot \text{leitura a } 644 \text{ nm}) - (4,65 \cdot \text{leitura a } 622 \text{ nm})] \cdot 0,25$ . Os resultados foram expressos em mg Clf. g peso fresco<sup>-1</sup>. A clorofila total foi a soma dos dois valores obtidos.

### Determinação do teor de prolina

A extração de prolina seguiu a metodologia desenvolvida por Sing et al. (1973). O material vegetal foi macerado com uma mistura de metanol, clorofórmio e água (MCA) na proporção de 12:5:1 (v/v/v) e centrifugado por 3 minutos à 4.000 rpm, sendo coletado o sobrenadante. No resíduo, foram adicionados 2mL de MCA e novamente centrifugado. Os sobrenadantes obtidos foram combinados e colocados em funil de separação, onde se adicionou 2,3mL de água destilada e 1,5mL de clorofórmio, agitando-se o funil levemente. A fase inferior foi descartada e a superior utilizada para a

quantificação da prolina. A prolina foi determinada pelo método de Messer (1961). Para tanto, utilizou-se uma alíquota da fração de aminoácidos em tubo de hidrólise, adicionou-se 1mL de glicina, na concentração de 12,6µM e completou-se o volume para 3mL com água destilada.

A seguir, foram adicionados 2mL de ácido acético glacial e 3mL de reagente ácido de ninhidrina. Em seguida, colocaram-se os tubos em banho-maria por 35 minutos e a reação foi terminada com um banho de gelo. Posteriormente, acrescentou-se 4mL de toluol e agitou-se vigorosamente por 15 segundos. Obteve-se, assim, uma fase toluênica rosada da qual se fez a leitura em espectrofotômetro de chama a 515nm, utilizando-se, como termo de comparação, uma solução de prolina 10<sup>-4</sup> M, diluída em água na proporção de 1:1.

O delineamento estatístico foi de blocos ao acaso com quatro repetições. As médias foram analisadas pelo teste de Tukey a 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos da salinidade sobre os teores de clorofila a, b e total estão representados na Figura 1. O híbrido Tiba somente apresentou significância no teor de clorofila a nas concentrações de 100, 125, e 150 mM de NaCl, apesar de não ter havido diferença significativa entre elas (Figura 1A). Entre as concentrações extremas (testemunha e 150 mM) a redução foi de 49%.

Para a cultivar BRS Talento, a significância na redução do teor de clorofila a ocorreu após a concentração de 75 mM (Figura 1 A). Nessa cultivar, as concentrações 75, 100 e 125 mM de NaCl não diferiram entre si, mas diferiram da

testemunha, sendo que a de 150 mM demonstrou uma redução mais acentuada que as demais. Entre as concentrações extremas a redução foi de 30%.

A cultivar BRS Agrisul (Figura 1A) demonstrou diferença significativa na concentração de 50 mM, sendo que as concentrações de 100 e 125 mM diferiram das demais. A concentração de 150 mM foi a que provocou maior redução no teor de clorofila a, em relação às demais concentrações. Analogamente, o percentual de redução entre as concentrações extremas foi de 87%.

Entre os genótipos de arroz houve diferença significativa em todas as concentrações, com exceção da concentração zero entre o híbrido Tiba e a cultivar BRS Talento. De forma geral, a BRS Talento foi o que apresentou menor redução no teor de clorofila a, seguido do híbrido Tiba e da BRS Agrisul, em todas as concentrações estudadas.

Quanto ao teor de clorofila b (Figura 1B) a redução significativa ocorreu na concentração de 50 mM de NaCl para o híbrido Tiba. Não houve diferença significativa entre essa concentração e a de 75 e 100 mM. Já as concentrações de 125 e 150 mL, também, não diferiram entre si, mas diferiram das demais. O percentual de redução entre as concentrações extremas foi de 48%.

