

THIALLA LARANGEIRA AMORIM

**MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE RESISTÊNCIA A SALINIDADE
CONFERIDOS PELO PORTA-ENXERTO EM MUDAS ENXERTADAS DE
VIDEIRA**

Serra Talhada – PE

2018

A
M
O
R
I
M

T
L

M
E
C
A
N
I
S
M
O
S

F
I
S
I
O

·
·
·
2
0
1
8

THIALLA LARANGEIRA AMORIM

THIALLA LARANGEIRA AMORIM

**MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE RESISTÊNCIA A SALINIDADE
CONFERIDOS PELO PORTA-ENXERTO EM MUDAS ENXERTADAS DE
VIDEIRA**

Dissertação apresentada a 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: Sérgio Luiz Ferreira da Silva

Coorientador: Adriano do Nascimento Simões

Serra Talhada – PE

2018

THIALLA LARANGEIRA AMORIM

MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE RESISTÊNCIA A SALINIDADE
CONFERIDOS PELO PORTA-ENXERTO EM MUDAS ENXERTADAS DE
VIDEIRA

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

APROVADO em ____/____/_____.

Banca Examinadora

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

Orientador

Prof. Dr. Adriano do Nascimento Simões – UAST/UFRPE

Coorientador, Examinador Interno

Dr. Evandro Nascimento da Silva – UECE/CFQ

Examinador Externo

Aos meus pais,

*José Laurindo Amorim e Vaneide Larangeira Amorim, pelo amor incondicional,
pelos ensinamentos, incentivo e toda confiança em mim depositada.*

Aos meus avós,

*Maria Gomes (in memoriam) e Laurindo Amorim (in memoriam), apesar de não ter
conhecimentos no meio científico sempre me incentivaram.*

Aos meus irmãos,

Nhatallia, Vileide Vitória, Laurindo e Ester, pela amizade, carinho e compreensão.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade, por todo o aprendizado adquirido e por me guiar em mais uma etapa da minha vida.

Aos meus pais José Laurindo Amorim e Vaneide Larangeira Amorim, aos meus irmãos Nhatallia, Vileide Vitória, Laurindo e Ester e a toda minha família, pelo amor, paciência, compreensão e todos os incentivos dado nessa conquista.

A UFRPE/UAST e ao Programa de Pós-Graduação em Produção vegetal, pela oportunidade de qualificar profissionalmente, melhorando os meus conhecimentos.

Ao meu orientador Sérgio Luiz Ferreira da Silva, pela contribuição na minha formação e pelos ensinamentos transmitidos.

Aos membros grupo de pesquisa GPAS, Juraci Barroso Neto, Thais Ramalho, Pedro Herminio e Maiany que colaboraram com o desenvolvimento do projeto. Agradeço também aos antigos integrantes do grupo, Carlos Alberto, Adriana Nunes, Manuevely da Silva, Daniel dos Santos e Edson Junior, que apesar de não estarem mais no grupo, mas colaboram muito no inicio da pesquisa.

Aos meus colegas do mestrado e amigos, Alexandre Jardins, José Raliulson e Renilson Pessoa, que apesar de não fazerem parte do grupo de pesquisa estavam sempre disponíveis para me ajudar.

Aos meus colegas de jornada, Samara, Danielle, Helena, Luana, Valdilene, Aline e Denizard Oresca, por todo o apoio e carinho dado.

Aos meus amigos Nhatallia, Maria Aparecida, Franquieli, Carolane, Valéria, George, Neto, Marcondes, Raliulson, Renilson e Alexandre, pelo simples fato de terem cruzado o meu caminho e pelos diversos momentos vivenciados, as tristezas divididas, mas principalmente pelas muitas alegrias compartilhadas.

Aos professores do programa, pela colaboração na minha formação.

Aos funcionários da universidade dos setores de transporte, manutenção e serviços gerais, por estarem sempre disponíveis.

A Lucimar, que cuidava não apenas da faxina, mas também de todos nós, nos dando carinho, atenção, mas também uns puxãozinhos de orelha quando necessário.

SUMÁRIO

CAPITULO I – DISTÚRBIOS METABÓLICOS INDUZIDOS PELA SALINIDADE	17
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA (Estado de arte)	17
1.1 Estresses abióticos: salinidade.....	17
1.2 Efeito da salinidade sob as plantas.....	19
1.3 Efeito da salinidade sob a fotossíntese e sistema antioxidante	22
1.4 Variação da tolerância das plantas à salinidade	26
1.5 Mecanismos de tolerância à salinidade	28
1.6 O papel do porta-enxerto na tolerância a salinidade e material vegetal (<i>Vitis vinífera</i>).....	31
2. REFERÊNCIAS	34
CAPITULO II: MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE RESISTÊNCIA A SALINIDADE CONFERIDOS PELO PORTA-ENXERTO EM MUDAS ENXERTADAS DE VIDEIRA	43
1. INTRODUÇÃO	44
2. MATERIAL E MÉTODOS	45
2.1 Material vegetal e aplicação dos tratamentos	45
2.1.1 Experimento I: Crescimento e acumulação de Na ⁺ , K ⁺ e Cl ⁻ em porta-enxertos de videira submetidos à salinidade.....	46
2.1.2 Experimento II: Efeito do porta-enxerto no crescimento, acúmulo de Na ⁺ , K ⁺ e Cl ⁻ e trocas gasosas de mudas enxertas	47
2.2. Medidas de trocas gasosas e atividade fotoquímica	47
2.3. Medidas dos conteúdos de sódio (Na ⁺), potássio (K ⁺) e cloreto (Cl ⁻)	48
2.4. Dano de membrana (vazamento de eletrólitos).....	49
2.5. Medida do conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) ..	49
2.6. Extração de proteínas para ensaios enzimáticos	49
2.6.1. Atividade da dismutase de superóxido (SOD)	50
2.6.2. A atividade da peroxidase de ascorbato (POX)	50
2.6.3. A atividade da peroxidase de fenóis (POX).....	51
2.7. Conteúdo de antioxidantes não enzimáticos	51
2.8. Delineamento estatístico e análise dos dados.....	52
3. RESULTADOS	53

3.1. Crescimento, acumulação de Na ⁺ , K ⁺ e Cl ⁻ e dano de membranas em porta-enxertos de videira submetidos à salinidade.....	53
3.2 Efeito do porta-enxerto no crescimento, translocação de Na ⁺ , K ⁺ e Cl ⁻ e peroxidação lipídica (TBARS) em mudas enxertadas.....	58
3.3 Respostas das trocas gasosas e dos parâmetros de fluorescência à curva de fotossíntese em resposta à luz e conteúdo de clorofilas e em plantas de videira enxertadas submetidas à salinidade.....	64
3.4. Respostas da atividade enzimática e não enzimática em plantas de videira enxertadas submetidas à salinidade.....	69
4. DISCUSSÃO	72
5. REFERÊNCIAS	77

Lista de tabelas

CAPITULO I

Tabela 1 Classificação dos solos afetados pelos sais (após Brady, 2002).....	18
---	----

CAPITULO II

Tabela 2 Conteúdo de massa fresca de folhas, caules e raízes de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.	53
--	----

Tabela 3 Conteúdo de sódio em tecidos de folhas, caules e raízes de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.	54
--	----

Tabela 4 Conteúdo de potássio em tecidos de folhas, caules e raízes de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.	55
---	----

Tabela 5 Relação K^+/Na^+ em tecidos de folhas, caules e raízes em plantas de quatro porta-enxerto de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0,40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.	56
---	----

Tabela 6 Conteúdo de cloreto em tecidos de folhas, caules e raízes de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.	57
--	----

Tabela 7 Conteúdo de massa fresca em raízes, caules e folhas em plantas de mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 572, IAC 313, SO4 e Paulsen submetidos a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação.	59
---	----

Tabela 8 Conteúdo de sódio em raízes, caules e folhas de mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen submetidos a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. 60

Tabela 9 Conteúdo de potássio em raízes, caules e folhas de mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen submetidos a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. 61

Tabela 10 Relação K^+/Na^+ em raízes, caules e folhas de mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen submetidos a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. 62

Tabela 11 Conteúdo de cloreto em tecidos de raízes, caules e folhas de mudas de videira com enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias em condições de casa de vegetação. 63

Lista de figuras

CAPITULO I

- Figura 1** Resposta da taxa de crescimento em plantas sob estresse salino, mostrando as suas duas fases distintas: uma é a resposta rápida ao aumento da pressão osmótica externa (fase 1) e a outra é uma resposta mais lenta devido à acumulação de Na⁺ nas folhas (fase 2) (MUNNS, 2005). 20
- Figura 2** Formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), adaptado de Gill; Tuteja, 2010. 23
- Figura 3** Produção de espécies reativas de oxigênio nos diferentes compartimentos celulares (Adaptado por ŠLESÁK et al., 2007). 24
- Figura 4** O papel das espécies reativas de oxigênio (EROs) na aclimatização do estresse abiótico. As duas principais fontes de EROs durante o estresse abiótico, EROs metabólica e de sinalização, são mostrados para interagir e formar uma sinalização EROs que contr a aclimatação de plantas ao estresse através de reações redox que regulam a transcrição e tradução de proteínas de aclimataçãode estresse e enzimas (Choudhury et al., 2016). 25
- Figura 5** Mecanismos adaptativos de tolerância ao sal. À esquerda estão listadas as funções celulares que se aplicariam a todas as células dentro da planta. À direita estão as funções de tecidos ou órgãos específicos. A exclusão de pelo menos 95% (19/20) de sal na solução do solo é necessária à medida que as plantas transpiram 20 vezes mais água do que elas remanescem (MUNNS, 2005). A maioria dessas funções é explicada no texto. Omitido por espaço e falta de avanços recentes, é a limitação de que Cl⁻ pode impor ao crescimento através da sua acumulação antagônica contra a forma de nitrogênio NO₃⁻ (NO₃⁻ Homeostase) (HENDERSON et al., 2014) e a capacidade diferencial e sensibilidade de diferentes tipos de células e tecidos para acumular Na⁺ e Cl⁻, por exemplo, o acúmulo de NaCl dentro das células fotossintéticas incorre em um custo maior do que a acumulação em células corticais raiz (CONN; GILLIHAM, 2010). ROS, espécies reativas de oxigênio; PGPR, rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (MUNNS; GILLIHAM, 2015). 29

CAPITULO II

Figura 6 Porta-enxertos de videira crescendo em condições de casa de vegetação. 46

Figura 7 Mudanças de videira enxertadas crescendo em condições de casa de vegetação. 47

Figura 8 Dano de membrana com base no extravasamento de eletrólitos (A) e conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (B) em folha de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre os porta-enxertos e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 58

Figura 9 Conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre as combinações e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 64

Figura 10 Conteúdo de clorofilas totais (A), clorofilas a (B), clorofilas b (C) e relação clorofila a/b (D) em mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre as combinações e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 65

Figura 11 Medida de concentração intercelular de CO_2 (A), assimilação líquida de CO_2 (B), condutância estomática (C) e eficiência de carboxilação instantânea (E) em resposta ao aumento de intensidade luminosa ($\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em mudas enxertadas de

videira com enxertos da variedade BRS Vitória sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. 66

Figura 12 Curva do quenching fotoquímico (A) e da taxa aparente de transporte e elétrons (B) em resposta ao aumento de intensidade de luz ($\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. 68

Figura 13 Atividade das enzimas dismutase do superóxido SOD (A), peroxidase do ascorbato APX (B) e peroxidases de fenóis POX (C) em folha de plantas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre as combinações e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 70

Figura 14 Mudanças nos conteúdos de ascorbato (A) e glutathiona reduzidos (B) em folhas de plantas de videiras, utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre as combinações e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 71

Mecanismos fisiológicos de resistência a salinidade conferidos pelo porta-enxerto em mudas enxertadas de videira

Autora: Thialla Larangeira Amorim

Orientador: Sérgio Luiz Ferreira da Silva

RESUMO

No estudo foi avaliado o papel de porta-enxertos sobre mecanismos bioquímicos e fisiológicos de resistência a salinidade envolvidos na homeostase iônica, na eficiência fotossintética e proteção oxidativa em mudas de videira. Foram realizados dois estudos, um experimento inicial caracterizando crescimento e partição iônica em porta-enxerto (Experimento I) e outro com mudas enxertadas (Experimento II), utilizando porta-enxertos mais resistentes identificados (Exp. I). O experimento I foi realizado em ensaio fatorial 4 x 3, consistindo de quatro porta-enxertos (IAC 313, IAC 572, Paulsen e SO4) expostos a três concentrações de NaCl (0, 40 e 80 mM) na solução nutritiva durante 26 dias. O experimento II foi realizado em fatorial 4 x 3, consistindo de quatro tipos de mudas enxertadas (Enxertos/porta-enxertos: BRS Vitória/IAC 313; BRS Vitória/IAC 572; BRS Vitória/Paulsen; BRS Vitória/SO4) submetidas a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) na solução por 15 dias. A homeostase iônica foi estudada pelo acúmulo e partição de Na⁺, Cl⁻ e K⁺ relação K⁺/Na⁺, enquanto a eficiência fotossintética foi pelas trocas gasosas e atividade fotoquímica. Os distúrbios oxidativos foram avaliados com base em marcadores de danos (peroxidação de lipídio de membranas) e proteção enzimática (atividade enzimática) e não-enzimática (ascorbato e glutatona). Os resultados mostram que as videiras apresentam diferentes respostas fisiológicas frente ao estresse salino, encontrando um contraste entre os porta-enxertos estudados. Os porta-enxertos IAC 313 e IAC 572 apresentam uma melhor tolerância, enquanto que Paulsen e SO4 mostram-se mais sensíveis, apresentando um melhor crescimento e maiores reduções nos parâmetros fotossintéticos associados ao menor conteúdo de K⁺ nas folhas. Os porta-enxertos IAC 313 e IAC 572, quando testados tanto como porta-enxerto, como enxertados na BRS Vitória não apresentaram redução do conteúdo de K⁺ nas folhas e em raízes reduziu em uma pequena proporção em resposta à salinidade quando comparadas com a SO4 e Paulsen, sugerido que se esses materiais forem empregados na produção de mudas resultará em plantas mais tolerantes ao estresse salino. As mudas enxertadas sobre o IAC 313 sob salinidade apresentaram uma maior eficiência fotossintética associada a melhor homeostase K⁺/Na⁺ e atividade fotoquímica, indicada pela ETR e qP. No geral, os resultados mostram características associadas com a sensibilidade e/ou tolerância à salinidade, nos porta-enxertos de videira e em mudas enxertadas. Nesse estudo essas características foram atribuídas ao porta-enxerto, porém os dados indicam apenas parte complexidade dos mecanismos fisiológicos no processo de enxertia ainda pouco conhecidos, especialmente em condições salinas.

Palavras-chaves: Estresse salino, fotossíntese, porta-enxerto, enxertia, videira.

Physiological mechanisms of resistance to salinity conferred by the rootstock on grafted vine shoots

Autora: Thialla Larangeira Amorim
Orientador: Sérgio Luiz Ferreira da Silva

ABSTRACT

In the study was evaluated the role of rootstock on the biochemical and physiological mechanisms of resistance to salubrity in ionic, effective photosynthetic and oxidation in grapevine seedlings. Two studies were carried out, an initial experiment characterizing growth and partition in an experiment with the use of portagrafgraftado (Experiment II), using the most resistant rootstocks identified (Exp. I). The experiment was done in a 4 x 3 factorial, consisting of three rootstocks (IAC 313, IAC 572, Paulsen and SO4) exposed to three solutions of NaCl (0, 40 and 80 mM) in the nutrient solution for 26 days. Experiment II was performed in a 4 x 3 factorial, composed of four grafting types (Grafts / rootstocks: BRS Vitória / IAC 313, BRS Vitória / IAC 572, BRS Vitória / Paulsen, BRS Vitória / SO4) submitted to increasing concentrations NaCl (0, 40 and 80 mM) in the solution for 15 days. Ionic homeostasis was studied by the accumulation and partitioning of Na⁺, Cl⁻, K⁺ e K⁺/Na⁺ ratio, while photosynthesis was carried out by gas exchange and photochemical activity. Oxidative disturbances were evaluated based on damage markers (membrane lipid peroxidation) and enzymatic protection (ascorbate and glutathione). The results show that, as the vines present physiological responses to saline stress, being found among the studied rootstocks. IAC 313 and IAC 572 have better tolerance, while SO4 and higher show better growth and higher reductions in photosynthetic parameters at the lowest K⁺ content in the leaves. IAC 313 and IAC 572, when tested as rootstocks, as grafted on BRS Vitória and the reduction of K⁺ content in leaves and leaves reduce the proportion in response to salinity when compared to SO4 and Paulsen, suggested that seew materials primers in the production of seedlings will result in plants more tolerant to salt stress. The salines grafted on the IAC 313 under the salinity to a greater photosynthetic associated to the best K⁺/ Na⁺ homeostasis and duration of the photochemistry, indicated by the ETR and qP. In general, the services were evaluated with a sensitivity and / or tolerance to the salinity, in grafted spaces of grapevine and in grafted seedlings. In this sense, the units were exposed to the portal graft, but the data were only part of the physiological mechanisms in the grafting process.

Keywords: Saline stress, photosynthesis, rootstock, grafting, vine.

**CAPITULO I – DISTÚRBIOS METABÓLICOS INDUZIDOS PELA
SALINIDADE**

1. Introdução e revisão de literatura (Estado de arte)

1.1 Estresses abióticos: salinidade

Os diversos fatores abióticos como a seca, alagamento, frio, calor, ventos fortes, alta intensidade de luz, excesso de ozônio (O₃), salinidade no solo e água, entre outros, que ocorrem na natureza de forma isolada e simultânea, podem afetar negativamente o desenvolvimento vegetal. Esses impactos são particularmente danosos para as espécies cultivadas, que na sua maioria são plantas sensíveis a esses fatores adversos (MUNNS; TESTER, 2008). Esses danos, resultam em mudanças sobre aspectos morfológicas e sobretudo em processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares que são essenciais para a homeostase celular (SHAHBAZ; ASHRAF, 2013; SUZUKI et al., 2015).

Os estudos conduzidos até hoje sugerem que há uma redução no rendimento das culturas em cerca 50% atribuído a esses fatores ameaçando, a produtividade agrícola em todo o mundo (GALMÉZ et al., 2013). Esse problema pode se agravar ainda mais devido ao crescente aumento da população humana, que poderá ocasionar o aumento dos impactos ambientais causados pelas ações antrópicas. O resultado disso é a redução de áreas cultivadas, da produtividade e qualidade das culturas que conseqüentemente pode levar a uma grande escassez de alimentos (YAMAGUCHI; BLUMWALD, 2005; SHAHBAZ; ASHRAF, 2013; GAMÈS et al., 2013).

Além do aumento populacional e da degradação dos agroecossistemas devido à poluição e falta de manejo adequado dos recursos naturais, os dias atuais estão sendo marcados pela escassez global de recursos hídricos e o aumento da salinização do solo e da água (YAMAGUCHI; BLUMWALD, 2005; SHAHBAZ; ASHRAF, 2013). Dos fatores abióticos, a salinidade causada pelo excesso de sais na solução dos solos é um dos estresses ambientais mais devastadores para a sustentabilidade da agricultura no mundo, particularmente em regiões semiáridas (YAMAGUCHI; BLUMWALD, 2005; SHAHBAZ; ASHRAF, 2013, MUNNS; GILLIHAM, 2015).

Este estresse abiótico pode ocorrer na natureza por causas naturais, devido ao tipo predominante de rochas que dão origem ao solo, que liberam vários tipos de sais solúveis, principalmente cloretos de sódio, cálcio e magnésio, e também sulfatos e carbonatos (SZABOLCS, 1989). Os cloretos possuem uma solubilidade elevada e são altamente tóxicos para as espécies cultivadas juntamente com os sulfatos. Esses dois

elementos são os principais responsáveis pela salinização dos solos, principalmente em ambientes áridos e semiáridos (SÁNCHEZ et al., 2015).

Essa ocorrência da salinidade nos solos em áreas áridas e semiáridas, além de causas naturais, pode também ocorrer pela limitação de água, atribuído a fatores climáticos próprios destas regiões, especialmente as altas taxas de evaporação em detrimento a precipitação (CHAVES et al., 2009; MITLLER; BLUMWALD, 2010; MUNNS; GILLIHAM, 2015).

Além dos processos naturais e climáticos, outro fator que contribui com o aumento da salinidade nos solos é o manejo inapropriado da irrigação. A falta do manejo adequado, principalmente relacionados com a qualidade da água, leva ao despejo de grandes aportes de sais nos solos cultiváveis. Esses sais em excesso no solo afetam as características estruturais/físicas do solo, diminuindo a estabilidade dos agregados e a condutividade hidráulica, restringindo a infiltração de água e aumentando a erosão dos solos afetados por sais (LAURENSEN et al., 2012).

