

## Acúmulo de prolina em acessos de gliricídia cultivados sob estresse salino in vitro

### Proline accumulation in gliricídia accessions grown under in vitro saline stress

### Acumulación de prolina en accesos de gliricidia cultivados bajo estrés salino in vitro

DOI: 10.34188/bjaerv8n3-100

Submetido: 30-05-2025

Aprovado: 15-06-2025

#### **Rafaela da Mota Andrade**

Mestrado em Agricultura e Biodiversidade  
Universidade Federal de Sergipe  
São Cristóvão, SE. Brasil  
E-mail: rafaelamotaagro@gmail.com

#### **Bruno Trindade Cardoso**

Mestrado em Engenharia de Processos  
Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Aracaju, SE. Brasil  
E-mail: bruno.cardoso@embrapa.br

#### **Evandro Neves Muniz**

Doutorado em Produção Animal  
Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Aracaju, SE. Brasil  
E-mail: evandro.muniz@embrapa.br

#### **Ana Veruska Cruz da Silva**

Doutorado em Produção Vegetal  
Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Aracaju, SE. Brasil  
E-mail: ana.veruska@embrapa.br

#### **Ana da Silva Léo**

Doutorado em Fitotecnia  
Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Aracaju, SE. Brasil  
E-mail: ana.ledo@embrapa.br

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o acúmulo de prolina em folhas e caules de microestacas de dois acessos (Dores e Vitrine) de *Gliricidia sepium* cultivados in vitro sob estresse salino. As microestacas oriundas de plântulas cultivadas in vitro foram transferidas para meio WPM com diferentes concentrações de NaCl (0, 100, 150, 200, 250 mM) e foram mantidas em condições controladas de cultivo. A prolina foi quantificada aos 60 dias em folhas e caules por meio do método de Bates *et al.* (1973). Os resultados mostraram respostas distintas entre os acessos. Observou-se

um aumento significativo de prolina nas folhas do acesso Dores na presença 100 mM de NaCl, enquanto nas concentrações superiores houve inibição do desenvolvimento foliar. No acesso Vitrine houve maior concentração de prolina no controle e com redução sob condições de salinidade. Ambos os acessos apresentaram correlação linear positiva entre a concentração de NaCl e o acúmulo de prolina no caule, indicando que houve uma preferência no mecanismo de proteção osmótica. Conclui-se que o acesso Dores apresenta maior capacidade de ajuste osmótico sob estresse moderado, enquanto o acesso Vitrine apresentou menor tolerância. A prolina é um marcador bioquímico eficaz para ser quantificada em estudos preliminares de seleção *in vitro*. Estes resultados apontam a importância da cultura de tecidos como aliada nos estudos de avaliação precoce de respostas a estresses abióticos.

**Palavras-chave:** *Gliricidia sepium*, estresse abiótico, osmoproteção.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the accumulation of proline in leaves and stems of microcuttings of two accessions (Dores and Vitrine) of *Gliricidia sepium* grown *in vitro* under salt stress. The microcuttings from *in vitro*-grown seedlings were transferred to WPM medium with different NaCl concentrations (0, 100, 150, 200, and 250 mM) and maintained under controlled culture conditions. Proline was quantified at 60 days in leaves and stems using the method of Bates *et al.* (1973). The results showed distinct responses among the accessions. A significant increase in proline was observed in the leaves of the Dores accession in the presence of 100 mM NaCl, while at higher concentrations there was inhibition of leaf development. In the Vitrine accession, there was a higher proline concentration in the control and a reduction under salinity conditions. Both accessions showed a positive linear correlation between NaCl concentration and stem proline accumulation, indicating a preference for the osmotic protection mechanism. We conclude that the Dores accession has a greater capacity for osmotic adjustment under moderate stress, while the Vitrine accession showed less tolerance. Proline is an effective biochemical marker for quantification in preliminary *in vitro* selection studies. These results highlight the importance of tissue culture as an ally in studies evaluating early responses to abiotic stresses.

