

ELANIA FREIRE DA SILVA

**CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA RESISTÊNCIA  
DIFERENCIAL AO ESTRESSE SALINO EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA**

Serra Talhada – PE

2022

S  
I  
L  
V  
A

E  
F

C  
A  
R  
A  
C  
T  
E  
R  
Í  
S  
T  
I  
C  
A  
S

F  
I  
S  
I  
O  
L  
Ó  
F  
I  
C  
A  
S

·  
·  
·  
2  
0  
2  
2

ELANIA FREIRE DA SILVA

**CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA RESISTÊNCIA  
DIFERENCIAL AO ESTRESSE SALINO EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz Ferreira da Silva

Coorientador: Dr. Hugo Rafael Bentzen Santos

Serra Talhada – PE

2022

## FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S586c

Silva, Elania Freire da  
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA RESISTÊNCIA DIFERENCIAL AO ESTRESSE  
SALINO EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA / Elania Freire da Silva. - 2022.  
79 f.

Orientador: Sergio Luiz Ferreira da Silva.  
Coorientador: Hugo Rafael Bentzen Santos.  
Inclui referências e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Serra Talhada, 2022.

1. Crescimento. 2. Estresse abiótico. 3. Fotoquímica. 4. Fotossíntese. 5. Íons tóxicos. I. Silva, Sergio Luiz Ferreira da, orient. II. Santos, Hugo Rafael Bentzen, coorient. III. Título

CDD 581.15

---

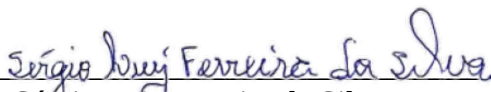
ELANIA FREIRE DA SILVA

**CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA RESISTÊNCIA  
DIFERENCIAL AO ESTRESSE SALINO EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA**

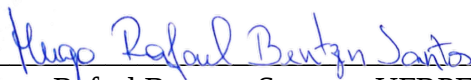
Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADO em 25/02/2022.

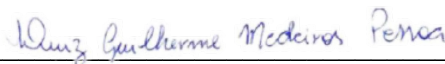
Banca Examinadora



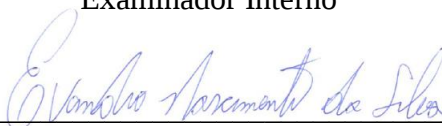
Prof. Dr. Sérgio Luiz Ferreira da Silva – UFRPE/UAST  
Orientador



Dr. Hugo Rafael Bentzen Santos – UFRPE/UAST  
Coorientador



Prof. Dr. Luiz Guilherme Medeiros Pessoa – UFRPE/UAST  
Examinador Interno



Prof. Dr. Evandro Nascimento da Silva – UECE  
Examinador Externo

À minha amada mãe, Helena Freire, ao meu pai, José Pereira e, a minha irmã, Elaine Freire por me mostrarem todos os dias o verdadeiro significado do amor incondicional.

Dedico

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu gradioso Deus, por me proteger, guiar e me dar forças para seguir e trilhar novos caminhos.

Aos meus pais, Helena Freire e José Pereira, pelo amor, carinho e apoio. À minha mãe, pelo exemplo de mulher, que com sua simplicidade e dedicação me ensinou a seguir os melhores caminhos. Ao meu pai por se fazer presente e me apoiar nas minhas decisões. Amo vocês.

À minha segunda mãe, Penha Freire, por ter sido enviada por Deus na minha vida, agradeço a proteção, carinho e o cuidado de sempre.

À minha irmã, Elaine Freire, por ser minha companheira, amiga e torcer pelo meu sucesso.

Aos meus avós, Doraci e José Freire (*in memorian*) pelo exemplo de seres humanos íntegros.

Aos meus padrinhos, Wânea e Vicente, que desde o início acreditaram no meu potencial, vocês foram os maiores incentivadores para a concretização desse sonho.

Ao meu namorado, Alexandre Jardim, um exemplo de persistência e dedicação, obrigada por estar sempre presente, seu apoio, incentivo, sua ajuda, compreensão e paciência foram fundamentais em todos os momentos desse trabalho e da minha vida.

Aos meus irmãos de coração, Alexandre, Isabel e Juliana, que mesmo distantes acompanharam esse processo e torceram pela minha vitória.

A toda minha família pelo apoio concedido durante toda a minha vida.

À Íami Maniçoba e Camila Ferraz pelos cuidados, agradeço a Deus por tê-las colocado no meu caminho.

As minhas amigas queridas, Edilene e Mylena pelo acolhimento e todo carinho durante anos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Luiz Ferreira da Silva pelos ensinamentos concedidos, paciência e dedicação.

Ao meu coorientador, Dr. Hugo Bentzen pelos conhecimentos compartilhados e a ajuda em todos os processos desse trabalho.

Aos membros do Grupo de Pesquisa Agrícola do Semiárido (GPAS), Pedro e Simone. A Pedro, pela amizade e interação neste trabalho desde a implantação até as últimas análises. À Simone pela amizade compartilhada durante os últimos anos.

À Maria Juciclêa pela amizade construída e assistência na realização desse trabalho.

Ao meu amigo, Rafael Alves que apesar da distância sempre esteve presente, me apoiando, aconselhando e torcendo por mim.

Aos amigos Marcela e Juracy, que sempre estiveram dispostos a ajudar, compartilhando de seus conhecimentos.

Agradeço aos amigos Raliuson, Edinete, Kelem e Marlos pelos momentos de descontração, e por terem sido tão acolhedores, os dias difíceis se tornaram mais leves na companhia de vocês.

Aos amigos da turma 2020.1 do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal: Erison Martins, Lauizy Andrade, Nágila Guedes, Rhaiana Aviz, Pablo Almeida, Rosemeire Santos, Sidney Anderson e Simone Andrea. Em especial, agradeço à Rosemeire que desde a graduação compartilha de sua amizade e seus conhecimentos.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal – PGPV. Em especial ao Prof. Thieres Silva pela amizade construída e pelo incentivo.

Aos membros da banca examinadora pelas valiosas contribuições.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal – PPGPV pela estrutura e equipamentos concedidos para realização deste trabalho.

A Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de pesquisa.

A todos os funcionários que compõe a Unidade Acadêmica de Serra Talhada, em especial, a equipe de transporte e manutenção.

Obrigada a todos!

## RESUMO GERAL

A concentração elevada de sais no solo é um dos fatores limitantes da produção agrícola, a toxicidade iônica causada pelo estresse salino nas plantas, ocorre com o resultado do balanço entre os processos de absorção, acumulação e distribuição de íons salinos e tóxicos na planta. A videira é uma das culturas mais difundidas mundialmente, no entanto, ainda não se conhece genótipos que resistam ao estresse salino. O presente trabalho tem o objetivo verificar o desempenho e potencial de plantas de videiras enxertadas sob salinidade, tendo em vista observar a influência da utilização de porta-enxerto, em busca de estabelecer mecanismos bioquímicos/fisiológicos concedido pelo porta-enxerto associados. As mudas de videira foram obtidas pela enxertia da variedade Vitória sobre três genótipos de porta-enxertos contrastantes na exclusão de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . As plantas foram irrigadas diariamente, e suplementadas com solução nutritiva concentrada em dias alternados. Após 20 dias do transplântio das mudas, foram iniciados os tratamentos salinos de solução livre de sal (Controle - 0 mM) ou acrescida (50 mM e 100 mM de NaCl). O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com tratamentos em fatorial 3 x 3, três combinações de enxerto/porta-enxerto de videira (Vitória/IAC 313, Vitória/IAC 572 e Vitória/SO4) e três concentrações de NaCl, com três repetições por tratamento. O estudo encontrou resultados que confirmam o efeito negativo da salinidade nas plantas de videira enxertadas. Este efeito está relacionado ao bloqueio na fotossíntese que pode inibir o crescimento da planta e, também, o rendimento e a produção, isso ocorre principalmente devido o fechamento estomático. De modo geral, os resultados mostram características associadas com a sensibilidade e/ou tolerância à salinidade, nas mudas enxertadas.

**Palavras-chave:** Estresse abiótico, Fotossíntese, Proteção oxidativa, Semiárido, *Vitis vinifera*.

## GENERAL ABSTRACT

The high concentration of salts in the soil is one of the limiting factors of agricultural production. The ionic toxicity caused by salt stress in plants occurs as a result of the balance between the processes of absorption, accumulation and distribution of saline and toxic ions in the plant. The grapevine is one of the most widespread crops in the world, however, there is still no known genotypes that are resistant to salt stress. The present work aims to verify the performance and potential of grafted grapevine plants under salinity, in order to observe the influence of the use of rootstock, in an attempt to establish biochemical/physiological mechanisms granted by the associated rootstock. The grapevine seedlings were obtained by grafting the Vitória variety on three rootstock genotypes contrasting in Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> exclusion. The plants were irrigated daily, and supplemented with concentrated nutrient solution on alternate days. After 20 days of seedling transplanting, salt treatments of salt-free (Control - 0 mM) or added (50 mM and 100 mM NaCl) solution were started. The statistical design used was entirely randomized with treatments in a 3 x 3 factorial, three grapevine scion/vine rootstock combinations (Vitória/IAC 313, Vitória/IAC 572 and Vitória/SO4) and three NaCl concentrations, with three repetitions per treatment. The study found results that confirm the negative effect of salinity on grafted grapevine plants. This effect is related to the blockage in photosynthesis that can inhibit plant growth and also yield and production, this occurs mainly due to stomatal closure. In general, the results show characteristics associated with sensitivity and/or tolerance to salinity in grafted seedlings.

**Keywords:** Abiotic stress, Photosynthesis, Oxidative protection, Semiarid, *Vitis vinifera*.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura 1.** Mecanismo de tolerância e danos causados pelo estresse osmótico induzido pela salinidade em plantas.....18
- Figura 2.** Diagrama simplificado da via do metabolismo C3 em videira no período diurno.....19
- Figura 3.** Esquema do ajuste osmótico ocorrendo quando as concentrações de solutos dentro de uma célula vegetal aumentam para manter a pressão positiva de turgor (Fonte: BUCHANAN, 2015).....20
- Figura 4.** Modelo esquemático apresentando os principais transportadores de íons para manter baixa concentração de  $\text{Na}^+$  no citosol celular sob salinidade. Pelo modelo proposto, as proteínas quinases SOS2 e SOS3, sensível ao  $\text{Ca}^{2+}$ , ativam tanto a proteína SOS1 como também a proteína NHX1, ambas envolvidas na exclusão de  $\text{Na}^+$  (Fonte: BUCHANAN et al., 2015).....22
- Figura 5.** Esquema representando a formação de diferentes espécies reativas de oxigênio e nitrogênio oxigênio atmosférico ( $\text{O}_2$ ) que é excitado ou reduzido formando o oxigênio singleto ( $^1\text{O}_2$ ), radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), sendo que este último interage com  $\text{Fe}^{2+}$  para formar radicais hidroxila ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) através da reação de Fenton (Fonte: Adaptado de MITTLER, 2017).....23
- Figura 6.** Representação esquemática do ciclo de vida da videira, e suas estruturas vegetativas (broto, caule e folha) e reprodutivas (flor, fruto e semente).....28

### CAPÍTULO II

- Figura 1.** Alocação relativa (%) de massa fresca em plantas de videira variedade Vitória enxertadas sobre os porta-enxertos IAC 313 (A), IAC 572 (B) e SO4 (C) crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....48
- Figura 2.** Aspecto visual de plantas de videira variedade Vitória enxertadas sobre os

porta-enxertos IAC 313 (A), IAC 572 (B) e SO4 (C) crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação. Observar ao lado das plantas uma régua de 1 m, como referência para a altura das plantas.....49

**Figura 3.** Sintomas foliares característicos apresentados em mudas de videira da cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....50

**Figura 4.** Fotossíntese líquida (A), taxa de transpiração (B), condutância estomática (C) e pressão parcial intercelular de CO<sub>2</sub> (D) em mudas de videira da cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....51

**Figura 5.** Estimativas da eficiência de uso de água (A) e eficiência de carboxilação instantânea (B) em mudas de videira da cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....52

**Figura 6.** Mudanças do potencial hídrico em mudas de videira cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....53

**Figura 7.** Redimento quântico atual do PSII (A), quenching fotoquímico (B), taxa de transporte de elétrons (C) e quenching não fotoquímica (D) em mudas de videira da cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação. Os valores de redimento quântico potencial do PSII (razão Fv/Fm) para as mudas sobre IAC 313 foram de 0,8±0,077 e 0,79±0,016; para o IAC 572 foram 0,77±0,020 e 0,72±0,045 e para o SO4 foram 0,79±0,009 e 0,75±0,026, para os tratamentos de 0 e 100 mM de NaCl, respectivamente.....54

**Figura 8.** Curvas de indução fotossintética por luz apresentando os parâmetros de rendimento quântico atual do PSII (A), quenching fotoquímico (B), taxa de transporte de elétrons (C) e quenching não fotoquímica (D) em mudas de videira cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação. Os valores de redimento quântico potencial do PSII (razão Fv/Fm) para as mudas foram:

IAC 313 de  $0,85\pm0,090$  e  $0,81\pm0,016$ ; IAC 572 de  $0,78\pm0,005$  e  $0,74\pm0,050$  e SO4 foram de  $0,77\pm0,014$  e  $0,74\pm0,025$ , para os tratamentos de 0 e 100 mM de NaCl, respectivamente.....56

**Figura 9.** Taxa de acúmulo de sódio ( $\text{Na}^+$ ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....59

**Figura 10.** Taxa de acúmulo de potássio ( $\text{K}^+$ ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....60

**Figura 11.** Teor de proteínas solúveis (A) e atividade das enzimas catalase (B) e peroxidase do ascorbato (C) em mudas de videira da cultivar Vitória sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....63

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Valores médios da condutividade elétrica em função dos teores de NaCl da água usada na rega das plantas de videira submetidas a concentrações salinas.....40

**Tabela 2.** Conteúdo de massa seca (MS) de raízes, caules, folhas e de planta inteira de mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....46

**Tabela 3.** Taxa de acúmulo diária (TAD) de MS de raízes, caules e folhas e planta inteira de mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....46

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 4.</b> | Teores de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> , <i>totais</i> e relação clorofila <i>a/b</i> em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....                                                      | 48 |
| <b>Tabela 5.</b> | Teor de sódio (Na <sup>+</sup> ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....                                                                                                             | 57 |
| <b>Tabela 6.</b> | Teor de potássio (K <sup>+</sup> ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....                                                                                                           | 58 |
| <b>Tabela 7.</b> | Teor de cloreto (Cl <sup>-</sup> ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....                                                                                                           | 61 |
| <b>Tabela 8.</b> | Teor de TBARS e glutathione reduzida (GHS) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.....                                                                                                   | 64 |
| <b>Tabela 9.</b> | Teor de ascorbato total, reduzido e oxidado, e relação do teor de ascorbato reduzido em relação ao conteúdo total (Reduzido/Total) em folhas de mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 573 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação..... | 65 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>                                                                                                                                    | <b>13</b> |
| <b>HIPÓTESE E OBJETIVOS .....</b>                                                                                                                                | <b>14</b> |
| HIPÓTESE.....                                                                                                                                                    | 14        |
| OBJETIVO GERAL .....                                                                                                                                             | 14        |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                                                                                                      | 15        |
| <b>CAPÍTULO I .....</b>                                                                                                                                          | <b>16</b> |
| <b>CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA: MECANISMOS DE<br/>HOMEOSTASE IÔNICA E MODULAÇÃO OXIDATIVA ENVOLVIDOS NA<br/>RESISTÊNCIA A SALINIDADE EM PLANTAS .....</b> | <b>17</b> |
| 1.1. Estresse salino .....                                                                                                                                       | 17        |
| 1.2. Efeito do estresse salino no metabolismo vegetal.....                                                                                                       | 18        |
| 1.3. Homeostase iônica... ..                                                                                                                                     | 21        |
| <b>2. METABOLISMO OXIDATIVO .....</b>                                                                                                                            | <b>22</b> |
| 2.1. Produção de espécies reativas de oxigênio (EROs).....                                                                                                       | 22        |
| 2.2. Proteção oxidativa em plantas.....                                                                                                                          | 24        |
| 2.3. Sistemas enzimáticos e não-enzimáticos.....                                                                                                                 | 25        |
| <b>3. Cultura da videira e a utilização do porta-enxerto na tolerância a salinidade</b>                                                                          | <b>26</b> |
| <b>CAPÍTULO II .....</b>                                                                                                                                         | <b>35</b> |
| <b>CAPÍTULO II – CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA<br/>RESISTÊNCIA DIFERENCIAL AO ESTRESSE SALINO EM PORTA-<br/>ENXERTOS DE VIDEIRA .....</b>           | <b>36</b> |
| <b>RESUMO .....</b>                                                                                                                                              | <b>36</b> |
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                                       | <b>38</b> |
| <b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                                                                                               | <b>39</b> |
| 2.1. Local do experimento, material vegetal e condução dos tratamentos.....                                                                                      | 39        |
| 2.2. Mensurações de parâmetros de fluorescência: curvas de luz e de indução .....                                                                                | 40        |

|                                                                                                                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3. Medidas de trocas gasosas .....                                                                                                                                           | 41        |
| 2.4. Taxa de Acúmulo Diário de Massa Seca (MS).....                                                                                                                            | 41        |
| 2.5. Potencial hídrico foliar ( $\Psi_{wf}$ ).....                                                                                                                             | 41        |
| 2.6. Teores de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e totais .....                                                                                                                   | 42        |
| 2.7. Teor de sódio ( $Na^+$ ), potássio ( $K^+$ ) e cloreto ( $Cl^-$ ) .....                                                                                                   | 42        |
| 2.8. Taxa de Acúmulo Diário de $Na^+$ , $K^+$ e $Cl^-$ .....                                                                                                                   | 42        |
| 2.9. Extração de proteínas e atividades enzimáticas .....                                                                                                                      | 43        |
| 2.10. Teor de ascorbato reduzido e glutathione reduzida .....                                                                                                                  | 44        |
| 2.11. Teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....                                                                                                        | 44        |
| 2.12. Delineamento estatístico e análise dos dados .....                                                                                                                       | 45        |
| <b>3. RESULTADOS .....</b>                                                                                                                                                     | <b>45</b> |
| 3.1. Crescimento, alocação de massa seca, conteúdo de clorofila e sintomas de toxicidade das plantas enxertadas de videira crescidas na ausência e presença de salinidade..... | 45        |
| 3.2. Trocas gasosas, parâmetros fotoquímicos e potencial hídrico em plantas de videira crescidas na ausência e presença de salinidade.....                                     | 50        |
| 3.3. Teores de $Na^+$ , $K^+$ , $Cl^-$ e taxa de acumulação de $Na^+$ , $K^+$ em plantas enxertadas de videira crescidas na ausência e presença de salinidade .....            | 56        |
| 3.4. Atividade enzimática, não enzimática e peroxidação lipídica (TBARS) em plantas de videira enxertadas na ausência e presença de salinidade .....                           | 61        |
| <b>4. DISCUSSÃO.....</b>                                                                                                                                                       | <b>65</b> |
| <b>5. CONCLUSÃO .....</b>                                                                                                                                                      | <b>70</b> |
| <b>6. REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                                                                     | <b>71</b> |

## INTRODUÇÃO GERAL

A salinidade prejudica o crescimento e o desenvolvimento das plantas devido a vários fatores que estão ligados aos principais processos fisiológicos, como interrupção na homeostase dos íons, alteração do balanço hídrico, inibição da fotossíntese e vários processos bioquímicos, incluindo atividades enzimáticas (AHANGER et al., 2019; MAHOUACHI, 2018). Quase 20% de todas as terras irrigadas no mundo são afetadas pela salinidade, que causa e é uma grande restrição ao rendimento das culturas (FITA et al., 2015). Dessa forma, conhecer os mecanismos que fundamentam a tolerância ao sal das plantas, especialmente suas características relacionadas ao transporte de íons, é importante, pois permitiria o melhoramento de culturas tolerantes ao sal.

Sob condições de estresse salino, o estresse oxidativo normalmente ocorre devido a uma mudança no equilíbrio entre a luz recebida pelas folhas e a eficiência da absorção de luz durante a fotossíntese, um fenômeno associado à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e aumento do vazamento de elétrons para as células em biofilmes (KARIMI, MOHAMMADPARAST; MINAZADEH 2019; ABDEL LATEF et al., 2019). O acúmulo excessivo de oxigênio EROs é tóxico e destrutivo para as células, pois danifica as membranas celulares, cloroplastos, proteínas e ácidos nucleicos e, finalmente, interrompe o metabolismo celular normal (MITLER 2002; GUPTA; HUANG 2014). Para superar o estresse salino e reduzir os danos causados pelas EROs, as plantas são equipadas com vários sistemas de proteção enzimática, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e metabólitos não enzimáticos semelhantes, incluindo glutatona (ABDEL LATEF et al., 2019).

As plantas quando submetidas ao estresse salino podem apresentar uma superexposição aos íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) que se acumulam nos tecidos da planta, o que pode interromper o equilíbrio de nutrientes em altas doses, causando posteriormente um comprometimento fisiológico significativo (MINAZADEH, KARIMI; PARAST, 2018). Em solos salinos a alta força osmótica reduz a absorção de água pelas raízes da planta. Esta condição induz estresse osmótico, desequilíbrio iônico, toxicidade iônica e desnutrição nas plantas (GUPTA; HUANG, 2014). Na regulação de alguns processos fisiológicos das plantas, o cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) é capaz de acionar funções positivas. No entanto, da mesma forma torna-se igualmente tóxico as plantas quando encontrado em grandes concentrações no solo, especialmente associado ao  $\text{Na}^+$  (LI et al., 2017). A toxicidade causada pelo cloreto é muito relatada em culturas lenhosas perenes, inclusive em videiras, onde o acúmulo deste íon nas

folhas está correlacionado com diminuições na fotossíntese, rendimento e qualidade das culturas (GONG et al., 2010; FORT et al., 2013).

A videira (*Vitis vinifera* L.) apresenta extenso cultivo em várias regiões do mundo, informações do relatório estatístico da Organização Internacional da Vinha e do Vinho – OIV sobre vitivinicultura mundial mostram que as áreas globais de plantio de uva aumentaram rapidamente nos últimos anos, compreendendo por volta de sete milhões e meio de hectares no ano de 2018 e mais de 44,78 milhões de toneladas de frutas silvestres produzidas em todo o mundo (OIV, 2019). No Brasil, a vitivinicultura tem ascendido na fruticultura nacional, com ampliação do cultivo exclusivo de regiões temperadas a semiáridas, com destaque para o Submédio do Vale do São Francisco, que é responsável por mais de 15% de toda a produção nacional (CAMARGO et al., 2011).

Nas regiões semiáridas os volumes de evapotranspiração excedem os volumes de precipitação ao longo do ano, favorecendo o processo de salinização dos solos (HANIN, 2016). Assim, para vitivinicultura nessas regiões o uso de porta-enxertos com característica de exclusão de sais pode contribuir para a sustentabilidade da cultura, uma vez que os mecanismos de tolerância conferidos pelo porta-enxerto são transmitidos para a muda/copa usada na enxertia, é muito importante que o porta-enxerto comumente utilizado apresente uma boa compatibilidade com as variedades copa, dessa forma pode garantir uma melhor produtividade das plantas mesmo em condições adversas. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo verificar o potencial do porta-enxerto utilizado na enxertia de mudas de videira sob salinidade, a fim de caracterizar mecanismos bioquímicos/fisiológicos conferidos pelo porta-enxerto associados com a homeostase iônica, eficiência fotossintética e proteção oxidativa.

## **HIPÓTESE E OBJETIVOS**

A utilização de genótipos de porta-enxertos com características de exclusão de íons tóxicos em mudas de videira sob salinidade confere maior tolerância ao sal em plantas enxertadas.