Para as cultivares BRS Talento e BRS Agrisul o comportamento de redução no teor de clorofila b foi semelhante, pois as concentrações de 25 e 50 mM de NaCl não diferiram entre si, mas diferiram da testemunha e das demais concentrações. Para a cultivar BRS Talento, as concentrações de 100 e 125 mM não diferiram entre si, porém diferiram das demais. E a concentração de 150 mM foi a que provocou maior redução da clorofila b. Enquanto que, para a cultivar BRS Agrisul, a redução mais significativa ocorreu na concentração de 125 mM. Nesse caso, o percentual de redução foi de 72 e

70%, respectivamente, para as cultivares BRS Talento e BRS Agrisul.

Entre os genótipos estudados, o teor de clorofila b demonstrou maior variabilidade na comparação, pois apenas na testemunha não houve diferença entre os genótipos. Na concentração de 25 mM, o híbrido Tiba e a cultivar BRS Talento não diferiram entre si, mas diferiram da cultivar BRS Agrisul. Nas demais concentrações, o híbrido Tiba diferiu das cultivares. Entre as cultivares, a concentração de 100 mM e a de 150 mM de NaCl não diferiram entre si.

Quanto ao teor de clorofila total (Figura 1C), o híbrido Tiba apresentou redução significativa a partir da concentração de 75 mM, sendo que as concentrações de 125 e 150 mM foram as que apresentaram maior redução, não diferindo entre si, mais diferindo das demais.

Para a cultivar BRS Talento (Figura 1C), a concentração de 50 mM de NaCl já provocou redução significativa em relação a testemunha. As concentrações de 125 e 150 mM provocaram reduções maiores no teor de clorofila total, diferindo das demais concentrações, mas não entre si.

A cultivar BRS Agrisul (Figura 1C), nas concentrações de 25 e 50 mM de NaCl, demonstraram redução significativa em relação a testemunha no teor de clorofila total. Essas concentrações não diferiram entre si, mas diferiram das demais. Percebe-se, nesse caso, que o efeito provocado pela concentração de 150 mM não diferiu da concentração de 100 mM e a de 125 mM não diferiu da de 75 mM de NaCl.

Entre os genótipos utilizados percebe-se que o teor de clorofila total só foi semelhante na testemunha sendo que nas demais concentrações houve significância entre eles.