**Keywords:** *Gliricidia sepium*, abiotic stress, osmoprotection.

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la acumulación de prolina en hojas y tallos de micro esquejes de dos accesos (Dores y Vitrine) de *Gliricidia sepium* cultivados *in vitro* bajo estrés salino. Las microesquejes procedentes de plántulas cultivadas *in vitro* se transfirieron a un medio WPM con diferentes concentraciones de NaCl (0, 100, 150, 200, 250 mM) y se mantuvieron en condiciones de cultivo controladas. La prolina se cuantificó a los 60 días en hojas y tallos mediante el método de Bates *et al.* (1973). Los resultados mostraron respuestas distintas entre los accesos. Se observó un aumento significativo de prolina en las hojas del acceso Dores en presencia de 100 mM de NaCl, mientras que en concentraciones superiores se inhibió el desarrollo foliar. En el acceso Vitrine se observó una mayor concentración de prolina en el control y una reducción en condiciones de salinidad. Ambos accesos presentaron una correlación lineal positiva entre la concentración de NaCl y la acumulación de prolina en el tallo, lo que indica que hubo una preferencia en el mecanismo de protección osmótica. Se concluye que el acceso Dores presenta una mayor capacidad de ajuste osmótico bajo estrés moderado, mientras que el acceso Vitrine presentó una menor tolerancia. La prolina es un marcador bioquímico eficaz para ser cuantificado en estudios preliminares de selección *in vitro*. Estos resultados señalan la importancia del cultivo de tejidos como aliado en los estudios de evaluación temprana de las respuestas al estrés abiótico.

**Palabras clave:** *Gliricidia sepium*, estrés abiótico, osmorregulación.

## 1 INTRODUÇÃO

Solos salinizados são limitantes para a agricultura, especialmente em regiões áridas e semiáridas, em áreas onde a irrigação é realizada por águas subterrâneas, pois estas apresentam maiores concentrações de sais dissolvidos (Castro & Santos, 2020). A salinidade impacta aproximadamente 1,4 bilhões de hectares de terra em todo o mundo – o que equivale a mais de 10% da superfície terrestre global. Além disso, cerca de um bilhão de hectares adicionais estão sob ameaça devido aos efeitos da crise climática (FAO, 2024). Esse processo de degradação do solo também é causado, predominantemente, por práticas agrícolas inadequadas, como irrigação com água de baixa qualidade e drenagem ineficiente (Corwin, 2021).

A salinidade desencadeia uma série de distúrbios bioquímicos e fisiológicos nas plantas, caracterizados pelo desequilíbrio osmótico e iônico. À medida que os sais se acumulam no solo, as plantas enfrentam dificuldade em absorver água, levando ao déficit hídrico celular. Aliado a isso, a entrada excessiva de sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloro ( $\text{Cl}^-$ ) desregula a homeostase iônica, prejudicando processos fisiológicos essenciais como a fotossíntese, com redução no crescimento desde a germinação até o desenvolvimento vegetativo (Muchate *et al.*, 2016).

Plantas que são submetidas a estresse salino, tendem a produzir intensivamente compostos osmoprotetores, que são altamente solúveis e não tóxicos em altas concentrações. Estes solutos são fundamentais para a/agem na manutenção do turgor celular e sua principal ação consiste em regular o equilíbrio osmótico (Nakar *et al.*, 2016).

A prolina é um dos osmoprotetores mais comuns e estudados por agir diretamente na capacidade de sobrevivência das plantas estressadas (Ghosh *et al.*, 2022). O conteúdo de prolina pode aumentar em até 100 vezes em plantas sob estresse, quando em comparação com plantas cultivadas em condições normais (Verbruggen & Hermans, 2008). Dentre as diversas funções da prolina, destaca-se a manutenção do turgor celular, funcionando como molécula de sinalização e fonte de nitrogênio e carbono (Freitas *et al.*, 2018; Aghdam *et al.*, 2019).

Estudos demonstraram que o acúmulo de prolina em muitas espécies tem forte correlação com a tolerância ao estresse, onde as plantas tolerantes a salinidade apresenta concentrações superiores do aminoácido (Fougère *et al.*, 1991).

A técnica da cultura de tecidos de plantas, uma ferramenta biotecnológica, pode ser aplicada para estudar e fazer triagem de genótipos com maior resistência à estresses abióticos como a salinidade. Essa técnica requer menos espaço físico e proporciona resultados em um período relativamente curto (Arab *et al.*, 2018).