## **OBJETIVO GERAL**

Avaliar o potencial de porta-enxertos em atenuar distúrbios metabólicos envolvendo processos vitais como fotossíntese, homeostase iônica e proteção oxidativa em plantas enxertadas de videira submetidas à salinidade.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar as mudanças nas trocas gasosas por medidas de condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ), assimilação líquida de  $CO_2$  ( $P_N$ ), concentração intercelular de  $CO_2$  ( $C_i$ ) e estimativa da eficiência de carboxilação instantânea ( $P_N/C_i$ ) e de uso de água ( $P_N/E$ ) em plantas enxertadas de videira na ausência e presença de salinidade;
- ✓ Estimar a eficiência fotoquímica por medidas da taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), quenching fotoquímico (qP) e não fotoquímico (NPQ) e Redimento quântico atual do PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) em plantas enxertadas de videira na ausência e presença de salinidade;
- ✓ Determinar os conteúdos de clorofilas *a*, *b* e totais em plantas enxertadas de videira na ausência e presença de salinidade;
- ✓ Averiguar de danos oxidativos (conteúdo de TBARS) em folhas de plantas enxertadas de videira submetidas ou não ao estresse salino;
- ✓ Mensurar o potencial hídrico de porta-enxertos e plantas enxertadas na ausência e presença de NaCl;
- ✓ Avaliar as mudanças na capacidade de proteção oxidativa com base na atividade das enzimas APX e CAT em folhas de plantas enxertadas na ausência e presença de sal;
- ✓ Estimar os conteúdos e o balanço redox de antioxidantes não enzimáticos ascorbato (ASC) e glutathiona (GSH), em folhas de plantas enxertadas de videira cultivadas na ausência e presença de salinidade;
- ✓ Verificar a intensidade do estresse iônico causado pela salinidade com base em medidas de massa fresca, conteúdos de  $Na^+$ ,  $K^+$  e  $Cl^-$  em plantas enxertadas de videira na ausência e presença de salinidade.

## **CAPÍTULO I**

### **REVISÃO DE LITERATURA**

#### **MECANISMOS DE HOMEOSTASE IÔNICA E MODULAÇÃO OXIDATIVA ENVOLVIDOS NA RESISTÊNCIA A SALINIDADE EM PLANTAS**

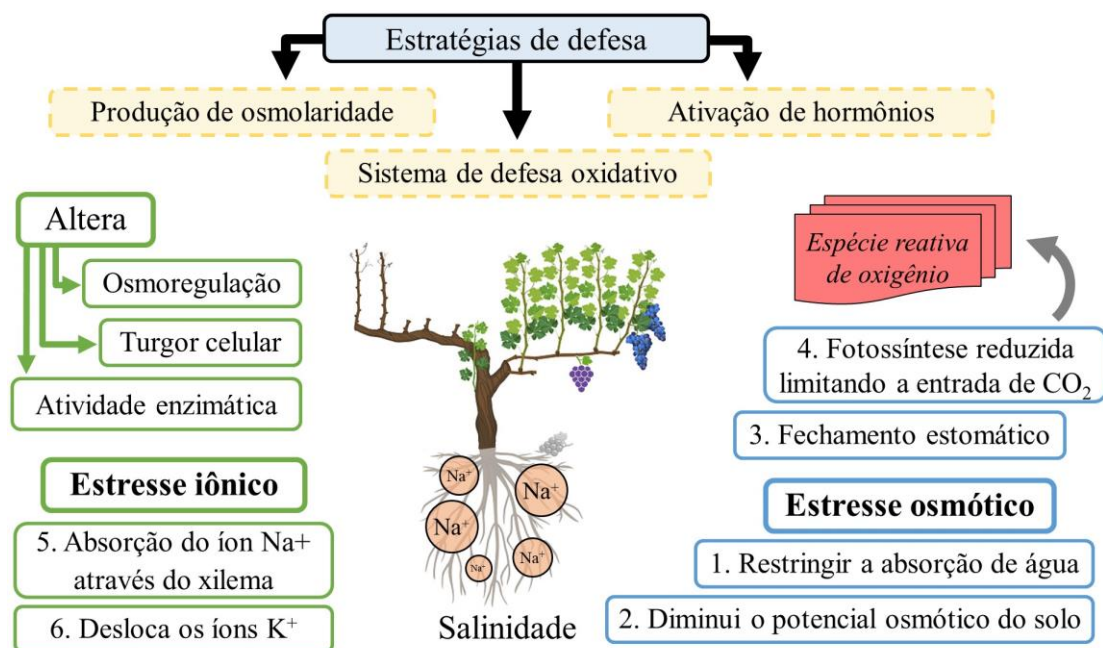
## **CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA: MECANISMOS DE HOMEOSTASE IÔNICA E MODULAÇÃO OXIDATIVA ENVOLVIDOS NA RESISTÊNCIA A SALINIDADE EM PLANTAS**

### **1.1. Estresse salino**

A salinidade é um dos principais fatores que contribuem para o declínio da produtividade global das culturas (SOUZA et al., 2021). Em regiões áridas e semiáridas, com alta evaporação e baixa precipitação, a irrigação é necessária para garantir a produção agrícola. No entanto, o uso de água com altas concentrações salinas e a falta de drenagem eficaz têm resultado no aumento da salinidade nas áreas agrícolas (FIGUEIREDO et al., 2019). O processo de salinização do solo acelerou rapidamente, e já representa cerca de 20% da área irrigada total do mundo (HASSAN et al., 2021). No Brasil, cerca de 2% do solo do país está exposto à salinidade, principalmente no Nordeste (GORJI; TANIK; SERTEL, 2015).

As plantas encontradas nesses ambientes de elevada concentração de sais e que são menos afetadas, são denominadas halófitas, essas plantas possuem mecanismo como a compartimentalização de íons no vacúolo de suas células, o que possibilita a sua sobrevivência, elas possuem mecanismos de resistência para suportar maiores concentrações de sal, enquanto as glicófitas não possuem tais mecanismos (TAIZ et al., 2017). O comportamento diferente entre eles é atribuído à sua variação na cadeia fotossintética de transporte de elétrons, assimilação de CO<sub>2</sub>, conteúdo de pigmento fotossintético e produção de EROs. O estresse salino causa principalmente estresse osmótico, iônico e oxidativo, que alteram os aspectos morfológicos, fisiológicos e moleculares das plantas, afetando assim no seu metabolismo e crescimento (TANG et al., 2015).

Os íons sódio (Na<sup>+</sup>) e cloreto (Cl<sup>-</sup>) quando estão presentes em excesso no solo são transportados e acumulados até o nível tóxico por meio de outros íons essenciais nas células vegetais (JALIL; ANSARI, 2020). As espécies iônicas que podem induzir a salinidade são NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, CaSO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, KCl e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, sendo NaCl o sal com maior efeito devido à sua dissociação em Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (MUNNS; TESTER, 2008). A presença desses sais podem causar alterações osmóticas e/ou iônicas em nível celular, prejudicando na nutrição das plantas, no seu crescimento e desempenho (MACHADO, et al., 2017). Exemplos de efeitos osmóticos e iônicos nas plantas podem ser observados na Figura 1.



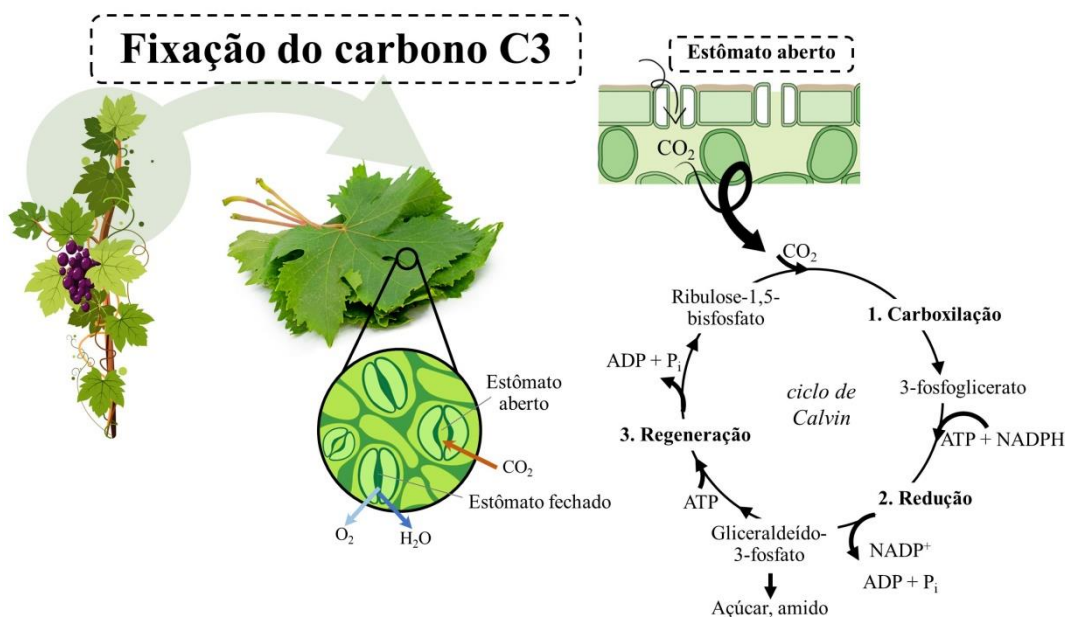
**Figura 1.** Mecanismo de tolerância e danos causados pelo estresse iônico e osmótico induzidos pela salinidade em plantas.

Sob condições de salinidade, as plantas têm duas fases de resposta: uma fase rápida (déficit hídrico) e uma fase lenta (acúmulo de sal e toxicidade) (MACHADO, et al., 2017). Em ambos os casos, a condutância estomática, a transpiração e a disponibilidade de  $\text{CO}_2$  diminuem e o processo fotossintético é alterado. Como consequência, o estresse oxidativo é induzido pelo aumento da geração e presença de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ASHRAF; HARRIS, 2013). As plantas inicialmente sofrem com o estresse salino, o estresse osmótico devido aos sais fora da planta e, posteriormente, sofre estresse iônico conforme os sais se acumulam em níveis tóxicos na célula, a fase do estresse iônico determina amplamente as diferenças genotípicas na tolerância à salinidade da planta (MUNNS et al., 1995).

## 1.2. Efeito do estresse salino na fotossíntese e no metabolismo vegetal

O estresse salino é responsável por afetar o crescimento e o metabolismo das plantas devido aos seus efeitos osmótico e iônico, tais efeitos comprometem o funcionamento celular, resultando na redução do crescimento, o que pode levar à morte da planta (PATADE et al., 2012). É característica desse estresse desencadear algumas reações comuns, que levam a desidratação celular com simultâneas alterações osmóticas, além de diminuição dos volumes citosólico e vacuolares, a partir disso é provocado o déficit hídrico na planta, que chega a reduzir a taxa de fotossíntese e superexposição energética dos cloroplastos (WANG et al., 2009).

O aumento no teor de  $\text{Na}^+$  é sempre acompanhado por acúmulo de  $\text{Cl}^-$  e perda de  $\text{K}^+$  em plantas expostas ao estresse salino (TAVAKKOLI et al., 2010; WU et al., 2018). O  $\text{K}^+$  apresenta papel importante na atividade das células vegetais em resposta ao estresse (ANSCHÜTZ et al., 2014). Já o  $\text{Cl}^-$  é um micronutriente vegetal e regula o potencial osmótico foliar, o turgor e estimula o crescimento das plantas (FRANCO-NAVARRO et al., 2016). No entanto, soluções com alto teor de  $\text{Cl}^-$  são tóxicas e prejudicam a fotossíntese e o crescimento (TAVAKKOLI et al., 2011). Nessas condições, quando a fixação de  $\text{CO}_2$  é reduzida, pode resultar em um aumento da relação  $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$  no estroma dos cloroplastos, devido ao menor uso de poder redutor (NADPH) associado com uma menor atividade do Ciclo de Calvin (FOYER et al., 2012). A figura abaixo mostra como ocorre a fixação do carbono C3 em plantas de videira.

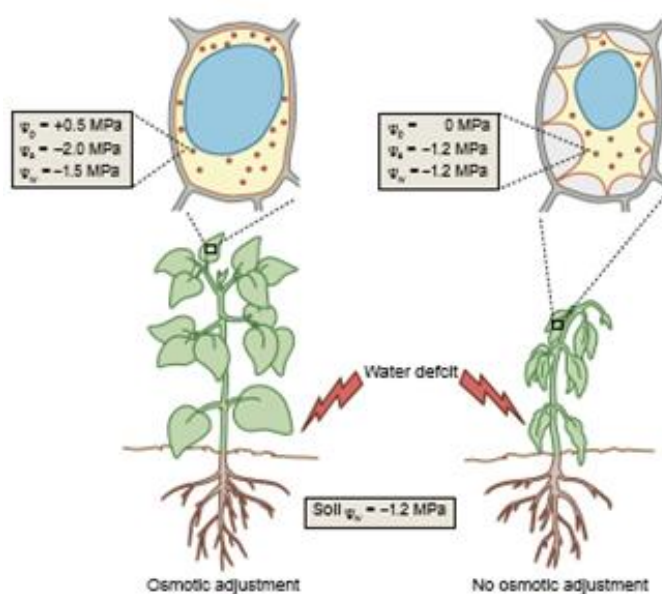


**Figura 2.** Diagrama simplificado da via do metabolismo C3 em videira no período diurno.

Dessa forma, os pigmentos que são responsáveis por captar a energia luminosa, como por exemplo, clorofilas e os carotenóides são afetados pela salinidade devido ao efluxo excessivo do íon  $\text{K}^+$  induzida pelo excesso de  $\text{Na}^+$ , causando danos a biossíntese da clorofila e também, degradando a clorofila original (LU et al., 2017; SANTA-MARÍA et al., 2018). Portanto, a manutenção do  $\text{K}^+$  em condições de salinidade ajuda na difusão do  $\text{CO}_2$  celular, uma vez que o  $\text{K}^+$  está diretamente envolvido no movimento estomático e na turgescência do tecido (TRÄNKNER et al., 2018)

A exposição da planta a elevados teores de sais prejudica a absorção de água e nutrientes devido à redução dos potenciais osmótico e hídrico do ambiente radicular; assim, as plantas apresentam dificuldade ou ficam impossibilitadas de absorver a água sendo esse processo de estresse hídrico conhecido por seca fisiológica (ALVES et al., 2011; DIAS; BLANCO, 2010). Isso acarreta redução da abertura estomática, reduzindo a assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, a produção de fotoassimilados e a produtividade da planta (BERNSTEIN et al., 1993; MUNNS, 2002).

Estresses osmóticos e iônicos causam danos às reações metabólicas e interferem no processo de reparo de fotossistemas danificados que, em última análise, levam à geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (HOSSAIN et al., 2016). A fase inicial do estresse (osmótica) é a mais danosa para a planta, o efeito iônico só é mais dominante que o osmótico em níveis muito elevados de salinidade ou em espécies sensíveis que não possuem a capacidade de controlar o transporte dos íons tóxicos (MUNNS; TESTE, 2008).



**Figura 3.** Esquema do ajuste osmótico ocorrendo quando as concentrações de solutos dentro de uma célula vegetal aumentam para manter a pressão positiva de turgor (Fonte: BUCHANAN, 2015).

Os ambientes salinos possuem um grande número de potenciais hídricos baixos e constantes disponíveis. Como o potencial hídrico desse ambiente é muito baixo, as plantas são obrigadas a diminuir seu potencial hídrico para transferir solutos das raízes para as folhas. Desta forma, plantas que crescem em salinidade e são moderadamente tolerantes podem autorregular a infiltração, evitando perdas por inchamento e, portanto, desnutrição. Plantas

sensíveis ao sal desenvolvem sintomas quando altas concentrações de íons  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  ou  $\text{SO}_4^{2-}$  se acumulam dentro das células, o que pode perturbar o equilíbrio ao inibir a ação de outros íons, como  $\text{K}^+$ , como o  $\text{Na}^+$ , além de competir com o  $\text{K}^+$  pela absorção pelas raízes, inativa enzimas e inibe a síntese proteica (TAIZ et al., 2017).

### 1.3. Homeostase iônica

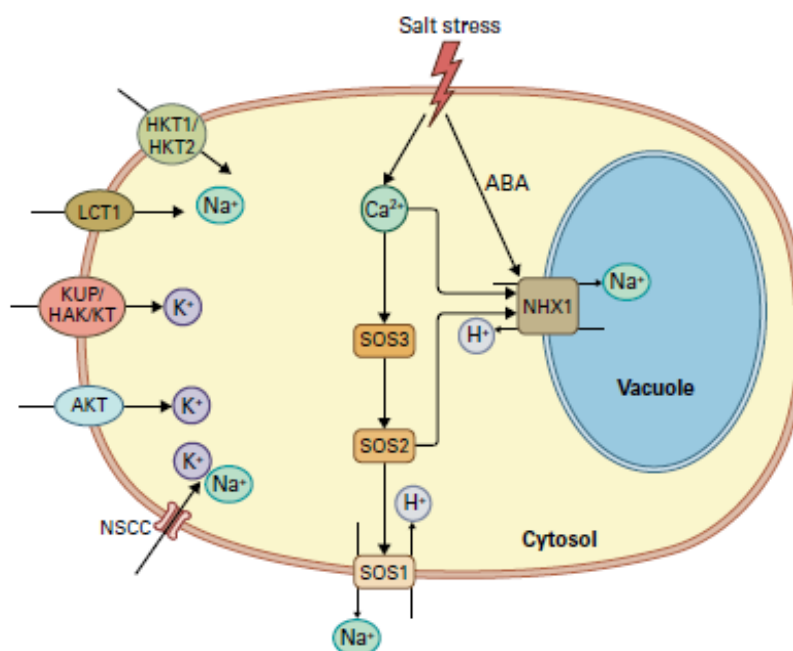
A salinidade afeta a redistribuição de íons, como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$ , resultando em uma nova homeostase. O estresse salino afeta severamente a homeostase do  $\text{K}^+$  devido à sua semelhança química com o  $\text{Na}^+$ . Sintomas de deficiência de  $\text{K}^+$  e interrupção de processos fisiológicos mediados por  $\text{K}^+$ , como síntese de proteínas e reações enzimáticas, são significativamente afetados por altas concentrações de sódio. A manutenção adequada da relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  é um fator crítico para a sobrevivência das plantas. Em condições de salinidade, alterações nas relações celulares  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  interferem nos sítios de captação local na membrana plasmática, canal catiônico não seletivo e transportador de potássio, através da competição de  $\text{Na}^+$  com  $\text{K}^+$ . Um aumento de  $\text{Na}^+$  resulta em uma diminuição de  $\text{K}^+$  que se torna termodinamicamente desfavorável, aumentando assim o efluxo de  $\text{K}^+$  através do canal não retificador (SHABLA; CUIN, 2008; ADAMS; SHIN, 2014).

Sob estresse salino, aparecem altas concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$ , lidas pelo sensor de  $\text{Ca}^{2+}$  SOS3, conforme mostrado na Figura 4. Quando este sensor é ativado, a proteína SOS3 interage com a proteína quinase SOS2 e o complexo SOS3-SOS2, ativando também a proteína SOS1, que atua como um transportador do tipo antiporter  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  localizado na membrana plasmática, estabelecendo-se na célula a homeostase de  $\text{Na}^+$  (KADER; LINDBERG, 2010). Esses sinais, como os canais de cálcio, podem ser ativados por alterações de pH induzidas pela atividade do SOS, e a multiplicação desses sinais subjacentes por informações destaca a complexidade da sinalização do estresse (KADER; LINDBERG, 2010). O  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico está diretamente envolvido na homeostase iônica e em quase todas as respostas ao estresse através da cascata MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), equilibrando a produção e remoção de EROs durante o estabelecimento da homeostase (PANG; WANG, 2008).

A homeostase dos íons de  $\text{K}^+$  no citoplasma surgiu como um importante mecanismo de tolerância, permitindo a atividade de muitas enzimas citoplasmáticas, regulação do volume celular e manutenção da integridade da membrana (MUNNS; TESTER, 2008). O potássio é um macronutriente essencial e o cátion mais abundante para as plantas, representando até

10% da matéria seca das plantas, e atua como um cofator importante em muitos processos biossintéticos (MAATHUIS; PODAR, 2011).

As plantas sofrem efeitos triplos com alta salinidade do solo: desequilíbrio iônico, redução de nutrientes e seca fisiológica devido à redução do potencial hídrico (MUNNS; TESTER, 2008; RUIZ-LOZANO et al., 2012; PLAUT et al., 2013). Em ambientes salinos, as plantas removem o excesso de  $\text{Na}^+$  no custo de  $\text{K}^+$ , sendo o cálcio a causa mais importante da competição entre sódio e potássio, pois o  $\text{Ca}^{2+}$  mantém transporte de  $\text{K}^+$  e eliminando diretamente na importação de sódio mediada por canais de íons não-seletivos. Muitas vezes as plantas cultivadas em solos salinos, buscam evitar o acúmulo de sal por mecanismos que excluem o  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  a partir de raízes e parte aérea, enquanto ocorre a retomada da água pelo solo (MUNNS; TESTER, 2008).

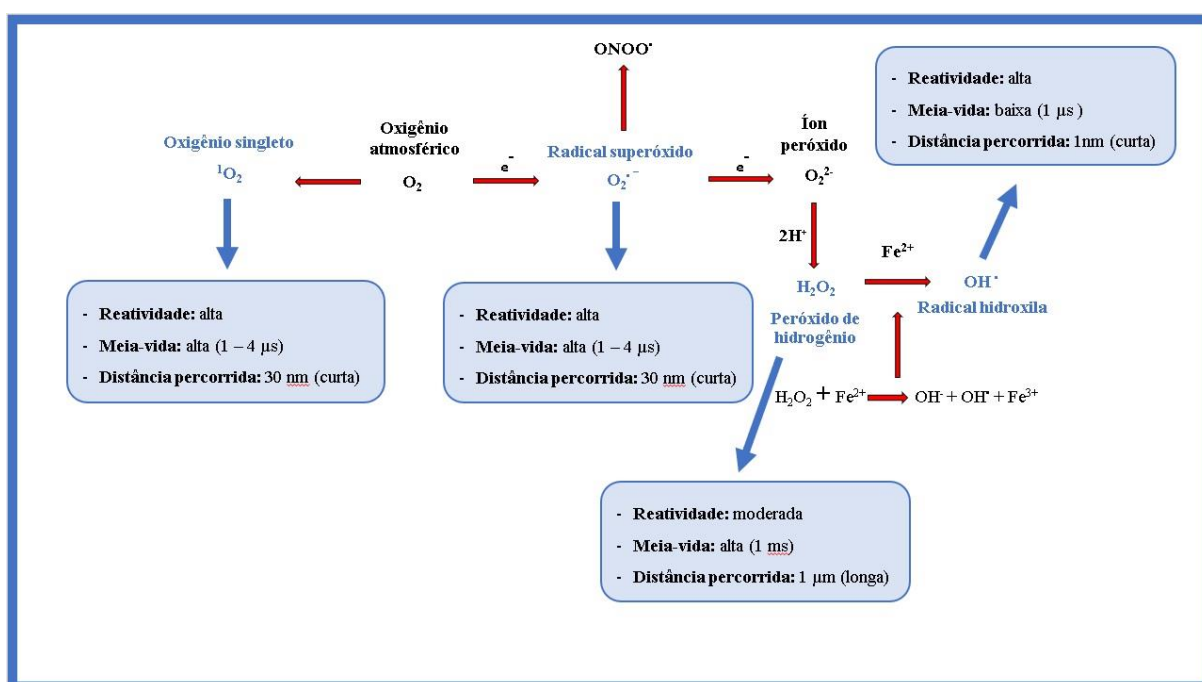


**Figura 4.** Modelo esquemático apresentando os principais transportadores de íons para manter baixa concentração de  $\text{Na}^+$  no citosol celular sob salinidade. Pelo modelo proposto, as proteínas quinases SOS2 e SOS3, sensível ao  $\text{Ca}^{2+}$ , ativam tanto a proteína SOS1 como também a proteína NHX1, ambas envolvidas na exclusão de  $\text{Na}^+$  (Fonte: BUCHANAN et al., 2015).

## 2. METABOLISMO OXIDATIVO

### 2.1. Produção de espécies reativas de oxigênio (EROs)

As espécies reativas de oxigênio (ERO's) são formas parcialmente reduzidas de oxigênio atmosférico ( $O_2$ ), resultantes da excitação de  $O_2$  formando o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) ou da transferência de um, dois ou três elétrons para  $O_2$  para formar, respectivamente, um radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) ou um radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ) (MITTLER, 2002). Esses componentes são produzidos continuamente como subprodutos inevitáveis do metabolismo aeróbio de várias vias metabólicas que estão localizadas em diferentes compartimentos celulares, como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (FOYER; NOCTOR, 2003). Esse processo pode ser observado na figura abaixo.