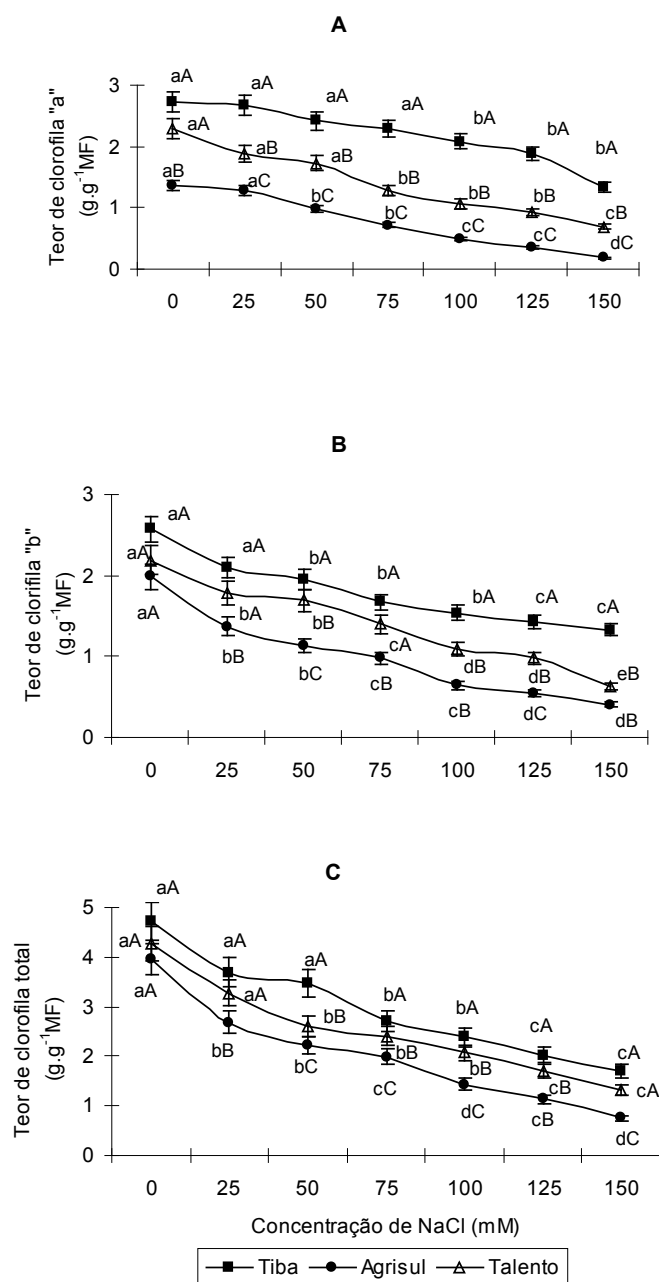


Figura 1 Efeito da salinidade no teor de clorofila a (A), clorofila b (B) e total (C) em folhas de plântulas de arroz Tiba, BRS Agrisul e BRS Talento submetidas as concentrações 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 mM de NaCl. Santa Maria, RS. 2007. (Letras minúsculas iguais não diferem significativamente dentro do genótipo e letras maiúsculas iguais não diferem significativamente entre os genótipos de arroz, pelo teste de Tukey a 5%. As barras representam desvio-padrão da média).

De forma geral, o comportamento do híbrido foi o de maior resistência à salinidade, medido pelos teores de clorofila a, b e total, seguido da cultivar BRS Talento e por BRS Agrisul.

Os arrozes híbridos demonstram ter maior resistência à salinidade do que as cultivares, pois Hoffmann et al (2007) encontraram maior uniformidade na germinação de sementes de