Pesquisas estimam que aproximadamente 1 a 10 bilhões de hectares de solos são afetados por sais em todo o mundo, afetando cerca de 75 países (NOURIA et al., 2017), com possibilidade de um aumento potencial de cerca de 10 a 16% ao ano (YENSEN; BIEL 2006; AYDEMIR; SÜNGER 2011). Os solos afetados por sais podem ser classificados como salino, sódico ou salino-sódico (tabela 1), conforme classificação proposta por Brady (2002).

Tabela 1 Classificação dos solos afetados pelos sais (Brady, 2002).

Classificação do solo afetado por sal	Condutividade elétrica (dS/m)	pH	Taxa de absorção de sódio (SAR)	Condição física do solo
Salino	> 4	< 8,5	< 13	Normal
Salino-sódico	> 4	< 8,5	> 13	Normal
Sódico	< 4	> 8,5	> 13	Pobre

Essa classificação tomou como base características como condutividade elétrica, pH, taxa de absorção de sódio e condições físicas do solo. Os solos salinos se diferenciam pelo grande teor de sais solúveis, os salinos-sódicos apresentam um excesso de sais e sódio trocáveis, enquanto que os solos sódicos apresentam níveis mais altos de íons de sódio (SASTRE-CONDE et al., 2015).

A salinidade não prejudica apenas a estrutura física do solo, como pode também acometer sua composição química afetando diretamente o balanço/disponibilidade de nutrientes e a fertilidade (HOGARTH, 2015). Isso é um problema principalmente em terras agrícolas, devido aos efeitos da salinidade no solo refletir diretamente no desempenho das culturas, prejudicando a germinação e conseqüentemente o desenvolvimento do vegetal, causando uma queda na produtividade agrícola global (NOURI et al., 2017).

Em arroz que é uma das principais culturas agrícola mundial, pôde-se observar uma mudança leve nas propriedades químicas no caráter do grão sob estresse salino moderado e à medida que o estresse aumentou, houve um impacto no rendimento da cultura (THITISAKSAKUL et al., 2015). Efeitos negativos da salinidade foram observados também em outras diversas culturas cultivadas, onde a maiorias das demonstram-se sensíveis a salinidade, apresentando diversos distúrbios em seu metabolismo, refletindo diretamente no desenvolvimento da planta, produtividade e rendimento.

1.2. Efeito da salinidade sobre as plantas

A salinidade pode desencadear diversos distúrbios ao metabolismo vegetal, isso pode ocorrer devido aos danos causados a partir de efeitos osmóticos, iônicos, osmóticos/iônicos e oxidativos. Tais efeitos comprometem o funcionamento celular, resultando na redução do crescimento podendo levar até a morte da planta. Esses danos celulares ocorrem em resposta de duas fases distintas de respostas das plantas aos efeitos da salinidade ao longo do tempo: a fase osmótica e a fase iônica (Figura 1).

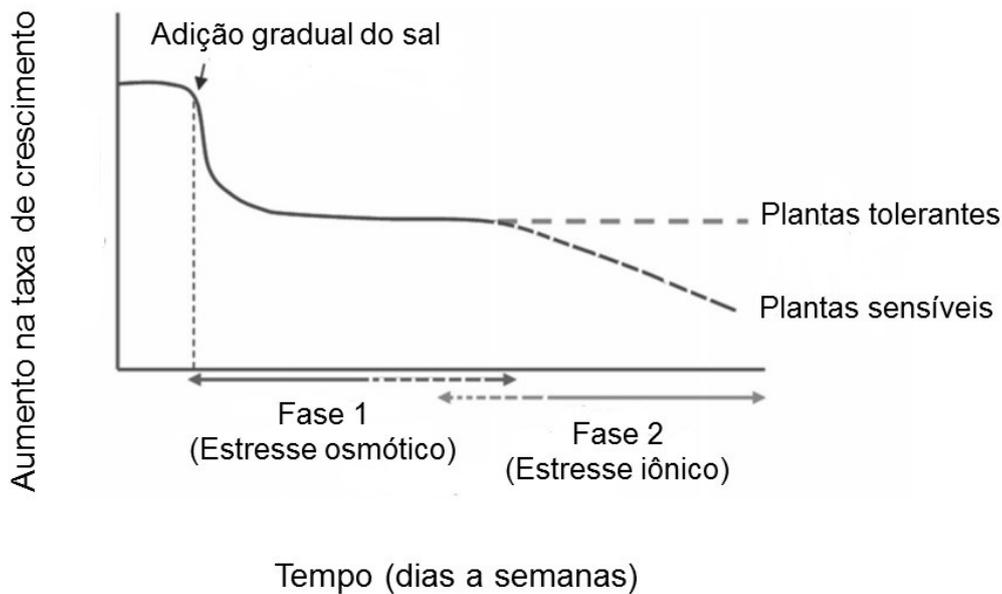


Figura 1 Resposta da taxa de crescimento em plantas sob estresse salino, mostrando as suas duas fases distintas: uma é a resposta rápida ao aumento da pressão osmótica externa (fase 1) e a outra é uma resposta mais lenta devido à acumulação de íons tóxicos (Na^+ e Cl^-) nos tecidos, particularmente nas folhas (fase 2) (MUNNS, 2005).

A fase osmótica é uma fase de resposta relativamente rápida, que ocorre em reflexo do aumento da pressão osmótica externa, no instante em que as raízes da planta entram em contato com meio salino (MUNNS; TESTER, 2008; CHEN et al., 2017). Essa fase é a principal responsável pela redução inicial nas taxas de crescimento, pois limita o turgor celular afetando a expansão das folhas crescentes e faz com que o surgimento de folhas novas e o desenvolvimento dos botões laterais sejam mais lentos, formando menos ramos ou brotações laterais (MUNNS; TESTER, 2008).

Seguida a fase do estresse osmótico, a fase iônica ocorre de forma gradativa e surge mais tardiamente que a osmótica, sendo desencadeada principalmente devido ao acúmulo do sal em concentrações tóxicas, especificamente o sódio (Na^+) e cloreto (Cl^-). Iniciando com o acúmulo dos íons Na^+ e Cl^- em concentrações tóxicas, principalmente nas folhas mais velhas, que já passaram do estágio de expansão e já não possui mais a capacidade de diluir o sal, ou seja, seu efeito está diretamente relacionado com o aumento da senescência das folhas foliar das folhas mais velhas (MUNNS; TESTE, 2008).

Quando a taxa da morte foliar causada pela toxicidade osmótica/iônica for maior que a produção de folhas novas, irá ocorrer redução na capacidade fotossintética da planta, afetando assim a taxa de crescimento, devido a planta não conseguir a necessidade de carboidratos para realizar tal processo. 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).

Alguns trabalhos afirmam que o sistema de transporte que controla a absorção do Na^+ e Cl^- a partir dos vasos do xilema da raiz para a parte aérea, são determinantes na tolerância ao estresse salino (MUNNS et al., 2012; FEKI et al., 2014). Porém os mecanismos fisiológicos e moleculares desencadeados em respostas a sensibilidade ao estresse salino ainda não estão claros. Algumas espécies vegetais como o Melão, o Pepino, abobora e pimenta são mais sensíveis ao estresse causado pelo excesso de Na^+ , enquanto que soja, Videiras e Citros são aparentemente mais sensíveis ao excesso de Cl^- nos tecidos (COLMER et al., 2006, MUNNS et al., 2006, MUNNS; TESTER 2008, NIU et al., 2017).

O efeito do estresse iônico juntamente com o estresse osmótico pode leva a planta ao desequilíbrio nutricional, devido à redução na absorção e/ou transporte de nutrientes (FOYER; NOCTOR, 2003). A disponibilidade dos nutrientes pode ser limitada tanto devido à redução no potencial osmótico externo, como pela competição dos íons Na^+ e Cl^- com os de Ca^{2+} , K^+ e Mg^{2+} (PARIDA; DAS, 2005; PENELLA et al., 2016).

As respostas predominantes ao estresse salino vão depender tanto das características do estresse, tais como, severidade, duração, número de exposição e combinação de estresses, como das características da planta, especificamente do genótipo, estágio de desenvolvimento e do órgão ou tecido em questão (MUNNS; GILLIHAM, 2015). Além dos efeitos da salinidade na aquisição e retenção de água, manutenção da homeostase iônica e nutrição da planta, o estresse salino pode também ter efeito sobre a produção de hormônios (KRASENSKY; JONAK, 2012; YOSHIDA et al., 2014), indução do sistema antioxidante (ASHRAF et al., 2012; HU et al., 2012; WANG et al., 2012; FINI et al., 2014) e, desencadear distúrbios no metabolismo fotossintético.

1.3. Efeitos da salinidade sob a fotossíntese e sistema antioxidante

Geralmente um dos primeiro processos metabólicos a serem afetados pelo estresse salino é a fotossíntese. A salinidade pode afetar esse processo tanto de forma direta, pela diminuição do CO₂ disponível devido ao fechamento estomático, que é o primeiro estímulo realizado pela planta ao sofrer algum tipo de estresse, ou indiretamente, pelo acúmulo das EROs causando o estresse oxidativo. Isso pode ser prejudicial não apenas para a maquinaria fotossintética como também para outros mecanismos celulares (CRAMER, 2010).

A energia utilizada pelas plantas para sua manutenção geral é adquirida através da fotossíntese e fixada em compostos de carbono (AMTHOR, 2000; JACOBY et al 2011; MUNNS; GILLIHAM, 2015). Esse processo desempenha funções não apenas no crescimento da planta, como também é responsável pelo rendimento das culturas (CHAN et al., 2016; BOSE et al, 2017). A salinidade pode afetar os processos fotossintéticos, resultando em uma redução da área foliar, do teor de clorofila e da condutância estomática e pela diminuição da eficiência do sistema fotossensível II (NETONDO et al., 2004).

A resposta inicial ao estresse salino é regulada pelo ácido abscísico (ABA) (SUZUKI et al., 2016). Esse hormônio é responsável por induzir o fechamento estomático para evitar a perda de água causada pelo estresse osmótico (SHINOZAKI et al., 2007; SUZUKI et al., 2016). O problema é que essa resposta limita também a entrada de CO₂ nas células (CHAVES et al., 2009; GALMÉS et al., 2013; BOSE et al., 2017).

A redução na absorção do CO₂ pode afetar negativamente o ciclo de Calvin, reduzindo a atividade e/ou concentração das enzimas responsáveis pela redução fotossintética do carbono. Esse ciclo é o principal dissipador para a redução de equivalentes produzidos pela cadeia de transporte de eletricidade fotossintética (PET) (TIKKANEN et al., 2014). A rubilose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (E.C 4.1.1.39) (Rubisco) é a enzima responsável pelo processo de fixação do CO₂ (FOYER; NOCTOR, 2000).

A Rubisco é a única enzima que apresenta a uma função dupla no processo de fixação do CO₂, atuando tanto como carboxilase como oxigenase (WHITNEY et al, 2011). A propriedade de carboxilação ou oxidação dessa enzima é regulada em parte pela relação CO₂/O₂ na célula (FOYER et al., 2012). Quando a disponibilidade de CO₂

dentro das folhas é restrita, a ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase catalisa uma reação competitiva em que o oxigênio é favorecido sobre o CO₂ como substrato (TRIPATHY; OEMÜLLER, 2012).

A diminuição na disponibilidade de CO₂ pode induzir o desequilíbrio nos processos fotossintéticos, por interferir no funcionamento do ciclo de Calvin (TIKKANEN et al., 2014). O ciclo de Calvin é um redutor crucial para a redução de equivalentes produzidos pela cadeia de transporte fotossintético de elétrons, qualquer disfunção nesse processo pode criar um excesso de energia nos tilacoides e interromper a relação NADP⁺/NADPH, causando a redução do principal acceptor de elétrons (NADP⁺), devido ao menor uso do poder redutor (NADPH) (FOYER et al., 2012; WALKER et al., 2014).

A redução de NADP⁺ pode levar ao desvio de elétrons para o oxigênio molecular, produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs) (FOYER; NOCTOR, 2000; TAKASHI; BAGDER, 2011). As principais EROs produzidas na célula vegetal são: radical hidroxila (OH[•]), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o oxigênio singleto (¹O₂) (MITTLER et al., 2004, MITTLER et al., 2011) (Figura 2). Eles podem afetar o nível um do outro até se mover entre os compartimentos (TIAN et al., 2016).

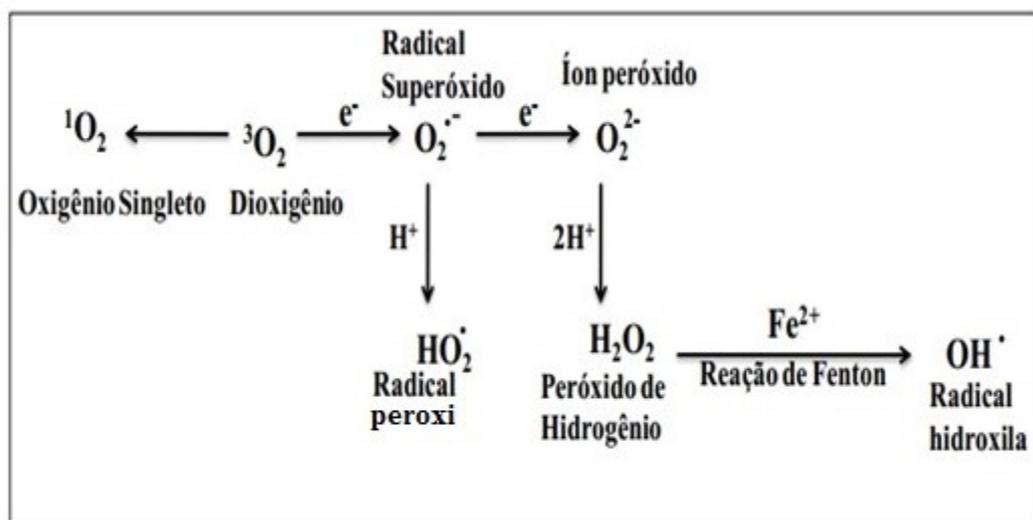


Figura 2 Formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), adaptado de Gill; Tuteja, 2010.

As EROs podem ser produzidas tanto nos cloroplastos, como também propagado para outros compartimentos celulares, tais como mitocôndrias, peroxissomo, citossol entre outros (FOYER; SHIGEOKA, 2010; NOCTOR et al., 2014) (figura 3). As oxidases são produzidos principalmente no apoplasto e algumas oxidases e peroxidases,

no cloroplasto, mitocôndria, peroxissomo e possivelmente outros compartimentos (MILLER et al., 2010; SUZUKI et al., 2011; VAAHTERA et al., 2014, GILROY et al., 2016, MIGNOLET-SPRUYT et al., 2016).

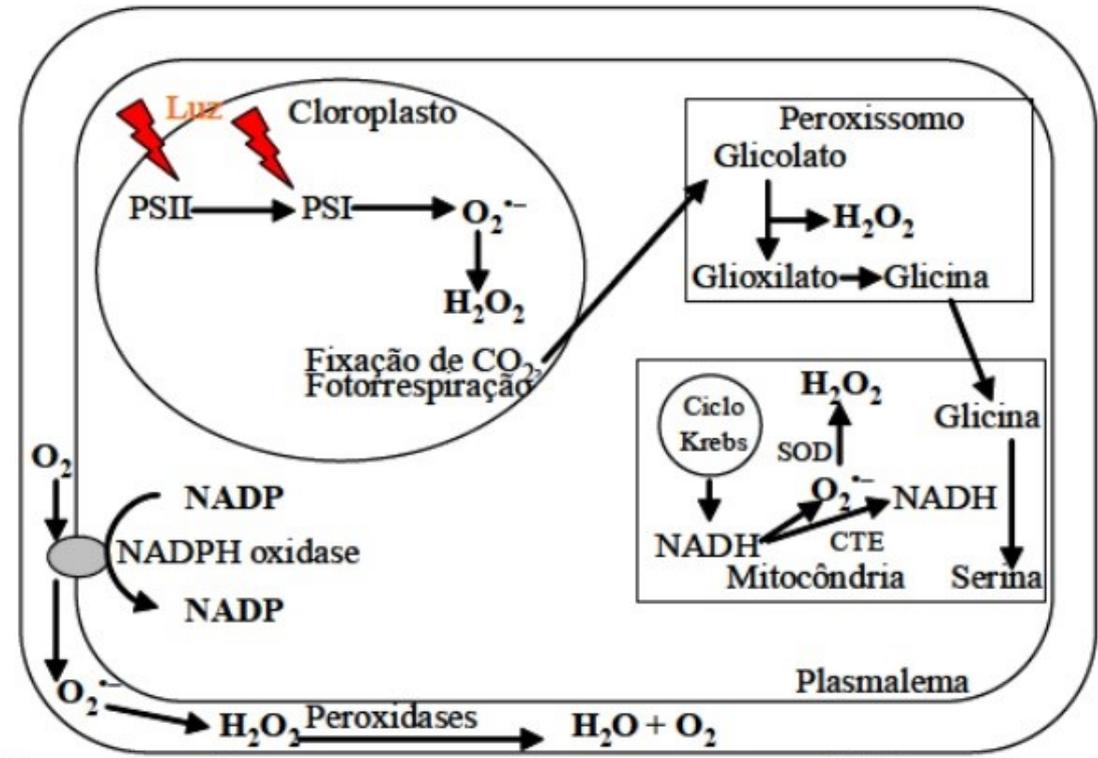


Figura 3 Produção de espécies reativas de oxigênio nos diferentes compartimentos celulares (Adaptado por ŠLESÁK et al., 2007).

A relação do oxigênio ao radical superóxido ocorreu devido a componentes de transporte de elétrons reduzidos associados ao fotossistema (PSI) e uma reação ligada ao ciclo fotorespiratório no peroxissomo. A reação de oxigenação da rubisco leva a formação de glicolato que é transportado para peroxissomos e produz H₂O₂ após oxidação subsequente pela enzima glicolato oxidase (MITTLER et al., 2011).

As principais fontes de EROS incluem as EROS produzidas na atividade metabólica e as EROS para efeito de sinalização (figura 4), como parte da rede de transdução de sinal de resposta a estresses abióticos (MILLER et al., 2010). A tradução de sinais EROS ou sinalizações pela célula pode ocorrer através de diferentes reações redox (DIETZ, 2016). Essas respostas são mediadas pela ativação derivada de cálcio

Essa sinalização pode mudar dependendo do tipo de célula, seu estágio de desenvolvimento ou ao nível de estresse, e estão totalmente relacionadas com a homeostase e metabolismo celular (MITTLER et al., 2011; CHOUDHURY, et al., 2016). Se houver alguma alteração na homeostase pode levar a uma alteração nos níveis de EROs, essa alteração pode servir como sinais para as células monitorar as mudanças no metabolismo celular (MITTLER et al., 2011).

O aumento excessivo na concentração das EROs nas células pode levar a danos nas membranas a partir da peroxidação lipídica, da degradação de proteínas e também das moléculas de DNA e RNA, oxidação de carboidratos, degradação de pigmentos e um comprometimento da atividade enzimática (MITTLER, 2002). Isso pode resultar em uma destruição oxidativa da célula, num processo denominado estresse oxidativo (MITTLER, 2002; CHOUDHURY et al., 2016).

Para reduzir a lesão oxidativa causada pelas EROs, as plantas estimulam seu sistema de defesa antioxidante que consiste em enzimas antioxidantes, como, as peroxidases de fenóis (POD), catalases (CAT), superóxido dismutase (SOD) e ascorbato Peroxidase (APX) e alguns antioxidantes não-enzimáticos incluindo ascorbato (ASA) e glutathione (GSH) (AHAMMED et al., 2012; ZHOU et al., 2005).

A SOD é a primeira linha de defesa, que catalisa a dismutação de $O_2^{\cdot -}$ em H_2O_2 e O_2 (ALSCHER et al., 2002). No ciclo ascorbato-glutathione, a APX atua em conjunto com desidroascorbate redutase (DHAR), monodehidro ascorbato redutase (MDHR) e glutathione redutase (GR) na eliminação do H_2O_2 (TARCHOUNE et al., 2010). A CAT também atua na eliminação do H_2O_2 , porém apenas das moléculas produzidas nos peroxisomos por fotorrespiração (FOYER et al. 2009, SILVA et al., 2010).