**Figura 5.** Esquema representando a formação de diferentes espécies reativas de oxigênio e nitrogênio oxigênio atmosférico ( $O_2$ ) que é excitado ou reduzido formando o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), sendo que este último interage com  $Fe^{2+}$  para formar radicais hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ) através da reação de Fenton (Fonte: Adaptado de MITTLER, 2017).

Quanto ao tempo de vida e atuação nos compartimentos celulares, as EROs apresentam suas particularidades. O radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), por exemplo, é gerado pela reação de Fenton e catalisado por metais de transição como  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$ , é a espécie mais instável que reage rapidamente (alta reatividade) com todos os tipos de componentes celulares, como lipídios, DNA, carboidratos e proteínas, como reflete sua meia-vida de apenas 1  $\mu s$  (MIGNOLETS PRUYT et al., 2016).

No caso do oxigênio singleto ( $^1\text{O}_2$ ) e o radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) eles também interagem com a maioria das biomoléculas, como lipídios, proteínas e DNA/RNA, possuem meia-vidas muito curtas de aproximadamente 4  $\mu\text{s}$  (na água) e 1-4  $\mu\text{s}$ , respectivamente, tendo o oxigênio singleto preferência por regiões ricas em elétrons o que acaba mostrando uma forma de seletividade à sua interação. O radical superóxido é mais reativo que  $\text{OH}^\bullet$ , e supostamente mais que o oxigênio singleto  $^1\text{O}_2$  e cada uma destas espécies podem causar peroxidação da membrana lipídica e enfraquecimento celular (KOH; FLUHR, 2016).

O peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) é umas das espécies reativas de oxigênio que apresentam relativamente uma longa meia-vida (1ms) e o excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas células das plantas lidera o estresse oxidativo. Ele também atua com uma chave reguladora de uma ampla variedade de processos fisiológicos, tais como a senescência, fotorrespiração, fotossíntese, movimento estomático, ciclo celular, crescimento e desenvolvimento celular, além do mais, apresenta alta permeabilidade nas membranas celulares e por sua alta meia-vida, esta ERO está sendo aceita como um mensageiro de sinais no interior celular (QUAN et al., 2008).

## **2.2. Proteção oxidativa em plantas**

O estresse oxidativo nas plantas é considerado um distúrbio que se dá pelo fato de causar desequilíbrio na homeostase redox celular, o que resulta de um aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ROYCHOWDHURY, et al., 2019). A atividade antioxidante é reduzida sob condições estressantes, isso ocorre com a função de ajudar as EROs a se acumularem em níveis descompensados, o que leva à explosão oxidativa e dano oxidativo (APEL; HIRT, 2004). A produção de EROs específicas nas células é altamente localizada e regulada por compartimentos específicos, dependendo das vias de funcionamento enzimáticas e não enzimáticas, quando são geradas em diferentes organelas afetam, a clorofila, as proteínas e as enzimas (PODGÓRSKA; BURIAN, 2017).

O cloroplasto é considerado vulnerável para formação de EROs, quando estas são geradas ocasionam redução na eficiência fotossintética que leva a redução do crescimento e produtividade das plantas. A atividade fotossintética é afetada pelos efeitos das EROs, no entanto, a exploração de processos moleculares relacionados a essas espécies podem prevenir efeitos prejudiciais. Os fatores abióticos do ambiente na maioria dos casos são prejudiciais para as plantas de forma que reduzem a condutância estomática, diminuem a assimilação de  $\text{CO}_2$  e resultam na formação de clorofila tripla excitada ( $^3\text{Chl}^*$ ) que perturba a fotossíntese, induz a superprodução de EROs e estimula a foto-oxidação (SHAKIROVA et al., 2016). A

geração de EROs nos centros de reação de PSII e I se deve principalmente à presença de intermediários energéticos em excesso, agentes redutores e  $O_2$  (ASADA, 2006). Nos cloroplastos as EROs causam estresse foto-oxidativo, que leva à peroxidação lipídica, danos às proteínas da membrana que afetam o centro de reação do PSII e, por fim, à morte celular (MILLER et al., 2010; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

No entanto, as plantas desenvolveram diversos mecanismos de defesa para aumentar a sua tolerância e sobrevivência em ambiente sob condições extremas. Dentre esses mecanismos está a tolerância aos estresses, que necessita ser ativado por atividades metabólicas, que inclui as vias antioxidantes e os sistemas de eliminação de EROs, contribuindo para o crescimento da planta sob estresse (EL-MASHAD; MOHAMED, 2012).

As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) são muito reativas, por um longo período acreditava-se que as EROs eram produtos que apresentavam apenas efeitos nocivos ao metabolismo celular aeróbico, responsável por causar estresse oxidativo nos vegetais (MIGNOLET-SPRUYT et al., 2016). No entanto, com o passar do tempo, constatou-se que elas também desempenham um papel muito importante como mensageiras estando ligadas a sinalização redox, cada compartimento celular contém o seu próprio conjunto de vias de produção e de eliminação de EROs, que é controlado por uma rede de genes gerando sinalizações particulares (MITTLER et al., 2011).

### **2.3. Sistemas enzimáticos e não-enzimáticos**

O complexo sistema de defesa das plantas envolve mecanismos enzimáticos e não enzimáticos, que atua na proteção oxidativa na célula vegetal (FOYER; NOCTOR, 2005). Os sistemas de proteção enzimáticos atuam como barreiras fisiológicas para eliminar os radicais livres, que inclui a atividade superóxido dismutase (SOD), peroxidases ascorbato (APX), catalases (CAT), peroxidase de fenóis (POX), (BONNEFOY et al., 2002). A atuação conjunta destas enzimas, nos diferentes compartimentos celulares, faz com que ocorra um equilíbrio entre a taxa de formação e remoção dessas espécies reativas de oxigênio, mantendo os níveis de ( $H_2O_2$ ) ideais para sinalização celular (MUNNS; TESTER, 2008).

A primeira linha de defesa contra as EROs, são as SODs, que atuam catalisando a dismutação do superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), gerando  $H_2O_2$  e  $O_2$ . Participando da modulação dos níveis de  $H_2O_2$  em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos (MITTLER, 2002; BHATTACHARJEE, 2010). As SODs podem ser classificadas de acordo com seus cofatores metálicos: cobre e zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD). As

Cu/ZnSOD encontram-se no citoplasma, as Mn-SOD nas mitocôndrias e peroxissomos das células eucariotas e Fe-SOD nos cloroplastos (GILL; TUJETA, 2010).

A ascorbato peroxidase (APX) e a catalase (CAT) são as duas enzimas mais importantes dentre os componentes de desintoxicação do  $H_2O_2$ . A ação da CAT e das peroxidases destaca a diferença básica entre as duas principais rotas metabólicas do  $H_2O_2$  nas células. A remoção de peróxido de hidrogênio por peroxidases requer uma pequena molécula redutora (ou proteínas como o citocromo c ou tioredoxina) para agir como um co-fator de regeneração e não leva à evolução de  $O_2$ , porque a água é o produto da reação (BHATT; TRIPATHI, 2011).

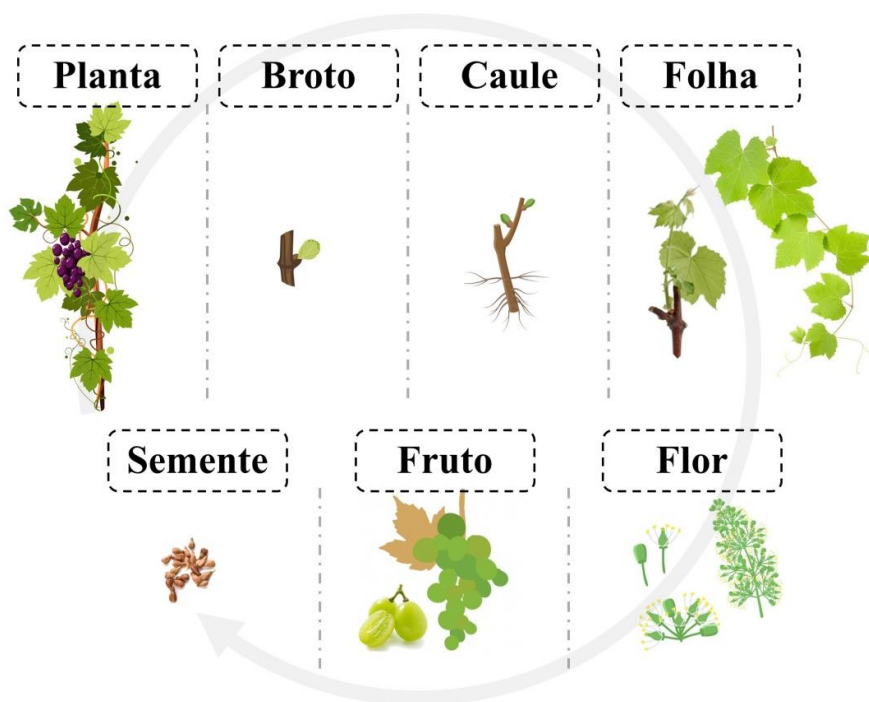
A catalase (CAT) é uma das principais enzimas na eliminação do  $H_2O_2$  gerado durante a fotorrespiração e a  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos. Atua nos peroxissomos e glioxissomos e pode ser encontrada também em mitocôndrias. Ela converte duas moléculas de  $H_2O_2$  a  $H_2O$  e oxigênio molecular, além disso, a atividade da CAT é efetiva, principalmente, em concentrações relativamente altas de  $H_2O_2$  (mM), por isso são consideradas indispensáveis para a desintoxicação de EROs, especialmente em condições de estresse severo, quando os níveis de  $H_2O_2$  estão elevados (DUBEY, 2011).

Além dos mecanismos enzimáticos, é importante destacar os não enzimáticos como ascorbato (AsA) que é um dos mais importantes antioxidantes não enzimáticos e pode inativar várias EROs. Juntamente com a glutatona (GSH), participa do Ciclo do Ascorbato-Glutatona, no qual o  $H_2O_2$  é eliminado pela APX mediante a peroxidação do AsA. A recuperação do AsA ocorre por meio da oxidação da GSH que torna a ser reduzida pela glutatona redutase (DINAKAR et al., 2012).

### **3. A cultura da videira e a utilização do porta-enxerto na tolerância a salinidade**

A videira (*Vitis vinifera* L.) é uma planta que pertence à família Vitaceae, é considerada uma das frutíferas mais importantes do mundo, e possui um metabolismo C3 (LAGO-VANZELA et al., 2015). Mesmo considerada como uma planta de clima temperado, a videira é altamente adaptável a diferentes condições climáticas e estresses abióticos, mas em condições de salinidade, as videiras apresentam sensibilidade, resultando em declínio no seu crescimento e desenvolvimento. A produção de uva em Pernambuco é de cerca de 400.000 toneladas, e o Vale do São Francisco tem contribuído muito para o desenvolvimento econômico da região devido essa produção. É uma das frutíferas mais importantes na agricultura irrigada e também é considerada essencial para desenvolvimento social atribuindo oportunidades de emprego (LEÃO, 2018).

As diferentes variedades de videira estão adaptadas a uma grande variedade de climas, resultado de fatores combinados ao longo dos anos, como a domesticação a partir do seu ancestral selvagem (*V. vinifera* L. spp *sylvestris*) (ARROYO-GARCIA et al., 2006) e através de cruzamentos subsequentes das espécies já domesticadas e ainda silvestres, passando pela prática ancestral do cultivo de mudas a partir de cruzamentos espontâneos, até a criação convencional (PELSY, 2010). A Figura a baixo representa o ciclo de vida da videira.



**Figura 6.** Representação esquemática do ciclo de vida da videira, e suas estruturas vegetativas (broto, caule e folha) e reprodutivas (flor, fruto e semente).

Os viveiros que trabalham com a produção vegetal da videira usualmente utilizam o método da enxertia para propagação de uma variedade copa em um porta-enxerto. Acredita-se que cerca de 80% da produção de videiras nas vinhas em várias partes do mundo ocorram por plantas enxertadas em porta-enxertos interespecíficos (OLLAT et al., 2016). A variedades *Vitis vinifera* são cultivadas com a presença de um porta-enxerto, a enxertia foi adotada com o objetivo de evitar danos pela filoxera. Dessa forma adotou-se gradualmente o uso de porta-enxertos como prática geral e o desenvolvimento de novos genótipos de porta-enxertos tornou-se uma questão importante na viticultura moderna (WHITING, 2004).

A utilização de porta-enxertos apresentam características benéficas em termos de adaptação a diferentes tipos de solo e a fatores bióticos e abióticos (CORSO et al., 2016). Os porta-enxertos também podem ser usados para conferir outras vantagens que afetam os processos fisiológicos ao nível do enxerto, como acúmulo de biomassa, rendimentos de

qualidade, vigor da videira e qualidade da uva (BERDEJA et al, 2015). Para produção da videira, os porta-enxertos são selecionados de acordo com as características benéficas, incluindo a resistência ao ataque de pragas tais como a filoxera da uva (*Daktulosphaira vitifoliae*) (BENHEIM et al., 2012) e nematódeos (FERRIS et al., 2012). Dessa forma, a seleção de clones propõe o reconhecimento das diferenças atribuídas por cada um, com o objetivo de alcançar clones que apresentem características benéficas, tais como uma maior produtividade, ciclo diversificado e melhor qualidade ou tolerância a salinidade (FERRIS et al., 2012).

## REFERÊNCIAS

- ABDEL LATEF, A. A. H.; MOSTOFA, M. G.; RAHMAN, M.; ABDEL-FARID, I. B.; TRAN, L. S. P. Extracts from yeast and carrot roots enhance maize performance under seawater-induced salt stress by altering physio-biochemical characteristics of stressed plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, n. 3, p. 966-979, 2019.
- ADAMS, E.; SHIN R.; Transport, signaling, and homeostasis of potassium and sodium in plants. **Plant Biology**, v. 56, p. 231-249, 2014.
- ALVES, F. A. L.; FERREIRA-SILVA, S. L.; ARAÚJO, A. T. B. D.; PEREIRA, V. L. A.; SILVEIRA, J. A. G. D. Cinética de absorção de  $K^+$  na ausência e presença de  $Na^+$  em raízes de cajueiro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 439-445, 2012.
- ANSCHÜTZ, U.; BECKER, D.; SHABALA, S. Going beyond nutrition: regulation of potassium homeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment. **Journal of plant physiology**, v. 171, n. 9, p. 670-687, 2014.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- ARROYO-GARCÍA, R.; RUIZ-GARCIA, L.; BOLLING, L.; OCETE, R.; LÓPEZ, M. A.; ARNOLD, C.; MARTINEZ-ZAPATER, J. M. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Molecular ecology*, v. 15, n. 12, p. 3707- 3714, 2006.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant physiology**, v. 141, n. 2, p. 391-396, 2006.
- ASHRAF.; M.H.P.J.C.; HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013.

- BENHEIM, D.; ROCHFORD, S.; ROBERTSON, E.; POTTER, I. D.; POWELL, K. S. Grape phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*)—a review of potential detection and alternative management options. **Annals of applied biology**, v. 161, n. 2, p. 91- 115, 2012.
- BERDEJA, M.; NICOLAS, P.; KAPPEL, C.; DAI, Z.W.; HILBERT, G.; PECCOUX, A.; LAFONTAINE, M.; OLLAT, N.; GOME`S, E.; DELROT, S. Water limitation and rootstock genotype interact to alter grape berry metabolism through transcriptome reprogramming. **Horticulture Research**, 2015.
- BHATT, I.; TRIPATHI, B.N. Plant peroxiredoxins: catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 850-859, 2011.
- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: **Science Publishers**, p. 1-30, 2010.
- BONNEFOY, E.; LAPOSTOLLE, F.; LEIZOROVICZ, A.; STEG, G.; MCFADDEN, E. P.; DUBIEN, P. Y.; TOUBOUL, P. Primary angioplasty versus prehospital fibrinolysis in acute myocardial infarction: a randomised study. **The Lancet**, v. 360, p. 825-829, 2002.
- BOWLER, C.; MONTAGU, M. van.; INZE, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual review of plant biology**, v. 43, n. 1, p. 83-116, 1992.
- CHUNG, J.S.; ZHU, J.K.; BRESSAN, R.A.; HASEGAWA, P.M.; SHI, H. Reactive oxygen species mediate Na<sup>+</sup> induced SOS1 mRNA stability in Arabidopsis. *Plant Journal*, v.53, p. 554-565, 2008.
- DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in environmental science**, v. 2, p. 53, 2014.
- DIAS, N.S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. **Embrapa Meio-Norte- Capítulo em livro científico**, 2010.
- DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v.182, p.29-41, 2012.
- EL-MASHAD, A.A.A.; MOHAMED, H.I. Brassinolide alleviates salt stress and increases antioxidant activity of cowpea plants (*Vigna sinensis*). **Protoplasma**, v. 249, p. 625-635, 2012.
- FERRIS, H.; ZHENG, L.; WALKER, M. A. Resistance of grape rootstocks to plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 44, n. 4, p. 377, 2012.

FIGUEIREDO, F. R. A.; LOPES, M.; DA SILVA, R.T., NÓBREGA, J. S., DA SILVA, T.I; BRUNO, R. Physiological responses of mulungu submitted to salt stress and application of salicylic acid. **IRRIGA**, v. 24, n.3, p. 662–675, 2019.

FITA, A.; RODRÍGUEZ-BURRUEZO, A.; BOSCAIU, M.; PROHENS, J.; VICENTE, O. Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: a new paradigm for increasing food production. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 978, 2015.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 119, p. 355-364, 2003.

FOYER, C.H.; NEUKERMANS, J.; QUEVAL, G.; NOCTOR, G.; HARBINSON, J. Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression. **Journal of experimental botany**, v, 63, p. 1637-61, 2012.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, v. 17, p. 1866-1875, 2005

FRANCO-NAVARRO, J. D.; BRUMÓS, J.; ROSALES, M. A.; CUBERO-FONT, P.; TALÓN, M.; COLMENERO-FLORES, J. M. Chloride regulates leaf cell size and water relations in tobacco plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n.3, p. 873-891, 2016.

GILL, S.S.; TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiol Biochem**, v. 48, p. 909-930, 2010.

GORJI, T.; TANIK, A.; SERTEL, E. Soil salinity prediction, monitoring and mapping using modern technologies. **Procedia Earth and Planetary Science**, v. 15, p. 507-512, 2015.

GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International journal of genomics**, 2014.

GUPTA, S. D. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. CRC Press, p. 193-220, 2010.

HASSAN, A.; AMJAD, S. F.; SALEEM, M. H.; YASMIN, H.; IMRAN, M.; RIAZ, M.; ALYEMENI, M. N. Foliar application of ascorbic acid enhances salinity stress tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) through modulation of morphophysio-biochemical attributes, ions uptake, osmo-protectants and stress response genes expression. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n.8, p. 4276–4290, 2021.

HOSSAIN, M. A.; BURRITT, D. J.; FUJITA, M. Cross-stress tolerance in plants: molecular mechanisms and possible involvement of reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification systems. **Abiotic Stress Response in Plants**, 2016.

JALIL, S.U; ANSARI, M. I. Physiological role of Gamma-aminobutyric acid in salt stress tolerance. **Salt and Drought Stress Tolerance in Plants**. Springer, p. 337-350, 2020.

KADER, M. A.; LINDBERG, S. Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, p. 233-238, 2010.

KARIMI, R.; MOHAMMADPARAST, B.; MINAZADEH, R. Phytochemical responses and antioxidant activity of potassium-treated grapevines (*Vitis vinifera* L.) in salinity stress condition. **Journal of Plant Process and Function**, v. 8, n.32, p. 245-260, 2019.

KOH, E.; CARMIELI, R.; MOR, A.; FLUHR, R. Singlet oxygen-induced membrane disruption and serpin-protease balance in vacuolar-driven cell death. **Plant Physiology**, v. 171, n. 3, p. 1616-1625, 2016.

LAGO-VANZELA, E.S., HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I., BAFFI, M.A., DA-SILVA, P.H., SILVA, R. **Uvas e vinhos: química, bioquímica e microbiologia**. São Paulo: Editora Unesp; Editora Senac, p. 9-39, 2015.

LU, Y.; LEI, J. Q.; ZENG, F. J.; ZHANG, B.; LIU, G. J.; LIU, B.; LI, X. Y. Effect of NaCl-induced changes in growth, photosynthetic characteristics, water status and enzymatic antioxidant system of *Calligonum caput-medusae* seedlings. **Photosynthetica**, v. 55, n.1, p. 96-106, 2017.

MAATHUIS F.J.M; PODAR, D. Uptake, distribution, and physiological functions of potassium, calcium, and magnesium. In: Hawkesford MJ, Barraclough P, eds. The molecular and physiological basis of nutrient use efficiency in crops. **Wiley-Blackwell**, p. 265-293, 2011.

MACHADO, R. M. A.; SERRALHEIRO, R. P. Soil salinity: effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. **Horticulturae**, v. 3, n. 2, p. 30, 2017.

MIGNOLET-SPRUYT, L.; XU, E., IDÄNHEIMO, N.; HOEBERICHTS, F. A.; MÜHLENBOCK, P.; BROSCHE, M.; KANGASJÄRVI, J. Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 13, p. 3831-3844, 2016.

MIGNOLET-SPRUYT, L.; XU, E.; IDÄNHEIMO, N.; HOEBERICHTS, F.A.; MÜHLENBOCK, P.; BROSCHE, M.; KANGASJÄRVI, J. Spreading the news: subcellular

and organellar reactive oxygen species production and signalling. **Journal of experimental botany**, v. 67, n.13, p.3831-3844, 2016.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell Environ.**, v. 33, p. 453-467, 2010.

MINAZADEH, R.; KARIMI, R.; MOHAMMADPARAST, B. The effect of foliar nutrition of potassium sulfate on morpho-physiological indices of grapevine under salinity stress. **Iranian Journal of Plant Biology**, v. 10, n. 3, p. 83-106, 2018.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n.9, p. 405-410, 2022.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; SUZUKI, N.; MILLER, G., TOGNETTI, V.B.; VANDEPOELE, K.; GOLLERY, M.; SHULAEV, V.; VAN BREUSEGEM F. ROS signaling: the new wave? **Trends in Plant Science**, v. 16, p. 300-309, 2011.

MUNNS, R.; GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops – what is the cost? **New Phytologist**, v. 208, p. 668–673, 2015.

MUNNS, R.; HUSAIN, S.; RIVELLI, A. R.; JAMES, R. A.; CONDON, A. G.; LINDSAY, M. P.; HARE, R. A. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Progress in plant nutrition: plenary lectures of the XIV international plant nutrition colloquium**, Springer, Dordrecht, p. 93-105.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

OIV – International Organisation of Vine and Wine Intergovernmental Organisation (2019). OIV 2019 report: 2019 Statistical Report on World Vitiviniculture.

OLLAT, N.; PECCOUX, A.; PAPURA, D.; ESMENJAUD, D.; MARGUERIT, E.; TANDONNET, J. P.; DELROT, S. Rootstocks as a component of adaptation to environment. **Grapevine in a changing environment: a molecular and ecophysiological perspective**, v. 5, p. 68-7, 2015.

PANG, C. A.; WANG, B. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. **Progress in Botany**. v. 69, p. 231-246, 2008.

PATADE, V. Y.; BHARGAVA, S.; SUPRASANNA, P. Transcript expression profiling of stress responsive genes in response to short-term salt or PEG stress in sugarcane leaves. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 3, p. 3311-3318, 2012.

PELSY, F. Molecular and cellular mechanisms of diversity within grapevine varieties. **Heredity**, v. 104, n. 4, p. 331, 2010.

PLAUT, Z.; EDELSTEIN, M.; BEN-HUR M.; PLAUT, Z.; EDELSTEIN, M.; BEN-HUR, M. Overcoming salinity barriers to crop production using traditional methods. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 32, n. 4, p. 250-291, 2013.

PODGÓRSKA, A.; BURIAN, M.; SZAL, B. Extra-cellular but extra-ordinarily important for cells: Apoplastic reactive oxygen species metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1353, 2017.

QUAN, L.J.; ZHANG, B.; SHI, W.; LI, H.Y.. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50, n. 1, p. 2-18, 2008.

RUIZ-LOZANO, J. M; PORCEL, R.; AZCÓN C.; AROCA R. Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 11, p. 4033-4044, 2012.