A gliricídia (*Gliricidia sepium*) é uma leguminosa arbustiva de crescimento rápido e com raízes profundas, conferindo-lhe resistência à seca. Pertence à família Fabaceae, a mais diversificada

e ecologicamente importante entre as angiospermas, desempenhando papel crucial em ecossistemas (Edvan *et al.*, 2016). Essa espécie possui uma diversidade de aplicações, como adubação verde, alimentação animal, reflorestamento e formação de cercas vivas. Sua capacidade de fixação biológica de nitrogênio e adaptação a condições edafoclimáticas adversas contribui para o seu valor agro e socioeconômico (Grygier *et al.*, 2022).

Considerando a adaptação que essa espécie apresenta frente a condições adversas, objetivou-se neste estudo quantificar a prolina presente em folhas e caule de microestacas de gliricídia cultivadas *in vitro* sob estresse salino.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Este estudo foi realizado nos laboratórios de Cultura de Tecidos Plantas e Ecofisiologia Vegetal da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizada em Aracaju – Sergipe.

Sementes de gliricídia de dois acessos (1- Dores e 2- Vitrine) foram higienizadas com água corrente e sabão neutro e, posteriormente foram submetidas à assepsia em câmara de fluxo laminar, com a imersão das sementes em álcool 70% durante 1 min, hipoclorito de sódio (NaClO) 1% sob agitação por 20 min e três lavagens sucessivas em água destilada e esterilizada.

As sementes foram inicialmente inoculadas em tubos de ensaio com 15 mL de meio WPM suplementado com 30 g/L de sacarose para germinação e obtenção das plântulas. Após 60 dias de cultivo, foram obtidas microestacas de aproximadamente 2 cm de comprimento e transferidas para novos recipientes contendo meio WPM suplementado com 20 g/L de sacarose em diferentes concentrações de NaCl (0, 100, 150, 200 e 250 mM).

Todos os meios de cultura tiveram seu pH ajustado para  $5,8 \pm 1$  e foram gelificados com Phytigel™, e esterilizados em autoclave a 121 °C e 1,0 atm por 15 min.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de  $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ , fotoperíodo de 12 h, umidade relativa do ar em torno de 70% e intensidade luminosa de  $60\text{ }\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ .

### 2.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PROLINA

O teor de prolina das folhas e caule foi determinado de acordo com a metodologia de Bates *et al.* (1973). Aos 60 dias um grama de cada tecido foliar e caulinar foi macerado em almofariz com 10 mL de solução de ácido 5-sulfosalicílico a 3%. O material macerado foi então transferido para tubos e centrifugados a 5.000 rpm por 20 min. Em seguida, 1 mL da solução do sobrenadante foi misturada com volumes iguais de ácido acético glacial e reagente de Ninidrina (1,25 mg de ninidrina em 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  a 6 M). A mistura foi incubada a 100 °C por

1 h. Após a incubação essa reação foi paralisada em banho de gelo. Posteriormente, adicionou-se 2 ml de tolueno à solução, que foi agitada e deixada em repouso até a separação das fases. A fase colorida foi lida em um espectrofotômetro (Thermo Scientific, Genesys 10S UV – VIS) a 520 nm, utilizando L-prolina como padrão e tolueno como branco de referência.

## 2.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, seguindo um esquema fatorial composto por 2 acessos x 5 concentrações de NaCl, com três repetições por tratamento. Cada unidade experimental foi representada por uma microestaca por tubo de ensaio. Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Para a avaliação dos efeitos do NaCl, utilizou-se o teste de regressão, enquanto a comparação entre os acessos foi realizada por meio do teste de Tukey, adotando um nível de significância de 5%. Todas as análises estatísticas foram processadas no software Sisvar versão 5.7 (Ferreira, 2019).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 QUANTIFICAÇÃO DE PROLINA NAS FOLHAS

A manutenção do crescimento e do potencial produtivo de plantas em condições adversas são parâmetros relevantes para a identificação e seleção de cultivares com maior tolerância (Singh *et al.*, 2020). No estudo em questão, a determinação da tolerância dos acessos de gliricídia à salinidade foi feita com base nos teores de prolina expressos. Para os acessos Dores e Vitrine observou-se um aumento significativo de prolina a partir do controle até a concentração de 100 mM de NaCl. Houve um efeito negativo/deletério da salinidade nas microestacas, impossibilitando o desenvolvimento foliar na presença de 200 e 250 mM de NaCl (Tabela 1). A toxicidade provocada pelo excesso de sais, assim como outros estresses ambientais, afeta negativamente a morfologia e a fisiologia vegetal, comprometendo o seu desenvolvimento e funcionalidade (Khan *et al.*, 2020).