Esse sistema de defesa antioxidante desempenha um papel geral na capacidade de tolerância das plantas contra os distúrbios causados pelos estresses, nas quais elas possam estar submetidas (LIU et al., 2009, FARIDUDDIN et al., 2011). Para o estresse salino, as plantas desenvolveram mecanismos específicos de tolerância, no qual ocorre de forma diferente para as diversas variedades de plantas existentes.

1.4 Variação da tolerância das plantas à salinidade

As plantas diferem muito em sua tolerância a salinidade, devido a isso, passou a existir alguns critérios para classificar plantas como tolerantes ou sensíveis a salinidade. Um deles é avaliar o percentual de produção de biomassa durante um período prologado

de tempo e o outro critério é quantificar o rendimento da cultura em condições salinas e não salinas. O tempo necessário para que as respostas entre os genótipos sejam vistas, depende da salinidade e do grau de tolerância ao sal das espécies (MUNNS; GILLIHAM, 2015).

Cada espécie possui seu grau de tolerância, baseado nisso, as plantas foram divididas em dois grandes grupos: halófitas e glicófitas (FLOWERS et al., 2015). Em termos de rendimento, o limite máximo para as glicófitas é de aproximadamente 80 mM de NaCl (CHAPMAN, 1942; BOSE et al., 2017), enquanto que as halófitas conseguem manter sua taxa de produção em concentrações acima de 200 mM (FLOWERS; COLMER, 2008; SANTOS et al., 2016).

Em termos fotossintéticos, a concentração de sal externa entre 40 e 100 mM pode inibir severamente a fotossíntese em glicofitas (MUNNS; TESTER, 2008) para as halofitas, algumas conseguem manter sua fotossíntese nessas concentrações, enquanto outras pode até ter sua fotossíntese melhorada (FLOWERS et al., 2015). Isso pode ser atribuída tanto à capacidade das halofitas em superar as limitações estomáticas e não estomáticas, como pela exclusão do sal citoplasmático através do sequestro vacuolar e/ou devido à capacidade dos cloroplastos em regular o transporte de Na^+ , Cl^- e K^+ ser diferente das glicófitas (SHABALA, 2013).

O complexo PSII (Psb) possui três proteínas extrínsecas, nomeadamente PsbO (33 kDa), PsbP (23 kDa) e PsbQ (17 kDa). Destes, PsbP e PsbQ têm locais de ligação a Cl^- de alta afinidade (NISHIMURA et al., 2014). As halofitas *Limonium vulgare*, *Avicennia marina*, mostraram que requerem altas concentrações de Cl^- em cloroplastos para aumentar o transporte de elétrons e evolução do oxigênio durante o estresse salgado (PRESTON; PACE, 1985; PRESTON; CRITCHLEY, 1986).

Em estudos com as halofitas *Salicornia veneta*, *S. emerici*, *Arthrocnemum macrostachyum*, *Halocnemum strobilaceum*, *Eutrema salsugineum*, revelaram a ausência completa da proteína PsbQ e redução nos níveis da proteína PsbP sem que ocorresse a perda da atividade funcional do complexo Mn-Ca-Cl (BOSE et al., 2017). Isso sugere que os cloroplastos de halófitos usam Cl^- alto para direcionar a atividade PSII.

Em glicofitas, principalmente em plantas cultivadas o foco tem sido maior no impacto do sódio, devido ao efeito negativo desse íon sobre a cultura de grãos (*Zea mays*, *Triticum turgidum*) e de *Cucurbitácea*, como melão, melancia, pepino e abobora (COLMER et al., 2006, MUNNS et al., 2006, MUNNS; TESTER 2008, NIU et al.,

2017). Culturas como videiras e citro sofrem mais pela toxicidade pelo cloreto do que pelo sódio (GONGG et al., 2011). Porém, a tolerância ao sódio e ao cloreto é amplamente considerada como uma característica complexa, assim como outros mecanismos de tolerância (ASHRAF; FOOLAD, 2013).

1.5 Mecanismos de tolerância à salinidade

As principais pesquisas sobre salinidade são realizadas em sistemas modelo. A aplicação relevante aplicada para a tolerância à salinidade às plantas cultivadas ainda são escassas (MUNNS; GILLIHAM, 2015). Existe uma exceção na aplicação das proteínas AtNHX1 (proteínas Na^+/H^+ antiporter 1) para melhorar a compartimentação do sal nas vacúolos do tecido vegetativo de tomate, o que melhorou o rendimento sem aumentar o sal no tomateiro (BASSIL; BLUMWALD, 2014).

Outro achado importante foi encontrado para uma melhor exclusão de Na^+ e biomassa em cevada em um campo salino, devido a expressão da AtCIPK16, uma proteína quinase relacionada à cinase associada com a proteína SNF1/CBL contida em locus de característica quantitativa para exclusão Na^+ na população de mapeamento *Arabidopsis thaliana* (ROY et al., 2013). Pesquisas recentes têm mostrado o potencial de melhorar a tolerância ao sal no campo, resumido os mecanismos adaptativos a níveis celulares e de órgãos (figura 5) (MUNNS; GILLIHAM, 2015).

Esses mecanismos estão inter-relacionados (MUNNS et al., 2016) e se dividem em três categorias principais: (1) tolerância osmótica, que está relacionada à minimização dos efeitos sobre a redução do crescimento da parte aérea; (2) a exclusão de íons nas lâminas foliares, onde os processos de transporte do Na^+ e Cl^- predominantemente nas raízes, impedem a acumulação de concentrações tóxicas nas folhas; e (3) tolerância ao tecido, onde concentrações elevadas de sal são encontradas nas folhas, mas compartimentadas no nível celular e intracelular (MUNNS, TESTER, 2008).

Mecanismos adaptativos de tolerância ao sal

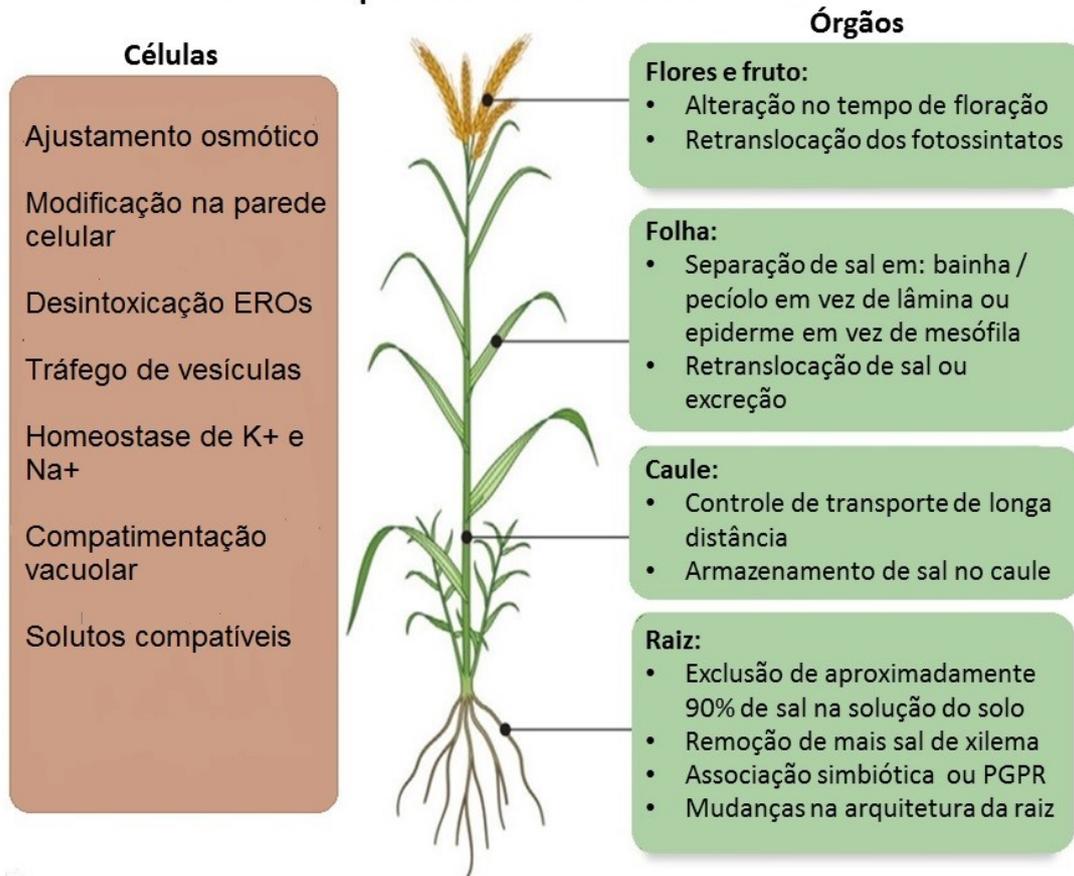


Figura 5 Mecanismos adaptativos de tolerância ao sal. À esquerda estão listadas as funções celulares que se aplicariam a todas as células dentro da planta. À direita estão as funções de tecidos ou órgãos específicos. A exclusão de pelo menos 95% (19/20) de sal na solução do solo é necessária à medida que as plantas transpiram 20 vezes mais água do que elas remanescem (MUNNS, 2005). A maioria dessas funções é explicada no texto. Omitido por espaço e falta de avanços recentes, é a limitação de que Cl⁻ pode impor ao crescimento através da sua acumulação antagônica contra a forma de nitrogênio NO₃⁻ (NO₃⁻ Homeostase) (HENDERSON et al., 2014) e a capacidade diferencial e sensibilidade de diferentes tipos de células e tecidos para acumular Na⁺ e Cl⁻, por exemplo, o acúmulo de NaCl dentro das células fotossintéticas incorre em um custo maior do que a acumulação em células corticais raiz (CONN; GILLIHAM, 2010). ROS, espécies reativas de oxigênio; PGPR, rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (Adaptado por MUNNS; GILLIHAM, 2015).

A tolerância osmótica envolve sinalizações rápidas e de longa distância, o controle do ciclo celular e os processos envolvendo a percepção de sinais das raízes para a parte aérea (ROY et al., 2014). Estudos indicam que os processos dessa sinalização ocorrem através de processos como ondas EROS, ondas Ca²⁺ ou a partir de sinalizações elétricas (MITTLER et al., 2011; ROY et al., 2014). Essa tolerância é uma importante resposta para plantas em solos salinizados, pois devido ao aumento da pressão osmótica

no solo as plantas tendem a perder mais água devido ao seu potencial osmótico (MUNNS, 2002, ROY et al 2014).

Para conseguir manter o turgor celular as plantas aumentam a pressão osmótica de cada célula a partir da síntese de solutos orgânicos principalmente açúcares ou osmólitos como aminoácidos ou moléculas que contenham nitrogênio, como prolina ou glicina-betaína, a partir de um processo denominado ajuste osmótico (ASHRAF; FOOLAD, 2007; SHABALA, 2013; CANTABELLA et al., 2017). Esse processo demanda um grande custo energético e como esses solutos não estão mais disponíveis para síntese de parede celular e proteínas, pode resultar na restrição nas taxas de crescimento (YEO 1983; MUNNS, 1988; MUNNS; GILLIHAM, 2015).

Outra maneira é o ajustamento osmótico a partir do Na^+ e Cl^- retirados do solo, essa alternativa demanda menos energia (ATP) que o ajuste através de solutos orgânicos (GREENWAY; MUNNS 1983; YEO 1983; RAVEN, 1985). Porém, essa é uma estratégia utilizada por plantas halofitas (FLORES; COLMER, 2008) e algumas não halofitas, mas que são tolerantes a salinidade, apresentando a capacidade de aumentar a concentração de Na^+ e Cl^- nos tecidos da parte aérea de forma similar ao da concentração do meio externo, como por exemplo, a cevada (BOYER et al., 2008).

Em plantas não halofitas um mecanismo importante de tolerância a condições salinas é a exclusão do Na^+ da parte aérea, reduzindo a concentração do NaCl no citoplasma, mantendo a absorção dos íons essenciais, tais como o nitrato (NO_3^-) e potássio (K^+) (MUNNS, 2002; LI et al., 2015). Um importante objeto de estudo nessa área, tem sido a função dos genes da família HKT transportadora de K^+ de alta finidade (BYRT et al., 2014) e o antiporte Na^+/H^+ (NHX) e a função dos genes da família SOS excessivamente sensíveis ao sal (BASSIL; BLUMWALD, 2014).

A família de transportadores HKT faz parte de um importante mecanismo envolvido na redução da concentração do Na^+ na parte aérea (MUNNS, TESTER, 2008; ROY et al., 2014). Os transportadores HKT1;4 e HKT1;5 impedem o transporte excessivo de Na^+ para as folhas através da recuperação de Na^+ do fluxo de transpiração (MUNNS et al., 1984). Em trigo esses transportadores têm sido bem caracterizados, juntamente com os genes potencialmente candidatos para a exclusão de Na^+ , Nax1 e Nax2 (RAJENDRAN et al., 2009).

O transportador codificado pelo gene candidato Nax1, HKT1;4, desempenha um papel semelhante ao transportador codificado pelo candidato Nax2, HKT1;5. No entanto, o Nax1, HKT1;4 demonstra ser responsável pela recuperação de Na^+ do fluxo de

transpiração para armazenamento no tecido da bainha foliar (MITTLER et al., 2011), enquanto que o Nax2, HKT1;5, parece funcionar principalmente no tecido radicular (MAISCHAK et al., 2010). O trabalho com variedades modernas de trigo descreve a inclusão de um gene ancestral HKT1;5 (Nax2), ressaltando uma tolerância significativa, melhorando o rendimento em um ambiente de campo salino (FLOWERS, COLMER, 2008; MUNNS et al., 2012).

Os antiportes Na^+/H^+ (NHXs) são proteínas de membranas integradas, localizadas no plasma da membrana e nos compartimentos de endomembrana, que mantem a homeostase catiônica e regula o pH luminal, a partir da troca eletroneutral de Na^+ ou K^+ por H^+ (MCCUBBIN et al., 2014). Em *Arabidopsis*, oito homólogos de NHX foram codificados e, com base em suas semelhanças e funções de sequência foram divididos em três classes distintas: vacuolares (NHX1, NHX2, NHX3, NHX4), endossomais/vesiculares (NHX5, NHX6) e as de membrana plasmática (NHX7/SOS1 e NHX8) (BASSIL et al., 2012; REGUERA et al., 2013).

1.6 O papel do porta-enxerto na tolerância a salinidade e material vegetal (*Vitis vinífera*)

Atualmente o uso do porta-enxerto tem revelado benefícios relacionados não apenas aos fatores bióticos, mas também a adaptação a diferentes tipos de solos e aos fatores abióticos (CORSO et al., 2016). Além disso, o porta-enxerto pode conferir vantagens também nos processos fisiológicos no nível dos descendentes, como o acúmulo de biomassa, rendimentos de qualidade, vigor da videira e qualidade da uva (WALKER et al., 2004; GREGORY et al., 2013; BERDELA et al., 2015). A técnica de enxertia é amplamente utilizada em uma escala comercial em todo o mundo e em diversas espécies vegetais.

Na Espanha, quase 100% da melancia e 90% dos tomateiros são produzidos por plantas enxertadas (PENELLA et al., 2017). Nas culturas cítricas, as combinações enxerto/porta-enxerto também são usadas para melhorar a produção e a qualidade dos frutos e aumentar a tolerância ao estresse biótico e abiótico (OUSTRICA et al., 2017). Estudos indicam que a tolerância aos estresses bióticos e abióticos em cítricos está diretamente relacionada à ploidia. Assim, o uso de porta-enxertos tetraploides em citros aumentou sua tolerância a toxidade ao boro (RUIZ et al., 2016) condições de seca (ALLARIO et al., 2013) e salinidade (SALEH et al., 2008; RUIZ, 2016).

Para a cultura da uva (*Vitis vinífera* L.) o tipo de porta-enxerto é um importante componente do sistema de produção, devido a sua capacidade de influenciar em caracteres favoráveis da planta quando cultivada no campo, favorecendo tanto a produtividade (YAMAMOTO, et al., 2001), como também a qualidade dos frutos e outros produtos derivados da videira (GRANGEIRO et al., 2002). Essa técnica milenar começou a ser utilizada na viticultura em meados do século XIX na Europa em 1963, devido ao severo ataque da filoxera (SORIA; DAL CONTE, 2005).

Em relação a salinidade, as videiras são culturas consideradas moderadamente sensíveis na zona da raiz (MAAS; HOFFMAN 1977). O porta-enxerto na maioria dos casos acumula uma concentração de cloreto (Cl^-) maior que a de sódio (Na^+) na parte aérea da planta e o acúmulo do Na^+ tem sido associado à redução no acúmulo de potássio (K^+), isso prejudica o crescimento e produtividade da planta, afetando também a qualidade do fruto e dos produtos derivados (ROYCHOUD-HURY et al., 2011; MIRAS-ALVAROS et al. 2017).

Porém a exclusão do cloreto em porta-enxertos da espécie *Vitis* diferem largamente na sua capacidade de exclusão, de acordo com alguns estudos a *V. berlandieri* apresenta uma maior tolerância à salinidade, em seguida vêm às variedades *V. chanpini*, *V. cinérea*, *V. rupestres* (ANTCLIFF et al., 1983; SOUTHEY; JOOSTE, 1991; CHRISTENSEN et al., 1994). Em relação à exclusão do Na^+ os dados são contraditórios (NAGARAJAH, 1992; STEVENS; HARVEY, 1995). Assim, a resposta do enxerto de *Vitis* à salinidade pode variar de acordo com a exclusão comparativa de sódio versus cloreto pelo genótipo do sistema radicular (FISARAKISA, et al, 2001, WALKER et al., 2018).

A videira é uma planta pertencente à família das *Vitaceae*, uma das culturas frutícola mais importante em todo o mundo, por agregar um grande impacto no âmbito econômico e social (SANTO et al., 2017). As principais cultivares comerciais pertence ao gênero *Vitis*, em especial as espécies *Vitis vinífera*, *V. rupestres*, *V. riparia*, *V. labrusca* etc (LAGO-VANZELA et al., 2015). Essas espécies são as mais cultivadas, fornecendo bagas que podem ser usadas como frutas frescas, passas, produção de vinhos e destilação de licores (SERRANO et al., 2017).

Apesar de ser considerada uma planta de clima temperado, as videiras apresentam uma capacidade de adaptação muito grande em diversas condições climáticas, sendo possível cultivá-la em todos os locais onde as condições de ambiente sejam razoavelmente favoráveis (GALET, 1983). A área destinada à sua plantação em

termos globais compreende mais de 7,5 milhões de hectares (OIV, 2014). A China é responsável por 14% da produção mundial, seguida pela Itália (10%), Estados Unidos (10%), França (8%) e Espanha (7%), mais da metade da produção destina-se a elaboração de vinhos (FAO, 2012). Em 2012 o Brasil ocupava a 14ª posição na produção mundial, com aproximadamente 80.630 hectares, apresentando uma produção estimada de 1.455.809 toneladas (FAO, 2012).

O desenvolvimento da uva exibe um padrão sigmoide duplo caracterizado por duas fases de crescimento rápido, separadas por uma fase de atraso durante o qual ocorre pouco ou nenhum crescimento (CORSO et al., 2016). As fases de desenvolvimento e amadurecimento das bagas se dá pelo controle de diversos hormônios (DAVIES, BÖTTCHER, 2009). As auxinas (IAA), as citoquininas (CK) e giberelinas participam dos estádios iniciais do desenvolvimento, desde a fertilização até o conjunto dos frutos, promovendo a divisão e expansão celular (GIRIBALDI et al., 2013). Os estádios finais (amadurecimento completo) caracterizam-se pelo aumento sequencial nos teores de etileno, brassinosteróides (BR) e ácido abscísico (ABA) (KUHN et al., 2013).

A qualidade da baga está diretamente relacionada com sua composição química, que inclui os teores de açúcares, ácidos e outros compostos aromáticos (LUND; BOHLMANN, 2006). A concentração e composição desses compostos químicos mudam durante o desenvolvimento da baga e pode ser afetados por fatores endógenos, técnicas de manejo ou fatores ambientais (DAI et al., 2011, MIRAS-ALVAROS et al. 2017).