SANTA-MARÍA, G.E.; OLIFERUK, S.; MORICONI, J.I. KT-HAK-KUP transporters in major terrestrial photosynthetic organisms: A twenty years tale. **Journal of plant physiology**, v. 226, p. 77-90, 2018.

SHABLA, S.; CUIN, T.A. Potassium transport and plant salt tolerance. **Physiologia plantarum**, v. 133, n. 4, p. 651-669, 2008.

SHAKIROVA, F.; ALLAGULOVA, C.; MASLENNIKOVA, D.; FEDOROVA, K.; YULDASHEV, R.; LUBYANOVA, A.; AVALBAEV, A. Involvement of dehydrins in 24-epibrassinolide-induced protection of wheat plants against drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 108, p. 539-548, 2016.

SOUZA, L. P.; NOBRE, R. G.; GHEYI, H. R.; FÁTIMA, R. T.; LIMA, G. S.; DINIZ, G. L. Índices fisiológicos e crescimento de porta-enxertos de cajueiro sob estresse salino e concentrações de prolina. **Revista Irriga**, p. 169–183, 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TANG, X.; MU, X.; SHAO, H.; WANG, H.; BRESTIC, M. Global plant-responding mechanisms to salt stress: physiological and molecular levels and implications in biotechnology. **Critical reviews in biotechnology**, v. 35, n.4, p. 425-437, 2015.

TAVAKKOLI, E.; FATEHI, F.; COVENTRY, S.; RENGASAMY, P.; MCDONALD, G. K. Additive effects of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions on barley growth under salinity stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 6, p. 2189-2203, 2011.

TAVAKKOLI, E.; RENGASAMY, P.; MCDONALD, G. K. High concentrations of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. **Journal of experimental botany**, v. 61, n. 15, p. 4449-4459, 2010.

TRÄNKNER, M.; TAVAKOL, ERSHAD.; JÁKLI, BÁLINT. Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. **Physiologia plantarum**, v. 163, n. 3, p. 414-431, 2018.

WANG, W.; KIM, Y.; LEE, H.; KIM, K.; DENG, X. & KWAK, S. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 570-577, 2009.

WHITING, J. R. Grapevine rootstocks. **Viticulture**, v. 1, p. 167-188, 2004.

WU, H.; SHABALA, L.; SHABALA, S.; GIRALDO, J. P. Hydroxyl radical scavenging by cerium oxide nanoparticles improves Arabidopsis salinity tolerance by enhancing leaf mesophyll potassium retention. **Environmental Science: Nano**, v. 5, n. 7, p. 1567-1583, 2018.

## **CAPÍTULO II**

### **CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA RESISTÊNCIA DIFERENCIAL AO ESTRESSE SALINO EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA**

## **CAPÍTULO II – CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA RESISTÊNCIA DIFERENCIAL AO ESTRESSE SALINO EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA**

### **RESUMO**

A salinidade dos solos e das águas tem o potencial de afetar severamente o desempenho das plantas, a utilização de porta-enxerto é um importante componente do sistema de produção para a cultura da videira. O objetivo deste estudo, é identificar genótipos de videira com potencial para uso como porta-enxerto em áreas salinizadas, bem como caracterizar mecanismos bioquímicos/fisiológicos conferidos pelo porta-enxerto associados com a homeostase iônica, eficiência fotossintética e proteção oxidativa em videiras enxertadas sob salinidade. Foi utilizada uma variedade copa Vitória (enxerto) enxertada sobre três porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, as plantas foram submetidas à salinidade (0 – controle, 50 mM e 100 mM de NaCl), após a aplicação dos tratamentos salinos, foram realizadas medidas fotoquímicas e de trocas gasosas nas plantas. Ao final do experimento, a planta foi separada em raiz, caule e folha para a obtenção da massa fresca (MF) e massa seca (MS), uma parte das folhas foi congelada em N<sub>2</sub> líquido e estocada a -80°C, para utilização em análises bioquímicas, envolvendo a dosagem do conteúdo de indicadores de danos oxidativos e de proteção oxidativa. O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado com tratamentos em fatorial 3 x 3, três combinações de enxerto/porta-enxerto de videira e três concentrações de NaCl, com três repetições por tratamento. Os dados de crescimento das plantas demonstraram que as mudas crescidas sob estresse salino elevado (100 mM) apresentaram reduções em todos os órgãos da planta, sendo essa redução mais expressiva na área foliar. Os parâmetros de trocas gasosas mostraram efeito severo do estresse salino na condutância estomática associado com forte restrição da assimilação de carbono. O potencial hídrico foliar teve redução nas plantas sob salinidade elevada. Os parâmetros da fotoquímica, revelam efeitos limitantes da salinidade dependente do porta-enxerto. O estresse salino promoveu reduções nos níveis de clorofilas, aumento dos íons nocivos as plantas (Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>) assim como dos danos oxidativos em todas as videiras estudadas, caracterizado pelo aumento da peroxidação lipídica. Concomitantemente na tentativa de reduzir estes danos, principalmente no tratamento de 100mM verificou-se aumento na quantidade de GSH, na atividade de CAT e APX. Neste estudo, foi possível evidenciar que os porta-enxertos apresentam características

fisiológicas distintas quando submetidas à salinidade, além de mostrar uma série de respostas apresentadas pelas mudas de videira enxertadas.

**Palavras-chave:** Crescimento, Estresse abiótico, Fotoquímica, Fotossíntese, Íons tóxicos.

## **ABSTRACT**

Soil and water salinity have the potential to severely affect plant performance, the use of rootstock is an important component of the production system for grapevine culture. The objective of this study, is to identify grapevine genotypes with potential for use as rootstocks in salinized areas, as well as to characterize biochemical/physiological mechanisms conferred by the rootstock associated with ion homeostasis, photosynthetic efficiency and oxidative protection in grafted grapevines under salinity. A vitória (scion) variety grafted on three rootstocks IAC 313, IAC 572 and SO4 was used, the plants were subjected to salinity (0 - control, 50 mM and 100 mM NaCl), after application of the saline treatments, photochemical and gas exchange measurements were performed on the plants. At the end of the experiment, the plant was separated in root, stem and leaf to obtain fresh mass (MF) and dry mass (DM), a part of the leaves was frozen in liquid N<sub>2</sub> and stored at -80°C, to be used in biochemical analysis, involving the dosage of the content of oxidative damage indicators and oxidative protection. The statistical design was entirely randomized with a 3 x 3 factorial design, three grapevine scion/vine rootstock combinations and three NaCl concentrations, with three replicates per treatment. The plant growth data showed that the seedlings grown under high salt stress (100 mM) showed reductions in all plant organs, the most significant reduction being in the leaf area. The parameters of gas exchange showed a severe effect of salt stress on stomatal conductance associated with a strong restriction of carbon assimilation. The leaf water potential was reduced in plants under high salinity. The photochemical parameters, reveal limiting effects of salinity dependent on the rootstock. Salt stress promoted reductions in chlorophyll levels, increases in ions harmful to plants (Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>) as well as oxidative damage in all vines, characterized by increased lipid peroxidation. Concomitantly, in an attempt to reduce this damage, especially in the 100mM treatment, there was an increase in the amount of GSH, CAT, and APX activity. In this study, it was possible to evidence that the rootstocks present distinct physiological characteristics when submitted to salinity, besides showing a series of responses presented by the grafted grapevine seedlings.

**Keywords:** Growth, abiotic stress, photochemistry, photosynthesis, toxic ions.

## 1. INTRODUÇÃO

A salinidade do solo é um dos fatores abióticos que representa os problemas mais críticos associados à produção vegetal em todo mundo (SAIDIMORADI et al., 2019). Em áreas agrícolas a alta concentração salina no solo é preocupante, pois limita o crescimento e desenvolvimento das plantas, nas regiões semiáridas esse distúrbio ocorre potencializado, uma vez que as condições edafoclimáticas vinculadas a técnicas inadequadas de manejo do solo e irrigação com águas de níveis salinos elevados desencadeiam o processo de salinização (MUNNS, GILLIHAM, 2015). Nesse contexto, a identificação de genótipos de porta-enxertos com características de exclusão de íons salinos tóxicos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) torna-se importante, pois pode conferir maior resistência ao sal em plantas enxertadas, embora os estudos ainda sejam insuficientes (AMORIM, 2018).

A instabilidade iônica está relacionada ao acúmulo de sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) que afetam a homeostase iônica, ocasionam toxicidade e alterações nutricionais (ZHAO et al., 2020). Estes íons são os principais componentes tóxicos presentes nas plantas cultivadas sob salinidade, pois influenciam negativamente nos processos fisiológicos normais, causando danos às membranas, desequilíbrio de nutrientes, níveis alterados de reguladores de crescimento, inibição enzimática e disfunção metabólica, incluindo a fotossíntese que é sensível a estresses ambientais e mostra uma alta relação com a biomassa e o rendimento das culturas (KUMAR et al., 2018; KUMAR et al., 2019). Dessa forma, o desequilíbrio tanto dos componentes osmóticos, como os iônicos, de acordo com a espécie de planta, estágio de desenvolvimento e, respostas a mecanismos de adaptação, pode resultar em estresse oxidativo severo (DEINLEIN et al., 2014; KATARIA; VERMA, 2018).

O estresse oxidativo causado pela salinidade é responsável pela formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), quando essas espécies ultrapassam a capacidade antioxidante das plantas, também desencadeiam a atividade de algumas enzimas antioxidantes, tais como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e demais peroxidases, e provocam mudanças na atividade de vários íons que afetam a homeostase iônica (DEMIDCHIK, 2018; LOGAN, 2005). Uma vez afetada, no cloroplasto, a homeostase iônica pode causar dissociação das proteínas que suportam as atividades PSII e PSI, intensifica as lesões aos complexos dos fotossistemas e a deterioração dos pigmentos (KAN et al., 2017; PAN et al., 2021; SASI et al., 2018). É importante destacar a importância da homeostase iônica na eficiência fotossintética da planta, mais especificamente de  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ , considerando que  $\text{K}^+$  é fundamental

para que ocorram os processos fisiológicos, dentre eles, o movimento estomático e difusão do CO<sub>2</sub> atmosférico nos cloroplastos (LOCASCIO et al., 2015).

A videira (*Vitis vinifera* L.) é uma planta de amplo cultivo e que apresenta grande importância mundialmente, que tem sido cultivada com excelência no semiárido brasileiro, é geralmente cultivada como uma copa enxertada em um porta-enxerto, e a seleção do porta-enxerto é considerado o método mais promissor para atingir níveis elevados de tolerância ao estresse, a princípio essa prática tinha como objetivo solucionar problemas causados pela Filoxera (FRIONI et al., 2020). No entanto, o interesse em selecionar novos porta-enxertos com maior tolerância à salinidade aumentou significativamente, pois essa técnica busca atribuir vantagens nos processos fisiológicos para as plantas descendentes, como o acúmulo de biomassa, vigor e qualidade dos frutos, mas para que isso ocorra, o porta-enxerto deve possuir características que intensifiquem a produtividade da cultura (BERDEJA et al., 2015).

Embora a videira seja uma espécie agrícola amplamente cultivada no semiárido brasileiro como plantas enxertadas ainda não se conhecem genótipos resistentes à salinidade que possam ser utilizados como porta-enxertos. Esse trabalho tem como objetivo avaliar o potencial de porta-enxertos em atenuar distúrbios metabólicos envolvendo processos vitais como fotossíntese, homeostase iônica e proteção oxidativa em plantas enxertadas de videira submetidas à salinidade.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local do experimento, material vegetal e condução dos tratamentos**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade acadêmica de Serra Talhada – UAST, município de Serra Talhada–PE (07°59'31''S, 38°17'54''W). As mudas enxertadas de videira (*Vitis vinifera*) foram fornecidas pelo viveiro Petromudas, onde foram produzidas pela combinação da variedade Vitória (enxerto) enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4. As mudas em estágio de pós-enxertia (~30 dias) foram transferidas para vasos plástico de 5.0 L contendo uma mistura de areia e vermiculita (1/1) e crescidas em casa de vegetação durante 20 dias para a aclimação, recebendo solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) ½ de força na primeira semana de aplicação, e concentrada no decorrer do experimento, sendo aplicada a cada dois dias. Em seguida, as plantas foram submetidas aos tratamentos com NaCl (0 - Controle, 50 e 100 mM) diluído na solução nutritiva concentrada (pH 6), durante 30 dias, com aplicações a cada três dias. Durante o experimento foram realizadas medidas de fotoquímica e

trocas gasosas nas plantas (medidas não destrutivas) e ao final do experimento foram coletadas e separadas em raízes, caules e folhas, para determinação das massas fresca (MF) e massa seca (MS) das partes e planta inteira. Uma parte das folhas foram congelada em N<sub>2</sub> líquido e estocada a -80°C, para utilização em análises bioquímicas, envolvendo a dosagem do conteúdo de indicadores de danos oxidativos (TBARS e carbonilação de proteínas) e de proteção oxidativa (antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos).

**Tabela 1.** Valores médios da condutividade elétrica em função dos teores de NaCl da água usada na rega das plantas de videira submetidas a concentrações salinas.

| Concentração de NaCl<br>mM | Condutividade elétrica |
|----------------------------|------------------------|
|                            | (mS/cm)                |
| 0                          | 1,27                   |
| 50                         | 16,33                  |
| 100                        | 30,55                  |

Níveis de NaCl: 0 – Controle, 50 mM e 100 mM.

## 2.2. Parâmetros de fluorescência: curvas de luz e de indução

Foram realizadas medidas dos parâmetros indicadores de eficiência fotoquímica, visando monitorar danos do aparelho de captação de energia luminosa em resposta a salinidade. As medidas da fluorescência da clorofila foram realizadas em folhas fisiologicamente maduras do terço médio da planta, pelo método do pulso de saturação utilizando um fluorímetro modulado (Modelo MINI-PAM-II, Walz). Foram estimados os seguintes parâmetros: (i) eficiência quântica máxima do fotossistema II [ $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ]; (ii) eficiência quântica efetiva do fotossistema II [ $\Delta F/F_m' = (F_m' - F_s)/F_m'$ ]; (iii) taxa aparente de transporte de elétrons do PSII [ $ETR = (\Delta F/F_m' \times PPFD \times 0.5 \times 0.84)$ ]; (iv) coeficiente de quenching fotoquímico [ $qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o)$ ] e (v) o coeficiente de quenching não fotoquímico [ $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$ ], onde  $F_m$ ,  $F_o$  e  $F_v$  representam, respectivamente, a fluorescência máxima, mínima e variável após adaptação das folhas a 50min de escuro;  $F_m'$ ,  $F_o'$  e  $F_s$  representam, respectivamente, a fluorescência máxima, mínima e no estado de equilíbrio dinâmico na presença de luz e DFFF equivale à densidade de fluxo de fótons fotossintéticos. Para as curvas de luz as leituras foram realizadas em folhas adaptadas ao escuro por 50 min (uso de pinças) com luz fornecida pela fibra óptica do aparelho varia de 0 a 1500  $\mu\text{mol fótons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , em intervalo de cerca de 5 minutos. As

medidas de curvas de indução fotossintética foram realizadas uma única vez no período diurno (09:00h), as folhas foram adaptadas ao escuro por 50 min (uso de pinças) e as medidas foram realizadas na presença luz ( $270 \mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) fornecida pela fibra óptica do aparelho, durante o tempo de 220 segundos.

### **2.3. Medidas de trocas gasosas**

Para avaliar o impacto da salinidade foram realizadas medidas de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $P_N$ ), taxa de transpiração ( $E$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) e da pressão parcial de  $\text{CO}_2$  intercelular ( $C_i$ ), utilizando um Sistema Portátil de Fotossíntese – IRGA – (GFS – 3000, Walz) em folhas fisiologicamente maduras amostradas do terço médio da planta. A partir dessas medidas foram estimados os parâmetros de uso de água das plantas (pela relação  $P_N/E$ ) e o índice de carboxilação instantânea (pela relação  $P_N/C_i$ ). Durante as medidas de trocas gasosas que foram realizadas uma vez no início do experimento, foi utilizada uma densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativo (DFFFA) de  $1000 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$  e temperatura de  $28^\circ\text{C}$  na câmara do IRGA.

### **2.4. Taxa de Acúmulo Diário de Massa Seca (MS)**

A Taxa de Acúmulo Diário (TAD) de massa seca para raiz, caule, folha e planta inteira foi estimada usando como referência os conteúdos de massa seca (MS) mensurados no início do tratamento salino, nos respectivos órgãos da planta. Para tanto, foram coletadas plantas (3 repetições) das três variedades no início da aplicação do NaCl e separadas em raízes, caules e folhas para determinação de MS das partes e planta inteira. A TAD foi obtida pela relação:  $\text{TAD} = \{(\text{MS final} - \text{MS inicial})/(\text{T})\}$ , onde: MS final – Conteúdo de massa MS final; MS inicial – Conteúdo do MS inicial e o T – Tempo (dias) de exposição ao tratamento de sal. Os resultados foram expressos como  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS} \cdot \text{dia}^{-1}$ . A TAD reflete a quantidade diária média acumulada de MS, podendo indicar estabilidade, incrementos e redução.

### **2.5. Potencial hídrico foliar ( $\Psi_{wf}$ )**

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_{wf}$ ) foi obtido utilizando uma câmara de pressão de Scholander portátil modelo (PMS Instrument Company 1505D), o mesmo foi determinado no final do experimento, após 30 dias de tratamento salino. As medidas foram realizadas na antemãhã (04h30 – 05h30) ( $\Psi_{am}$ ), as leituras do equipamento foram atribuídas na unidade de pressão Bar, as quais foram convertidas em Megapascal (-Mpa). A avaliação foi realizada

em uma planta vigorosa em cada tratamento, sendo feita a leitura de uma folha por planta. As folhas utilizadas para a medição estavam totalmente expandidas, maduras e localizadas no terço médio das plantas. O potencial de cada folha foi avaliado imediatamente após a folha ser destacada da planta.

## **2.6. Teores de clorofilas *a*, *b* e totais**

Para obtenção dos dados de clorofila, foram pesadas 0,2 g de MF das folhas de cada planta, sendo solubilizadas em acetona a 80%, utilizando tubos de ensaio e 10 mL da solução, os tubos foram armazenados em ambiente refrigerado e na ausência de luz. Após 48 horas realizou-se leituras espectrofotométricas nos comprimentos de onda 647 e 663 nm para clorofila *a* e *b*, conforme metodologia de Lichtenthaler e Buschmann (2001). A estimativa das concentrações de clorofila foi realizada pelas seguintes relações, determinadas em mg g<sup>-1</sup> MF, Chla = [(12.25 x A<sub>663</sub> - 2.79 x A<sub>647</sub>)], Chlb = [(21.5 x A<sub>647</sub> - 5.10 x A<sub>663</sub>)].

## **2.7. Teor de sódio (Na<sup>+</sup>), potássio (K<sup>+</sup>) e cloreto (Cl<sup>-</sup>)**

Os teores de sódio (Na<sup>+</sup>) e potássio (K<sup>+</sup>) foram determinados por fotometria de chama, como descrito por Rodrigues et al. (2013). Após secagem em estufa, os tecidos de folhas, caules e raízes foram triturados em moinho para obtenção da matéria seca moída. Em seguida, amostras de 0,5 g de farinhas dos diferentes tecidos foram submetidas a extração por incubação em tubos de ensaio com tampas rosqueadas, contendo 10 ml de água ultra-pura, e fervidos em banho maria a 100°C por 1 h. Os extratos foram filtrados e utilizados nas leituras de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> em fotômetro de chama (Micronal, Mod. B462). Os conteúdos de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> foram estimados com base em curva padrão (0 a 1000 µM) de NaCl e KCl, respectivamente, e os resultados expressos em µmol g<sup>-1</sup> MS.

O teor de cloreto (Cl<sup>-</sup>) foi estabelecido conforme Ferreira-Silva et al., (2008). Amostras de 0,2 g de farinhas dos tecidos foram submetidas à extração por incubação em tubos de ensaio com tampas rosqueadas, contendo 25 ml de água ultra-pura, e fervidos em banho maria a 100°C por 1 h. Em seguida, os extratos foram filtrados e 20 ml coletados para a titulação do cloreto com nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub> – 28 mM), como indicador foi utilizado o cromato de potássio (K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> – 5%) (p/v), e os resultados expressos em µmol g<sup>-1</sup> MS.

## **2.8. Taxa de Acúmulo Diário de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>**

A Taxa de Acúmulo Diário (TAD) para os íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  nos diferentes órgãos (raiz, caule e folha) foi estimada usando como referência os conteúdos de  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  mensurados no início do tratamento salino, nos respectivos órgãos da planta. Para tanto, foram coletadas plantas (3 repetições) das três variedades no início da aplicação do NaCl e separadas em raízes, caules e folhas para determinação de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  por fotometria de chama. A TAD foi obtida pela relação:  $\text{TAD} = \{([\text{K}^+ \text{ ou } \text{Na}^+] \text{ final} - [\text{K}^+ \text{ ou } \text{Na}^+] \text{ inicial})/(\text{T})\}$ , onde:  $[\text{K}^+ \text{ ou } \text{Na}^+] \text{ final}$  – Conteúdo do íon ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$ ) no final;  $[\text{K}^+ \text{ ou } \text{Na}^+] \text{ inicial}$  – Conteúdo do íon ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$ ) no início e o T – Tempo (dias) de exposição ao tratamento de sal. Os resultados foram expressos como  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS dia}^{-1}$ . Essa variável (TAD) reflete a quantidade diária média acumulada de cada íon ( $\text{K}^+/\text{Na}^+$ ), podendo indicar estabilidade, incrementos e redução (valores positivos) ou até mesmo perdas (quando apresentar valores negativos) do conteúdo dos íons em relação às concentrações inicialmente presentes nas plantas (antes da aplicação do sal).

## **2.9. Extração de proteínas e atividades enzimáticas**

A extração de proteínas solúveis foi realizada conforme os métodos de Bradford (1976) e Zimmermann et al. (2006). Iniciou-se a extração com a pesagem 0,2 g de MF de folhas de videira, posteriormente liofilizadas e maceradas com auxílio de nitrogênio líquido, o tampão utilizado na extração foi Tris – HCl 100 mM pH 8,0 (1 mL) contendo Glicerol 20%, Triton X-100 (0,1%) e PEG 3%. O tampão foi borbulhado em  $\text{CO}_2$  para impedir a oxidação do extrato. Após a extração as amostras foram transferidas para tubos eppendorf, identificados e centrifugados a  $14.000 \times g$  4°C durante 30 minutos. A medida do teor de proteína solúvel foi realizada com amostras diluídas e adicionado 1 mL de solução de Bradford, sendo homogeneizada. As leituras de absorbância foram realizadas 15 minutos após a adição do Bradford, a 595 nm. O conteúdo de proteína foi estimado de acordo com curva padrão elaborada com albumina do soro bovino (BSA), sendo determinada em  $\mu\text{g g}^{-1} \text{ MS}$ .

Para a medida da peroxidase do ascorbato (APX; EC 1.11.1.11), foi utilizado o mesmo método de extração, os reagentes utilizados neste ensaio foram mantidos em banho seco para permanecer a temperatura de 27°C. Aliquotas de 12,5  $\mu\text{L}$  do extrato foram adicionadas em 850  $\mu\text{L}$  do tampão de ensaio + 37,5  $\mu\text{L}$  da solução tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0 + 50  $\mu\text{L}$  de ácido ascórbico 0,5 mM (adicionado na hora do ensaio) e 50  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) a 2 mM. As leituras espectrofotométricas foram realizadas a uma absorbância de 290 nm durante 3 minutos (intervalos de 15 segundos). O coeficiente de

extinção molar utilizado para cálculo foi de  $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  e os resultados expressos em  $\text{nmol ASC } \mu\text{g PS min}^{-1}$ .

A medida de catalase (CAT; EC 1.11.1.6) foi realizada de acordo com o método descrito por Havir e McHale (1987). Alíquotas de  $12,5 \text{ } \mu\text{L}$  de extrato proteico foram adicionadas em  $900 \text{ } \mu\text{L}$  do tampão de ensaio +  $37,5 \text{ } \mu\text{L}$  do tampão de extração +  $50 \text{ } \mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). As leituras espectrofométricas foram realizadas a  $240 \text{ nm}$  por 3 minutos (intervalos de 15 segundos). Para o cálculo da atividade enzimática, o coeficiente de extinção molar utilizado foi de  $36 \text{ mM cm}^{-1}$ , os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \mu\text{g PS min}^{-1}$ .