O acesso Vitrine apresentou maior teor de prolina na ausência de sal, reduzindo esse valor na concentração de 100 mM e com ausência de folhas também em concentrações superiores. O efeito sobre o desenvolvimento foliar devido às concentrações altas de sal presente no meio de cultura é devido ao desequilíbrio osmótico (Gomes *et al.*, 2019). Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Souza *et al.* (2015), que verificaram menor número de folhas em goiabeiras *in vitro* sob salinidade elevada. Os autores associaram a queda foliar a um mecanismo de adaptação ao estresse, onde a planta reduz a transpiração para reduzir a perda de água. Em ensaios em casa de vegetação com mudas de mulungu ((*Erythrina velutina* Wild) a salinidade ocasionou redução na produção de matéria fresca, principalmente a 100 mM de NaCl (Aderaldo *et al.*, 2020).

Tabela 1. Médias do teor de prolina em folhas de microestacas de dois acessos de gliricídia.

| Acessos                | NaCl (mM) |          |          |     |     |
|------------------------|-----------|----------|----------|-----|-----|
|                        | 0         | 100      | 150      | 200 | 250 |
| Teor de prolina (µM/g) |           |          |          |     |     |
| Dores                  | 1,2433Aa  | 8,7530Bb | 0,8600Cc | -   | -   |
| Vitrine                | 1,6886Bb  | 1,1883Cc | -        | -   | -   |

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 0,05%. Fonte: Elaborado pelos autores (2025).

A ausência de folhas na presença de concentrações elevadas de NaCl limitou a análise de regressão. Entretanto, observa-se que acesso Dores acumulou maior valor numérico de prolina sob estresse moderado (100 mM), apresentando possível resposta adaptativa inicial, ou seja, demonstrou melhor capacidade de ajuste osmótico sob estresse salino leve, enquanto o acesso Vitrine apresenta ser menos tolerante. Os compostos osmoprotetores atuam na regulação da homeostase redox, facilitando a desintoxicação das espécies reativas de oxigênio (ROS) que se acumulam excessivamente em plantas sob condições de estresse (Semida *et al.*, 2021).

### 3.2 QUANTIFICAÇÃO DE PROLINA NO CAULE

O maior acúmulo de prolina foi detectado no caule em comparação com as folhas (Tabela 1). Nos resultados obtidos por Santos *et al.* (2011), folhas de microestacas de mangabeira também acumularam prolina em quantidades inferiores em comparação aos segmentos caulinares. Aos 60 dias, ambos os acessos apresentaram respostas semelhantes. Houve um incremento nos teores de prolina em função do aumento da concentração de NaCl no meio de cultura (Figura 1) com resposta linear positiva, ou seja, o aumento do NaCl no meio de cultura promoveu maior acúmulo de prolina no caule das microestacas (Figura 2). O estresse salino induz a superprodução desse aminoácido nas plantas (Guan *et al.*, 2020; Lozano-Montanã, 2021).