2 REFERÊNCIAS

- AHAMMED, G.J., YUAN, H.L., OGWENO, J.O., ZHOU, Y.H., XIA, X..J, MAO, W.H., SHI, K., YU, J.Q. Brassinosteroid alleviates phenanthrene and pyrene phytotoxicity by increasing detoxification activity and photosynthesis in tomato. **Chemosphere**; 2012, v. 86, p. 546-555.
- ANTCLIFF, A.J., NEWNAM, H.P., BARRETT, H.C., 1983. Variation in chloride accumulation in some american species of grapevines. *Vitis* 22, 357–362.
- ALSCHER, R.G., ERTURK, N., HEATH, L.S.: Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. - **J. exp. Bot.**, v.53, p. 1331-1341, 2002.
- AMTHOR, J.S. The McCree–de Wit–Penning de Vries–Thornley respiration paradigms: 30 years later. **Annals of Botany.**, v. 86, p. 1-20, 2000.
- ASHRAF, M., HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynth.**, v. 51, p. 163-190, 2013.
- ASHRAF, M., HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynth.**, v. 51, p. 163-190, 2013.
- ASHRAF, M.A., ASHRAF, M., SHAHBAZ, M. Growth stage-based modulation in antioxidant defense system and proline accumulation in two hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salinity tolerance. **Flora.**, v.207, p. 388-397, 2012.
- AYDEMIR, S., SÜNGER, H. Bioreclamation effect and growth of a leguminous forage plant (*Lotus corniculatus*) in calcareous saline sodic soil. **Afr J Biotechnol.**, v. 10, p. 115571-115577, 2011.
- BASSIL, E., BLUMWALD, E. The ins and outs of intracellular ion homeostasis: NHX-type cation/H⁺ transporters. *Current Opinion in Plant Biology.*, v. 22, p.1-6, 2014.
- BERDEJA, M., NICOLAS, P., KAPPEL, C., DAI, Z.W., HILBERT, G., PECCOUX, A., LAFONTAINE, M., OLLAT, N., GOME'S, E AND DELROT, S. Water limitation and rootstock genotype interact to alter grape berry metabolism through transcriptome reprogramming. **Horticulture Research**, 2015; 2, 15012; doi:10.1038/hortres.2015.12.
- BOSE, J., MUNNS R., SHABALA, S., GILLIHAM, M., POGSON, B., TYERMAN, S.D. Chloroplast function and ion regulation in plants growing on saline soils: lessons from halophytes. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, p. 3129-3143, 2017. Doi:10.1093/jxb/erx142.
- BRADY, N., 2002. *The Nature and Properties of Soils*. Prentice Hall, New Jersey, USA.

- CHAN, K.X., PHUA, S.Y., CRISP, P., MCQUINN, R., POGSON, B.J. Learning the languages of the chloroplast: retrograde signaling and beyond. **Annual Review of Plant Biology**, v. 67, p. 25-53, 2016.
- CHAPMAN, V.J. The new perspective in the halophytes. *The Quarterly Review of Biology*, v.17, p. 291-311, 1942.
- 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, p. 551-560, 2009.
- CHRISTENSEN, L.P., LUVISI, D.A., SCHRADER, P.,1994. Mineral nutrient level comparisons of five table grape cultivars on 10 rootstocks. In: Rantz, J.M. (Ed.), *Proceedings of the International Symposium on Table Grape Production*, Anaheim, CA, USA, pp. 87–92.
- CHOUDHURY, F.K; RIVERO, R.M.; BLUMWALD, E. RON MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, 2016.
- COLMER, T.D., MUNNS, R., FLOWERS, T.J. Improving salt tolerance of wheat and barley: Future prospects. **Aust J Exp Agric**, v. 45, p. 1425-1443, 2005.
- CONSIDINE, M.J., SANDALIO, L.M., FOYER, C.H. Unravelling how plants benefit from ROS and NO reactions, while resisting oxidative stress. **Ann. Bot.**, v. 116, p. 469-473, 2015.
- CRAMER, G.R. Abiotic stress and plant responses from the whole vine to the genes. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 16, p. 86-93, 2010. Doi: 10.1111/j.1755-0238.2009.00058.x
- DAI, Z. W., OLLAT, N., GOMÈS, E., DECROOCQ, S., TANDONNET, J. P., BORDENAVE, L., et al. Ecophysiological, genetic, and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: a review. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 62, p. 413-425, 2011. doi: 10.5344/ajev.2011.10116 .
- DAVIES, C., and BÖTTCHER, C. (2009). “Hormonal control of grape berry ripening,” in *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*, ed K. A. Roubelakis-Angelakis (Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V.), p;229-261.
- DIETZ, K.J. Efficient high light acclimation involves rapid processes at multiple mechanistic levels. **J. Exp. Bot.**, v. 66, p. 2401-2414, 2015.
- DIETZ, K.J., TURKAN, I., KRIEGER-LISZKAY, A. Redox- and reactive oxygen species-dependent signaling in and from the photosynthesizing chloroplast. **Plant Physiol.**, v. 171, p. 1541-1550, 2016.
- FAO – FOOD AND AGRICULTURA ORGANIZATION (FAO). Disponível em: <<http://faostat.fao.org/default.aspx>>. Acesso em 19 de set, 2017.

FEKI, K., QUINTERO, F. K., KHOUDI, H., LEIDI, E. O., MASMOUDI K., PARDO, J. M., BRINI, F. A constitutively active form of a durum wheat Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 confers high salt tolerance to transgenic Arabidopsis. **Plant Cell Rep.**, v. 33, p.277-288, 2014. DOI 10.1007/s00299-013-1528-9

FINI A., GUIDI, L., GIORDANO, C., BARATTO, M.C., FERRINI, F., BRUNETTI, C., CALAMAI, L., TATTINI, M. Salinity stress constrains photosynthesis in Fraxinus ornus more when growing in partial shading than in full sunlight: consequences for the antioxidant defense system. **Ann Bot.**, v. 114, p. 525-538, 2014.

FLOWERS, T.J., COLMER, T.D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytologist.**, v. 179, p. 945-963, 2008. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x.

FLOWERS, T.J., COLMER, T.D., MUNNS, R. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany.**, v. 115, p. 419-431, 2015. Doi:10.1093/aob/mcu217.

FOYER, C.H., SHIGEOKA, S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions in order to enhance photosynthesis. **Plant Physiology**, v.155, p. 93-100, 2010.

FOYER, C.H. (2015) Redox homeostasis: opening up ascorbate transport. *Nat Plants* 1: 14012.

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

FOYER, C.H., NOCTOR, G. Stress-related redox signaling: what's in pROSpecT? **Plant Cell Environ.**, v. 39, p. 951-964, 2016.

FOYER, C.H., NOCTOR, G., BUCHANAN, B., DIETZ, K.J., PFANNSCHMIDT, T. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. **Antioxidants & Redox Signaling.**, v. 11, p. 861-905, 2009.

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, R. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. **New Phytologist.**, v. 146, p. 359-388, 2000.

GALMÈS, J., ARANJUELO, I., MEDRANO, H., FLEXAS, J. Variation in Rubisco content and activity under variable climatic factors. **Photosynthesis Research.**, v.117, p.73-90, 2013.

GILROY, S., BIALASEK, M., SUZUKI, N., GORECKA, M., DEVIREDDY, A., KARPINSKI, S. AND MITTLER, R. (2016) ROS, calcium and electric signals: key mediators of rapid systemic signaling in plants. *Plant Physiol.* 171, 1606–1615

- GILROY, S., SUZUKI, N., MILLER, G., CHOI, W.G., TOYOTA, M., DEVIREDDY, A.R., MITTLER, R. A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. **Trends Plant Sci.**, v. 19, p. 623-630, 2014.
- GONG, H.; BLACKMORE, D. H.; CLINGELEFFER, P. R.; SYKES, S. R.; JHA, D.; TESTER, M.; WALKER, R. R. Contrast in chloride exclusion between two grapevine genotypes and its variation in their hybrid progeny. **J. Exp. Bot.**, v.62, p. 989-999, 2011.
- GRANGEIRO, L.C., LEÃO, P.C.S., SOARES, J.M. Caracterização fenológica e produtiva da variedade de uva superior seedless cultivada no vale do são Francisco. **Rev. Bras. Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 552-554, 2002.
- HOGARTH, P.J., 2015. The Biology of Mangroves and Seagrasses.
- HU, L., LI, H., PANG, H., FU, J. Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance. **J Plant Physiol.**, v. 169, p. 146-156, 2012.
- JACOBY, R.P., TAYLOR, N.L., MILLAR, A.H. The role of mitochondrial respiration in salinity tolerance. **Trends in Plant Science.**, v. 16, p.614-623, 2011. Doi:10.1016/j.tplants.2011.08.002 .
- KRASENSKY, J., JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **J. Exp. Bot.**, v. 63, p.1593-1608, 2012.
- KUHN, N., GUAN, L., DAI, Z. W., WU, B. H., LAUVERGEAT, V., GOMÈS, E., et al. Berry ripening: recently heard through the grapevine. **J. Exp. Bot.**; 2013, v.65, p. 4543-4559. doi: 10.1093/jxb/ert395.
- 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, 2015; p. 9-38.
- LAURENSEN, S., BOLAN, N. S., SMITH, E., AND MCCARTHY, M. Review: use of recycled wastewater for irrigating grapevines. **Aus. J. Grape Wine Res.**, v. 18, p.1-10, 2012. Doi: 10.1111/j.1755-0238.2011.00170.x.
- LIU, Y.J., ZHAO, Z.G., SI, J., DI, C.X., HAN, J., NA, L.Z. Brassinosteroids alleviate chilling-induced oxidative damage by enhancing antioxidant defense system in suspension cultured cells of *Chorispora bungeana*. **Plant Growth Regul.**; 2009, v. 59, p. 207-214.
- LUND, S.T., BOHLMANN, J. The molecular basis for wine grape quality—a volatile subject. **Science.**, v. 311, p. 804-805, 2006. Doi: 10.1126/science.1118962
- MAAS, E.V.; HOFFMANN, G.J. Salt crop tolerance – Current assessment. **J. Irrig. Drain. Div.**, v. 6, p. 115-134, 1977.

- MIGNOLET-SPRUYT, L., XU, E., IDANHEIMO, N., HOEBERICHTS, F.A., MUHLENBOCK, P., BROSCHE, M., VAN BREUSEGEM, F., KANGASJARVI, J. Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. **J. Exp. Bot.**, v. 67, 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.
- MITTLER, R., BLUMWALD, E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. **Annual Review of Plant Biology.**, v. 61, p. 443-462, 2010.
- MITTLER, R., VANDERAUWERA, S., GOLLERY, M., VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science.**, v. 9, p. 490-498, 2004.
- MITTLER R, VANDERAUWERA S, SUZUKI N, MILLER G, TOGNETTI VB, VANDEPOELE K, GOLLERY M, SHULAEV V, VAN BREUSEGEM F. ROS signaling: the new wave? **Trends in Plant Science**, v. 16, p. 300-309, 2011.
- MITTLER, R., Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Sci.**, v. 7, p. 405-410, 2002.
- MUNNS, R., GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops – what is the cost? **New Phytologist** v. 208, p. 668-673, 2015. doi:10.1111/nph.13519.
- MUNNS, R., JAMES, R.A., XU, B., ATHMAN, A, CONN, S.J et al. Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene. **Nat Biotechnol.**, v. 30, p. 360-364, 2012. doi:10.1038/nbt.2120
- MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology.**, v. 59, p. 651-681, 2008.
- MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytol.**, v. 167, p. 645-663, 2005.
- MUNNS, R., JAMES, R.A., LÉ AUCHLI, A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. **J. Exp. Bot.**, v. 57, p. 1025-1043, 2006.
- NAGARAJAH, S., 1992. Soil toxicity in Sunraysia vineyards. *Aus. Grapegrower Winemaker* 344, 11–14. P
- NISHIMURA, T., UNO, C., IDO, K., NAGAO, R., NOGUCHI, T., SATO, F., IFUKU, K. Identification of the basic amino acid residues on the PsbP protein involved in the electrostatic interaction with photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta.**, v. 1837, p. 1447-1453, 2014.

- NIU, M., XIE, J., SUN J., KONG, Q., NAWAZ, M.A., BIE, Z. A shoot based Na⁺ tolerance mechanism observed in pumpkin - An important consideration for screening salt tolerant rootstocks. **Scientia Horticulturae.**, v. 218, p. 38-47, 2017.
- NOCTOR, G., MHAMDI, A., FOYER, C.H. The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. **Plant Physiology.**, v.164, p. 1636-1648, 2014.
- NOURIA, H., BORUJENI, S.C., NIROLA, R., HASSANLI, A., BEECHAM, S., ALAGHMAND, S., SAINT, C., MULCAHY, D. Application of green remediation on soil salinity treatment: A review on halophytoremediation. **Process Safety and Environmental Protection.**, v. 107, p. 94-107, 2017.
- OIV - INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE. State of the vitiviculture World Market, May 2014. Disponível em: <http://www.oiv.int/>. Acesso em 17 de set. 2017.
- PARIDA, A.K., DAS, A.B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxic Environ Safety.**, v. 60, p. 324-349, 2005.
- PENELLA, C., NEBAUER, S.G., LÓPEZ-GALARZA, S., QUIÑONES, A., BAUTISTA, A.S., CALATAYUD, A. Grafting pepper onto tolerant rootstocks: An environmental-friendly technique overcome water and salt stress. **Scientia Horticulturae**, 2017; v. 226, p. 33-41.
- PRESTON, C., CRITCHLEY, C. Differential effects of K⁺ and Na⁺ on oxygen evolution activity of photosynthetic membranes from two halophytes and spinach. **Functional Plant Biology.**, v. 13, p. 491-498, 1986.
- PRESTON, C., PACE, R. The S-state dependence of Cl⁻ binding to plant Photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta.**, v. 810, p. 388-391, 1985.
- ROY, S.J., HUANG, W., WANG, X.J., EVRARD, A., SCHMOECKEL, S.M., ZAFAR, Z.U., TESTER, M. A novel protein kinase involved in Na⁺ exclusion revealed from positional cloning. **Plant, Cell & Environment.**, v. 36, p. 553-568, 2013.
- ROY, S.J., NEGRAO, S., TESTER, M. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in Biotechnology.**, v. 26, p. 115-124, 2014.
- SANTOS, J., AL-AZZAWI, M., ARONSON, J., FLOWERS, T.J. Halophta database of salt-tolerant plants: helping put halophytes to work. **Plant & Cell Physiology.**, v.57, p. 10, 2016.
- SASTRE-CONDE, I., CARMEN LOBO, M., ICELA BELTRÁN-HERNÁNDEZ, R., POGGI-VARALDO, H.M. Remediation of saline soils by a two-step process: washing and amendment with sludge. **Geoderma** 247–248, p. 140–150, 2015.

SHABALA, S. Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. **Annals of Botany**, v. 112, p. 1209-1221, 2013. doi:10.1093/aob/mct205.

SHABALA, S., POTTOSIN, I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. **Physiologia Plantarum** v. 151, p. 257-279, 2014. doi:10.1111/ppl.12165.

SHAHBAZ, M., NOREEN, N., Perveen, S. Triaccontanol modulates photosynthesis and osmoprotectants in canola (*Brassica napus* L.) under saline stress. **J. Plant Interac.**, v. 8, p. 350-359, 2013.

SHINOZAKI, K., YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 221-227, 2007.

SILVA, E.N., FERREIRA-SILVA, S.L., FONTENELE, A.V. RIBEIRO, R.V., VIÉGAS, R.A., SILVEIRA, J.A.G. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. - **J. Plant Physiol.**, v. 167, p. 1157-1164, 2010.

SILVA, J.R., PATTERSON, A.E., RODRIGUES, W.P., CAMPOSTRINI, E., GRIFFIN, K.L. Photosynthetic acclimation to elevated CO₂ combined with partial rootzone drying results in improved water use efficiency, drought tolerance and leaf carbon balance of grapevines (*Vitis labrusca*), **Environmental and Experimental Botany**, 2017; v.134, p. 82-95.

SOUTHEY, J.M., JOOSTE, J.H., 1991. The effect of grapevine rootstock on the performance of *Vitis vinifera* (cv Colombard) on a relatively saline soil. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 12, 32–41.

SUZUKI, N., SEJIMA, H., TAM, R., SCHLAUCH, K., MITTLER, R. Identification of the MBF1 heat-response regulon of *Arabidopsis thaliana*. **Plant J.**, v. 66, p. 844-851, 2011.

SUZUKI, N., DEVIREDDY A.R., INUPAKUTIKA, M. A., BAXTER A., MILLER, G., SONG, L., SHULAEV, E., AZAD, R., SHULAEV, V., MITTLER, R. Ultra-fast alterations in mRNA levels uncover multiple players in light stress acclimation in plants. **The Plant Journal**, v. 84, p. 760-772, 2015. doi: 10.1111/tpj.13039.

SUZUKI, N., BASSIL, E., HAMILTON, J.S. et al. ABA is required for plant acclimation to a combination of salt and heat stress. **PLoS ONE**, v.11, p.147-625, 2016.

STEVENS, R.M., HARVEY, G., 1995. Effect of waterlogging, rootstock and salinity on Na, Cl and K concentrations of the leaf and root and shoot growth of Sultana grapevines. *Aus. J. Agric. Res.* 46, 541–551.

SZABOLCS I. 1989. Salt-Affected Soils. Boca Raton, FL: CRC Press 125.

- TAKAHASHI, S.; BADGER, M. R. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. **Trends in Plant Science**, v. 16, p. 53-60, 2011.
- TARCHOUNE, I., SGHERRI, G., IZZO, LACHAAL, T.M., OUERGHI, Z., NAVARI-IZZO, F. Antioxidative responses of *Ocimum basilicum* to sodium chloride or sodium sulphate salinization. **Plant Physiol. Biochem.**, v. 48, p. 772-777, 2010.
- THITISAKSAKUL, M., TANANUWONG, K., SHOEMAKER, C.F., CHUN, A., TANADUL, O.U.M., LABAVITCH, J.M., BECKLES, D.M., 2015. Effects of timing and severity of salinity stress on rice (*Oryza sativa* L.) yield, grain composition, and starch functionality. **J. Agric. Food Chem.** 63 (8), 2296–2304.
- TIAN, S., WANG, X., LI, P., WANG, H., JI, H., XIE, J., QIU, Q., SHEN, D. AND DONG, H. Plant aquaporin AtPIP1;4 links apoplastic H₂O₂ induction to disease immunity pathways. **Plant Physiol.**, v.171, p. 1635-1650, 2016.
- TRIPATHY, B.C., OELMULLER, R. Reactive oxygen species generation and signalling in plants. **Plant Signaling & Behavior.**, v. 7, p. 1621-1633, 2012.
- VAAHTERA, L., BROSCHE, M., WRZACZEK, M., KANGASJARVI, J. Specificity in ROS signaling and transcript signatures. **Antioxid. Redox Signal.**, v. 21, p. 1422-1441, 2014.
- WALKER, R.R., BLACKMORE, D.H, GONG, H., HENDERSON, S.W., GILLIHAM, M and WALKER, A.R. Analysis of the salt exclusion phenotype in rooted leaves of grapevine (*Vitis* spp). **Australian journal of grape and vine research**. DOI: 10.1111/ajgw.12334, 2018.
- WALKER, B.J., STRAND, D.D., KRAMER, D.M., COUSINS, A.B. The response of cyclic electron flow around photosystem I to changes in photorespiration and nitrate assimilation. **Plant Physiology**, v. 165, p. 453-462, 2014.
- WALKER, R.R., BLACKMORE, D.H., CLINGELEFFER, P.R, CORRELL, R.L. Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana) 2. Ion concentrations in leaves and juice. **Australian Journal of Grape and Wine Research.**, v. 10, p. 90-99, 2004. doi:10.1111/j.1755- 0238.2004.tb00011.x
- WANG, Y., LI, L., CUI, W., XU, S., SHEN, W., WANG, R. Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. **Plant Soil.**, v. 351, p. 107-119, 2012.
- YAMAGUCHI, T., BLUMWALD, E. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. **Trends Plant Sci.**, v. 10, p. 615-620, 2005.
- YENSEN, N.P., BIEL, K.Y. Soil remediation via salt-conduction and the hypotheses of halosynthesis and photoprotection ecophysiology of high salinity tolerant plants. In: KhanMA,Weber DJ (eds), Tasks for vegetation science 34. **Springer Netherlands**, v. 40, p. 313-344, 2006. doi:10.1007/1-4020-4018-0_21.

YOSHIDA, T., MOGAMI, J., YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. ABA-dependent and ABA- independent signaling in response to osmotic stress in plants. **Curr Op Plant Biol.**, v. 21, p. 133-139, 2014.

ZHOU, B.Y., GUO, Z.F., LIU, Z.L. Effects of abscisic acid on antioxidant systems of *Stylosanthes guianensis* (Aublet) Sw. under chilling stress. **Crop Sci**; 2005, v. 45, p. 599-605.