### **2.10. Teor de ascorbato e glutatona**

Os teores de ascorbato reduzido foram determinados utilizando o método descrito por Kampfenkel, Van Montagu e Inzé (1995). Pesou-se  $0,2 \text{ g}$  de MF de folhas para extração com auxílio de  $\text{N}_2$  líquido solubilizadas em  $1,5 \text{ mL}$  da solução de ácido tricloroacético (TCA) (6%). O extrato foi transferido para os tubos eppendorf, identificado e centrifugado a  $12.000 \times g$   $4^\circ\text{C}$  por 15 minutos. Após a extração, foram retiradas alíquotas de  $100 \text{ } \mu\text{L}$  de extrato e adicionadas em meio de reação contendo  $300 \text{ } \mu\text{L}$  de tampão fosfato de potássio  $200 \text{ mM}$  (pH 7,4),  $100 \text{ } \mu\text{L}$  de água deionizada,  $500 \text{ } \mu\text{L}$  TCA (10%),  $400 \text{ } \mu\text{L}$  de ácido fosfórico (45%),  $400 \text{ } \mu\text{L}$  de bipyridil (4%) e  $200 \text{ } \mu\text{L}$  de  $\text{FeCl}_3$  (3%). A reação foi submetida a banho maria a  $40^\circ\text{C}$  por 30 minutos. As leituras foram realizadas a  $525 \text{ nm}$ , sendo o conteúdo expresso em  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MF}$ , estimado com base em curva padrão.

O conteúdo reduzido de glutatona foi determinado seguindo o método proposto por Griffith (1980).  $0,2 \text{ g}$  de MF de folhas foram maceradas na presença de  $\text{N}_2$  líquido, adicionando  $1,5 \text{ mL}$  de TCA a 6% na extração. O extrato obtido foi centrifugado a  $12.000 \times g$   $4^\circ\text{C}$  durante 15 minutos. No ensaio, foram adicionados  $200 \text{ } \mu\text{L}$  do sobrenadante ao meio de reação contendo  $2600 \text{ } \mu\text{L}$  de tampão fosfato de sódio  $150 \text{ mM}$  (pH 7,4),  $1000 \text{ } \mu\text{L}$  de tampão fosfato de sódio  $100 \text{ mM}$  (pH 7,0) e  $200 \text{ } \mu\text{L}$  de ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB)  $30 \text{ mM}$  em tampão fosfato de potássio  $100 \text{ mM}$  (pH 7,0). Em seguida, a reação foi mantida durante 10 minutos em banho maria a  $30^\circ\text{C}$ . As leituras foram realizadas com absorbância a  $412 \text{ nm}$  e o conteúdo estimado com base na curva padrão, expresso em  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MF}$ .

### **2.11. Teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

A quantificação de TBARS foi realizada utilizando o método descrito por Heath e Packer (1968). Para a extração, foram pesados 0,2 g de MF de folhas, sendo macerados na presença de nitrogênio líquido e solubilizados com 1,5 mL de TCA a 6% (Solução A). O extrato foi transferido para os tubos eppendorf, que foram identificados e em seguida centrifugados a 12.000 g por 15 minutos. Alíquotas de 500 µL de extrato foram adicionadas em 2 ml de solução de reação (Solução B) contendo 20% de TCA e 0,5% de ácido tiobarbitúrico (TBA). As soluções foram armazenadas em tubos fechados com tampas rosqueadas e foram aquecidas em banho maria a 95°C durante 1 hora. Em seguida, as amostras foram colocadas em banho de gelo para interromper a reação, ao atingir a temperatura ambiente, as leituras de absorbância foram realizadas a 532 nm e 600 nm. O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo da atividade do complexo TBARS foi de  $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , expressando os resultados com base em  $\text{nmol g}^{-1}$  MF.

### **2.12. Delineamento estatístico e análise dos dados**

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com tratamentos em fatorial 3 x 3, três combinações de enxerto/porta-enxerto de videira (Vitória/IAC 313, Vitória/IAC 572 e Vitória/SO4) e três concentrações de NaCl (0, 50 e 100 mM), com três repetições por tratamento, totalizando 27 parcelas, cada parcela consiste de um vaso contendo uma muda enxertada. Os dados referentes às variáveis mensuradas foram expressos pela média (n=3) e desvio padrão para cada tratamento. Após identificar diferenças através da ANOVA, os valores médios foram comparados pelo teste de Tukey a um nível de 0,05 de probabilidade ( $P < 0,05$ ), utilizando o software R para análise dos dados. Os gráficos foram confeccionados utilizando o programa SigmaPlot 14.0.

## **3. RESULTADOS**

### **3.1. Crescimento, alocação de massa seca, conteúdo de clorofila e sintomas de toxicidade das plantas enxertadas de videira crescidas na ausência e presença de salinidade**

Com base na análise do conteúdo de massa seca (MS), o estresse salino afetou o crescimento dos diferentes órgãos (raiz, caule e folha) bem como da planta inteira, um efeito que foi independente do genótipo do porta-enxerto empregado na enxertia (Tabela 2). A MS de raízes foi reduzida de forma similar nas mudas sobre os três porta-enxertos sob salinidade moderada (50 mM) e mais severamente (cerca de 45%) sob salinidade elevada (100 mM), se

comparado com os respectivos controles (Tabela 2). A MS de caules apresentou redução leve em repostas a salinidade, tendo sido mais reduzida nas plantas sobre o porta-enxerto IAC 572 sob os dois níveis de NaCl. Sob 50 mM de NaCl a MS foliar das mudas sobre o IAC 313 e SO4 não foi alterada, porém foi significativamente reduzida nas plantas com os porta-enxertos IAC 572, comparado aos controles. Nas mudas sob salinidade elevada (100 mM) a MS foliar foi reduzida em cerca de 26%, 58% e 55% com os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, respectivamente, se comparadas aos respectivos controles. Sob salinidade moderada (50 mM) a MS da planta foi reduzida em média 24%, 35% e 15% para as mudas sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 527 e SO4, respectivamente, enquanto que nas mudas expostas a 100 mM essas reduções foram de 37%, 48% e 35%, na mesma ordem.

**Tabela 2.** Conteúdo de massa seca (MS) de raízes, caules, folhas e de planta inteira de mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

| Combinações               | mM NaCl | Raiz     | Caule     | Folha    | Planta    |
|---------------------------|---------|----------|-----------|----------|-----------|
| (g planta <sup>-1</sup> ) |         |          |           |          |           |
| Vitória/IAC 313           | 0       | 16,97 Aa | 18,46 Aa  | 6,16 Ba  | 41,60 Ba  |
|                           | 50      | 9,98 Ab  | 15,79 Aa  | 5,77 Ba  | 31,55 Bb  |
|                           | 100     | 7,17 Ab  | 14,55 Aa  | 4,54 Aa  | 26,27 Ab  |
| Vitória/IAC 572           | 0       | 17,51 Aa | 20,44 Aa  | 13,18 Aa | 51,14 Aa  |
|                           | 50      | 9,74 Ab  | 15,85 Aab | 7,57 ABb | 33,17 ABb |
|                           | 100     | 7,05 Ab  | 14,22 Ab  | 5,47 Ab  | 26,75 Ab  |
| Vitória/SO4               | 0       | 16,31 Aa | 19,51 Aa  | 12,49 Aa | 48,32 ABa |
|                           | 50      | 12,17 Ab | 18,49 Aa  | 10,00 Aa | 40,66 Aa  |
|                           | 100     | 8,85 Ab  | 16,79 Aa  | 5,62 Ab  | 31,27 Ab  |
| CV (%)                    |         | 14,45    | 15,34     | 16,35    | 10,46     |

Observação: Os dados incluem a média ( $n = 3$ ). Os dados foram analisados por uma ANOVA de dois fatores conduzida com enxerto/porta-enxerto e concentração de NaCl como fontes de variação. As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Abreviação: CV: coeficiente de variação.

A taxa de acúmulo diário médio de MS (TAD) apresentou tendência similar aos resultados observados para o conteúdo de MS nas partes e planta inteira. Para raízes, a TAD de MS foi afetada pela salinidade moderada e mais severamente pela dose elevada de NaCl (Tabela 3). Para caules, a TAD de MS foi reduzida em cerca de 36% nas mudas sobre os porta-enxertos IAC 313 e IAC 572 sob 50 mM de NaCl, enquanto que nas mudas sobre o SO4 essa redução foi de apenas 5%, se comparado aos respectivos controles, não apresentando diferença significativa. Sob salinidade moderada a TAD de MS de folhas apresentou reduções médias 64% e 34% nas mudas com IAC 572 e SO4, respectivamente, enquanto que nas mudas sobre o IAC 313 não foi afetada. Por outro lado, sob salinidade elevada as mudas sobre

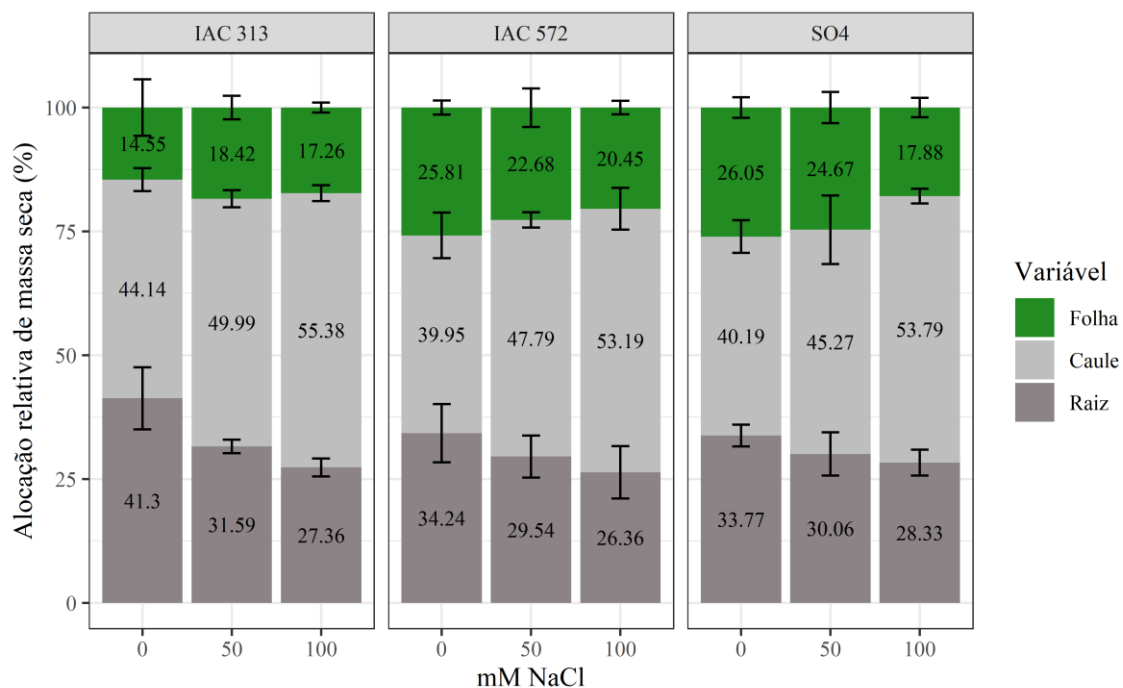
todos os porta-enxertos apresentaram perdas de MS, sendo mais acentuada nas mudas de SO4 em que ocorreu redução de 94%, se compara aos controles.

**Tabela 3.** Taxa de acúmulo diária (TAD) de MS de raízes, caules e folhas e planta inteira de mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

| Combinações     | mM NaCl | Raiz                             | Caule      | Folha      | Planta    |
|-----------------|---------|----------------------------------|------------|------------|-----------|
|                 |         | (mg . g MS . dia <sup>-1</sup> ) |            |            |           |
| Vitória/IAC 313 | 0       | 47,13 Aa                         | 270,44 Aa  | 78,77 Ba   | 80,87 Aa  |
|                 | 50      | 23,84 Ab                         | 181,44 Aa  | 65,76 Ba   | 47,38 Ab  |
|                 | 100     | 14,45 Ab                         | 140,33 Aa  | 24,63 Aa   | 29,77 Ab  |
| Vitória/IAC 572 | 0       | 44,45 Aa                         | 389,33 Aa  | 288,71 Aa  | 110,26 Aa |
|                 | 50      | 18,56 Ab                         | 236,33 Aab | 101,81 ABb | 50,38 Ab  |
|                 | 100     | 9,60 Ab                          | 181,88 Ab  | 31,79 Ab   | 28,96 Ab  |
| Vitória/SO4     | 0       | 39,76 Aa                         | 324,00 Aa  | 242,22 Aa  | 94,87 Aa  |
|                 | 50      | 25,94 Aab                        | 290,22 Aa  | 158,93 Ab  | 69,34 Aa  |
|                 | 100     | 14,90 Ab                         | 233,44 Aa  | 12,89 Ac   | 38,02 Ab  |
| CV (%)          |         | 26,15                            | 39,39      | 32,85      | 21,50     |

Observação: Os dados incluem a média ( $n = 3$ ). Os dados foram analisados por uma ANOVA de dois fatores conduzida com enxerto/porta-enxerto e concentração de NaCl como fontes de variação. As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Abreviação: CV: coeficiente de variação.

A alocação relativa de massa seca das videiras dos genótipos IAC 313, IAC 572 e SO4 são apresentadas na Figura 1. No geral, independente do tratamento, o genótipo IAC 313 apresentou menores resultados de alocação de biomassa das folhas, sendo 16,74%. Por outro lado, em média nos tratamentos (0, 50 e 100 mM NaCl) a alocação relativa do caule e raiz foi superior aos demais genótipos com 49,84 e 33,42%, respectivamente. A salinidade de 100 mM reduziu o teor de massa seca de todas as combinações de porta-enxertos; em contrapartida, tal concentração de salinidade proporcionou incremento mais elevado de biomassa no caule de todas as combinações. O NaCl diminuiu o teor de biomassa das raízes com 100 mM, causando maiores danos na IAC 572 (26,36%). Nos genótipos, houve um incremento gradativo de biomassa do caule com o aumento da salinidade. Houve também uma redução mais acentuada da parte aérea das folhas nos genótipos IAC 313, e SO4. Com a exposição à alta salinidade de 100 mM, a IAC 572 apresentou maiores resultados na biomassa das folhas (20,45%). A salinidade moderada (50 mM) manteve o crescimento da parte aérea (ou seja, folha + caule) da IAC 572 e SO4 em 70,46% e 69,94%, respectivamente.



**Figura 1.** Alocação relativa (%) de massa seca em plantas de videira variedade Vitória enxertadas sobre os porta-enxertos IAC 313 (A), IAC 572 (B) e SO4 (C) crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

Não foram observadas diferenças significativas com relação aos conteúdos de clorofila entre os porta-enxertos (Tabela 4). O conteúdo de Chla diminuiu significativamente, essa redução pode ser observada a partir da salinidade moderada (50mM) em todos os porta-enxertos estudados, já para Chlb a diminuição foi encontrada nos porta-enxertos IAC 572 e SO4 a medida em que se elevavam os níveis salinos. Além disso, o conteúdo total de clorofilas foi alterado significativamente em todas as IACs no com o aumento da salinidade, embora a relação Chla/b tenha aumentado pelo estresse salino moderado em todos os porta-enxertos, estatisticamente houve diferença significativa apenas para o IAC 313, enquanto o estresse severo decresceu.

**Tabela 4.** Teores de clorofilas *a*, *b*, *totais* e relação *Chl a/b* entre em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

| Combinações     | mM NaCl | Chl <i>a</i>            | Chl <i>b</i> | Chl <i>totais</i> | Chl <i>a/b</i> |
|-----------------|---------|-------------------------|--------------|-------------------|----------------|
|                 |         | (mg g <sup>-1</sup> MF) |              |                   |                |
| Vitória/IAC 313 | 0       | 1,21 Aa                 | 0,51 Aa      | 1,72 Aa           | 2,35 Ab        |
|                 | 50      | 1,07 Aab                | 0,41 Aa      | 1,49 Aab          | 2,61 Aa        |
|                 | 100     | 0,80 Ac                 | 0,35 Aa      | 1,16 Ac           | 2,25 Ab        |
| Vitória/IAC 572 | 0       | 1,30 Aa                 | 0,57 Aa      | 1,87 Aa           | 2,29 Aab       |
|                 | 50      | 0,90 Ab                 | 0,36 Ab      | 1,26 Ab           | 2,47 Aa        |

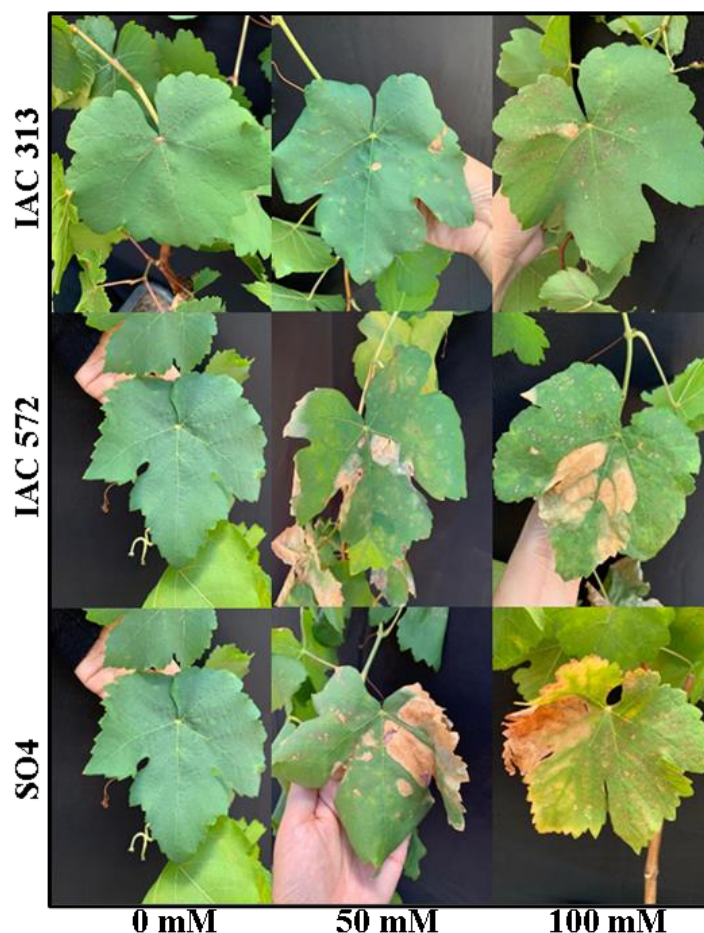
|             |     |         |         |         |          |
|-------------|-----|---------|---------|---------|----------|
|             | 100 | 0,68 Ab | 0,32 Ab | 1,00 Ab | 2,13 Ab  |
|             | 0   | 1,40 Aa | 0,62 Aa | 2,03 Aa | 2,24 Aab |
| Vitória/SO4 | 50  | 0,92 Ab | 0,38 Ab | 1,30 Ab | 2,42 Aa  |
|             | 100 | 0,75 Ab | 0,34 Ab | 1,10 Ab | 2,17 Ab  |
| CV (%)      |     | 17,22   | 20,56   | 18,12   | 5,16     |

Observação: Os dados incluem a média ( $n = 3$ ). Os dados foram analisados por uma ANOVA de dois fatores conduzida com enxerto/porta-enxerto e concentração de NaCl como fontes de variação. As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Abreviação: CV: coeficiente de variação.

O registro visual mostrou sintomas foliares típicos de toxicidade causada pelos efeitos osmótico/iônico do estresse salino em plantas, envolvendo a restrição de crescimento, clorose e necrose associado com a queda de folhas (Figuras 2 e 3). As plantas sobre o porta-enxerto IAC 313 apresentaram escurecimento foliar com pontos necróticos na parte central da folha nos dois níveis de NaCl, com menor intensidade de coloração verde nas plantas expostas a dose mais elevada do sal (Figura 3). As plantas sobre os porta-enxertos IAC 572 e SO4 apresentaram ressecamento com necrose foliar na área foliar geral, com sintomas iniciando nas margens das folhas, ocorrendo nos dois níveis de NaCl testados. Conforme observado, os sintomas de toxicidade ocorreram inicialmente e de forma predominante e acentuados nas folhas mais velhas, localizadas na parte basal das plantas.



**Figura 2.** Aspecto visual de plantas de videira variedade Vitória enxertadas sobre os porta-enxertos IAC 313 (A), IAC 572 (B) e SO4 (C) crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação. Observar ao lado das plantas uma régua de 1 m, como referência para a altura das plantas.

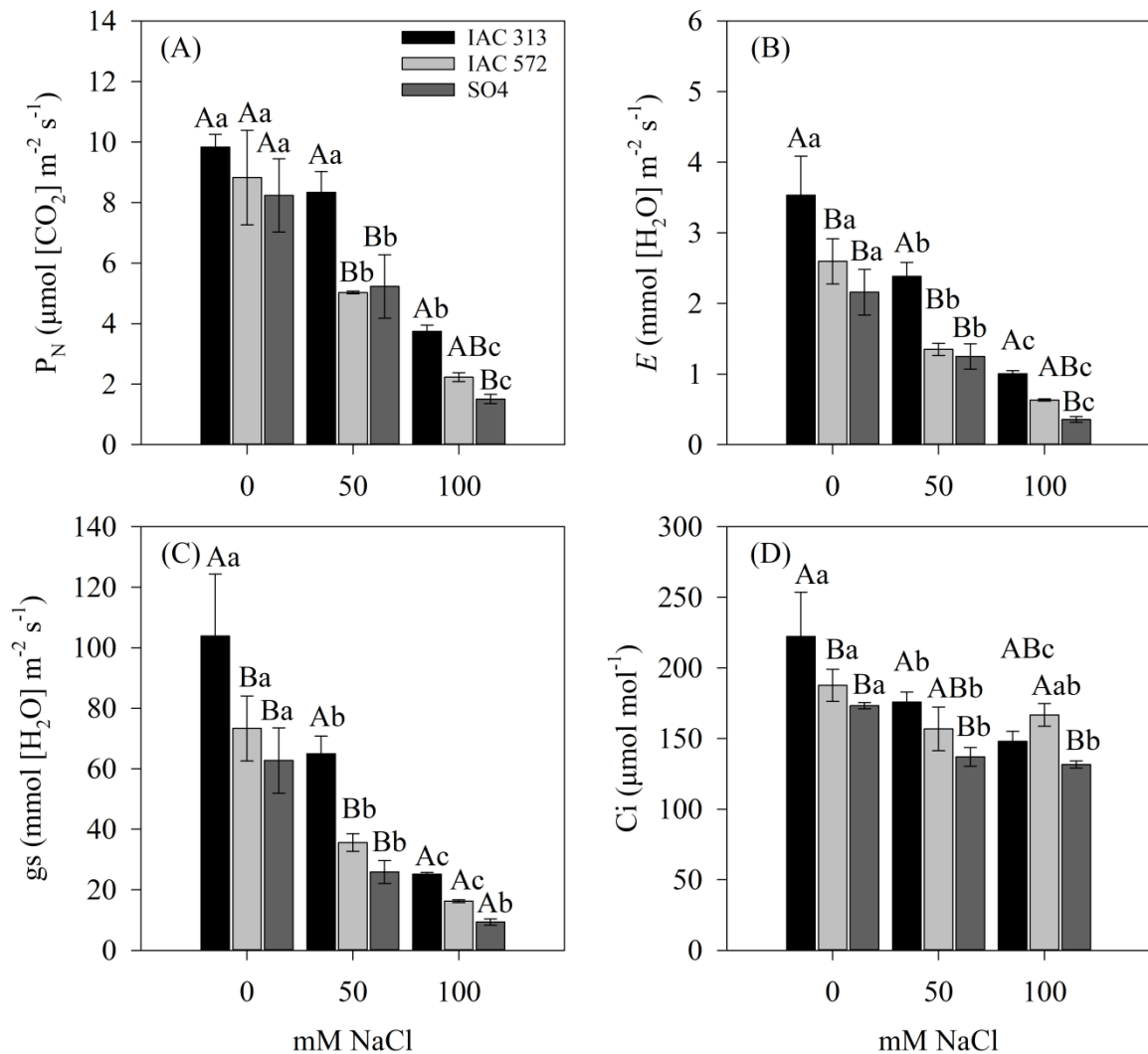


**Figura 3.** Sintomas foliares característicos apresentados em mudas de videira da cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

### ***3.2. Trocas gasosas, parâmetros fotoquímicos e potencial hídrico em plantas de videira crescidas na ausência e presença de salinidade***

O estudo de parâmetros de trocas gasosas mostrou um efeito severo do estresse salino na condutância estomática associado com forte restrição da assimilação de carbono, se comparada com as plantas crescidas na ausência do sal (Figuras 4 e 5). As plantas crescidas na ausência do sal apresentaram mesma fotossíntese líquida ( $P_N$ ) média, com valores de  $10 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Figura 4A). As plantas enxertadas sobre o porta-enxerto IAC 313 não apresentaram redução da  $P_N$  quando submetidas à salinidade moderada, enquanto que nas mudas sobre o IAC 572 e SO4 a  $P_N$  foi reduzida em cerca de 50%, em relação aos controles. Sob salinidade elevada a  $P_N$  foi reduzida em cerca de 60%, 75% e 85% nas mudas sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, respectivamente, se comparado aos respectivos controles.