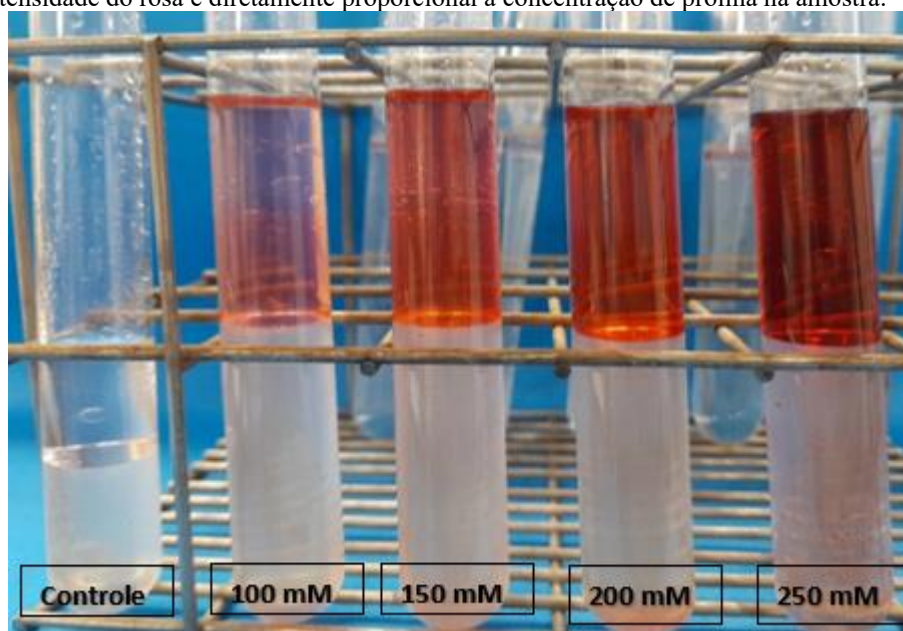
A prolina atua como um importante osmorregulador, ajudando a manter o equilíbrio osmótico das células sob condições de estresse salino. Além disso, ela auxilia na neutralização dos efeitos prejudiciais das espécies reativas de oxigênio (EROS), reduzindo o dano oxidativo. Dessa forma, plantas que acumulam maior quantidade de prolina geralmente apresentam maior resistência à salinidade (Akbari *et al.*, 2018).

A variação do teor de prolina em diferentes concentrações de NaCl (0, 100, 150, 200 e 250 mM) ficou evidente na Figura 1, onde por meio de uma escala de cor rosa foi possível observar o acúmulo progressivo (maior intensidade indica maior concentração de prolina). O método utilizado para quantificar a prolina baseia-se na reação com ninidrina, reagente responsável por formar um complexo rosa/vermelho-amarelado na presença desse aminoácido, com absorbância máxima em ~520 nm (Bates *et al.*, 1973). Esse aumento da prolina em concentrações elevadas de NaCl indica que o caule está ativando mecanismos de tolerância ao sal. Esses resultados confirmam que a

variação nos teores de prolina está diretamente relacionada à capacidade adaptativa das plantas às condições de salinidade. Há evidência em espécies como a *Simmondsia chinensis* (jojoba), em que o acúmulo de prolina livre funcionou como marcador metabólico em condições salinas (Fayek *et al.*, 2010).

O controle apresentou coloração rosa fraca, confirmando que o acúmulo de prolina é maior com a presença de NaCl em concentrações crescentes (Figura 1). Segundo a Lei de Beer-Lambert, a intensidade do rosa está diretamente relacionada a quantidade de prolina na amostra (relação linear entre absorbância e concentração). A salinidade induz a produção da prolina como osmólito protetor, mantendo o equilíbrio osmótico e protegendo proteínas e membranas celulares (Szabados & Saviouré, 2010).

Figura 1. Amostras de sobrenadante oriundos do caule de microestaca de gliricídia sob diferentes concentrações de NaCl, onde a intensidade do rosa é diretamente proporcional a concentração de prolina na amostra.



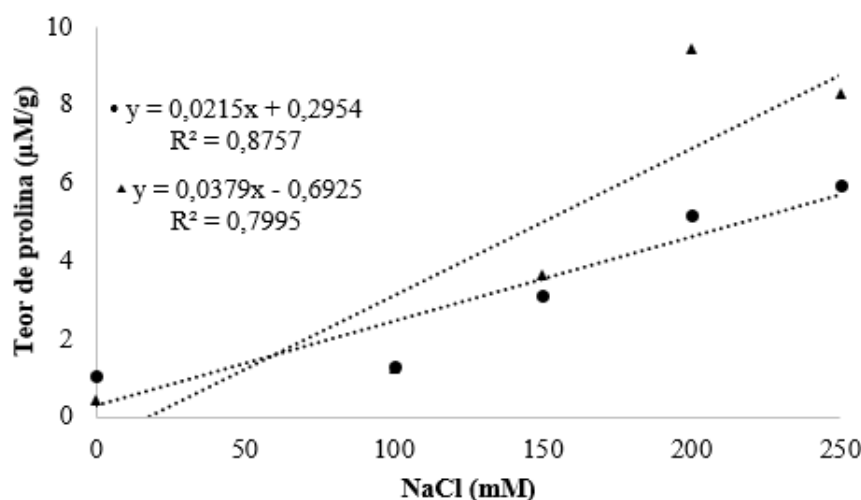
Fonte: Elaborado pelos autores (2025).