**CAPITULO II: MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE RESISTÊNCIA A
SALINIDADE CONFERIDOS PELO PORTA-ENXERTO EM MUDAS
ENXERTADAS DE VIDEIRA**

1. INTRODUÇÃO

A salinidade traz diversos problemas para agricultura, sendo que a maioria das plantas cultivadas são sensíveis ou moderadamente tolerantes a esse estresse, como por exemplo, as Videiras (*Vitis Vinifera*). Essa espécie produz cerca de 74 milhões de toneladas de uva em todo o mundo (FAO, 2014), podendo ter sua produção reduzida com os efeitos da salinidade (MOHAMMADKHANI et al., 2014). Estudo aponta, que cerca de 1 bilhão de hectares são afetados por sais (WICKE et al., 2011) e até 2050, poderá abranger 50% das terras agricultáveis (JAMIL et al., 2011).

O excesso de sais no solo, especificamente o sódio (Na^+) e cloreto (Cl^-), afeta o desenvolvimento das plantas, a partir de dois efeitos distintos: o osmótico e o iônico (MUNNS, 2008). Juntos, causam desbalanço nutricional e diversas alterações moleculares, bioquímicas, fisiológicas e morfológicas nas plantas (ELLOUZI et al., 2014). Fisiologicamente, a salinidade pode ser considerada um fator complexo, entre os distúrbios que esse estresse causa os fisiológicos geralmente são as primeiras respostas, tais como, a redução na condutância estomática e fotossíntese (PRIOR et al., 1992, WALKER et al., 1997, MEGGIO et al., 2014, PENELLA et al., 2014, 2015, 2016). Associado a esses distúrbios, o estresse salino pode levar ao aumento de produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), tanto pela fotossíntese como na fotorrespiração e na respiração (SHARMA et al., 2013, PENELLA et al., 2014, 2014b, 2015, 2016).

Durante anos as técnicas agronômicas são empregadas para a recuperação de solos afetados por sais, envolvendo manejos adequados de irrigação e drenagem, projetos que são considerados de custo muito elevado (QIN et al., 2016). Por isso, programas de melhoramento passaram vislumbrar o desenvolvimento de culturas mais tolerantes ao sal, que possibilitasse a produção de rendimento viável mesmo em condições desfavoráveis, como o caso da salinidade (CUARTERO et al., 2006; INOSTROZA-BLANCHETEAU et al., 2017; SEQUERA-MUTIOZABA et al 2017). No entanto, essa ainda é uma tarefa difícil, devido à natureza geneticamente complexa dessa tolerância ao estresse (ASHRAF; FOOLAD, 2007, SEQUERA-MUTIOZABA et al 2017).

Uma maneira favorável para evitar ou reduzir a perda do rendimento das culturas é o uso de enxertos combinados com o porta-enxerto capazes de reduzir o efeito negativo do estresse (PENELLA et al., 2017). Essa técnica é utilizada, com cajueiro (*Anacardium occidentale*) (FERREIRA-SILVA et al. 2010), citros (SIMPSON et et al.,

2015), melão (*Cucumis melo* L.) (SARABI et al., 2017), videiras (*Vitis vinifera*) (WALKER et al., 2018) entre outras. O porta-enxerto influencia na expressão gênica, controlando diversas respostas metabólicas, com isso, levanta-se a hipótese de que o uso de porta-enxertos tolerante ao estresse salino aumenta a aclimação das variedades sensíveis a salinidade, por conferir um melhor equilíbrio iônico, resultando em uma melhor eficiência fotossintética.

Em videiras a maioria dos estudos envolvendo os impactos da salinidade sobre a cultura são relacionados ao rendimento e qualidade do componente de produção, como vinho, sucos, composição das bagas (AHMAD, 2016; CORSO et al., 2016; VRŠIČ et al., 2016; STEVENS et al., 2016; MIRA-ALVAROS et al., 2017). Os estudos relacionados aos distúrbios metabólicos induzidos pela salinidade sobre os processos fisiológicos ainda são escassos. Com isso, o objetivo do nosso trabalho foi avaliar o papel do porta-enxerto nos mecanismos fisiológicos envolvidos no equilíbrio iônico, eficiência fotossintética e proteção oxidativa em mudas de videiras expostas a salinidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e aplicação dos tratamentos

O estudo foi realizado por meio de dois experimentos, utilizando variedades de videira (*Vitis vinifera* L.) em fase de pré-enxertia (Experimento I) e de mudas enxertadas (Experimento II). As mudas foram fornecidas por viveiro comercial (Petromudas LTDA) e produzidas conforme as regras de certificação para a produção de sementes e mudas. Os experimentos com salinidade foram realizados em casa de vegetação na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Pernambuco, Brasil (07°59'31''S, 38°17'54''W), a 444 m acima do nível do mar, entre junho de 2016 e julho de 2017. As condições ambientais durante o experimento foram temperaturas médias de 24°C/36°C (mín e máx), umidade relativa 55%, densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 12 horas.

2.1.1 Experimento I: Crescimento e acumulação de Na^+ e K^+ em porta-enxertos de videira submetidos à salinidade

O estudo foi realizado com porta-enxertos de quatro variedades de videira na fase de pré-enxertia visando identificar genótipos contrastantes na resistência à salinidade, com base no crescimento e acumulação de Na^+ e K^+ . As mudas foram produzidas a partir estacas das variedades SO4, Paulsen, IAC 572 e IAC 313 enraizadas em sacos plásticos de 1 L contendo substrato com uma mistura de areia fina + barro vegetal na proporção 3/2. Até o estágio de 8-10 folhas (~30 dias) as mudas foram mantidas em condições de sombreamento (70%) e irrigação diariamente. Em seguida, as mudas foram transplantadas para vasos de 5L contendo areia e vermiculita (v/v) e irrigadas a cada dois dias com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) diluída 1/1, em condições de casa de vegetação (figura 6). Após crescidas por 30 dias nessas condições, foram expostas a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) dissolvido na solução nutritiva e aplicada a cada dois dias por 26 dias. Ao final do ensaio, as mudas foram coletadas, separadas em raízes, caules e folhas e determinada a massa fresca.



Figura 6 Porta-enxertos de videira crescendo em condições de casa de vegetação.

2.1.2 Experimento II: Efeito do porta-enxerto no crescimento, acúmulo de Na⁺ e K⁺, trocas gasosas e proteção oxidativa em mudas enxertadas

O estudo foi realizado para avaliar se as características genótípicas dos porta-enxertos, associadas com a resistência a salinidade, influenciam as respostas fisiológicas das mudas enxertadas crescendo em condições salina. As mudas enxertadas, pela técnica da borbulhia, da variedade BRS Vitória sobre os porta-enxertos SO4, Paulsen, IAC 572 e IAC 313 (combinações de enxerto/porta-enxertos; Vitória/SO4, Vitória/Paulsen, Vitória/IAC 572 e Vitória/IAC 313) em estágio de 8-10 folhas maduras, foram crescidas em vasos de 5 L contendo areia e vermiculita (v/v) e irrigadas a cada dois dias com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) diluída 1/1, em condições de casa de vegetação (figura 7). Após crescidas por 30 dias nessas condições, foram submetidas a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) na solução nutritiva aplicada diariamente durante 15 dias. Ao final do ensaio, foram realizadas as medidas de fotossíntese em resposta ao aumento de luminosidade e em seguida as plantas foram coletadas e separadas em raízes, caules e folhas.



Figura 7 Mudras de videira enxertadas crescendo em condições de casa de vegetação.

2.2. Medidas de trocas gasosas e atividade fotoquímica

Para o estudo da atividade fotossintética foram elaboradas curvas de luz para variáveis de trocas gasosas e de fluorescência da clorofila em folhas maduras ao final do tratamento salino, utilizando um sistema portátil de fotossíntese (IRGA, modelo LI-6400XT, LI-COR, EUA) acoplado com um fluorômetro. Os parâmetros de trocas gasosas de assimilação de CO₂ (P_N), condutância estomática (g_s) e concentração

intercelular de CO₂ (C_i) foram mensurados em resposta ao incremento da intensidade de luminosidade (0 a 2000 μmol m⁻² s⁻¹) na câmara de leitura do IRGA. A partir desses parâmetros foi estimada a eficiência de carboxilação instantânea pela relação P_N/C_i em respostas ao aumento da luz. Os parâmetros internos na câmara do IRGA durante as leituras foram para concentração de CO₂ de 380 μmol mol⁻¹ e temperatura de 28 °C e a quantidade de luz azul na câmara foi mantida em 10% da DFFF para maximizar a abertura estomática.

Os parâmetros de fluorescência foram mensurados em respostas a luminosidade e estimadas a eficiência quântica máxima do fotossistema II (PSII) [F_v/F_m = (F_m-F_o)/F_m], a eficiência quântica efetiva do PSII [ΔF/F_m' = (F_m'-F_s)/F_m'], o coeficiente de quenching fotoquímico foi calculado pela relação [qP = (F_m'-F_s)/(F_m'-F_o')] e a taxa aparente de transporte de elétrons do PSII pela relação [ETR = (ΔF/F_m' × PFD × 0.5 × 0.84)]. Para avaliar a ETR, 0,5 foi usada como a fração da energia de excitação atribuída ao PSII e 0,84 foi usada como a fração de luz absorvida pelas folhas.

2.3. Medidas dos conteúdos de sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e cloreto (Cl⁻)

Amostras dos tecidos de raízes, caules e folhas foram secos em estufa a 70°C por 5 dias e em seguida triturado em moinho para obtenção das farinhas. A extração para Na⁺ e K⁺ foi realizada a partir de amostras (100 mg) de farinhas em tubos, com tampas rosqueadas, contendo 10 ml de água ultrapura, as amostras foram colocadas em banho maria a 100 °C por 1 hora, conforme descrito por Maia et al. (2010). Os extratos foram filtrados e, realizadas leituras para Na⁺ e K⁺ em fotômetro de chama. Os conteúdos (Na⁺ e K⁺) foram estimados com base em curva padrão de NaCl e KCl e os resultados expressos em μmol g⁻¹ massa seca.

Para a extração do Cl⁻ foram utilizados 200 mg de farinhas em tubos, com tampas rosqueadas, contendo 15 ml de água ultrapura, as amostras foram colocadas em banho maria a 100 °C por 1 h, em seguida foram levados para um agitador, durante 3 horas. Após esse processo os extratos foram filtrados, completados o volume com água ultrapura para 25 ml e realizado a titulação do cloreto com nitrato de prata a 28 mM, utilizando o cromato de potássio a 5% como indicador.

2.4. Dano de membrana (vazamento de eletrólitos)

O grau de integridade das membranas foi estimado pelo vazamento de eletrólitos segundo Ferreira-Silva et al., (2008). Foram coletados dez discos foliares com diâmetro de 10 mm de cada repetição e estes colocados em tubos de ensaio com 10 mL de água deionizada e incubados em banho-maria à temperatura de 25 °C por 6 horas. Em seguida, foram realizadas leituras em condutivímetro para a determinação da condutividade elétrica (CE) no extrato, leitura inicial (L1). Em seguida, os discos foram incubados em banho maria em tubos vedados a 100 °C por 1 h e determinada a leitura de condutividade elétrica final (L2). O percentual de dano de membrana (%DM) foi estimado pela seguinte relação [%DM = (L1/L2) x 100].

2.5. Medida do conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para as medidas de substância reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) amostras de folhas liofilizadas (50 mg) foram maceradas em almofariz na presença de N₂ líquido, seguido da extração em solução de TCA (5%) por maceração por 5 min e centrifugação a 10.000 x g por 30 min a 4°C. A peroxidação de lipídios foi estimada pelo conteúdo de substância reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) conforme Heath e Packer (1968). Para a reação, alíquotas (0,5 mL) do sobrenadante foram adicionadas a 2,0 mL da solução TCA 20% e TBA 0,5% (p/v) e aquecido em banho-maria a 95°C em tubos hermeticamente fechados durante 1 hora. Em seguida, a reação foi interrompida em banho de gelo e realizadas leituras a 532 e 660 nm e após a subtração das leituras o teor de TBARS foi estimado usando o coeficiente de extinção de 155 mM⁻¹ cm⁻¹.

2.6. Extração de proteínas para ensaios enzimáticos

A extração de proteína foi realizada conforme Zimmermam et al., (2006), com modificações. Amostra de folhas liofilizadas (50 mg) foram maceradas em almofariz na presença de N₂ líquido seguido da extração em tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,5 contendo EDTA 1 mM, DDT 5 mM, PVPP 1% e PEG 2%. Para evitar/reduzir o escurecimento por oxidação do extrato proteico durante a após a extração, foi borbulhado CO₂ no tampão de extração e no extrato após a centrifugação durante 5 minutos . Para a extração das enzimas peroxidase de ascorbato foi adicionado ascorbato

1 mM ao tampão. Após a extração, o extrato foi centrifugado a 14.000 x g em temperatura de 4 °C durante 30 min, ao retirar o sobrenadante foi aplicado CO₂ nas amostras durante 1 minuto, assim como no tampão de extração, para evitar o escurecimento do extrato.

2.6.1. Atividade da dismutase de superóxido (SOD)

A atividade da dismutase de superóxido (SOD; EC: 1.15.1.1) foi determinada conforme o princípio de reação do método descrito por Gianopolitis e Ries (1977). Em tubos de ensaio revestidos por filme escuro para proteção da luz foram adicionados 1,600 ml de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8) contendo 13 mM de L-metionina, em seguida adicionou-se 200 µl de NBT 750 µM, 100 µl do extrato e 40 µl de riboflavina 2 mM. A reação foi iniciada com a transferência dos tubos sem o revestimento para câmara iluminada por lâmpada de 25 wats (25 µmol de fótons m⁻² s⁻¹), durante 6 minutos. A reação foi interrompida pelo desligamento da luz, em seguida os tubos foram rapidamente revestidos e realizadas leituras em espectrofotômetro a 540 nm. A atividade da enzima foi estimada com base na inibição do NBT e uma unidade de atividade (UA) foi considerada como a quantidade da enzima necessária para inibir 50% da sua redução (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971) e expressa em UA. g⁻¹ MS min⁻¹.

2.6.2. A atividade da peroxidase de ascorbato (APX)

A atividade da peroxidase de ascorbato (APX; EC: 1.11.1.1) foi determinada conforme método descrito por Nakano e Asada (1981), adicionando na cubeta 100 µl do extrato enzimático, em seguida adicionou-se 2,7 ml de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 6,0), contendo 0,5 mM de ácido ascórbico P. A. A reação foi iniciada pela adição de 200 µl de H₂O₂ a 30 mM ao meio de reação e acompanhada pelo decaimento da absorbância em 290 nm em espectrofotômetro durante 3 minutos, com leituras sucessivas em intervalos de 30 segundos. A atividade da APX foi estimada utilizando o coeficiente de extinção molar de 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹ para o ascorbato, em 290 nm, e expressa como µmol Asc g⁻¹ MF min⁻¹.

2.6.3. A atividade da peroxidase de fenóis (POX)

A atividade da peroxidase de fenóis (POX; EC: 1.11.1.7) foi determinada conforme metodologia descrita por Kar e Mishra (1976), transferindo para tubos de ensaio alíquotas de 100 µl contendo tampão fosfato de potássio 25 mM (pH 6,8), contendo 20 mM de ácido pirogálico e 20 mM de H₂O₂. A reação foi iniciada com a incubação da mistura em banho Maria a 30 C°, durante 5 minutos e interrompida pela adição de 500 µl de H₂SO₄ a 0,5%, em seguida foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 420 nm. A atividade da POX foi expressa em µ mol purpurogalina g⁻¹ MS min⁻¹.

2.7. Conteúdo de antioxidantes não enzimáticos

A extração foi realizada conforme Kampfenkel et al., (1995), com modificações. Amostras de folhas liofilizadas (50 mg) foram maceradas em almofariz na presença de N₂ líquido, seguido da extração em solução de TCA (6%) por maceração por 5 min e centrifugação a 10.000 x g por 30 min a 4°C. Em seguida foi coletado o sobrenadante.

Para o conteúdo de ascorbato reduzido (ASA), alíquotas de 100 µl do sobrenadante foram adicionadas ao meio de reação em tubos de ensaio contendo 100 µl de DTT 10 mM, 100 µl tampão fosfato de potássio (200 mM; pH 7,4), 100 µl NEM 0,5%, 100 µl água destilada, 500 µl TCA 10%, 400 µl H₃PO₄ 45%, 400 µl Bipuridil 4%, 200 µl FeCl₃ 3%, nessa ordem, conforme descrito por Kampfenkel et al., (1995). Após adicionar o FeCl₃ os tubos foram agitados, em seguida incubados a 42 °C durante 40 min. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 525 nm e o conteúdo de ascorbato foram estimados com base em curva padrão utilizando L⁻ ascorbato P. A.

Os conteúdos de glutatona das formas reduzida foram determinados conforme Griffith (1980). Para determinação da GSH alíquotas de 200 µl do sobrenadante foi adicionado em tubos de ensaio, em seguida foi adicionado 2,6 ml de tampão fosfato de sódio 150 mM pH 7,4, 200 µl de tampão fosfato de sódio (100 mM pH 6,8 + DTNB 6 mM). Em seguida os tubos foram agitados e incubados a 30 °C durante 10 min. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 412 nm e o os conteúdos de glutatona foram estimados com base em curva padrão a partir de GSS P. A.

2.8. Delineamento estatístico e análise dos dados

Os dois experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizados em dois arranjos fatoriais 4 x 3. O experimento I foi constituído por quatro porta-enxertos (SO4, Paulsen, IAC 572 e IAC 313) e três doses de NaCl (0, 40 e 80 mM) e o experimento II por quatro combinações de enxerto/porta-enxertos (Vit/SO4, Vit/Paulsen, Vit/IAC 572 e Vit/IAC 313) e três concentrações de NaCl (0, 40 e 80 mM). Os tratamentos foram representados por quatro repetições, onde cada repetição consistiu de um vaso com uma planta. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

3.1. Crescimento, acumulação de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ e dano de membranas em porta-enxertos de videira submetidos à salinidade

Os porta-enxertos de videira mostraram diferentes respostas no crescimento após os 26 dias de tratamento com NaCl (tabela 2). Os genótipos IAC 313 e IAC 572 tiveram um maior acúmulo de massa fresca em raízes, caules e folhas, do que os genótipos SO4 e Paulsen. De acordo com os resultados, a salinidade parece não interferir no crescimento da IAC 313, indicando certa tolerância desse genótipo a salinidade. Na concentração de NaCl a 40 mM, a redução na biomassa em raízes, caules e folhas chegou a 25% quando comparadas aos seus respectivos controles, com destaque para o genótipo IAC 572, que apresentou uma redução de 27,27% nas folhas. Nos tratamentos de 80 mM, a redução na biomassa variou entre 20 e 55%.

Tabela 2 Conteúdo de massa fresca de folhas, caules e raízes de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.

Porta-enxertos	NaCl (mM)	(g MF planta ⁻¹)			Parte aérea/raiz
		Raiz	Caule	Folha	
IAC 313	0	36,69±2,28aA	23,24±0,67 aA	26,63±1,9 aA	4,98±0,48 aA
	40	44,63±0,53aA	21,49±0,87 aA	23,85±0,0 aA	4,78±0,72 aA
	80	47,03±5,40aA	21,28±0,99 aA	25,01±0,3 aA	5,17±0,19 aA
IAC 572	0	46,56±15,80 aA	23,56±0,49 aA	28,61±3,9 aA	5,96±1,66 aA
	40	38,47±7,48 aAB	23,39±0,20 aA	20,81±0,5 aB	5,14±1,35 aA
	80	25,88±20,73 bB	18,16±1,80 bB	13,01±2,0 bC	3,15±0,33 bB
SO4	0	13,21 ±1,01 bA	8,53±1,56 bA	4,17±2,12 bA	2,21±0,53 bA
	40	12,71 ±0,70 bA	6,50±0,14 cAB	1,96±0,07 bA	1,77±0,30 bA
	80	9,92 ± 2,32 cA	5,31±0,33 dB	1,58±0,14 cA	1,69±0,59 bA
Paulsen	0	18,25 ±4,73 bA	9,92±0,84 bA	2,02±0,50 bA	1,87±0,12 bA
	40	15,36 ±1,05 bA	10,69±1,46 bA	3,99±0,00 bA	2,59±0,23 bA
	80	12,52 ±4,1 bCA	10,33±0,09 cA	2,72±0,00 cA	2,98±0,65 bA

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para o porta-enxerto, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

O aumento do nível de NaCl externo induziu acúmulos significativos de Na⁺ em todos os órgãos das plantas (tabela 3). Nas variedades IAC 313, IAC 572 e SO4, esse acúmulo foi mais acentuado nas raízes. Em relação ao caule e as folhas, pode-se observar uma resposta distinta entre os genótipos, enquanto que as IAC 572 e a IAC

313 acumularam uma maior concentração de Na⁺ nos caules do que em folhas. A SO4 e Paulsen, apresentaram uma resposta inversa, com maiores concentrações de Na⁺ nas folhas, apresentando valores em torno de 347,08; 325,08 μmol, respectivamente, enquanto que as IACs 313 e 572 acumularam apenas uma quantidade em torno de 84 μmol.