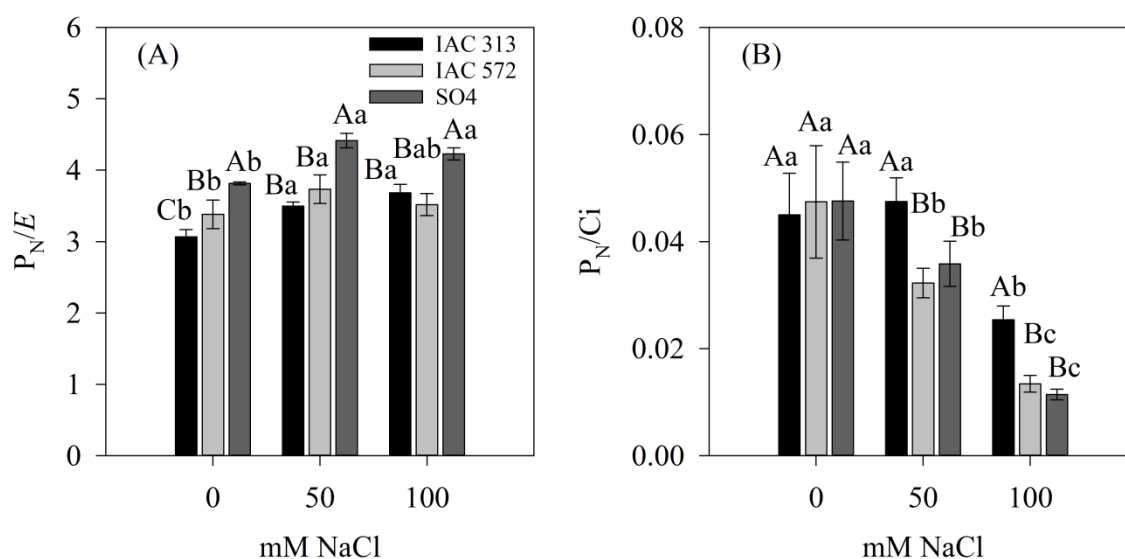
As plantas apresentaram diferenças endógenas significativas na taxa de transpiração ( $E$ ) e condutância estomática ( $g_s$ ), conforme observado nas plantas crescidas na ausência do sal (Figura 4B e 4C). Porém, as plantas submetidas ao estresse salino apresentaram tendência similar de  $E$  e  $g_s$  observada para a  $P_N$ , com aquelas enxertadas sobre o IAC 313 sendo menos afetada pela salinidade. A pressão intercelular de  $CO_2$  ( $C_i$ ) foi similar nas mudas com IAC 313 e IAC 572, porém menor naquelas sobre o SO4 quando crescidas na ausência do sal (Figura 4D). Sob salinidade moderada a  $C_i$  foi reduzida nas plantas sobre todos os porta-enxertos, enquanto que sob salinidade elevada foi afetada naquelas plantas enxertadas sobre IAC 313 e SO4, se comparado aos respectivos controles.



**Figura 4.** Fotossíntese líquida (A), taxa de transpiração (B), condutância estomática (C) e pressão parcial intercelular de  $CO_2$  (D) em mudas de videira da cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

**Observação:** As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

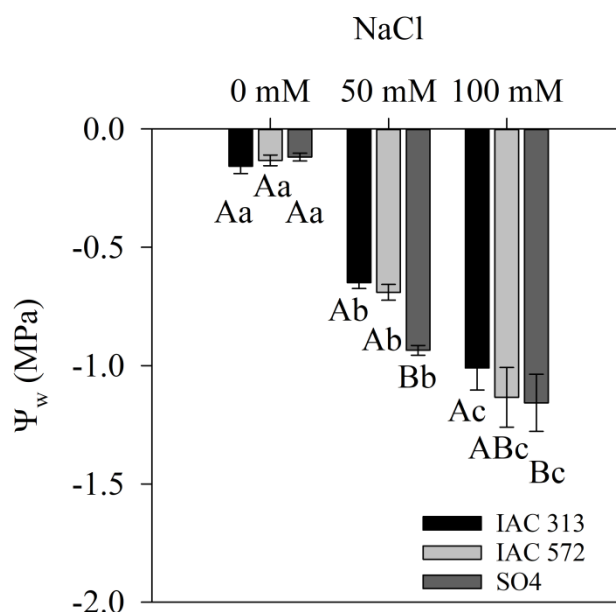
A estimativa dos parâmetros de eficiência de uso de água ( $P_N/E$ ) e de eficiência de carboxilação específica ( $P_N/C_i$ ) mostrou que o efeito da salinidade na restrição fotossintética foi também dependente do genótipo do porta-enxerto (Figura 5A e 5B). As plantas enxertadas sobre o IAC 313 apresentaram um leve aumento da eficiência de uso de água em respostas a salinidade, porém esse aumento (da relação  $P_N/E$ ) foi maior nas mudas sobre o SO4 e naquelas sobre o IAC 572 a relação  $P_N/E$  não foi alterada (Figura 5A). As mudas de Vitória sobre o IAC 313 não apresentaram redução da eficiência de carboxilação (relação  $P_N/C_i$ ) sob salinidade moderada, enquanto que nas mudas sobre IAC 572 e SO4 foi reduzida em cerca de 20% (Figura 5B). Nas plantas submetidas à salinidade elevadas a relação  $P_N/C_i$  foi reduzida em 40% nas mudas de Vitória com o IAC 313, enquanto que nas mudas sobre o IAC 572 e SO4 essa redução foi de cerca de 75 %, se comparado aos respectivos controles.



**Figura 5.** Estimativas da eficiência de uso de água (A) e eficiência de carboxilação instantânea (B) em mudas de videira da cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação. **Observação:** As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As plantas submetidas à salinidade apresentaram reduções significativas do *status* hídrico conforme indicado por mediadas do potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), uma resposta que

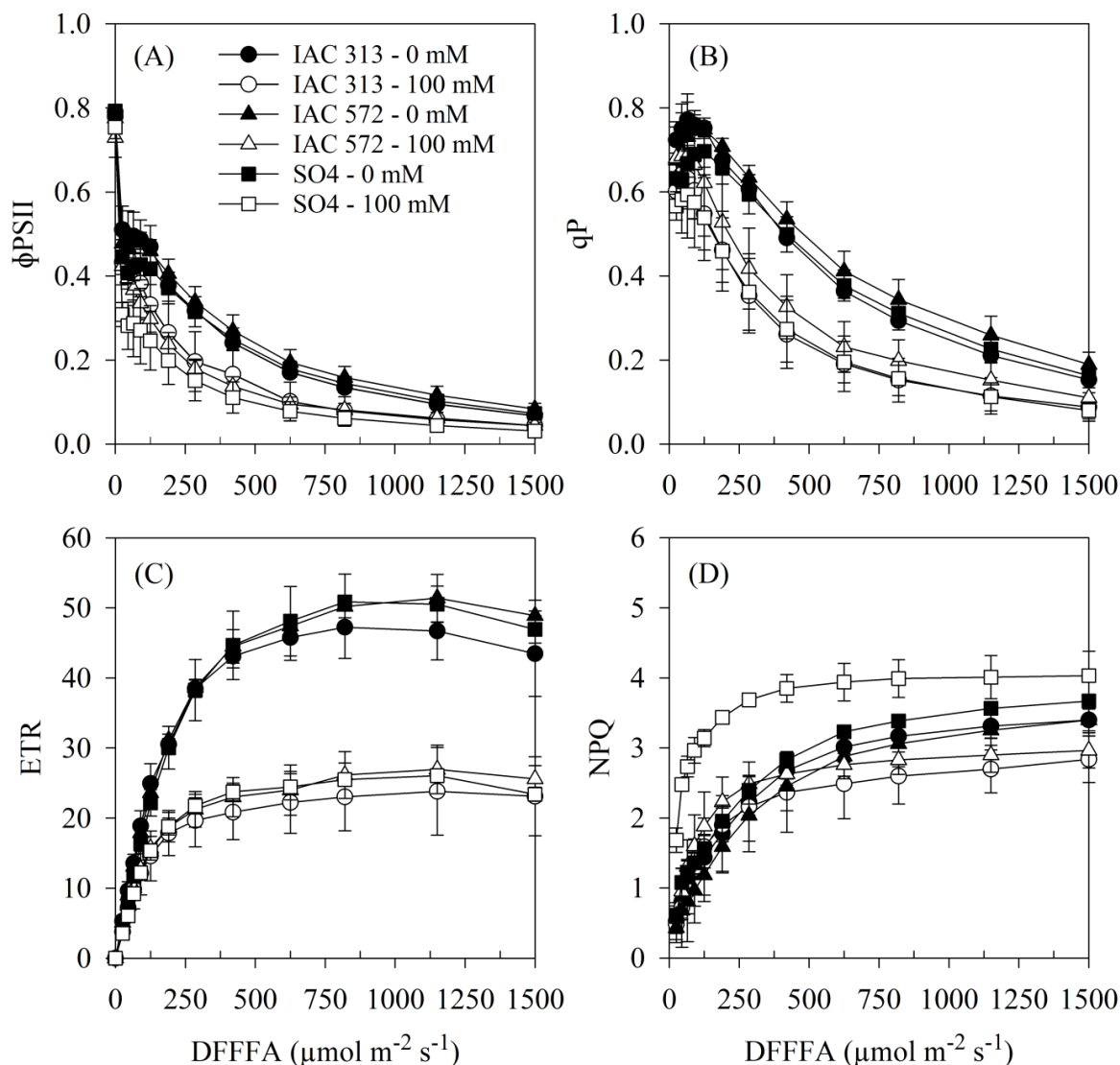
também foi influenciada pelo genótipo do porta-enxerto (Figura 6). Na ausência de salinidade (controles) o  $\Psi_w$  foliar foi similar (-0,180 MPa) nas mudas da variedade Vitória enxertadas sobre os três porta-enxertos avaliados. Nas combinações expostas a salinidade moderada (50 mM) foi observada uma redução média de duas vezes nas plantas enxertadas sobre os porta-enxertos IAC 313 e IAC 572, e em cerca de 3,5 vezes nas mudas sobre o SO4, se comparado aos respectivos controles. Porém, nas mudas crescidas sob salinidade elevada ocorreu uma redução médias de cerca de cinco vezes do  $\Psi_w$  foliar de forma similar nas três combinações de enxerto/porta-enxertos avaliados.



**Figura 6.** Mudanças do potencial hídrico em mudas de videira cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação. **Observação:** As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Uma análise detalhada da dinâmica de parâmetros fotoquímica, estimados a partir da fluorescência das clorofilas, revelou efeitos severos da salinidade sobre processos de eficiência fotoquímica com dependência do porta-enxerto, uma resposta que ficou mais clara sob 100 mM de NaCl (Figura7). Sob salinidade elevada as plantas sobre os três porta-enxertos apresentaram redução significativa similar do rendimento quântico atual ( $\phi PSII$ ) e do quenching fotoquímico (qP) quando expostas a DFFFA de até 800 ( $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), se comparado aos controles (Figuras 7A e 7B). Vale ressaltar que essa faixa (intensidade) de luz (800  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) est\u00e1 compat\u00edvel com a satura\u00e7\u00e3o por luz para a assimila\u00e7\u00e3o de  $\text{CO}_2$  na videira. Nas plantas sob salinidade (100 mM) a taxa de transporte de el\u00e9trons (ETR) foi

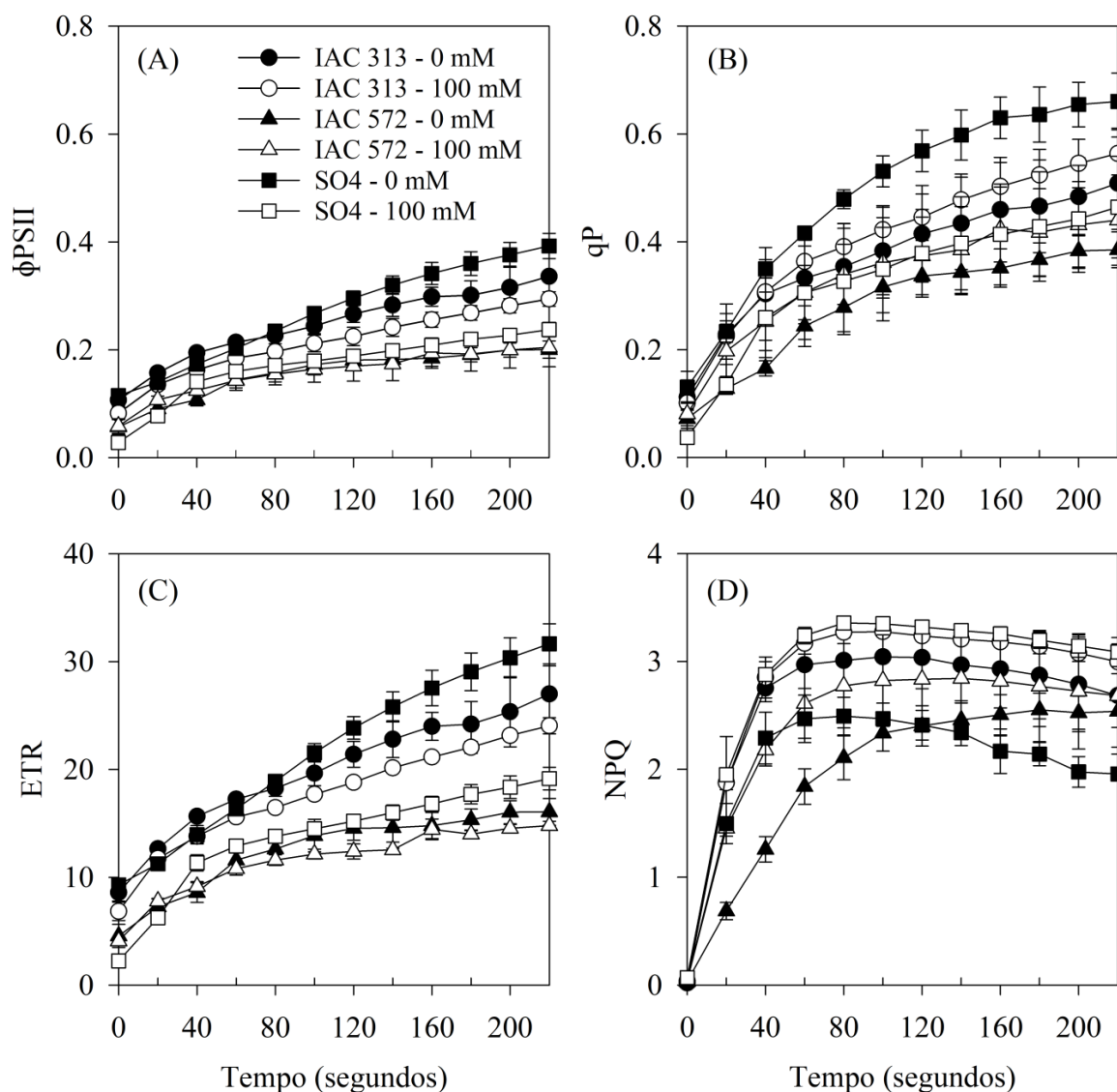
similarmente reduzida em cerca de 50% nas três combinações de enxerto/porta-enxerto avaliadas, comparadas aos respectivos controles (Figura 7C). O quenching não fotoquímico (NPQ) apresentou tendências de redução às plantas sobre os porta-enxertos IAC 313 e IAC 572 sob salinidade, enquanto que nas mudas sobre o SO4 esse parâmetro foi significativamente estimulado pelo estresse salino, se comparado aos respectivos controles (Figura 7D).



**Figura 7.** Curvas de luz apresentando os parâmetros de rendimento quântico atual do PSII (A), quenching fotoquímico (B), taxa de transporte de elétrons (C) e quenching não fotoquímica (D) em mudas de videira da cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

A dinâmica de parâmetros de eficiência fotoquímica durante a indução fotossintética, avaliado pelas curvas de indução da fotossíntese, revelam efeitos limitantes da salinidade

sobre a etapa de reações luminosas da fotossíntese dependente do porta-enxerto. As plantas controles enxertadas sobre o porta-enxerto SO4 apresentaram maior indução dos parâmetros de  $\Phi_{PSII}$ , qP e ETR durante a indução inicial da fotossíntese, seguido pelas plantas enxertadas sobre o IAC 313 e o IAC 572, nessa ordem (Figura 8). Sob salinidade elevada as plantas enxertadas sobre o SO4 apresentaram forte redução desses parâmetros ( $\Phi_{PSII}$ , qP e ETR), enquanto que naquelas sobre o IAC 313 não foi observada redução significativa, em relação aos controles (Figura 8A, B e C). Em adição, nas plantas enxertadas sobre o IAC 572 as plantas tratadas com NaCl apresentaram similar indução de  $\Phi_{PSII}$ , qP e ETR comparada as plantas controles. Nesse caso vale ressaltar que as plantas controles enxertadas sobre o IAC 572 apresentaram baixa indução desses parâmetros de eficiência, similar às plantas salinizadas. Nas plantas enxertadas sobre o IAC 313 apresentaram aumentos similares da indução do NPQ tanto na ausência como na presença do sal, enquanto que nas plantas sobre IAC 572 e SO4 esse aumento foi significativamente maior nas plantas sob salinidade elevada (Figura 8D).



**Figura 8.** Curvas de indução fotossintética por luz apresentando os parâmetros de rendimento quântico atual do PSII (A), quenching fotoquímico (B), taxa de transporte de elétrons (C) e quenching não fotoquímica (D) em mudas de videira cultivar Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, quando crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

### 3.3. Teores de $Na^+$ , $K^+$ , $Cl^-$ e taxa de acumulação de $Na^+$ , $K^+$ em plantas enxertadas de videira crescidas na ausência e presença de salinidade

O teor de íons  $Na^+$  e  $K^+$  nas plantas cultivadas na ausência e presença de salinidade, foram mensurados nas diferentes partes vegetativas das plantas, a partir disso foi estimada a taxa de acumulação diária (TAD) desses íons. Foi possível observar que nas três combinações de enxerto/porta-enxertos ocorreram aumentos gradativos e de maneira similar para o conteúdo de  $Na^+$  nos dois níveis de NaCl (Tabela 5). Para as raízes, os teores de  $Na^+$

aumentaram significativamente em todos os porta-enxertos quando comparado ao controle, sendo esse aumento mais acentuado no IAC 313 e IAC 572 no tratamento de salinidade elevada (100mM). Os caules não apresentaram diferença significativa entre os porta-enxertos quanto ao teor de  $\text{Na}^+$ . No pecíolo das folhas foi observado um teor significativamente elevado de  $\text{Na}^+$ , mostrando-se um grande acumulador desse íon. Para folhas, o teor de  $\text{Na}^+$  foi significativamente maior nas mudas enxertadas sobre o porta-enxerto SO4 sob o maior nível salino (100 mM), se comparadas a mudas sobre o IAC 572, pois esse porta-enxerto apresentou menor teor de  $\text{Na}^+$  foliar se comparadas aos outros, quando expostos a concentração mais elevada do sal. Dessa forma, é importante destacar que esse resultado pode estar associado a sintomas de toxicidade iônica nas folhas.

**Tabela 5.** Teor de sódio ( $\text{Na}^+$ ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

| Combinações     | mM NaCl | Raiz                      | Caule     | Pecíolo    | Folha     |
|-----------------|---------|---------------------------|-----------|------------|-----------|
|                 |         | (μmol g <sup>-1</sup> MS) |           |            |           |
| Vitória/IAC 313 | 0       | 89,14 Ac                  | 57,30 Ac  | 191,02 Bc  | 41,38 Ac  |
|                 | 50      | 595,35 Ab                 | 130,53 Ab | 1400,83 Ab | 238,77 Bb |
|                 | 100     | 815,02 Aa                 | 203,75 Aa | 1572,75 Aa | 445,71 Ba |
| Vitória/IAC 572 | 0       | 111,43 Ac                 | 50,94 Ac  | 127,34 Ac  | 31,83 Ac  |
|                 | 50      | 614,45 Ab                 | 101,87 Ab | 1044,25 Bb | 175,10 Cb |
|                 | 100     | 875,51 Aa                 | 171,92 Aa | 1426,29 Ba | 353,39 Ca |
| Vitória/SO4     | 0       | 82,77 Ac                  | 50,94 Ac  | 324,74 Ab  | 22,28 Ac  |
|                 | 50      | 334,29 Bb                 | 136,89 Ab | 1432,66 Aa | 445,71 Ab |
|                 | 100     | 646,28 Ba                 | 219,67 Aa | 1413,56 Ba | 573,06 Aa |
| CV (%)          |         | 11,22                     | 18,21     | 4,91       | 8,17      |

Observação: Os dados incluem a média ( $n = 3$ ). Os dados foram analisados por uma ANOVA de dois fatores conduzida com enxerto/porta-enxerto e concentração de NaCl como fontes de variação. As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Abreviação: CV: coeficiente de variação.

Nas raízes o teor de  $\text{K}^+$  diminuiu em todas as combinações de porta-enxertos conforme aumentavam os tratamentos salinos, comportamento semelhante foi observado em caules e pecíolos (Tabela 6). Nas folhas, o teor de  $\text{K}^+$  foi maior nas mudas enxertadas sobre os porta-enxertos IAC 572 e SO4, sendo o IAC 313 o que apresentava o menor teor desse íon sob salinidade elevada. Conforme mostrado pela TAD estimada, o acúmulo diário de  $\text{K}^+$  em raízes, caules e pecíolos foi reduzido pela salinidade nas mudas enxertadas. O incremento do acúmulo diário para o  $\text{Na}^+$  nas plantas submetidas ao sal foi observado neste estudo (Figura 10). Com relação ao acúmulo diário de  $\text{Na}^+$ , as plantas sob salinidade elevada sobre SO4 nas folhas, apresentaram maior acúmulo de sódio. O caule apresentou maior acúmulo desse íon

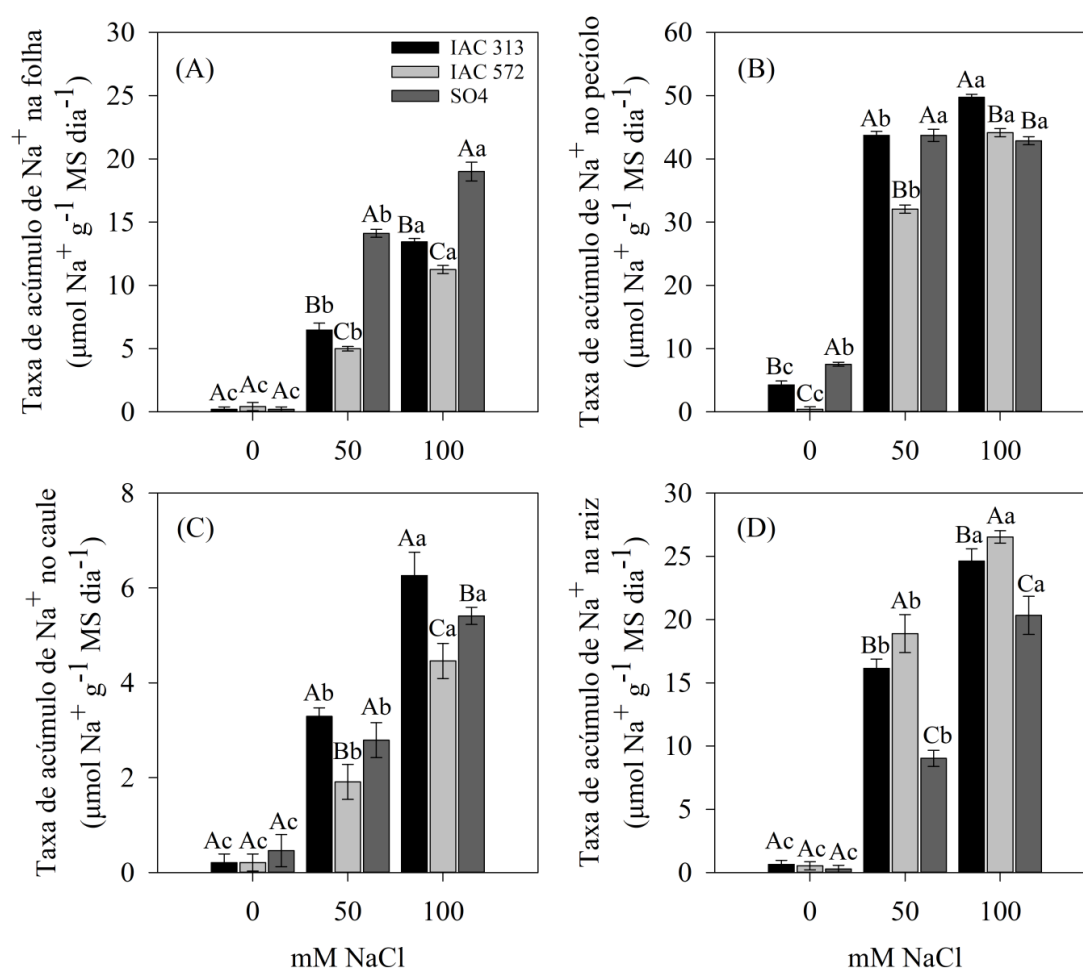
tanto na IAC 313, como na SO4. Nas raízes o acúmulo de  $\text{Na}^+$  foi similar entre os porta-enxertos IAC 313 e IAC 572 sob salinidade severa.