O efeito das diferentes concentrações de NaCl foi altamente significativo ( $p < 0,05$ ) no acúmulo de prolina no caule das microestacas dos dois acessos, funcionando como uma molécula sinalizadora, uma vez que, na presença de Na e Cl em excesso na rizosfera o potencial osmótico do meio aumenta, comprometendo a capacidade de absorção de água pelas raízes, causando seca fisiológica (Doğru & Canavar, 2020).

O acúmulo de prolina representa uma das principais respostas metabólicas ao estresse em plantas, por ser um marcador fisiológico ativo em condições adversas (Hayat *et al.*, 2012) e no presente estudo este fator ficou evidente. Observou-se que o teor de prolina apresentou comportamento linear positivo aos 60 dias de cultivo para o acesso Dores, com uma correlação forte

( $R^2 = 0,87$ ), demonstrando um aumento significativo desse aminoácido nas amostras com o aumento da concentração de NaCl no meio de cultivo (Figura 2). Esse resultado reforça a hipótese de que o estresse salino induz respostas bioquímicas mensuráveis, como o acúmulo desse osmólito, em microestacas de gliricídia.

Figura 2. Teor de prolina no caule de microestacas de gliricídia cultivadas in vitro em função das concentrações de NaCl. • Dores; ▲ Vitrine.



Fonte: Elaborado pelos autores (2025).

A produção de prolina no caule de microestacas de gliricídia no acesso Vitrine aumentou de forma proporcional ao aumento da salinidade do meio. Na análise de regressão, observou-se um comportamento linear positivo, onde concentrações crescentes de NaCl na solução aumentam significativamente a concentração desse aminoácido em relação a testemunha, sendo evidenciado pelo coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,79$ ). De acordo com essa correlação, 79,95% da variação observada pode ser atribuída a salinidade, corroborando a ação de mecanismos de adaptação bioquímica em condições de estresse (Figura 2). De modo semelhante ao que foi observado neste estudo para os dois acessos de gliricídia, pesquisas com mandioca (Cardoso *et al.*, 2019), amaranto (Menezes *et al.*, 2017) e noni (Cova *et al.*, 2016) também demonstraram elevação nos níveis de prolina sob condições salinas. Além de sua atuação fisiológica, a prolina apresenta potencial para ser empregada como marcador bioquímico auxiliar em programas de seleção de genótipos tolerantes à salinidade, especialmente em fases precoces de desenvolvimento ou em triagens in vitro. Sua quantificação relativamente simples, associada à estabilidade como indicador em diferentes tecidos, permite sua aplicação em protocolos de melhoramento assistido por fenótipos. Para espécies nativas ou subutilizadas, como *Gliricidia sepium*, que apresentam ampla diversidade genética em bancos de germoplasma, a utilização da prolina como critério complementar pode otimizar a identificação

de materiais com maior capacidade adaptativa. Assim, os dados aqui apresentados fornecem subsídios importantes para a construção de estratégias de avaliação rápida e de baixo custo, com aplicabilidade direta na conservação e uso sustentável da variabilidade genética da espécie em ambientes com risco de salinização.

#### **4 CONCLUSÃO**

A prolina pode ser utilizada como um indicador bioquímico para a pré-seleção in vitro de genótipos de gliricídia tolerantes ao estresse salino. Os acessos avaliados apresentam comportamento variável quanto ao acúmulo de prolina em folhas e caule.

Para validação da seleção in vitro de genótipos tolerantes a salinidade, ecomenda-se a aplicação do protocolo para um numero maior de acessos.

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Embrapa Tabuleiros Costeiros pelo suporte técnico e infraestrutura disponibilizados para a realização deste trabalho, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos (Programa 001) e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade (PPGAGRI) da Universidade Federal de Sergipe.