Tabela 3 Conteúdo de sódio em tecidos de folhas, caules e raízes de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.

Porta-enxertos	NaCl (mM)	(μmol g ⁻¹ MS)		
		Raiz	Caule	Folha
IAC 313	0	139,02±2,65 bC	102,66±3,67 aC	47,66±3,67 abB
	40	357,47±18,33 aB	177,21±11,20 bB	58,66±13,22 cAB
	80	443,02±25,24 abA	233,42±16,53 bA	83,10±16,53 bA
IAC 572	0	221,51±25,41 aC	94,10±10,58 aB	33,00±3,67 bB
	40	349,83±38,98 aB	193,10±5,60 abA	50,11±9,23 cB
	80	488,85±57,30 aA	207,76±27,52 bA	84,33±22,00 bA
SO4	0	113,05±7,00 bC	98,99±18,33 aC	83,10±2,12 bC
	40	250,54±2,65 bB	197,98±14,67 abB	158,88±7,63 bB
	80	417,05±9,17 bA	240,76±23,85 bA	347,08±9,23 aA
Paulsen	0	148,18± 25,24 bB	94,10±16,93 aC	58,66±3,67 abC
	40	313,17±38,97 aA	218,76±8,47 aB	223,65±29,33 aB
	80	314,70±16,09 cA	281,09±5,60 aA	325,08±31,18 bA

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para o porta-enxerto, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

O conteúdo de K⁺ em raízes e caules diminuiu à medida que os níveis de salinidade na solução nutritiva foram aumentados (tabela 4), porém em raízes a concentração do K⁺ só foi inferior a de Na⁺ nos tratamentos de NaCl a 80 mM, enquanto que em caule já se pode observar essa redução a 40 mM nas variedades SO4 e Paulsen. Em folhas, o conteúdo de K⁺ não foi alterado em resposta ao tempo de exposição à salinidade nos genótipos IAC 313 e IAC 572, enquanto que a SO4 e Paulsen, aumenta até o tratamento de 40 mM, mas apresentou uma queda brusca a 80 mM, chegando a uma concentração menor que a do Na⁺. Esses resultados indicam que os genótipos IAC 313 e IAC 572 apresentam tolerância à salinidade em concentrações próximas de 80 mM, enquanto que a SO4 e Paulsen são mais sensíveis, apresentando mudanças na absorção do Na⁺ e K⁺ a 40 mM.

Tabela 4 Conteúdo de potássio em tecidos de folhas, caules e raízes de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.

Porta-enxerto	NaCl (mM)	(μmol g ⁻¹ MS)		
		Raiz	Caule	Folha
IAC 313	0	447,9±13,71 abA	320,54 ± 5,59 aA	321,76 ± 10,97 aB
	40	402,19±4,57 aA	268,13 ± 18,04 aB	330,29 ± 27,44 cB
	80	399,15±20,61 aA	218,16 ± 17,28 aB	397,32 ± 5,59 aA
IAC 572	0	482,94±26,39 aA	305,91 ± 42,06 aA	372,94 ± 29,25 aA
	40	414,38±34,30 aB	243,75 ± 42,06 aB	408,29 ± 21,11 aA
	80	391,53±61,71 aB	215,72 ± 54,84 aB	421,69 ± 23,79 aA
SO4	0	452,47±36,28 abA	170,63 ± 23,79 bA	375,38 ± 45,72 aA
	40	414,38±46,68 aA	154,78 ± 21,42 bB	394,88 ± 7,31 abA
	80	290,98±13,96 bB	149,91 ± 14,63 bB	255,94 ± 18,28bB
Paulsen	0	391,53±16,05 bA	156,00 ± 16,49 bA	325,41 ± 47,53 aAB
	40	319,93±13,71 bB	146,25 ± 25,59 bB	347,35 ± 3,66 bcA
	80	274,22±9,14 bB	134,06 ± 5,59 bC	283,97 ± 2,11 bB

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para o porta-enxerto, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A proporção na relação K⁺/Na⁺ foi maior nas folhas que nas raízes e caules (tabela 5). Com a aplicação dos tratamentos salinos, ocorreu uma redução em todos os órgãos (folhas, caules e raízes) e porta-enxertos estudados. Em raízes o genótipo que apresentou a maior relação no nível de salinidade mais elevado (80mM) foi o IAC 313 e em caules e folhas o IAC 313 novamente se sobressai as outras, juntamente com IAC 572. Esses resultados indicam que a redução na relação K⁺/Na⁺ ocorre como resultado da acumulação excessiva de Na⁺ no tecido vegetal, e a redução aumentada de K⁺ na célula.

Tabela 5 Relação K⁺/Na⁺ em tecidos de folhas, caules e raízes em plantas de quatro porta-enxerto de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0,40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.

Porta-enxerto	NaCl (mM)	(Relação K ⁺ /Na ⁺)		
		Raiz	Caule	Folha
IAC 313	0	3,22±0,117 bA	3,12±0,109 aA	6,782±0,686 bA
	40	1,12±0,053 abB	1,51±0,060 aB	5,790±1,088 bA
	80	0,90±0,008 aB	0,94±0,137 aC	4,920±1,062 aA
IAC 572	0	2,20±0,609 cA	3,27±0,584 aA	11,360±1,055 aA
	40	1,19±0,196 abB	1,26±0,207 abB	8,358±1,798 aB
	80	0,80±0,106 aB	1,02±0,129 aB	5,261±1,499 aC
SO4	0	4,00±0,314 aA	1,78±0,538 bA	4,657±0,657 cA
	40	1,65±0,198 aB	0,78±0,072 bB	2,488±0,093 cB
	80	0,69±0,019 aC	0,63±0,124 aB	0,738±0,062 bB
Paulsen	0	2,71±0,609 bcA	1,70±0,430 bA	5,580±1,068 bcA
	40	1,02±0,084 bB	0,66±0,096 bB	1,57±0,198 cB
	80	0,87±0,067 aB	0,47±0,029 aB	0,879±0,079 bB

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para o porta-enxerto, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os dados para o conteúdo de Cl⁻ em porta-enxertos de videiras submetidas ao tratamento salino, mostram o aumento um significativo do Cl⁻ nos tratamentos de 40 e 80 mM de NaCl, quando comparados aos controles, porém nota-se que o acúmulo mais expressivo ocorre nas raízes (tabela 5). No entanto, pode-se observar uma diferença entre os genótipos no tratamento de 80 mM, enquanto que a SO4 e Paulsen acumularam cerca de 500 e 578,7 μmol de Cl⁻, respectivamente, a IAC 313 acumulou 1318,8 e a IAC 572 1101,3 μmol. Em caules, o acúmulo de Cl⁻ foi inferior ao da raiz, porém também mostrou um contraste entre as variedades, onde a IAC 313 apresentou um valor de 242,7 e a IAC 572 298,7 μmol e a SO4 e Paulsen apresentaram valores superiores de aproximadamente 406,0 e 513,3 μmol, respectivamente. Em folhas, a variedade IAC 313 em 40 mM apresentou um conteúdo de cloreto igual ao do caule, mas em 80 mM foi superior. As demais variedades apresentaram um conteúdo de Cl⁻ no tratamento de 40 mM superior ao do caule, porém em 80 mM, a SO4 e Paulsen mostraram valores inferiores.

Tabela 6 Conteúdo de cloreto em tecidos de folhas, caules e raízes de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação.

Porta-enxertos	NaCl (mM)	(μmol g ⁻¹ MS)		
		Raiz	Caule	Folha
IAC 313	0	406,0±56,0 aC	46,7±16,16 bC	42,0±14,0 aB
	40	905,3±16,16 aB	130,7±8,08 bB	130,7±35,23 cB
	80	1318,8±10,09 aA	242,7±21,38 cA	364,0±28,0 bcA
IAC 572	0	462,0±42,0 aB	149,3±8,08 aB	46,7±8,08 aB
	40	994,0±140,0 aA	261,3±8,08 aA	462,0±28,0 aA
	80	1101,3±49,16 bA	336,0±70,0 bA	546,0±168,0 aA
SO4	0	177,3±64,66 bC	51,3±8,08 bC	42,0±28,0 aB
	40	336,5±0,808 bB	140,0±14,0 bB	294,0±0,00 bA
	80	541,3±63,12 cA	406,0±98,0 bA	326,7±21,38 cA
Paulsen	0	168,0±42,0 bC	60,7±16,16 bC	18,7±8,08 aC
	40	415,3±49,16 bB	294,0±14,00 aB	359,3±8,08 abB
	80	578,7±29,14 cA	513,3±35,23 aA	471,3±35,23 abA

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para o porta-enxerto, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

O aumento na concentração de NaCl levou a um aumento nos índices de danos à membrana, dado pelo vazamento de eletrólitos (figura 8A) e peroxidação lipídica a partir da acumulação de TBARS (figura 8B), que aumentaram continuamente com a aplicação dos tratamentos salinos. Entre os genótipos estudados, o IAC 313 apresentou o menor valor no vazamento de eletrólitos e Paulsen o mais elevado, quando comparados apresentam uma diferença de 51,72% nos tratamentos de NaCl a 80 mM. O IAC 572 e o SO4 apresentaram valores intermediários, com um aumento significativo no tratamento de 80 mM, quando comparados ao controle. O conteúdo de TBARS foi maior na variedade IAC 313 no tratamento de 80 mM, enquanto que o tratamento de 40 mM não diferiu do controle. Esses resultados indicam que o dano de membradas pode está associado ao efeito iônico. Além disso, nossos dados mostram um indicativo de um possível contraste em relação à tolerância e sensibilidade desses porta-enxertos a salinidade, indicando que aquelas IAC 313 e IAC 572 foram relativamente mais resistentes se comparados aos SO4 e Paulsen com base na capacidade de crescimento associada a menor acúmulo de Na⁺ e melhor relação K⁺/Na⁺.

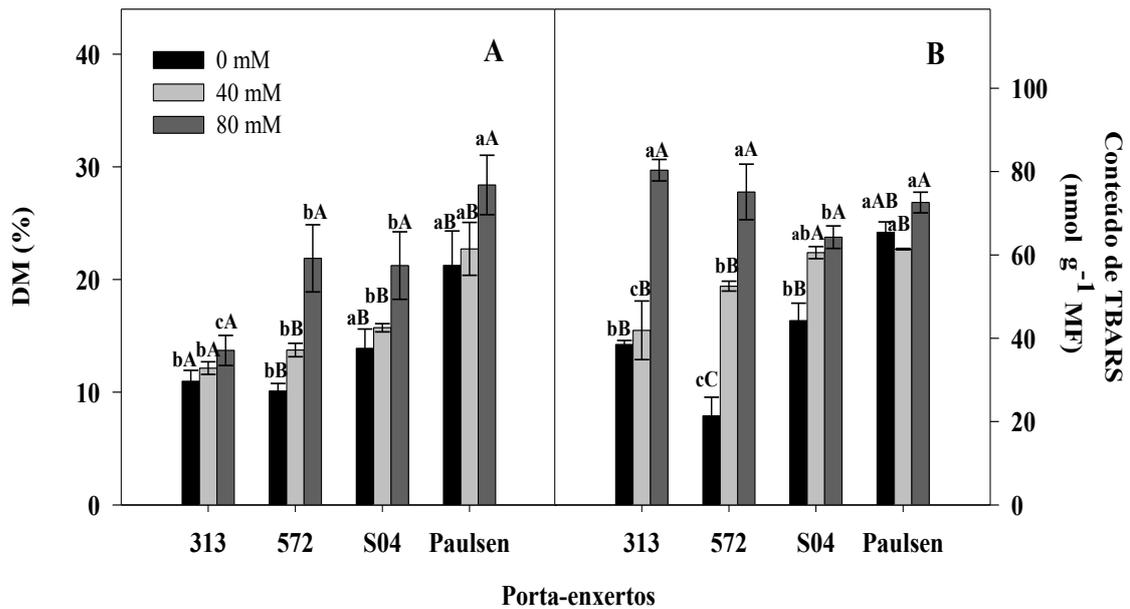


Figura 8 Dano de membrana com base no extravasamento de eletrólitos (A) e conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (B) em folha de plantas de quatro porta-enxertos de videira (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) submetidas à salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) durante 26 dias em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre os porta-enxertos e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.2 Efeito do porta-enxerto no crescimento, translocação de Na^+ , K^+ e Cl^- e peroxidação lipídica (TBARS) em mudas enxertadas

Nesse estudo, utilizamos os porta-enxertos avaliados no primeiro experimento (IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen) enxertados com enxertos da variedade BRS Vitória, submetidos aos tratamentos de NaCl a 0, 40 e 80 mM. Esse estudo foi realizado visando avaliar se as características apresentada pelos porta-enxerto sob salinidade são expressas nas mudas enxertadas. Os resultados obtidos mostram que a salinidade reduziu o crescimento de todas as combinações (tabela 7).

Tabela 7 Conteúdo de massa fresca em raízes, caules e folhas em plantas de mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 572, IAC 313, SO4 e Paulsen submetidos a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação.

Combinações	NaCl (mM)	(g MF planta ⁻¹)			Relação parte aerea/raiz
		Raiz	Caule	Folha	
Vit/313	0	19,53±2,9 aA	32,96±1,6 aA	9,6±1,0 aA	11,37±0,9 aA
	40	14,53±0,9 aB	26,50±3,2 aA	6,3±0,1 aB	8,19±0,2 abB
	80	13,50±2,3 aB	17,29±2,1 aB	5,4±0,2 aC	6,72±0,3 aB
Vit/572	0	16,73±0,1 aA	22,3±1,1 acA	9,1±1,3 aA	10,78±1,0 abA
	40	15,59±0,9 aA	21,0±3,7 abA	7,4±1,1 aB	8,61±0,2 aB
	80	14,27±0,4 aA	16,48±0,3 aA	4,7±0,7 aC	5,92±0,7 abC
Vit/SO4	0	18,02±1,9 aA	17,86±2,7 cA	8,4±0,2 bA	9,48±0,4 bA
	40	14±1,4 aAB	16,46±0,6 bA	5,5±0,3 bB	6,69±0,4 bB
	80	13,38±1,2 aB	16,28±1,6 aA	3,9±0,9 bC	5,13±0,8 abC
Vit/Paulsen	0	20,78±2,7 aA	26,3±5,1 abA	5,9±0,8 cA	7,21±0,7cA
	40	12,64±0,0 aB	21±8,1abAB	5,0±0,0 cB	6,75±0,6 bA
	80	10,37±2,8 aB	15,86±0,4 aB	3,3±1,4 cC	4,91±1,2 bB

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para a enxertia, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Em plantas enxertadas, assim como em porta-enxertos, o acúmulo de Na⁺ aumentou progressivamente em todos os órgãos sob salinidade (40 e 80 mM), com maiores concentrações nas raízes (tabela 8). Em folhas, até 40 mM as combinações Vit/IAC 313 e Vit/IAC 572 acumularam concentrações em torno de 37,25 µmol e 43,82 µmol, respectivamente, enquanto que a Vit/SO4 e a Vit/Paulsen com o mesmo tratamento acumularam uma concentração superior a 200 µmol.

Tabela 8 Conteúdo de sódio em raízes, caules e folhas de mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen submetidos a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação.

Combinações	NaCl (mM)	(μmol kg ⁻¹ MS)		
		Raiz	Caule	Folha
Vit/313	0	324,02±107,3 aB	92,17±4,61 aC	26,29±6,57 aB
	40	690,11±170,4 aA	193,55±9,22 cB	37,25±3,79 bB
	80	871,06±12,6 aA	322,58±27,65 bA	170,89±32,86 cA
Vit/572	0	265,10±101 aC	75,27± 11,6 aC	24,09±3,19 aB
	40	573,33±25,25 cB	170,50± 27,6 cB	43,81± 3,19 bB
	80	782,69± 189 aA	267,28± 16,6 bA	247,57±36,2 cA
Vit/SO4	0	231,44±56,9 aB	84,49±7,04 aB	32,86±6,57 aC
	40	681,70±63,1 aA	244,24±20,09 aA	225,67±3,79 aB
	80	807,94±37,87 aA	274,96±7,04 bA	306,73±16,54 bA
Vit/Paulsen	0	273,52±19,28 aB	69,12±4,61 aC	21,91±3,79 aC
	40	492,34±50,5 aA	225,81±27,6 abB	232,24±20,08 aB
	80	972,05±25,25 aA	302,61±20,7 abA	453,52±6,57 aA

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para a enxertia, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

O Conteúdo de K⁺, em raízes e caules foi reduzido gradativamente com o aumento na concentração do tratamento salino, para todas as combinações (tabela 9). Em folhas, não houve redução nas combinações Vit/IAC 313 e Vit/IAC 572, enquanto que na Vit/SO4 e Vit/Paulsen, ocorre um aumento até 40 mM de NaCl, em 80 mM há uma redução de 17,53% e 35,9%, respectivamente, em relação aos seus controles.

Tabela 9 Conteúdo de potássio em raízes, caules e folhas de mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen submetidos a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação.

Combinações	NaCl (mM)	(μmol kg ⁻¹ MS)		
		Raiz	Caule	Folha
Vit/313	0	878,98±12,74 cA	223,81±4,48 abA	313,09±17,25 cB
	40	696,39±133,81 bB	176,07±5,17 abB	345,09±30,92 cAB
	80	441,61±44,74 aC	174,57±17,9 abC	404,51±13,71 bA
Vit/572	0	963,90±7,35 abA	258,13±15,72 aA	418,21±61,70 bC
	40	785,56±19,46 bB	190,99±2,58 aB	514,20±6,86 bB
	80	505,30±7,35 aC	173,08±11,27 aC	621,61±58,31 aB
Vit/SO4	0	866,24±89,17 bcA	231,27±29,12 aA	573,62±24,08 aA
	40	823,78±19,46 bB	202,92±2,58 aB	601,04±3,96 aA
	80	492,57±19,46 aC	180,54±6,84 aC	473,07±6,86 bB
Vit/Paulsen	0	976,65±57,44 aA	217,85±15,72 bA	445,64±61,70 bA
	40	942,68±50,96 aB	177,56±6,84 bB	509,63±24,08 bA
	80	331,21±25,48 bC	153,69±20,18 bC	285,67±10,47 cB

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para a enxertia, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Em plantas enxertadas, a maior proporção da relação K⁺/Na⁺ também ocorreu em folhas, porém foi também onde ocorreu a maior redução após a aplicação dos tratamentos salinos, na combinação Vit/Paulsen essa relação K⁺/Na⁺ diminuiu cerca de 97% quando comparado ao controle (tabela 10). Em caules e raízes na presença de sal, a combinação Vit/Paulsen mais um vez apresentou a menor relação.

Tabela 10 Relação K^+/Na^+ em raízes, caules e folhas de mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen submetidos a concentrações crescente de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação.

Combinações	NaCl (mM)	Relação K^+/Na^+		
		Raiz	Caule	Folha
Vit/313	0	2,931±1,004 aA	2,433±0,150 cA	12,320±2,485 bA
	40	1,019±0,060 aB	0,910±0,024 aB	9,388±1,840 aA
	80	0,508±0,059 aC	0,547±0,103 aB	2,417±0,392 aB
Vit/572	0	4,04±1,67 aA	3,49±0,66 aA	17,67±3,85 abA
	40	1,32±0,08 aB	1,14±0,19 aB	11,78±0,93 aB
	80	0,67±0,15 aC	0,651±0,08 aB	2,52±0,21 aC
Vit/SO4	0	3,871±0,895 aA	2,756±0,486 abA	17,872±3,139 aA
	40	1,216±0,131 aB	0,835±0,070 aB	2,664±0,062 bB
	80	0,610±0,032 aC	0,657±0,022 aB	1,546±0,100 aB
Vit/Paulsen	0	3,573±0,053 aA	3,166±0,377 bcA	20,978±5,738 aA
	40	1,924±0,163 aB	0,795±0,116 aB	2,202±0,150 bB
	80	0,341±0,031 aC	0,508±0,058 aB	0,630±0,022 aB

Os valores representam médias de três repetições \pm desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para a enxertia, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em mudas enxertada o acúmulo de cloreto manteve praticamente o mesmo comportamento das mudas não enxertadas, apresentando um maior acúmulo nas raízes, exceto para a combinação Vitória/SO4 que apresentou um maior acúmulo nas folhas (tabela 11). Porém, em raízes, enquanto que os porta-enxertos IAC 313 e IAC 572 acumularam mais de 1.000 μmol de Cl^- no tratamento de 80 mM de NaCl, quando enxertadas sobre o enxerto da variedade BRS Vitória, acumularam apenas 723,3 e 588,0 μmol , respectivamente. Em caule, a enxertia reduziu o acúmulo de Cl^- em mais de 60% nas combinações Vitória/SO4 e Vitória/Paulsen, a Vitória/IAC 313 e Vitória/IAC 572 mantiveram os valores em torno de 200 μmol . Em folhas, no tratamento de 40 mM o conteúdo de Cl^- foi inferior das mudas não enxertadas, com exceção da combinação Vitória/IAC 313, as demais combinações só apresentam um conteúdo de Cl^- superior aos das mudas não enxertadas no tratamento de 80 mM. Porém, em 80 mM a combinação Vitória/IAC 313 acumulou cerca de 406,0 μmol de Cl^- e as demais combinações acumularam mais de 500 μmol .