**Tabela 6.** Teor de potássio ( $\text{K}^+$ ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

| Combinações     | mM NaCl | Raiz                      | Caule      | Pecíolo    | Folha     |
|-----------------|---------|---------------------------|------------|------------|-----------|
|                 |         | (μmol g <sup>-1</sup> MS) |            |            |           |
| Vitória/IAC 313 | 0       | 523,26 Aa                 | 203,49 ABa | 1098,19 Aa | 510,34 Ab |
|                 | 50      | 478,04 Aab                | 148,58 Ab  | 729,97 Ab  | 684,75 Ba |
|                 | 100     | 423,13 Bb                 | 184,11 Ba  | 562,02 Bc  | 633,07 Ba |
| Vitória/IAC 572 | 0       | 507,11Aa                  | 177,65 Bb  | 885,01 Ba  | 549,10 Ab |
|                 | 50      | 536,18 Aa                 | 174,42 Ab  | 684,75 Ab  | 859,14 Aa |
|                 | 100     | 529,72 Aa                 | 222,87 Aa  | 910,85 Aa  | 917,31 Aa |
| Vitória/SO4     | 0       | 419,90 Ba                 | 232,56 Aa  | 1201,55 Aa | 520,03 Ac |
|                 | 50      | 316,54 Ab                 | 145,35 Ab  | 729,97 Ab  | 859,17 Ab |
|                 | 100     | 319,77 Cb                 | 164,73 Bb  | 600,77 Bb  | 901,16 Aa |
| CV (%)          |         | 7,08                      | 9,08       | 8,11       | 4,64      |

Observação: Os dados incluem a média ( $n = 3$ ). Os dados foram analisados por uma ANOVA de dois fatores conduzida com enxerto/porta-enxerto e concentração de NaCl como fontes de variação. As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Abreviação: CV: coeficiente de variação.

As informações sobre as taxas de acúmulo de sódio nas estruturas das plantas de videira sob níveis de salinidade são apresentadas na Figura 9. Sob moderada (50 mM NaCl) e alta (100 mM NaCl) salinidade o genótipo SO4 esboçou maior acúmulo de  $\text{Na}^+$  nas folhas, sendo 118,01% e 181,77% superior a IAC 313 e IAC 572, respectivamente com 50 mM NaCl. Similarmente ainda para SO4 com 100 mM NaCl, o acúmulo foi de 41,39% e 68,87% superior a IAC 313 e IAC 572, respectivamente (Figura 9A). Curiosamente, apesar do pecíolo fazer parte da estrutura da folha, nos diferentes tratamentos houveram variações e acréscimo na acumulação de sódio (Figura 9B). Os resultados mostraram que o pecíolo das plantas tem aumento na capacidade de acúmulo de  $\text{Na}^+$  com o incremento da salinidade, mas a aplicação de  $\text{Na}^+$  teve efeito mais expressivo especialmente na IAC 313. Não houve diferença significativa para IAC 313 e SO4 submetida a 50 mM, exceto a IAC 572 sendo 26,69% menor. O genótipo IAC 313 foi significativamente superior à IAC 572 e SO4 sob salinidade de 100 mM NaCl para o acúmulo de  $\text{Na}^+$  no pecíolo.

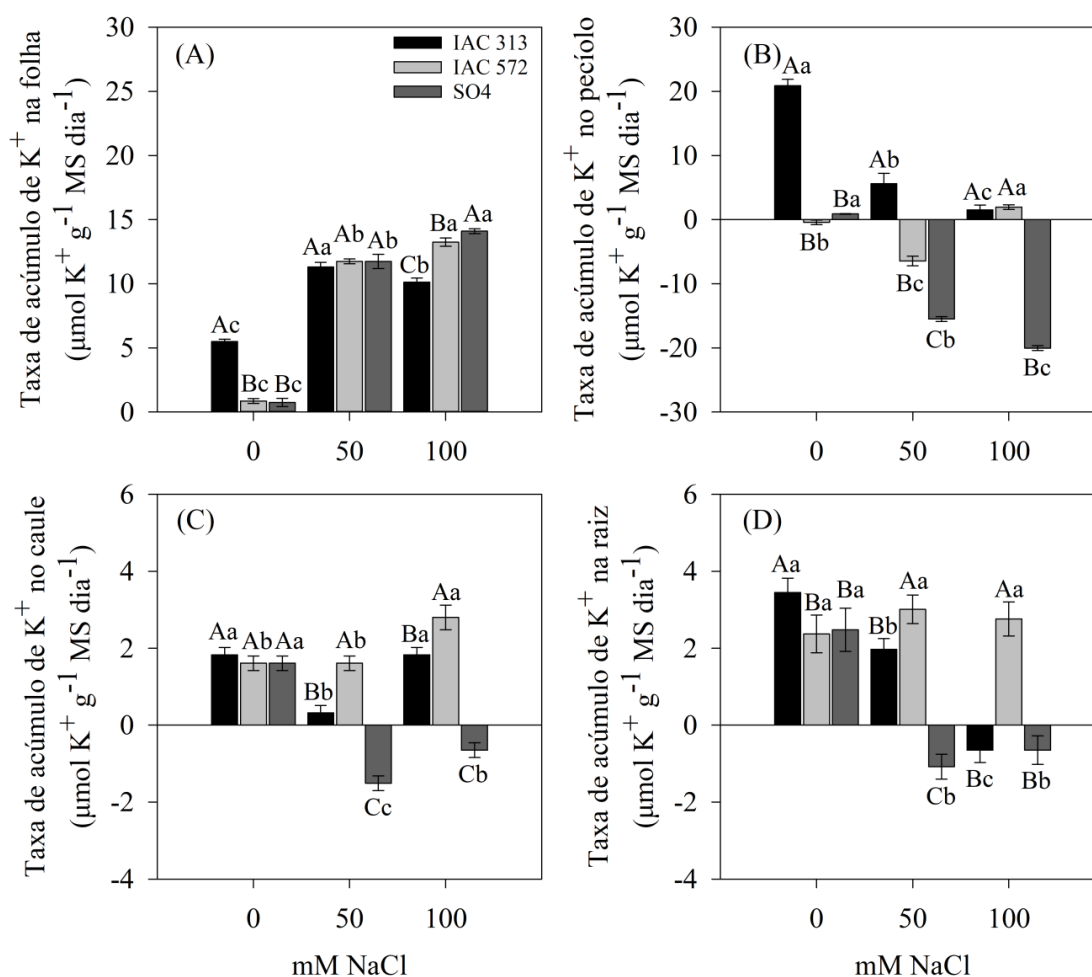


**Figura 9.** Taxa de acúmulo de sódio ( $\text{Na}^+$ ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação. **Observação:** As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os menores teores acumulados de  $\text{Na}^+$  em videiras foram evidenciados no caule (Figura 9C), além disso, os diferentes níveis de salinidade proporcionou diferença significativa entre os genótipos. Em 50 mM NaCl os maiores acúmulos de NaCl foi para IAC 313 e SO4 ( $p > 0,05$ ), sendo ambas significativamente superior a IAC 572 (59,16%). De acordo com os resultados, a aplicação de 100 mM NaCl apesar do incremento no acúmulo do íon no caule, houve diferença entre todos os genótipos. A raiz foi o segundo órgão de maior acúmulo de sódio em videiras (Figura 9D). A salinidade de 50 mM NaCl aumentou o acúmulo de sódio significativamente ( $p < 0,05$ ). Em IAC 572 o incremento do íon foi mais expressivo quando comparado com IAC 313 e SO4, sendo 17,11% e 109,42%, respectivamente. O acúmulo de

$\text{Na}^+$  em IAC 572 sob 100 mM NaCl, foi significativamente superior as demais combinações (Figura 9D). No presente estudo, com os incrementos de aplicação de sal, a SO4 significativamente apresentou menores acúmulos de sódio ( $p < 0,05$ ).

A taxa de acúmulo de  $\text{K}^+$  em folhas sob salinidade elevada apresentou diferença significativa entre os três porta-enxertos estudados, com destaque para o SO4 que acumulou cerca de 15  $\mu\text{mol}$ . Em raiz, caule e pecíolo sofreram restrição quando submetidas a salinidade moderada e elevada (Figura 10B, C e D). Os valores negativos para a TAD estimada indicam que no decorrer dos dias, houveram perdas de potássio nas plantas quando comparadas com as plantas coletadas no início do experimento. As estimativas para a TAD de  $\text{Na}^+$  em raízes mostram uma intensa acumulação desse íon durante o experimento nas plantas sobre os três porta-enxerto quando expostas as duas concentrações de sal.



**Figura 10.** Taxa de acúmulo de potássio ( $\text{K}^+$ ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de

vegetação. **Observação:** As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O teor de cloreto manteve praticamente o mesmo comportamento em todas as partes vegetativas da planta (Tabela 7). Na raiz houve aumento deste íon em todos os porta-enxertos avaliados, acumulando em média 1,110  $\mu\text{mol}$  de  $\text{Cl}^-$  no tratamento de salinidade elevada (100mM). Em caule o teor de  $\text{Cl}^-$  também teve aumento em todas combinações Vitória/IAC313, Vitória/572 e Vitória/SO4 que mantiveram os valores em torno de 174  $\mu\text{mol}$ . Em folhas, houve efeito significativo entre os porta-enxertos submetidos à salinidade moderada, em que as mudas sobre IAC 313 apresentaram redução no teor de  $\text{Cl}^-$ , cerca de 500  $\mu\text{mol}$ .

**Tabela 7.** Teor de cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) em mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

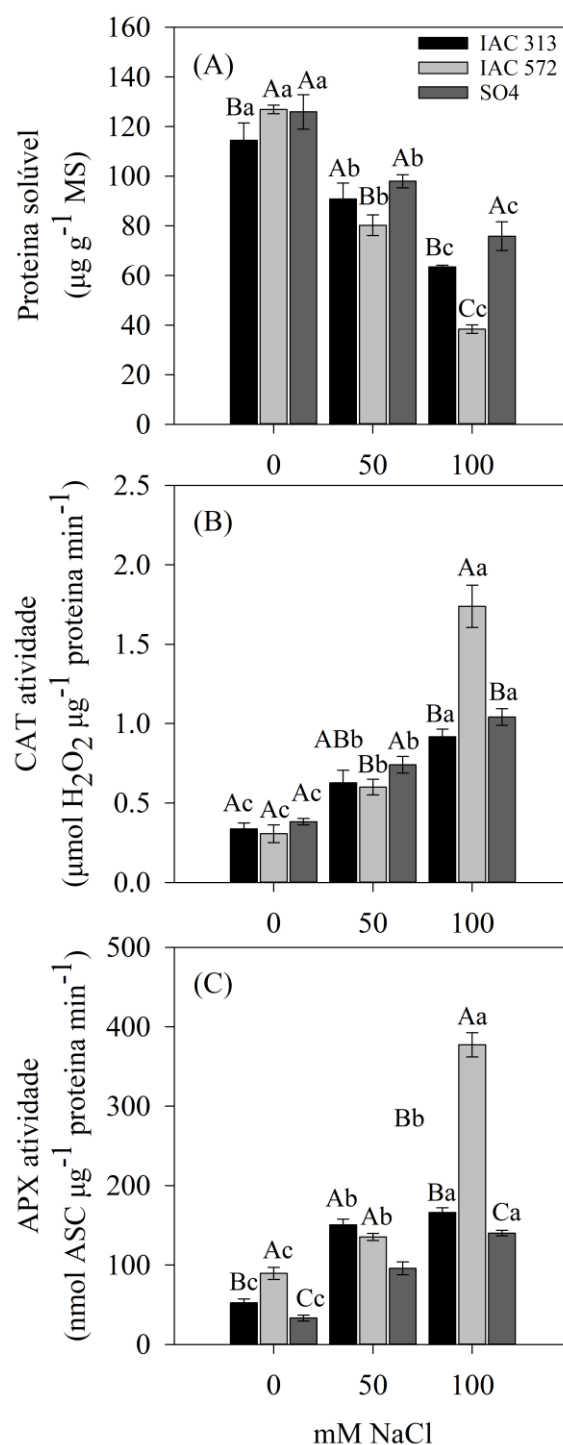
| Combinações     | mM NaCl | Raiz                               | Caule      | Pecíolo    | Folha      |
|-----------------|---------|------------------------------------|------------|------------|------------|
|                 |         | $(\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS})$ |            |            |            |
| Vitória/IAC 313 | 0       | 204,16 Ac                          | 29,16 Ab   | 128,33 Bc  | 11,66 Ac   |
|                 | 50      | 877,91 Ab                          | 110,83 Aab | 840,00 Bb  | 542,50 Bb  |
|                 | 100     | 1137,50 Aa                         | 221,66 Aa  | 1295,00 Aa | 1120,00 Aa |
| Vitória/IAC 572 | 0       | 350,00 Ac                          | 46,67 Ab   | 315,00 Ac  | 40,83 Ac   |
|                 | 50      | 915,83 Ab                          | 212,91 Aa  | 1184,16 Ab | 875,00 Ab  |
|                 | 100     | 1220,00 Aa                         | 250,83 Aa  | 1353,33 Aa | 1102,00 Aa |
| Vitória/SO4     | 0       | 350,00 Ac                          | 23,33 Ab   | 210,00 ABb | 29,16 Ac   |
|                 | 50      | 775,83 Ab                          | 189,58 Aa  | 1114,16 Aa | 950,83 Ab  |
|                 | 100     | 974,16 Aa                          | 192,50 Aa  | 1295,00 Aa | 1201,66 Aa |
| CV (%)          |         | 11,33                              | 38,81      | 8,89       | 15,68      |

Observação: Os dados incluem a média ( $n = 3$ ). Os dados foram analisados por uma ANOVA de dois fatores conduzida com enxerto/porta-enxerto e concentração de NaCl como fontes de variação. As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Abreviação: CV: coeficiente de variação.

### 3.4. Atividade enzimática, não enzimática e peróxidação lipídica em plantas de videira enxertadas na ausência e presença de salinidade

Sob condições salinas houve redução de proteína solúvel nas plantas com maiores níveis de sal (Figura 11A). Não houve diferença significativa entre IAC 313 e SO4 sob 50 mM NaCl, por outro lado, ambas foram 17,63% superior a IAC 572. Este efeito foi maior em condições de estresse severo, visto que a SO4 sofreu menos estresse que as demais em 100 mM NaCl ( $p < 0,05$ ). O conteúdo de proteína em 100 mM NaCl aumentou 65,29% e 19,57% nas plantas SO4 e IAC 313, respectivamente, em comparação com IAC 572.

As maiores atividades das enzimas CAT e APX foram mais sobressalentes em 100 mM NaCl, em comparação com seus respectivos valores correspondentes para o controle e 50 mM NaCl (Figura 11B e C). Observando-se os genótipos dentro dos níveis de salinidade, a atividade da catalase sob 0 e 50 mM NaCl houve apenas diferença no IAC 572 em 50 mM NaCl, sendo 23,33% maior. Apesar do incremento na atividade da CAT ao aumentar a salinidade para 100 mM NaCl (Figura 11B), um fenômeno interessante foi o demasiado aumento de 77,44% da IAC 572 ( $p < 0,05$ ), em com comparação com SO<sub>4</sub> e IAC 313 ( $p > 0,05$ ). A atividade de APX aumentou significativamente com a exposição das plantas a salinidade (Figura 11C). Sob condições normais de crescimento, ou seja, sem a presença de sal, o genótipo IAC 572 manteve sua atividade de APX elevada, e posteriormente elevando-se em função do incremento de sal. Em 50 mM NaCl a atividade de APX foi estatisticamente semelhante a IAC 313 e IAC 572, diferenciando da SO<sub>4</sub>. Entre os genótipos, bem similar aos resultados de CAT, a IAC 572 teve maior atividade de APX no tratamento de salinidade severa, sendo 126,92% e 169,07% quando comparado com IAC 313 e SO<sub>4</sub>, respectivamente.



**Figura 11.** Teor de proteínas solúveis (A) e atividade das enzimas catalase (B) e peroxidase do ascorbato (C) em mudas de videira da cultivar Vitória sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, crescidas na ausência (0) e presença de NaCl (50 e 100 mM) durante 30 dias em condições de casa de vegetação. **Observação:** As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados mostram que a intensidade da peroxidação lipídica, estimada no conteúdo de TBARS em mudas de videira enxertadas foram afetadas pela salinidade e teve influência também do porta-enxerto utilizado (Tabela 8). O nível de produção desse índice de dano bioquímico foi mais destacado em plantas que receberam os tratamentos com NaCl a 50 e 100 mM, quando comparadas aos controles, nota-se que houve diferença significativa. Essa diferença foi observada entre os porta-enxertos, em que ocorreu um aumento gradativo com maior intensidade para as combinações Vitória/IAC 313, seguido da Vitória/IAC 572 sob salinidade elevada. A produção de malondialdeído (MDA) como produto final da peroxidação lipídica da membrana em folhas para as duas variedades mencionadas aumentou 120% e 81%, respectivamente, em comparação com videiras sem tratamento de salinidade.

**Tabela 8.** Teor de TBARS e glutathiona reduzida (GSH) em folhas de mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

| Combinações     | NaCl<br>mM | TBARS                     | GSH                       |
|-----------------|------------|---------------------------|---------------------------|
|                 |            | (nmol g <sup>-1</sup> MF) | (μmol g <sup>-1</sup> MF) |
| Vitória/IAC 313 | 0          | 408,54 Ac                 | 0,818 Ba                  |
|                 | 50         | 531,62 Ab                 | 0,835 Ba                  |
|                 | 100        | 901,16 Aa                 | 1,137 Ca                  |
| Vitória/IAC 572 | 0          | 417,07 Ab                 | 2,441 Ab                  |
|                 | 50         | 482,58 Ab                 | 2,584 Ab                  |
|                 | 100        | 755,29 Ba                 | 3,264 Aa                  |
| Vitória/SO4     | 0          | 450,16 Ab                 | 0,597 Ac                  |
|                 | 50         | 562,38 Aab                | 1,118 Bb                  |
|                 | 100        | 573,18 Ca                 | 2,303 Ba                  |
| CV (%)          |            | 10,32                     | 11,45                     |

Observação: Os dados incluem a média ( $n = 3$ ). Os dados foram analisados por uma ANOVA de dois fatores conduzida com enxerto/porta-enxerto e concentração de NaCl como fontes de variação. As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Abreviação: CV: coeficiente de variação.

O conteúdo do antioxidante não enzimático também é demonstrado na Tabela 8. O conteúdo de glutathiona reduzida foi estimulado com aumento da concentração salina, as mudas sobre o porta-enxerto IAC 572 apresentaram aumento significativo quando comparadas aos demais porta-enxertos sob o mesmo nível de salinidade. Quando comparado ao tratamento, o SO4 mostrou maior conteúdos de glutathiona reduzida, um incremento de cerca de 3,8 vezes.

O conteúdo de ascorbato total apresentou decréscimo em resposta ao incremento da salinidade (Tabela 9). Quando submetidas à salinidade elevada (100 mM), as mudas sobre o

porta-enxerto IAC 572 diminuíram aproximadamente 26% do conteúdo de ascorbato total, apesar da evidência do decréscimo, a mudas sobre IAC 313 e SO4 não apresentaram diferença significativa quando comparadas aos respectivos controles, esse resultado refletiu na atuação do porta-enxerto. Houve aumento na fração de ascorbato reduzida em Vitória/IAC 313 (196%) e Vitória/IAC 572 (18,23%) sob salinidade elevada, quando comparados ao tratamento controle. A fração referente ao ascorbato oxidado apresentou redução acentuada, em média 50% nas mudas sobre IAC 313 e IAC 572, enquanto na SO4 essa redução foi menor, aproximadamente 24%. A relação ascorbato reduzido/ascorbato total, ou seja, a descrição do estado redox desse antioxidante não-enzimático, promoveu acréscimos médios de 95,33% nas mudas sob salinidade, quando comparado aos controles.

**Tabela 9.** Teor de ascorbato total, reduzido e oxidado, e relação do teor de ascorbato reduzido em relação ao conteúdo total (Reduzido/Total) em folhas de mudas de videira da variedade Vitória enxertada sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 573 e SO4 submetidas a concentrações crescente de NaCl (0 – Controle, 50 mM e 100 mM), durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

| Combinações     | NaCl<br>mM | Total                     | Reduzido  | Oxidado   | Reduzido/Total |
|-----------------|------------|---------------------------|-----------|-----------|----------------|
|                 |            | (μmol g <sup>-1</sup> MF) |           |           | (%)            |
| Vitória/IAC 313 | 0          | 12,321 Aa                 | 1,231 Bb  | 11,090 Aa | 10,055 Ac      |
|                 | 50         | 11,228 Aa                 | 3,078 Aa  | 8,150 Aab | 27,307 Ab      |
|                 | 100        | 9,115 Aa                  | 3,644 Aa  | 5,472 Ab  | 43,531 Aa      |
| Vitória/IAC 572 | 0          | 14,618 Aa                 | 2,659 Aab | 11,959 Aa | 18,325 Ab      |
|                 | 50         | 8,269 Ab                  | 2,097 Bb  | 6,172 Ab  | 25,579 Ab      |
|                 | 100        | 8,544 Ab                  | 3,144 Aa  | 5,401 Ab  | 37,235 Aa      |
| Vitória/SO4     | 0          | 12,925 Aa                 | 1,188 Bb  | 11,737 Aa | 9,216 Ab       |
|                 | 50         | 10,635 Aa                 | 2,606 ABa | 8,028 Aa  | 24,760 Aa      |
|                 | 100        | 11,048 Aa                 | 2,138 Ba  | 8,910 Aa  | 19,432 Bab     |

Observação: Os dados incluem a média ( $n = 3$ ). Os dados foram analisados por uma ANOVA de dois fatores conduzida com enxerto/porta-enxerto e concentração de NaCl como fontes de variação. As letras maiúsculas diferentes comparam os três porta-enxertos em cada concentração de sal, e letras minúsculas diferentes comparam o mesmo porta-enxerto em todas as concentrações de sal indicando diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Abreviação: CV: coeficiente de variação.