## REFERÊNCIAS

- ADERALDO, F.; ÍCARO C.; BRAGA, J. D. F.; FERREIRA, G. de S.; COSTA, F. R. da S.; BRITO, P. O. B. de; GONDIM, F. A. Efeitos combinados da seca e da salinidade no crescimento de plantas de mulungu (*Erythrina Velutina* Wild) / Combined effects of drought and salinity on growth of mulungu plants (*Erythrina Velutina* Wild). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 2732–2740, 2020.
- AGHDAM, M. S.; LUO, Z.; JANNATIZADEH, A.; SHEIKH-ASSADI, M.; SHARAFI Y.; FARMANI, B. *et al.* Employing exogenous melatonin applying confers chilling tolerance in tomato fruits by upregulating ZAT2/6/12 giving rise to promoting endogenous polyamines, proline, and nitric oxide accumulation by triggering arginine pathway activity. **Food Chemistry**, v. 275, p. 549–56, 2019.
- AKBARI, M.; MAHNA, N.; RAMESH, K.; BANDEHAGH, A.; MAZZUCA, S. Ion homeostasis, osmoregulation, and physiological changes in the roots and leaves of pistachio rootstocks in response to salinity. **Protoplasma**, v. 255, n. 5, p. 1349–62, 2018.
- ARAB, M. M.; YADOLLAHI, A.; EFTEKHARI, M.; AHMADI, H.; AKBARI, M.; KHORAMI, S. S. Modeling and optimizing a new culture medium for in vitro rooting of G× N15 Prunus rootstock using artificial neural network-genetic algorithm. **Science Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–18, 2018.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant Soil**, v. 39, n. 1, p. 205–7, 1973.
- CARDOSO, M. N.; ARAÚJO, A. G. D.; OLIVEIRA, L. A. R.; CARDOSO, B. T.; MUNIZ, A. V. C. S.; SANTOS, P. S. N. *et al.* Proline synthesis and physiological response of cassava genotypes under in vitro salinity. **Ciencia Rural**, v. 49, n. 6, p. e20170175, 2019.
- CASTRO, F. C.; SANTOS, A. M. Salinidade do solo e risco de desertificação na região semiárida. **Mercator**, v. 19, p. e19002, 2020.
- CORWIN, D. L. Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas. **European Journal of Soil Science**, v. 72, n. 2, p. 842–62, 2021.
- COVA, A. M. W.; AZEVEDO NETO, A. D.; RIBAS, R. F.; GHEYI, H. R.; MENEZES, R. V. Effect of salt stress on growth and contents of organic and inorganic compounds in noni (*Morinda citrifolia* L.). **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 43, p. 2401–10, 2016.
- DOGRU, A.; CANAVAR, S. Physiological and biochemical components of salt tolerance in plants. **Academic Platform Journal of Engineering and Science**, v. 8, n. 1, p. 155–74, 2020.
- EDVAN, R. L.; CARNEIRO, M. S.; SILVA, S. E. B.; ALBUQUERQUE, D. R.; PEREIRA, E. S.; BESERRA, L. R. *et al.* Análise de crescimento da gliricídia submetida a diferentes manejos de corte. **Arquivos de Zootecnia**, v. 65, n. 250, p. 166, 2016.
- FAO. **Global map of salt-affected soils**. Rome (IT): Food and Agriculture Organization; 2024. 20p. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/31be1fac-a057-4b6b-80ea-a4554910368c/content>

FAYEK, M. A.; SHAABAN, T. E. A.; ZAYED, N. S.; OBEIDY, A. A. B.; TABA, T. A. Effect of salt stress on chemical and physiological contents of jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider) using in vitro culture. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 6, p. 446–50, 2010.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529–535, 2019.

FOUGÈRE, F.; LE RUDULIER, D.; STREETER, J. G. Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant Physiology**, v. 96, n. 4, p. 1228–36, 1991.

FREITAS, P. A. F.; MIRANDA R. S.; MARQUES, E. C.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO E. A. A salt tolerance induced by exogenous proline in maize is related to low oxidative damage and favorable ionic homeostasis. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 37, p. 911–24, 2018.

GHOSH, K.; ISLAM, N.; SIDDIQUI, N.; CAO, X.; KHAN, R. Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. **Plant Biology**, v. 24, p. 227–39, 2022.