Tabela 11 Conteúdo de cloreto em tecidos de raízes, caules e folhas de mudas de videira com enxertos da variedade Vitória enxertados sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias em condições de casa de vegetação.

Combinacões	NaCl (mM)	(µmol . g ⁻¹ MS)		
		Raiz	Caule	Folha
Vitória/IAC 313	0	154,0±28,0 aC	51,3±8,0 aC	14,0±0,00 aC
	40	490,0±28,0 aB	140,0±14,0 aB	196,0±14,0 aB
	80	723,3±58,0 aA	219,3±21,0 aA	406,0±28,0 bA
Vitória/IAC 572	0	140,0±14,0 aC	42,0±14,0 aC	28,0±14,0 aC
	40	438,7±58,3 aB	149,3±42,77 aB	168,0±28,0 aB
	80	588,0±112,0 bA	219,3±21,38 aA	546,0±14,0 aA
Vitória/SO4	0	93,3±21,38 aB	51,3±16,16 bC	9,3±8,08 aC
	40	401,3±8,08 aA	112,0±14,0 bB	154,0±42,0 aB
	80	443,3±8,08 cA	158,7±8,08 bA	532,0±120,0 aA
Vitória/Paulsen	0	121,3±35,23 aC	23,3±8,08 bC	28,0±0,00 aC
	40	434,0±98,0 aB	102,7±21,38 bB	210,0±42,0 aB
	80	597,3±8,08 bA	149,3±8,08 bA	532,0±42,0 aA

Os valores representam médias de três repetições ± desvio padrão. Médias para a mesma variável dentro da mesma coluna, para a enxertia, seguidos pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si e médias para mesma variável dentro da mesma coluna, para salinidade, seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os dados mostram que a intensidade da peroxidação lipídica, estimada no conteúdo de TBARS em mudas de videira enxertadas, assim como nas não enxertadas, foram afetadas pela salinidade. Em plantas que receberam os tratamentos com NaCl a 40 e 80 mM, quando comparadas com seus respectivos controles, nota-se que houve um aumento gradativo com maior intensidade para as combinações Vitória/IAC 313 e Vitória/IAC 572 (figura 9). A combinação Vitória/Paulsen também apresentou um grande aumento no tratamento de 80 mM, porém seu conteúdo endógeno já é consideravelmente alto em comparação com as demais variedades.

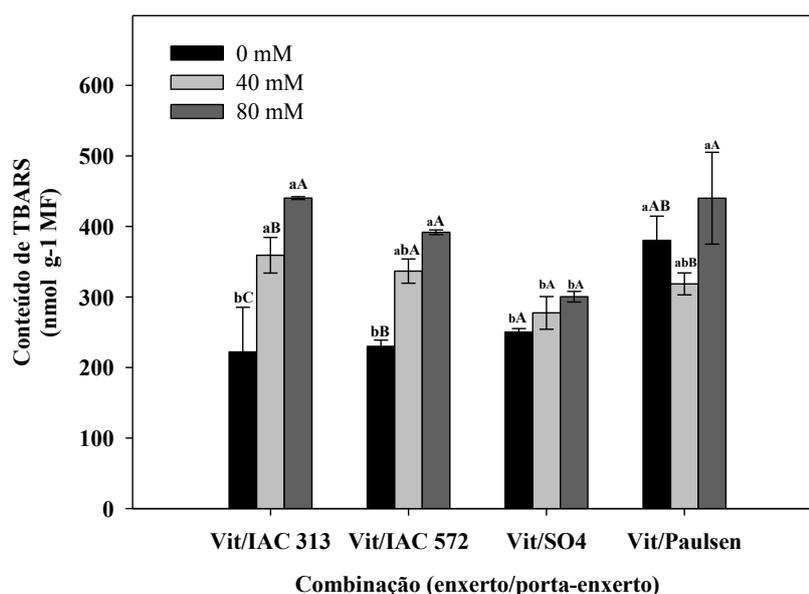


Figura 9 Conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre as combinações e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.3 Respostas das trocas gasosas e dos parâmetros de fluorescência à curva de fotossíntese em resposta à luz e conteúdo de clorofilas e em plantas de videira enxertadas submetidas à salinidade

Nas mudas de videira enxertadas foram observados os efeitos da salinidade sobre os conteúdos de clorofilas totais, bem como das frações de clorofilas a e b (figura 10). O conteúdo de clorofilas totais reduziu com o aumento da salinidade em todas as mudas, com um maior destaque para a combinação Vitória/Paulsen que reduziu 48,14%, enquanto que a Vitória/IAC 572, Vitória/SO4 e a Vitória/IAC 313 reduziram apenas 32,81%, 26,81% e 19,11%, respectivamente, na concentração de 80 mM quando comparadas com seus respectivos controles (figura 10A). A redução no conteúdo das clorofilas totais foi mais associado com a redução no teor de clorofilas b do que de clorofilas a. Enquanto que a combinação Vitória/IAC 313 no tratamento de 80 mM reduziu o conteúdo de clorofila a em 3,22% quando comparada como o controle, as clorofilas b reduziram em 35,92% (figuras 10B e 10C). Porém essa foi a combinação que apresentou a menor redução, a Vitória/Paulsen que apresentou a maior redução em

todas os teores, nas clorofilas a reduziu em 23,53% e clorofila b 63,99% no tratamento de maior concentração de NaCl em comparação com seus respectivos controles. A diferença na redução nos teores de clorofilas a e b ocasionou um aumento relevante na relação de clorofilas a/b em resposta ao estresse salino com um maior destaque pra combinação Vitória/Paulsen (figura 10D).

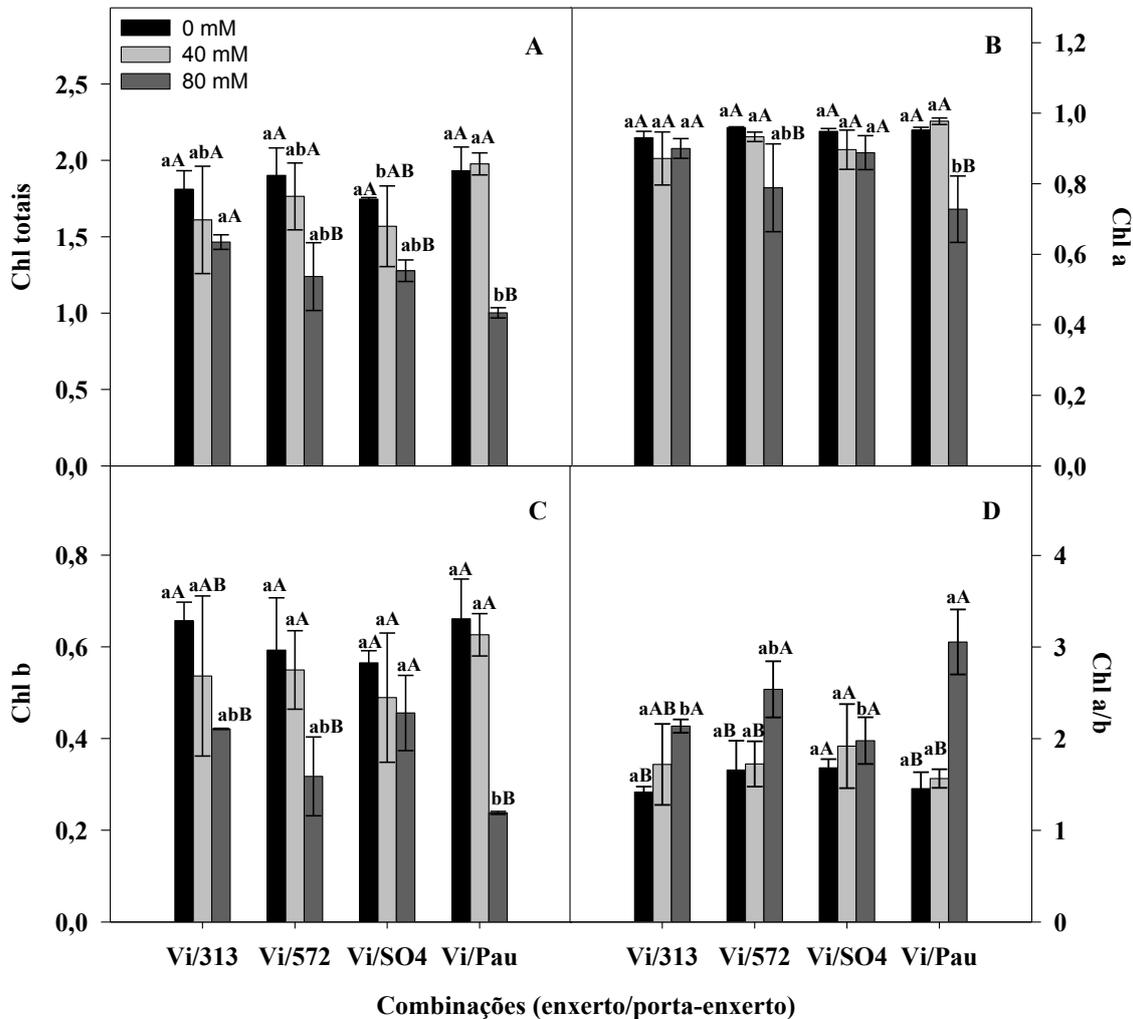


Figura 10 Conteúdo de clorofilas totais (A), clorofilas a (B), clorofilas b (C) e relação clorofila a/b (D) em mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre as combinações e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A curva P_N -PPFD em plantas de videira da variedade BRS Vitória enxertada em diferentes porta-enxertos, na ausência do NaCl (controle), quando expostos ao aumento da intensidade da luz apresentaram pontos de saturação de luz próximo de 1000 μmol

$\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com taxas máximas de assimilação de CO_2 para as combinações Vit/IAC 313, Vit/IAC 572, Vit/SO4 e Vit/Paulsen de 12,27; 11,45; 11,70 e 15,25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente (Figura 11B). Com a adição do NaCl a 80 mM, o ponto de saturação de luz foi de aproximadamente 700 a 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e as taxas máximas de assimilação de CO_2 em comparação as plantas controle, reduziram para 6,88 (Vit/IAC 313), 6,47 (Vit/IAC 572), 5,21 (Vit/SO4) e 4,97 (Vit/Paulsen). Essas respostas indicaram que a combinação Vit/Paulsen é a mais eficiente para usar luz alta sob condições normais, porém na presença de NaCl a 80 mM é a mais ineficaz, a combinação que mostrou uma melhor eficiência nessa condição foi a Vit/IAC 313. Enquanto que a combinação Vit/Paulsen, apresentou uma redução de 67,35% na taxa de assimilação de CO_2 em comparação ao controle, a Vit/IAC 313 reduziu apenas 45%.

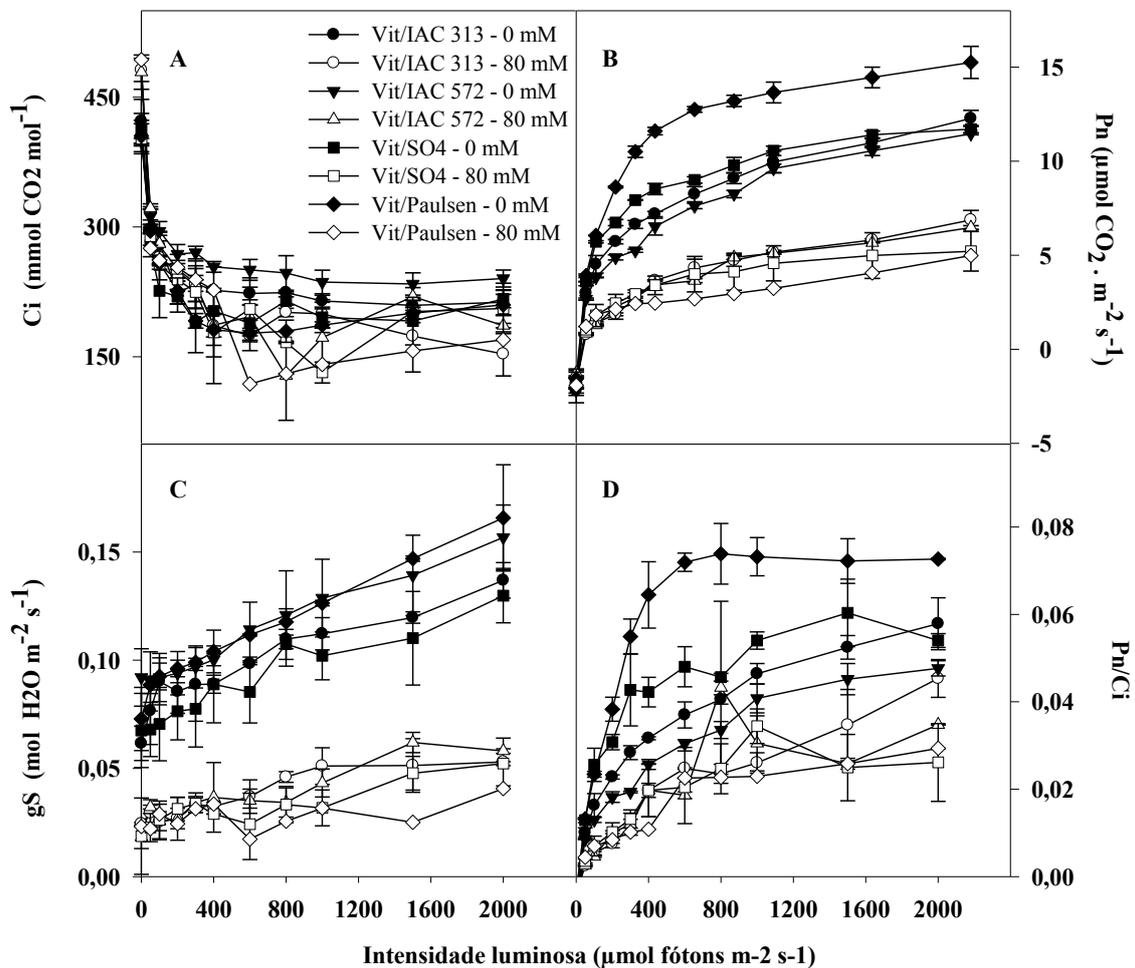


Figura 11 Medida de concentração intercelular de CO_2 (A), assimilação líquida de CO_2 (B), condutância estomática (C) e eficiência de carboxilação instantânea (E) em resposta ao aumento de intensidade luminosa ($\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em mudas enxertadas de videira com enxertos da variedade BRS Vit\u00f3ria sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentra\u00e7\u00f5es crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condi\u00e7\u00f5es de casa de vegeta\u00e7\u00e3o.

Na condutância estomática (gs), o aumento na intensidade da luz com a aplicação do tratamento salino induziu a diferentes respostas nas combinações (enxerto/porta- enxerto) estudadas. Nas plantas controle (ausência de NaCl), gs aumentou de forma contínua em resposta a luz crescente e a combinação que apresentou o maior aumento foi a Vit/Paulsen. Enquanto que em plantas submetidas ao tratamento salino a condutância estomática parece não depender da intensidade de luz, pois com uma faixa de intensidade luz baixa desencadeia a abertura estomática, só que em uma proporção bem inferior as plantas controle (figura 11C). Nas combinações Vit/IAC 313, Vit/IAC 572, Vit/SO₄, os tratamentos de NaCl a 80 mM apresentaram uma redução na gs de aproximadamente 3 vezes menor que os seus respectivos controles, na Vit/Paulsen essa redução foi ainda maior que nas demais combinações. Esses resultados indicam que a salinidade induziu a uma menor condutância estomática para evitar a perda de água pela planta, para minimizar os efeitos do estresse osmótico causado pelo excesso de sais.

A concentração intercelular de CO₂ baixou em todas as combinações no intervalo de fluxo de luz entre 0-200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a partir de 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ as plantas mantiveram uma estabilidade, mas as plantas de controle se sobressaíram das que receberam o tratamento salino (figura 11A). Na ausência do sal a combinação Vit/Paulsen apresentou uma maior concentração, porém ao aplicar o tratamento salino essa combinação mostrou uma instabilidade, apresentando uma menor concentração intercelular de CO₂, juntamente com a Vit/IAC 313.

O aumento da luz aumentou a eficiência de carboxilação instantânea, com um ponto de saturação em torno de 700 a 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Em plantas cultivadas na ausência do NaCl, a eficiência foi maior que em plantas estressadas (figura 11D), entre as combinações estudadas, a Vit/Paulsen apresentou uma melhor eficiência. Após a aplicação do tratamento salino, a combinação Vit/IAC 313 mostrou-se mais eficiente, em relação a demais, a eficiência da Vit/ Paulsen reduziu em 59,69% quando comparada ao controle.

O coeficiente qP, reduziu com o aumento no fluxo de luz em todas as combinações, submetidos ou não a salinidade (figura 12A), porém a redução foi mais acentuada nas plantas tratadas com NaCl (80 mM) e a combinação que teve o menor coeficiente foi a Vit/Paulsen.

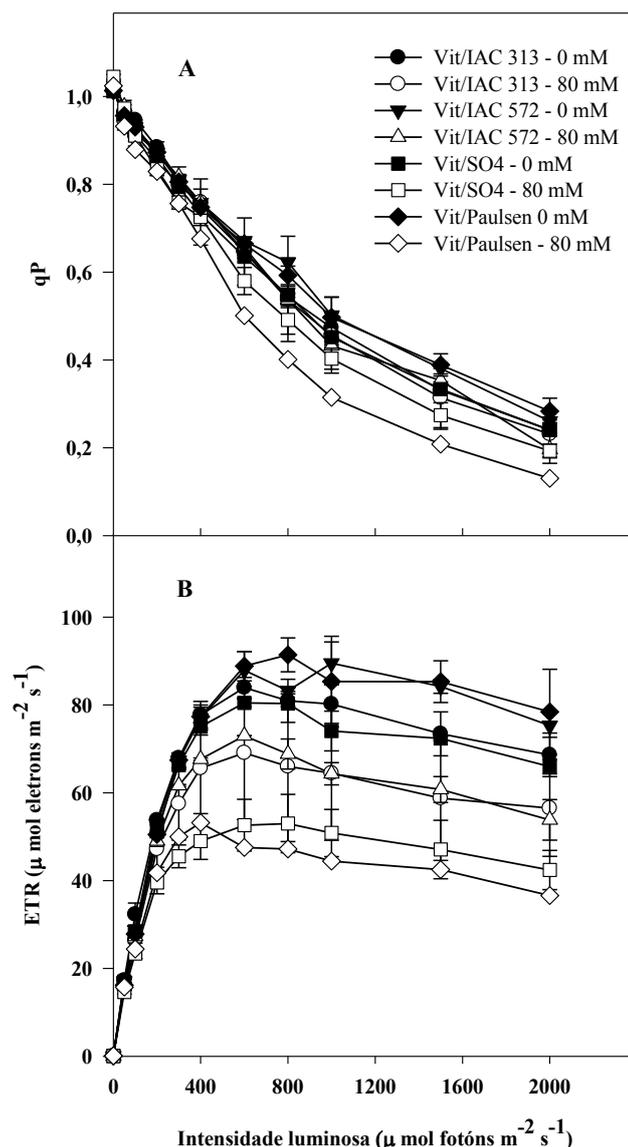


Figura 12 Curva do quenching fotoquímico (A) e da taxa aparente de transporte e elétrons (B) em resposta ao aumento de intensidade de luz ($\mu\text{mol f\^otons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em mudas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação.