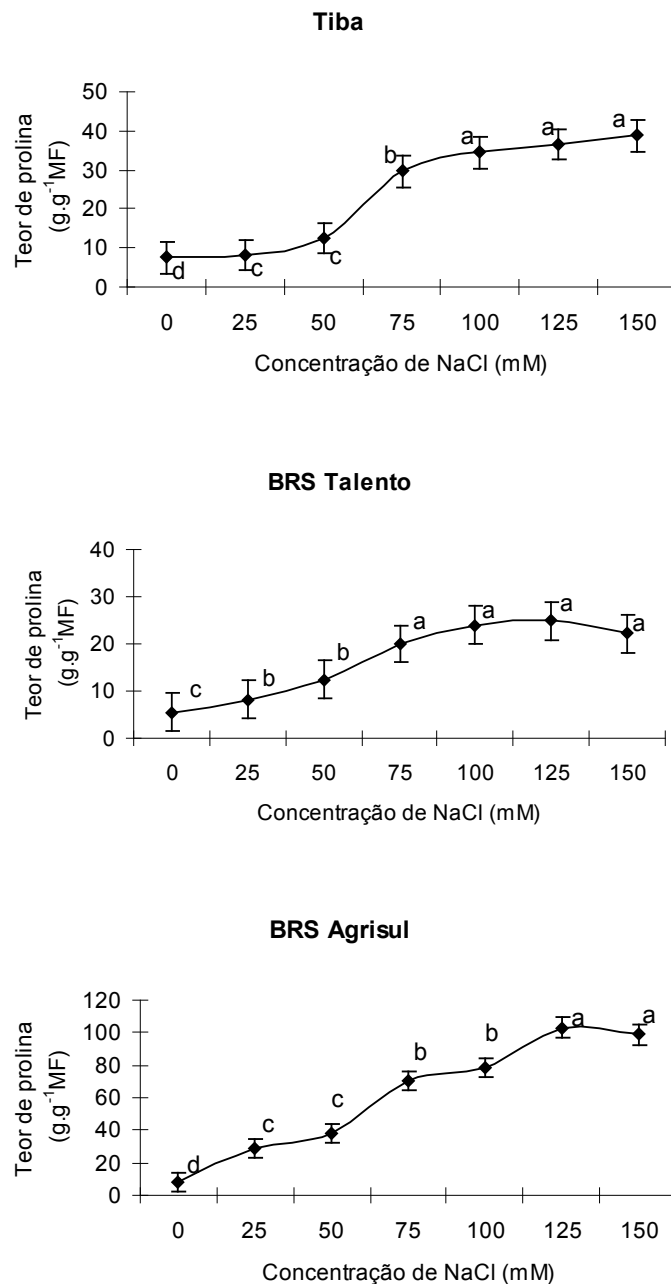


Figura 2 Efeito da salinidade no teor de prolina em folhas de plântulas de arroz Tiba, BRS Agrisul e BRS Talento submetidas às concentrações 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 mM de NaCl. Santa Maria, RS. 2007. (Letras iguais não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5%. As barras representam desvio-padrão da média).

arroz híbrido Tiba submetidas ao estresse salino. Analogamente, o híbrido XP-739 (denominado atualmente Inov) apresentou igualmente resistência ao estresse salino na primeira contagem da germinação e na germinação de sementes (Schaedler et al, 2007). A cultivar BR IRGA-409, usada como

comparativa em ambas as análises, manteve-se com menor resistência em relação aos híbridos.

No presente estudo, a cultivar BRS Talento demonstrou tolerância ao estresse salino. Resultados semelhantes foram encontrados por Benitez et al (2008) quando submeteram plântulas de arroz

a água de irrigação complementada com NaCl. Dentre as cultivares estudadas, a BRS Talento foi que demonstrou menor redução relativa da altura média da parte aérea, da área foliar e da massa fresca da parte aérea. Com base nesses parâmetros, os autores classificaram a cultivar BRS Talento como tolerante à salinidade.

Com relação a cultivar BRS Agrisul, usada aqui como forma de comparação entre o híbrido e a cultivar BRS Talento, comprovou-se sua sensibilidade ao estresse salino. Resultados semelhantes foram também obtidos por Lima et al. (2004).

O decréscimo na concentração de clorofila nas folhas em plantas salinizadas pode ser atribuído ao aumento da enzima clorofilase que, sob estresse salino, degrada a clorofila. Resultados semelhantes foram encontrados por Lima et al. (2004) quando analisaram o efeito do estresse salino na concentração de clorofila em folhas de plantas de arroz. Esses autores verificaram que a cultivar BRS Agrisul foi mais suscetível ao aumento da concentração de NaCl no solo do que a cultivar BRS Bojuru, que se mostrou mais resistente. Resultados semelhantes, de resistência à salinidade no solo, foram encontrados por Galina (2004) quando trabalhou com a cultivar de arroz El Paso L144.

Na Figura 2, estão demonstrados os efeitos da salinidade sobre o teor de prolina no híbrido Tiba e nas cultivares BRS Talento e BRS Agrisul.

Nessa figura, percebe-se que o híbrido Tiba demonstrou aumento crescente no teor de prolina nas folhas das plântulas com o aumento da concentração de sal a partir da concentração de 75 mM, embora o crescimento não tenha sido significativo nas demais concentrações (100, 125 e 150 mM). Já para a cultivar BRS Talento, observa-se que há aumento crescente a partir de 25 mM de NaCl até a concentração de 125 mM, sendo

que na concentração de 150 mM há tendência de redução no teor de prolina. A cultivar BRS Agrisul demonstra um efeito crescente no teor de prolina nas folhas, sendo que na concentração de 25 mM há aumento significativo, diferindo da testemunha e, a partir da concentração de 125 mM o teor de prolina torna-se mais significativo, não diferindo da concentração de 150 mM de NaCl.

O valor da concentração de prolina foi maior na cultivar BRS Agrisul que é mais sensível, sendo que a cultivar BRS Talento e o híbrido Tiba não demonstraram diferença entre seus efeitos. O aumento no teor de prolina nesses dois genótipos de arroz segue um padrão, pois há aumento significativo a partir de 75 mM, sendo que as demais concentrações maiores ( $\geq 75$  mM) não diferem entre si. Na cultivar BRS Agrisul, a concentração de 75 mM também é concentração limite, a partir da qual o teor de prolina continua a crescer com o incremento de sal. Esse comportamento reflete a sensibilidade dessa cultivar, segundo Greenway e Munns, (1980).