#### 4. DISCUSSÃO

Em plantas de videira, o efeito do estresse salino resulta no menor crescimento e desenvolvimento tanto da parte aérea, como das raízes, o que é consistente com os parâmetros fotossintéticos analisados neste estudo. A fotossíntese bloqueada pode inibir o crescimento da planta e, também, o rendimento e a produção, isso ocorre principalmente devido o fechamento estomático (BANEH et al., 2014). Os porta-enxertos IAC 313, IAC 572 e SO4, apresentaram menor conteúdo de massa seca foliar e nas raízes quando submetidos a estresse salino elevado (100 mM), esse acontecimento pode ser explicado devido o efeito negativo causado pelo sal

por envolver íons tóxicos que levam a interferência da função radicular na absorção de água, como também a absorção de nutrientes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{K}^+$  e sua assimilação (CARILLO et al., 2011). As raízes são responsáveis pelo controle da absorção e translocação de nutrientes ao longo da vida da planta (LATA et al., 2019). No entanto, apesar da exposição direta ao ambiente salino, as raízes possuem menor vulnerabilidade no crescimento quando comparada a área foliar (MUNNS, 2002).

O aumento da salinidade afetou a alocação de biomassa devido alterações na expansão celular, como também na fotossíntese líquida das plantas. Em nosso experimento, apesar das alterações nos padrões do crescimento radicular e com tendência de declínio no aumento da salinidade, as raízes podem compartimentalizar  $\text{Na}^+$  em vacúolos de células radiciais evitando concentrações tóxicas no citoplasma, e posteriormente podendo causar danos deletérios. A salinidade, historicamente é um problema para plantas de videira podendo causar danos nas membranas celulares, degradação de proteína e produção de espécies reativas de oxigênio (KARIMI et al., 2020; KARIMI et al., 2022).

A presença de danos foliares foi observada nas plantas através da diagnose visual realizada, a mesma é utilizada para avaliar o estado nutricional das plantas, pois permite identificar e caracterizar sintomas de deficiência ou toxicidade de algum nutriente (SOUZA et al., 2015). Nesse caso, constatou-se que havia ocorrência de toxicidade, uma vez que, as plantas apresentaram ressecamento e necrose foliar, esses sintomas são apresentados como um dos efeitos nocivos da salinidade em plantas, incluindo a videira (SOHRABI et al., 2017). É indispensável salientar que a morfologia da folha é um importante indicador de distúrbios nas plantas, nesse estudo, a queima da borda da folha foi observada com o aumento dos níveis de salinidade.

As plantas cultivadas sob salinidade moderada (50 mM) e elevada (100 mM) apresentaram redução no *status* hídrico, este mesmo fato foi constatado em estudos com videira sob salinidade (CRAMER et al., 2007; CHAVES et al., 2010). A salinidade ao provocar estresse osmótico, leva ao acúmulo de íons tóxicos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) que são indesejáveis nas plantas, pois interrompe a permeabilidade da membrana da raiz, assim como a inibição de absorção de água, a ocorrência desse estresse está ligada ao baixo potencial hídrico  $\Psi_w$  (KONGSRI et al., 2013).

O parâmetro de trocas gasosas da planta é considerado importante nas condições semiáridas, que diminui a transpiração (E) e, conseqüentemente, a fotossíntese líquida ( $P_N$ ), o crescimento e a produção. Assim, existe uma ligação entre  $P_N$  e E que para melhor avaliar

ambos, é necessária a análise da eficiência do uso da água pela eficiência instantânea do uso da água ( $P_N/E$ ) ou eficiência intrínseca do uso da água ( $P_N/gS$ ). Em estudos realizados em plantas sob estresse salino, foi constatado uma inibição da fotossíntese líquida e da taxa de transpiração devido à condutância estomática reduzida, sendo uma tendência semelhante observada em outras partes da uva (BANEH et al., 2014). A redução da fotossíntese líquida em todos os genótipos de porta-enxerto sob salinidade elevada, sugere que estes não foram capazes de canalizar o fluxo de elétrons para a síntese de NADPH.

Nos genótipos de porta-enxertos sob estresse elevado, ocorreu diminuição na condutância estomática, automaticamente uma menor transpiração e, conseqüentemente, maior eficiência no uso da água. Essa ocorrência pode ser explicada pela menor perda de água devido ao fechamento parcial dos estômatos sob maior concentração de  $CO_2$ , o controle estomático é realizado através da regulação da abertura dos estômatos por meio de mudanças no turgor de células guarda e por alterações na densidade estomática e na área foliar durante o desenvolvimento (HAWORTH; ELLIOTT-KINGSTON; McELWAIN, 2013).

Diante de todos os problemas que os estresses ambientais podem causar, algumas medidas podem confirmar o comportamento das plantas, os parâmetros de eficiência fotoquímica, a fluorescência da clorofila e o transporte de elétrons (ETR) que são considerados parâmetros seguros e confiáveis (BUSSOTTI et al., 2020). Nos processos primários da fotossíntese o equilíbrio iônico considerado adequado no citosol e também nos cloroplastos é crítico na regulação da maquinaria bioquímica (PAN et al., 2020). Neste estudo, foi observado que a fluorescência da clorofila apresentou danos severos no tratamento salino extremo (100 mM), uma vez que, esse resultado reflete na importância da investigação da fisiologia das plantas sob condições de estresse, essa diminuição da fluorescência da clorofila, sob salinidade, ocorre devido ao declínio da eficiência fotossintética (JURKOW et al., 2020; TOMBULOGLU et al., 2020). A redução desses parâmetros apresentados pela fotossíntese pode estar relacionada à limitação estomática e difusiva de influxo de  $CO_2$  para o sítio Rubisco (Ribulose-1,5-Bisfosfato Carboxilase/Oxigenase; EC 4.1.1.39), este fato possibilita saturação e desequilíbrio da cadeia de transporte de elétrons (ETR), o que provoca uma produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ACOSTA-MOTOS et al., 2017; CHAVES et al., 2009). O NPQ apresentou redução nos porta-enxertos IAC 313 e IAC 572 submetidas ao maior nível salino (100 mM), esse parâmetro é usado como indicativo do excesso de dissipação de energia luminosa na forma de calor nos complexos antenas do PSII

(NAJAR et al., 2019). Dessa forma, essa redução indica que a quantidade de energia luminosa não estava sendo absorvida em decorrência ao desequilíbrio no complexo antena.

Os pigmentos fotossintéticos nas folhas, referente à clorofila *a*, *b* e totais são em alguns casos capazes de limitar a taxa de fotossíntese na videira (KARIMI et al., 2016). Os nossos resultados apresentaram redução do teor de clorofila de acordo com o estresse salino empregado, sendo um indicador de avaliação da tolerância à salinidade em plantas de videira. Essa diminuição pode estar associada a danos oxidativos às membranas do cloroplasto devido à salinidade ou aumento da atividade da clorofilase (MUNNS; TESTER 2008).

O estudo mostrou expressivo aumento no conteúdo de  $\text{Na}^+$  em raízes, caules, pecíolos e folhas em todas as combinações de enxerto/porta-enxerto em resposta ao incremento da salinidade, refletindo maior sensibilidade pela aparente ausência de restrição e alocação de  $\text{Na}^+$  nas plantas de videira. Normalmente, a salinidade causa desequilíbrios iônicos que diminuem a relação NPK e  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ , quando ocorre o decréscimo dessas relações, aumenta o acúmulo excessivo de íons tóxicos como, por exemplo,  $\text{Na}^+$ . Dessa forma, é importante que ocorra a preservação da homeostase iônica sob condições de estresse salino, uma vez que, a homeostase é um requisito para defender as culturas contra a produção de íons nocivos.

Sob condições de salinidade, a redução no teor de proteína pode ser decorrente à inibição da síntese proteica, como também a desnaturação de enzimas. Em plantas, quando se têm níveis elevados de  $\text{H}_2\text{O}_2$  detectados sob estresse salino a espécie pode desencadear peroxidação lipídica e posteriormente causar danos à membrana. Um papel fundamental das enzimas antioxidantes é livrar radicais livres presentes nas células das plantas, cujos mesmos podem causar perda de rendimento fotossintético e de biomassa. Além disso, a APX está intimamente ligada na eliminação de espécies reativas de oxigênio. Na região do cloroplasto, a APX tem papel crucial na eliminação de espécies reativas de oxigênio, devido principalmente à ausência de CAT no cloroplasto. A APX elimina também  $\text{H}_2\text{O}_2$  no ciclo ascorbato-glutationa, sendo necessários para a desintoxicação das células. Em comparação a atividade das duas enzimas APX e CAT, observou-se que CAT tem substancialmente maior atividade para sequestrar  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Esses resultados corroboram com os achados de Bari et al. (2021) investigando porta-enxertos de videiras sob salinidade de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.

Em plantas, quando se têm níveis elevados de  $\text{H}_2\text{O}_2$  detectados sob estresse salino a espécie pode desencadear peroxidação lipídica e posteriormente causar danos à membrana. Os produtos produzidos pela peroxidação lipídica, como os que reagem com o ácido tiobarbitúrico, são parâmetros importantes para monitorar os danos causados por espécies

reativas de oxigênio (VASCONCELOS et al., 2007). Neste estudo, observou-se um aumento no teor de TBARS com o aumento do tratamento com solução salina. Esses resultados refletem significativamente possíveis danos oxidativos, principalmente à membrana através da peroxidação lipídica, medida pelo teor de MDA. O acúmulo e o desequilíbrio entre a produção e a eliminação de EROs nos tecidos vegetais podem levar a essas e outras alterações fisiológicas, metabólicas e bioquímicas (MITTLER, 2017). Em condições salinas, como visto em nossos resultados, o aumento da glutathione reduzida pode ser devido ao melhor desempenho das plantas em tolerar o estresse. Isso porque a glutathione reduzida tem importância na proteção de espécies reativas de oxigênio em plantas sob condições de estresse (KAYA et al., 2020).

O ascorbato é um importante antioxidante para os vegetais, atuando como um cofator para muitas enzimas, e ainda interage (enzimaticamente e não enzimaticamente) na desintoxicação de espécies reativas de oxigênio. Em plantas, um regulador vital que auxilia no status redox é a regeneração do ascorbato (ASC) e glutathione (GSH) no ciclo ascorbato-glutathione, também conhecida como via Foyer-Halliwell-Asada. Para a remoção do  $H_2O_2$  intracelular, a APX utiliza o ascorbato como doador de elétrons. Em associação com o ascorbato, a APX juntamente com a glutathione redutase podem maximizar a remoção de  $H_2O_2$ , devido à regeneração eficiente do ascorbato. Em conjunto, nossos resultados indicam que os genótipos de videira possuem um amplo comportamento no balanço redox. As reservas de ascorbato podem ser reduzidas pelo estresse oxidativo. Além disso, o ascorbato oxidado pode ser acumulado a partir da desproporção de monodesidroascorbato (MDHA) ou oxidação do ascorbato reduzido. O estresse salino afetou expressivamente os teores reduzidos de ascorbato sob alta salinidade. Este efeito resultou em uma diminuição no estado redox do ascorbato em plantas submetidas a níveis elevados de salinidade. Em videira, Ikbali et al. (2014) observaram alterações nos conteúdos de ascorbato quando incrementado a salinidade; os teores de ascorbato também podem alterar não só pela aplicação de sal, mas também dependendo da parte estrutural da planta (BERNARDO et al., 2021).

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostram que os porta-enxertos apresentam diferentes propriedades fisiológicas sob a ação do sal e, além disso, as plântulas de videira enxertadas apresentaram uma série de respostas sob essa exposição, o que revelou a complexidade das interações fisiológicas entre enxertia e porta-enxertos. Durante o processo de enxertia, alguns mecanismos permanecem pouco compreendidos. Os dados mostram características associadas à sensibilidade e tolerância à salinidade, algumas mais dependentes da enxertia e aquelas mais afetadas pelas interações porta-enxerto e enxerto/porta-enxerto, além de características que não dependem do genótipo.

Apresentou melhor capacidade de crescimento a combinação de enxerto/porta-enxerto Vitória/IAC 572 com base nos teores de matéria seca, associado ao menor acúmulo de  $\text{Na}^+$  em tecidos foliares e combinados com um maior teor deste íon em tecidos de caules e raízes, sugerindo que este porta-enxerto apresenta mecanismos de retenção/exclusão de íons tóxicos, sendo esse um dos mecanismos de tolerância ao sal. À combinação de planta enxertada que mais se mostrou sensível para os tratamentos salinos, foi Vitória/SO4. Nós observamos que os genótipos de videira exibiram variações consideráveis na tolerância à salinidade, devido às mudanças nos teores de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , desempenho no crescimento radicular e da parte aérea, como também no potencial osmótico e trocas gasosas.

O aumento da peroxidação lipídica foi um indicador de dano oxidativo nas folhas de videira submetidas ao estresse salino. A maior atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX), consequentemente maior teor de glutathione redutase (GSH), e menor teor de ascorbato (ASA) apresentada na combinação Vitória/IAC 572, teve influência diretamente o ciclo Ascorbato/Glutathione considerado uma via alternativa de eliminação de peróxido de hidrogênio na ausência da catalase.

## REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MOTOS, J. R.; ORTUÑO, M. F.; BERNAL-VICENTE, A.; DIAZ-VIVANCOS, P.; SANCHEZ-BLANCO, M. J.; HERNANDEZ, J. A. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. **Agronomy**, v. 7, n. 1, p. 18, 2017.
- AMORIM, T. L. **Mecanismos fisiológicos de resistência a salinidade conferidos pelo porta-enxerto em mudas enxertadas de videira**. 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, 2018.
- BANEH, H. D.; ATTARI, H.; HASSANI, A.; ABDOLLAHI, R.; TAHERI, M.; GHANI, F. Genotypic variation in plant growth and physiological response to salt stress in grapevine. **Philippine Agricultural Scientist**, v. 97, n. 2, p. 113-121, 2014.
- BARI, L. R.; GHANBARI, A.; DARVISHZADEH, R.; GIGLOU, M. T.; BANEH, H. D. Discernment of grape rootstocks base on their response to salt stress using selected characteristics in combination with chemometric tools. **Food Chemistry**, 365, 130408.
- BERDEJA, M.; NICOLAS, P.; KAPPEL, C.; DAI, Z. W.; HILBERT, G.; PECCOUX, A.; DELROT, S. Water limitation and rootstock genotype interact to alter grape berry metabolism through transcriptome reprogramming. **Horticulture research**, v. 2, n. 1, p. 1-13, 2015.
- BERNARDO, S.; LUZIO, A.; MACHADO, N.; FERREIRA, H.; VIVES-PERIS, V.; MALHEIRO, A. C.; DINIS, L. T. Kaolin application modulates grapevine photochemistry and defence responses in distinct Mediterranean-type climate vineyards. **Agronomy**, v. 11, n.3, p. 477.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.
- BUSSOTTI, F.; GEROSA, G.; DIGRADO, A.; POLLASTRINI, M. Selection of chlorophyll fluorescence parameters as indicators of photosynthetic efficiency in large scale plant ecological studies. **Ecological Indicators**, v. 108, p. 105686, 2020.
- CARILLO, P.; PARISI, D.; WOODROW, P.; PONTECORVO, G.; MASSARO, G.; ANNUNZIATA, M.G.; SULPICE, R. Salt-induced accumulation of glycine betaine is inhibited by high light in durum wheat. **Functional Plant Biology**, v. 38, n. 2, p. 139-150, 2011.

CHARU, L.; SHOBHA, S.; NARESH, K.; ASHWANI, K.; ANITA, M.; SULEKHA, R. Adaptive mechanism of stress tolerance in *Urochondra* (grass halophyte) using roots study. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 89, n. 6, p. 1050-1053, 2019.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of botany**, v. 103, n. 4, p. 551-560, 2009.

CHAVES, M.M.; ZARROUK, O.; FRANCISCO, R.; COSTA, J.M.; SANTOS, T.; REGALADO, A.P.; LOPES, C.M. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. **Annals of botany**, v. 105, n. 5, p. 661-676, 2010.

CRAMER, G. R.; ERGÜL, A.; GRIMPLET, J.; TILLET, R. L.; TATTERSALL, E. A.; BOHLMAN, M. C.; CUSHMAN, J. C. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. **Functional & integrative genomics**, v. 7, n. 2, p. 111-134, 2007.

DEINLEIN, U.; STEPHAN, A. B.; HORIE, T.; LUO, W.; XU, G.; SCHROEDER, J. I. Plant salt-tolerance mechanisms. **Trends in Plant Science**, v. 6, p. 371-9, 2014.

DEMIDCHIK, V., SHABALA, S., ISAYENKOV, S., CUIN, T.A.; Pottosin, I. Calcium transport across plant membranes: mechanisms and functions. **New Phytologist**, v. 220, n. 1, p. 49-69, 2018.

FRIONI, T.; BIAGIONI, A.; SQUERI, C.; TOMBESI, S.; GATTI, M.; PONI, S. Grafting cv. grechetto gentile vines to new m4 rootstock improves leaf gas exchange and water status as compared to commercial 1103p rootstock. **Agronomy**, v. 10, n. 5, p. 708, 2020.

GRIFFITH, O.W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. **Anal Biochem**, v. 106, p. 207-211. 1980.

GUPTA, B.; HUANG, B. Mecanismo de tolerância à salinidade em plantas: caracterização fisiológica, bioquímica e molecular. **Revista Internacional de Genômica**, v. 2014, 2014.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and Developmental Characterization of Multiple Forms of Catalase in Tobacco Leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450– 455, 1987.

HAWORTH, M.; ELLIOTT-KINGSTON, C.; MCELWAIN, J. C. Co-ordination of physiological and morphological responses of stomata to elevated [CO<sub>2</sub>] in vascular plants. **Oecologia**, v. 171, n. 1, p. 71–82, 2013.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1968.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants 82 without soil**. Circular. California Agricultural Experiment Station, v. 347, n.2, p. 32, 1950.

IKBAL, F. E.; HERNÁNDEZ, J. A.; BARBA-ESPÍN, G.; KOUSSA, T.; AZIZ, A.; FAIZE, M.; DIAZ-VIVANCOS, P. Enhanced salt-induced antioxidative responses involve a contribution of polyamine biosynthesis in grapevine plants. *Journal of plant physiology*, v.171, n.10, p.779-788.

JURKOW, R.; SEKARA, A.; POKLUDA, R.; SMOLEŃ, S.; KALISZ, A. Biochemical response of oakleaf lettuce seedlings to different concentrations of some metal (oid) oxide nanoparticles. *Agronomy*, v. 10, n. 7, p. 997, 2020.

KAMPFENKEL, K., MONTAGU, M.V., INZÉ, R. Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Analytical biochemistry*, v. 225, p. 165-167. 1995.

KAN, X.; REN, J.; CHEN, T.; CUI, M.; LI, C.; ZHOU, R.; YIN, Z. Effects of salinity on photosynthesis in maize probed by prompt fluorescence, delayed fluorescence and P700 signals. *Environmental and Experimental Botany*, v. 140, p. 56-64, 2017.

KARIMI, R.; GAVILI-KILANEH, K.; KHADIVI, A. Methyl jasmonate promotes salinity adaptation responses in two grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Food Chemistry*, v. 375, p. 131667, 2022.

KARIMI, R.; GHABOOLI, M.; RAHIMI, J.; AMERIAN, M. Effects of foliar selenium application on some physiological and phytochemical parameters of *Vitis vinifera* L. cv. Sultana under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, v. 43, n.14, p.2226-2242, 2020.

KATARIA, S.; VERMA, S. K. Salinity stress responses and adaptive mechanisms in major glycophytic crops: the story so far. In: **Salinity Responses and Tolerance in Plants, Volume 1**. Springer, Cham, p. 1-39, 2018.

KAYA, C.; ASHRAF, M.; ALYEMENI, M. N.; AHMAD, P. The role of endogenous nitric oxide in salicylic acid-induced up-regulation of ascorbate-glutathione cycle involved in salinity tolerance of pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, n.147, p.10-20.

KONGSRI, S.; BOONPRAKOB, U.; BYRNE, D.H. Assessment of morphological and physiological responses of peach rootstocks under drought and aluminum stress. In: **IX International Symposium on Temperate Zone Fruits in the Tropics and Subtropics 1059**, p. 229-236. 2013.

KUMAR, A.; KUMAR, A.; KUMAR, P.; LATA, C.; KUMAR, S. Effect of individual and interactive alkalinity and salinity on physiological, biochemical and nutritional traits of Marvel grass. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 56, p. 573-581, 2018.

KUMAR, A.; MANN, A.; LATA, C.; KUMAR, N.; SHARMA, P. C. Salinity-induced Physiological and Molecular Responses of Halophytes. **Research developments in saline agriculture**. Springer, Singapore, p. 331-356, 2019.

LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, v. 1, n. 1, p. F4. 3.1-F4. 3.8, 2001.

LOCASCIO, A. et al. BCL2-ASSOCIATED ATHANOGENE4 Regulates the KAT1 Potassium Channel and Controls Stomatal Movement. **Plant physiology**, p. pp. 00224.2019, 2019.

LOGAN B. A. Reactive oxygen species and photosynthesis. Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, ed. N Smirnoff. Oxford: **Blackwell**: 250 – 67, 2005.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, cell & environment**, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

MUNNS, R.; GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops—what is the cost? **New phytologist**, v. 208, n. 3, p. 668-673, 2015.

NAJAR, R., Aydi, S., Sassi-Aydi, S., Zarai, A., Abdelly, C. Effect of salt stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Medicago truncatula*. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 153, n. 1, p. 88-97, 2019.

OMER, M.Z.E.G.; ABDALLA, A.H. The Effect of Salt Concentration on Growth and Yield of Two Forage Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Lines. **Agriculture, Forestry and Fisheries**, v. 5, n. 6, p. 280, 2017.

PAN, T.; LIU, M.; KRESLAVSKI, V. D.; ZHARMUKHAMEDOV, S. K.; NIE, C.; YU, M.; SHABALA, S. Non-stomatal limitation of photosynthesis by soil salinity. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 51, n. 8, p. 791-825, 2021.

RIVERO, R.M; MESTRE, T.C; MITTLER, R.O.N; RUBIO, F.; GARCIA-SANCHEZ, F.; MARTINEZ, V. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. **Plant, cell & environment**, v. 37, n. 5, p. 1059-1073, 2014.

RODRIGUES, C.R.F.; SILVA, E.N; FERREIRA-SILVA, S.L.; VOIGT, E.L; VIÉGAS, R.A; SILVEIRA, J.A.G. High K<sup>+</sup> supply avoids Na<sup>+</sup> toxicity and improves photosynthesis by allowing favorable K<sup>+</sup>: Na<sup>+</sup> ratios through the inhibition of Na<sup>+</sup> uptake and transport to the shoots of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, n. 2, p. 157-164, 2013.

SAIDIMORADI, D.; GHADERI, N.; JAVADI, T. Salinity stress mitigation by humic acid application in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Scientia Horticulturae**, v. 256, p. 108594, 2019.

SASI, S.; VENKATESH, J.; DANESHI, R.F; GURURANI, M.A. SASI, Shina et al. Photosystem II extrinsic proteins and their putative role in abiotic stress tolerance in higher plants. **Plants**, v. 7, n. 4, p. 100, 2018.

SKIBA, E.; PIETRZAK, M.; GAPIŃSKA, M.; WOLF, W.M. Metal Homeostasis and Gas Exchange Dynamics in *Pisum sativum* L. Exposed to Cerium Oxide Nanoparticles. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 22, p. 8497, 2020.

SOHRABI, S.; EBADI, A.; JALALI, S.; SALAMI, S. A. Enhanced values of various physiological traits and VvNAC1 gene expression showing better salinity stress tolerance in some grapevine cultivars as well as rootstocks. **Scientia horticulturae**, v. 225, p. 317-326, 2017.

SOUZA, F. de et al. Sintomas visuais de deficiência de macronutrientes, boro e ferro e composição mineral de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 2, 2015.

TOMBULOGLU, H.; SLIMANI, Y.; TOMBULOGLU, G.; ALSHAMMARI, T.; ALMESSIERE, M.; KORKMAZ, AD; SAMIA, A.C.S. Engineered magnetic nanoparticles enhance chlorophyll content and growth of barley through the induction of photosystem genes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 27, p. 34311-34321, 2020.

ZHAO, C.; ZHANG, H.; SONG, C.; ZHU, J.K.; SHABALA, S. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. **The innovation**, v. 1, n. 1, p. 100017, 2020.

ZIMMERMANN, P.; HEINLEIN, C.; ORENDI, G.; ZENTGRAF, U. Senescencespecific regulation of catalases in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Plant, Cell and Environment**, v. 29, n. 6, p. 1049–1060, 2006.