GOMES, F. A.; RODRIGUES, E. N.; RODRIGUES, T. C.; SANTOS, V. J. N.; ALCÂNTARA, S. F.; Souza SOUZA, F. N. Estresse hídrico e salino na germinação de sementes de feijão-caupi cv. BRS Pajeú. **Colloquium Agrariae**, v.15, n. 4, p. 60–73, 2019.

GRYGIER, A.; CHAKRADHARI, S.; RATUSZ, K.; RUDZINSKA, M.; PATEL, K. S.; LADZDIN, D. *et al.* Seven underutilized species of the Fabaceae family with high potential for industrial application as alternative sources of oil and lipophilic bioactive compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 186, p. 115251, 2022.

GUAN, C.; CUI, X.; LIU, H.; LI, X.; LI, M.; ZHANG, Y. Proline biosynthesis enzyme genes confer salt tolerance to switchgrass (*Panicum virgatum* L.) in cooperation with polyamines metabolism. **Frontier in Plant Science**, v. 11, p. 46, 2020.

HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M. N.; WANI, A. S.; PICHTEL, J.; AHMAD, A. Papel da prolina em ambientes em mudança: uma revisão. **Plant Signal Behavior**, v. 7. p. 1456–66, 2012.

KHAN, M. A.; RAZA, A.; AWAN, S. A.; SHAH, G. A.; RIZWAN, M.; ALI, B. *et al.* Amelioration of salt induced toxicity in pearl millet by seed priming with silver nanoparticles (AgNPs): The oxidative damage, antioxidant enzymes and ions uptake are major determinants of salt tolerant capacity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 156, p. 221–32, 2019.

LOZANO-MONTAÑA, P. A.; SARMIENTO, F.; MEJÍA-SEQUERA, L. M.; ÁLVAREZ-FLÓREZ, F.; MELGAREJO, L. M. Physiological, biochemical and transcriptional responses of *Passiflora edulis* Sims f. *edulis* under progressive drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 275, p. 109655, 2021.

MENEZES, R. V.; AZEVEDO NETO, A. D.; RIBEIRO, M. D. O.; COVA, A. M. W. Growth and contents of organic and inorganic solutes in amaranth under salt stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 1, p. 22–30, 2017.

MUCHATE, N. S.; NIKALJE, G. C.; RAJURKAR, N. S.; SUPRASANNA, P.; NIKAM, T. D. Plant salt stress: adaptive responses, tolerance mechanism and bioengineering for salt tolerance. **Botanical Review**, v. 82, n. 4, p. 371–406, 2016.

NAHAR, K.; HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Funções dos osmólitos na adaptação de plantas à seca e à salinidade. In: IQBAL, N.; NAZAR, R.; KHAN, N. A. editors. **Osmólitos e aclimação de plantas a ambientes em mudança: tecnologias ômicas emergentes**. New Delhi: Springer Índia. p. 37–68, 2016.

SANTOS, M. D. A. C.; LEDO, A. S.; LEDO, C. A. S.; SOUZA, F. V. D.; SILVA JUNIOR, J. F. Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação in vitro de segmentos nodais de mangabeira. **Revista Ciencia Agrônômica**, v. 42, p. 735–41, 2011.

SEMIDA, W. M.; EL-MAGEED A.; TAIA, A.; ABDELKHALIK, A.; HEMIDA, K. A.; ABDURRAHMAN, H. A. *et al.* Selenium modulates antioxidant activity, osmoprotectants, and photosynthetic efficiency of onion under saline soil conditions. **Agronomy**, v. 11, n. 5, p. 855, 2021.

SINGH, D.; KAUR, S.; KUMAR, A. In vitro drought tolerance in selected elite clones of *Eucalyptus tereticornis* Sm. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, n. 17, 2020.

SOUZA, L. P.; NOBRE, R. G.; SILVA, E. M.; PINHEIRO, F. W. A.; ALMEIDA, L. L. S. Crescimento de porta-enxerto de goiabeira sob águas salinizadas e doses de nitrogênio. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 1, p. 53–60, 2015.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: A multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, p. 89–97, 2010.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 35, p. 753–2008.