O incremento no teor de prolina parece ter várias funções, entre elas, a de não permitir o acúmulo de  $\text{NH}_4^+$  que é um composto muito tóxico, por ser desacoplador da produção de ATP na fotofosforilação e fosforilação oxidativa. Além disso, o aminoácido prolina tem a propriedade de realizar ajustamento osmótico, não prejudicando os tecidos em comparação ao efetuado por íons (Rodriguez et al., 1997).

Segundo Lima et al (2004), provavelmente, as cultivares resistentes à salinidade excluem a absorção de  $\text{Na}^+$  em concentrações baixas de NaCl, acumulando esses íons no apoplasto das raízes ou compartimentalizando-os para não causar danos ao protoplasma (simplasto).

Para outras culturas, como o caupi (Leite et al., 2000), milho (Pinho e Ansel, 1995), trigo



(Fumis e Pedras, 2002) e feijão (Galina, 2004) também ocorreu acúmulo do aminoácido prolina nas folhas, cujas plantas foram submetidas a tratamentos de estresse hídrico. De forma geral, esse parece ser o mecanismo pelo qual as plantas respondem ao déficit de água no solo.

A partir dos resultados, foi possível concluir que a cultivar BRS Agrisul reduz a clorofila a sob ação de NaCl, seguida do híbrido Tiba e por BRS Talento. Sob a ação de estresse salino, a clorofila *b* é mais reduzida na BRS Talento e BRS Agrisul, seguidas pelo híbrido Tiba. A clorofila total reduz-se primeiramente na BRS Agrisul, seguida pela BRS Talento e pelo híbrido Tiba.

Concentrações crescentes de NaCl provocam acúmulo de prolina nas folhas dos dois genótipos de arroz, embora na cultivar BRS Agrisul o acúmulo iniciou-se em concentrações mais baixas de sal do que o híbrido Tiba.

É possível se estabelecer uma concentração limite de sal, a partir da qual o acúmulo de prolina torna-se mais significativo, para os genótipos de arroz aqui estudados.

## REFERÊNCIAS

1. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola – IBGE lavouras. (on line). Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>. > acessado em 15 março 2012.
2. FAGERIA, N. K. Adubação e nutrição mineral da cultura de arroz. Rio de Janeiro: EMBRAPA. 1984.
3. AKBAR, M.; KHUSH, G. S. and HILLERISLAMBERS, D. Genetics of salt tolerance in rice. *Proceedings of the International Rice Genetics Symposium*, Los Baños, Philippines, p.399-409, 1985
4. LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A. and MENDES, C. R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. *Bragantia*, v.63, n.3, p. 335-340, 2004.
5. GALINA, S. Efeito da salinidade na qualidade fisiológica de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) cv El Paso L144 e de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv FT Nobre. 2004. 30f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Instituto de Biologia, UFPEL, Pelotas.
6. BENITEZ, L.C.; SILVA, I.M.C.; RODRIGUES, I.C.S.; KOOP, M.M.; PETERS, J. A. and BRAGA, E.J.B. Tolerância à salinidade avaliada em genótipos de arroz. Anais do XVII Congresso de Iniciação Científica. Pelotas, 2008. CD-rom.
7. SULTANA, N.; IKEDA, T. and ITOH, R. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany*, v.42, n.3, p. 211-220, 1999.
8. CRAMER, G. R.; EPSTEINS, E. and LAÜCHLI, A. Effects of sodium, potassium and calcium on salt-stressed barley. II. Elemental analysis. *Physiologia Plantarum*, v.81, n.2, p. 197-202, 1991
9. CRAMER, G. R.; NOVAK, R. S. Supplemental manganese improves the relative growth, net assimilation and photosynthetic rates of salt-stressed barley. *Physiologia Plantarum*, v.84, n.4, p. 600-605, 1992.
10. SHARMA P. K.; HALL, D. O. Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghum. *Journal of Plant Physiology*, v.138, n.5, p.614-619, 1991.
11. MELANDER, W.; HORVATH, C. Salt

- effects on hydrophobic interactions in precipitation and chromatography of protein: an interpretation of lyotropic series. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v.183, n.1, p. 200-215, 1977.
12. TORELLO, W. A.; RICE, L. A. Effects of NaCl stress on proline and cation accumulation in salt sensitive and tolerant turfgrasses. *Plant and Soil*, v.93, n.2, p. 241-247, 1986.
13. LIU, J.; ZHU, J. K. 1997. Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt hypersensitive mutant of arabidopsis. *Plant Physiology*, v.114, n.2, p.591-596, 1997.
14. RODRIGUEZ, H. G.; ROBERTS, J. K. M.; JORDAN, W. R. and DREW, M. C. 1997. Growth, water relation, and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedlings during salt stress. *Plant Physiology*, v.113, n.3, p.881-893, 1997.
15. GREENWAY, J.; MUNNS, R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, v.31, p.149-190, 1980.
16. LANGDALE, G. W.; THOMS, J. R. and LITTLETON, T. G. Nitrogen metabolism of stargrass as affected by nitrogen and salinity. *Agronomy Journal*, v.65, n.3, p.468-470, 1973.
17. CÂMARA, T. R.; WILLADINO, L.; TORNÉ, J. M.; RODRIGUEZ, P. and SANTOS, M. A. Efeito da putrescina e do estresse salino em calos de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.10, n.2, p. 153-156, 1998.
18. TURNER, L. B.; STEWART, G. R. The effects of water stress upon polyamine levels in barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves. *Journal of Experimental Botany*, v.37, n.2, p.170-177, 1986.
19. PINHO, J. L. N.; ANSEL, D. Evolução do teor de prolina em cultivares de milho (*Pennisetum americanum* L.) e sorgo (*Shorgum bicolor* (L.) Moench) em resposta ao estresse hídrico. *Ciência Agrônômica*, v.26, n.1/2, p. 5-9, 1995.
20. LEITE, M. L.; VIRGENS FILHO, J. S. and RODRIGUES, J. D. Variação dos níveis de prolina em folhas de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) submetido a diferentes déficits hídricos. *Biotemas*, v.13, n.1, p.21-33, 2000.
21. DEMIR, Y. Growth and proline content of germinating wheat genotypes under ultraviolet light. *Turkish Journal Botany*, v.24, n.1, p. 67-70, 2000.
22. FUMIS, T. F.; PEDRAS, J. F. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetido a déficits hídricos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, n.4, p. 449-453, 2002.
23. RICETEC. Tiba - Estabilidade produtiva com ciclo médio. (on line). Disponível em <<http://www.ricetec.com.br/tiba.php>> Acesso: 8 março 2009.
24. ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, v.24, n.1, p.1-15, 1949.
25. SING, T. N.; PALEG, L. G. and ASPINALL, D. Stress metabolism I. Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during waters stress. *Australian Journal of Biology Science*, v.6, n.1, p. 45-56, 1973.
26. MESSER, M. Interference by amino acids and peptides with the photometric estimation of proline. *Analytical Biochemistry*, v.2, n.4, p. 353-359, 1961.
27. HOFFMANN, C. E. F.; SCHAEGLER, L.; NEVES, L. A. S.; BASTOS, C. F. and WALLAU, G. Estresse salino e sensibilidade de genótipos de arroz BR IRGA-409 e Tiba. *Anais do V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado*, Pelotas, Brasil, p.477-479. 2007.
28. SCHAEGLER, L.; HOFFMANN, C. E. F.; NEVES, L. A. S.; WALLAU, G. L. and BASTOS, C. F. Sensibilidade do genótipo de arroz híbrido XP-739 e da cultivar BR IRGA-409 ao estresse salino. *Anais do V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado*. Pelotas, Brasil. p.504-507. 2007.