O ETR em resposta a curva de luz, no intervalo entre 0-250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, em ambas as combinações (enxerto/porta-enxerto), as plantas de controle se sobrepõem ao tratamento salino (figura 12B). Entretanto, quando o fluxo de luz estava à cima de 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ocorreu uma separação das curvas de resposta à luz, onde as combinações que foram cultivadas na ausência do sal apresentaram uma ETR maior do que as que receberam tratamentos salinos. Em condições normais, a Paulsen apresentou uma maior ETR, porém após o tratamento salino esse parâmetro reduziu em 53,33%.

Além disso, outra combinação que também apresentou uma redução significativa foi a Vit/SO₄, enquanto que a Vit/IAC 313 e Vit/IAC 572 reduziram em apenas 17,67 e 28,51%, respectivamente.

3.4. Respostas da atividade enzimática e não enzimática em plantas de videira enxertadas submetidas à salinidade

A atividade das enzimas antioxidativas foi modulada diferencialmente pelo NaCl nas folhas das plantas de videira enxertadas. Nas combinações Vitória/IAC 572 e Vitória/Paulsen a atividade da SOD foi estimulada pela salinidade, enquanto que a Vitória/SO₄ foi reduzida em 76,27% no tratamento de 40 mM e a combinação Vitória/IAC 313 reduziu em 15,31 e 50,14% nos tratamentos de 40 e 80 mM, respectivamente, quando comparados com os seus controles, embora na ausência do sal tenha apresentado uma maior atividade quando comparada com as demais combinações (figura 13A).

O aumento da concentração externa de NaCl induziu o aumento da atividade da APX nas combinações Vitória/IAC 572 e Vitória/SO₄. A combinação Vitória/Paulsen no tratamento de 40 mM aumentou em torno de 44,13% em relação ao controle, mas em 80 mM reduziu novamente igualando-se ao controle. A Vitória/IAC 313 reduziu gradativamente em 17,38 e 38,04% nos tratamentos de 40 e 80 mM de NaCl, respectivamente, quando comparados ao controle. Mesmo apresentando essa redução de 38,04% em 80 mM a Vitória/IAC 313 apresentou a maior atividade da APX quando comparada com as demais combinações (figura 13B).

A atividade da POX foi estimulada pela salinidade em plantas de videira enxertadas, ao contrario da tendência verificada para a atividade das enzimas SOD e APX na combinação Vitória/IAC 313, a atividade da POX foi estimulada, aumentando gradativamente com o aumento da concentração de NaCl. A Vitória/IAC 572 aumentou, no entanto em uma menor proporção, enquanto que nas combinações Vitória/SO₄ e Vitória/Paulsen a atividade foi intensamente estimulada no tratamento de 40 mM de NaCl (figura 13C).

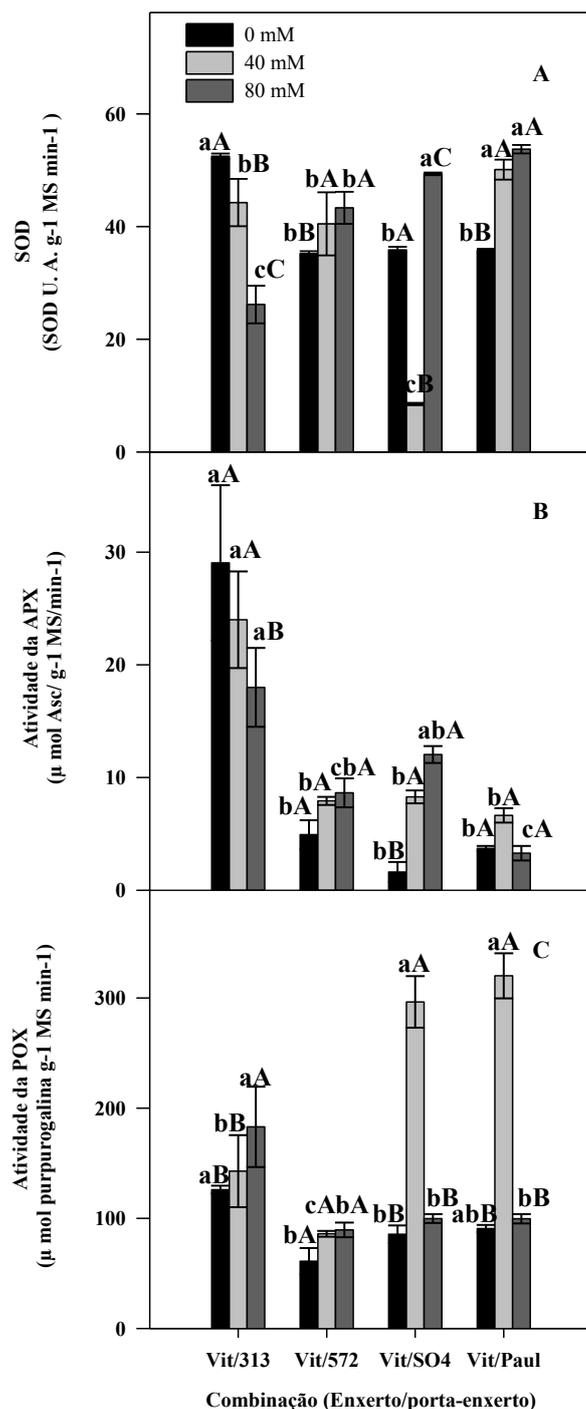


Figura 13 Atividade das enzimas dismutase do superóxido SOD (A), peroxidase do ascorbato APX (B) e peroxidases de fenóis POX (C) em folha de plantas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre as combinações e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O conteúdo de ascorbato reduzido (ASA) aumentou 34,64, 30,90 e 44,93% nas combinações Vitória/IAC 313, Vitória/IAC 572 e Vitória/Paulsen, respectivamente, nos tratamentos salino a 80 mM de NaCl, se comparados as plantas controle. Enquanto que a combinação Vitória/SO4 apresentou uma resposta inversa a das demais combinações, reduzindo gradativamente com o aumento da salinidade, chegando a 47,24% em 80 mM, quando comparada a controle (figura 14A). O GSH apresentou o mesmo comportamento que o ASA (figura 14B).

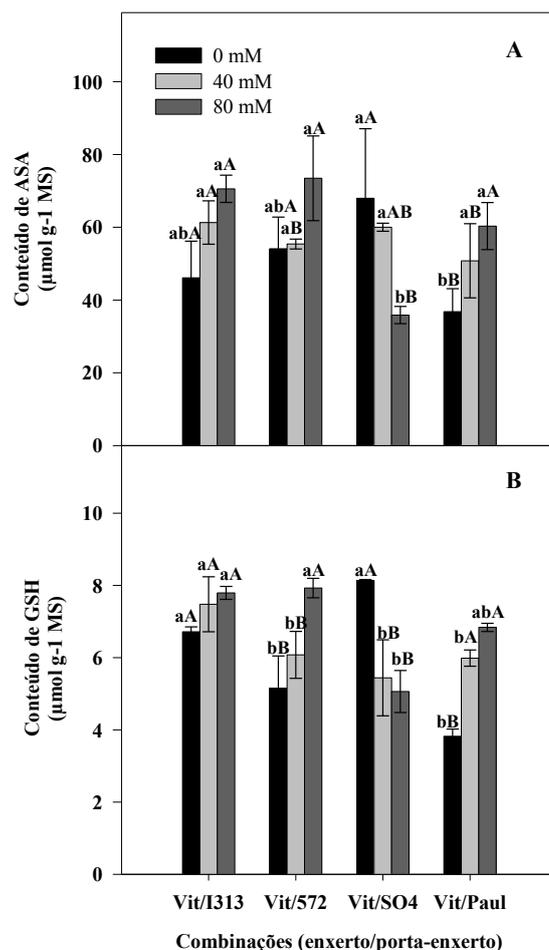


Figura 14 Mudanças nos conteúdos de ascorbato (A) e glutathiona reduzidos (B) em folhas de plantas de videiras, utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas mostra a diferença entre as combinações e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas mostra a diferença da salinidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

A redução no crescimento da planta causado pela salinidade é induzida por diferentes mudanças moleculares, fisiológicas e bioquímicas (MUNNS et al., 2002; KRASENSKY; JONAK, 2012). No presente estudo, tanto as plantas enxertadas como as não enxertadas, apresentaram redução no crescimento com a adição do NaCl. Observações semelhantes foram encontradas em relação à redução de crescimento em muitas plantas sob salinidade (CHEESEMAN, 1988; PARIDA; DAS, 2005), inclusive em videiras (WALKER et al., 2014, QIN et al., 2017).

Essa redução pode está sendo causada tanto devido ao excesso de sais solúveis na solução do solo provocar o estresse osmótico na planta, como pelo efeito do acúmulo de cloreto e sódio em níveis tóxicos (MARSCHNER, 1986, MIRÁS-AVALOS; INTRIGLIOLO, 2017). Além disso, outro fator que também pode influenciar é o desvio da energia dos processos de crescimento para excluir a absorção de Na^+ , assim como, para síntese de solutos compatíveis para manter o turgor celular nessa condição de estresse (MUNSS; TESTER, 2008; MUNNS; GILLIHAM, 2015).

Alguns estudos demonstram que em porta-enxertos a tolerância à salinidade está diretamente relacionada com a redução na concentração de N^+ e Cl^- em níveis tóxicos na parte aérea (MOYA et al., 1999; ZRIG et al., 2011; HENDERSON et al., 2014 ; ZRIG et al., 2016). Na maioria das culturas a exclusão do Na^+ é mais estudada que o Cl^- (MUNNS, GILLIHAN, 2015; LI et al., 2017). Porém quando se trata de videira o foco principal tem sido a toxicidade pelo Cl^- (WALKER et al., 2004) e seu mecanismo de exclusão pela parte aérea (GONG et al., 2011, HENDERSON et al., 2014, 2015; FORD et al., 2015).

A variação na exclusão do Cl^- conta com a contribuição de mecanismos genéticos, parecendo ser controlados por mais de um gene e mecanismos fisiológicos implícitos, sugerindo que as células estelares possam ser locais importantes de mecanismos de exclusão e, que o simplasto é um caminho chave para o transporte de Cl^- em raízes (GONG et al., 2011). Em relação ao Na^+ , um estudo recente indica as cultivares de *V. vinifera* como excludentes potencialmente fortes de Na^+ , identificando o gene *VisKHT1;1* como o controlador principal dessa exclusão, identificando também os alelos dominantes, *VisKHT1;1-E*, fornecendo um bom marcador genético para a criação de porta-enxertos tolerantes (HENDERSON et al., 2018).

A absorção do N^+ provoca uma despolarização rápida e maciça da membrana, resultando em uma maior dificuldade para o transporte dos nutrientes essenciais e metabólitos (SHABALA et al., 2005; CHEN et al., 2007a; SHABALA, 2017). No presente estudo, os genótipos IAC 313 e a IAC 572 demonstraram esse comportamento, podendo então ser indicados como mais tolerantes ao estresse salino do que o SO4 e Paulsen, visto que, assim como no estudo descrito apresentaram baixas concentrações de N^+ na parte aérea das plantas, especialmente em folhas, onde as concentrações foram baixas e não houve redução no conteúdo de K^+ como aumento da salinidade.

Em plantas enxertadas, estudos relatam que a tolerância se deve ao aumento na translocação de K^+ , Ca^+ ou Mg^{2+} (MOYA et al., 1999; ZHU et al., 2008; ZRIG et al., 2016). A capacidade dos tecidos vegetais em reter K^+ parece ser uma característica comum entre todos os genótipos e espécies tolerantes a salinidade, pois o K^+ funciona como um íon de balanceamento de carga (SHABALA, 2017). Esse relato foi encontrado a princípio em raízes de cevada (CHEN et al., 2005, 2007b), com uma correlação positiva entre a tolerância geral ao estresse salino e a capacidade do tecido radicular de reter K^+ , em seguida esse conceito foi se expandindo também para outras espécies (SHABALA, 2017). Esse mecanismo de tolerância do tecido a salinidade, atualmente vem sendo relatado também para parte aérea da planta (WU et al., 2013, 2015).

O incremento do NaCl, aumentou o vazamento de eletrólitos nos porta-enxertos testados em nosso experimento. Esse resultado reflete os danos causados à membrana como consequência da degradação de lipídios e proteínas que ocorrem durante o estresse (SIMPSON et al., 2015). Esse dado (DM%) mostra que os porta-enxertos de Paulsen apresentaram um maior vazamento de eletrólitos do que os do SO4, IAC 572 e IAC 313, o que indica que é mais suscetível ao estresse salino que os outros três porta-enxertos, entre eles o que apresentou o menor dano foi o IAC 313.

Em relação à atividade fotossintética em plantas enxertadas, pode se observar que o ponto de saturação para os parâmetros analisados foi em torno de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e que tanto a fotossíntese como a condutância e concentração intercelular de CO_2 reduziu acentuadamente com o aumento da salinidade. Em nosso estudo, a combinação Vit/Paulsen mostrou-se ser vigoroso em condições normais, porém ao aplicar o tratamento salino, apresentou uma queda brusca na fotossíntese e condutância. Em condições salinas as combinações que obtiveram melhores resultados foram a Vit/IAC 313 e Vit/IAC 572.

Para a redução na fotossíntese nosso trabalho sugere três possíveis causas: (I) menor disponibilidade causada pela salinidade induzindo ao fechamento estomático que é uma das principais respostas da planta para minimizar a perda de água pela planta (AROCHA et al., 2012; SHABALA; MUNNS, 2012; PENELLA et al., 2016), (II) pelo dano a membrana celular causado pela toxicidade iônica, em Citros, Simpson et al (2015) encontrou resultados similares e (III) pelo desequilíbrio na homeostase de K^+ no citosol do mesófilo foliar, em alguns estudos foi relatado com beterraba açucarada (TERRY; ULRICH, 1973), cevada (DEGL'INNOCENTI et al., 2009) e algodão (JIN et al., 2011), a deficiência de K^+ causou uma redução na capacidade de assimilação de CO_2 , enquanto que em folhas de manguezal causou a perda funcional do fotossistema II (BALL et al., 1987). O equilíbrio na homeostase de K^+ no citosol do mesófilo da folha pode ser um indicativo da eficiência fotossintética em plantas tolerantes a salinidade (WU et al., 2015).

A condutância estomática é a primeira resposta ao estresse salino, no presente trabalho mostrou ser fortemente afetado pela salinidade, com uma redução significativa entre as plantas controle (ausência do NaCl) e as do tratamento salino. Na combinação Vit/Paulsen que apresentou uma maior condutância em condições normais, com o tratamento salino reduziu em 75,44%. Essa resposta na condutância parece ser controlada por vias celulares dependente de ABA. O fitohormônio ABA está relacionado com diversos processos metabólicos, além disso, pode proteger as plantas dos danos induzido pela seca e salinidade (TU et al., 2016). Em videiras, estudos afirmam que o gene VqbZIP39 medeia respostas aos estresses abióticos através de uma via dependente de ABA, podendo ser um gene candidato para melhorar a tolerância do estresse salino na uva (TU et al., 2016). Outra hipótese é que essa redução possa ter ocorrido mediado por canais de K^+ de proteção de células de proteção externa (GORK), que são expressos tanto na epiderme da raiz, como nas células guardas e desempenham um importante papel no fechamento estomático (VERY et al., 2014; SHABALA et al., 2017).

A concentração intercelular de CO_2 reduziu em todas as combinações com a aplicação do tratamento salino, porém não tão acentuada como na gs. Na C_1 a intensidade luminosa parece ter apresentado uma maior influência inicialmente, entre 0-150 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ocorreu uma queda brusca, mantendo uma estabilidade a partir 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Alguns trabalhos relatam que a redução na capacidade de assimilação de CO_2 em algumas culturas ocorreu devido deficiência de K^+ (WU et al.,

2015). Nesse contexto, podemos indicar que a capacidade de retenção do K^+ no mesófilo foliar pode contribuir para a tolerância à salinidade. Em cevada, alguns trabalhos relatam uma ligação entre o teor de potássio e a tolerância à salinidade (CHEN et al., 2005, 2007b).

O sal mostrou ter uma grande influência em relação à eficiência de carboxilação instantânea, onde as combinações que apresentaram indicativo de tolerância e de sensibilidade à salinidade mostraram uma grande diferença no comportamento. Essa resposta pode estar associada com as limitações metabólicas, podendo ter relação com a atividade da Rubisco, que pode ser alterada pela salinidade (GALMÉS et al., 2013), ou devido a limitações estomáticas, essas limitações estomática juntamente com as bioquímicas pode ter implicado também na redução da ETR provavelmente devido a uma maior taxa de consumo de ATP e NAPH reduzida para a assimilação de CO_2 (PENELLA et al., 2014). O quenching fotoquímico também reduziu com a salinidade, porém assim como a C_i , parece ter sido mais influenciada pela luz, esse resultado em relação à atividade fotossintética, indica que a salinidade influencia mais nas trocas gasosas do que no de fluorescência, porém se faz necessário mais estudo sobre tais parâmetros.

No presente estudo, as mudas enxertadas com enxerto IAC 313 (Vit/IAC 313) apresentaram melhor eficiência fotossintética em condições de salinidade se comparadas às demais combinações. Essa melhor performance fotossintética deve ser atribuída em parte a maior atividade fotoquímica (Indicada pela ETR e qP), o que mostra que esse genótipo (IAC 313) quando utilizado como porta-enxerto resultou em plantas enxertadas com uma maior estabilidade do aparato fotoquímico. Assim, os resultados aqui obtidos demonstram claramente que um caráter bioquímico e fisiológico essencial ao processo fotoquímico pode ser modulado pelo genótipo do porta-enxerto, sobretudo em condições de salinidade.

Em relação ao sistema antioxidante, quando a redução na fotossíntese causada pela salinidade é maior que o aumento da redução do PSII, os elétrons que deveriam ser usados para assimilação do carbono, circulam para as moléculas de oxigênio, resultando em um aumento excessivo de EROs, podendo causar o estresse oxidativo, que é outro dano comum nessas condições (ASADA, 2006; HE et al., 2009). A eliminação desses EROs ocorre a partir da ativação do sistema antioxidante, composto por fatores enzimáticos e não enzimáticos. O aumento na atividade de enzimas antioxidantes, como SOD, APX e POX sob condições de estresse é correlacionado com a tolerância ao

estresse, porém as enzimas antioxidantes respondem de forma diferente em condições salinas (OZDEN et al., 2009).

Nesse estudo, o NaCl induziu a atividade das enzimas SOD e APX nas combinações Vitória/IAC 572, Vitória/SO4 e Vitória/Paulsen (figura 6), esse resultado foi visto também em tomate (HE, et al 2009) e melão (SARABI et al., 2017), submetidos a salinidade. A SOD é a primeira linha de defesa no sistema enzimático, que catalisa a dismutação do radical superóxido produzido nos cloroplastos, transformando-o em H₂O₂ (ALSCHER et al., 2002, HAMEED et al., 2011). Esse H₂O₂ é reduzido em H₂O e O₂ pela atividade da APX nos outros compartimentos celulares, essa enzima também está envolvida no ciclo ascorbato-glutationa e, juntamente com as outras enzimas envolvidas nesse processo, como a DHAR e GR, podem ter contribuído para maiores níveis de ASA e GSH, exceto na combinação Vitória/SO4, que foi a única que teve o conteúdo de ASA e GSH reduzido.

A combinação Vitória/IAC 313 apresentou uma resposta inversa das outras combinações na atividade das enzimas SOD e APX, apesar de não apresentar dano visível na planta com a aplicação do tratamento salino, foi a única combinação que apresentou a atividade de tais enzimas reduzida. Entretanto, a atividade da APX mesmo reduzindo com o aumento da salinidade, manteve uma atividade superior às demais combinações. Nessa combinação a proteção oxidativa pode ter ocorrido de forma direta ou indiretamente a partir da regeneração de ASA e GSH, que são os dois principais antioxidantes não enzimáticos.

Como conclusão, esses resultados sugerem que o uso de porta-enxerto tolerante pode conferir uma melhor aclimação à salinidade, indicando os genótipos IAC 313 e IAC 572 como uma boa escolha para ambientes com salinidade a níveis próximos de 80 mM. A tolerância para esses porta-enxertos (IAC 313 e IAC 572) está relacionada com a capacidade de exclusão de Na⁺ e com a retenção de K⁺ no mesófilo foliar, permitindo uma melhor homeostase do K⁺/Na⁺ sob salinidade. Essas características foram mantidas em plantas enxertadas com a variedade Vitória, resultando numa melhor eficiência fotossintética e demonstrando que o uso desse porta-enxertos representa uma ferramenta viável para a produção de plantas enxertadas de videira mais resistentes a salinidade.

5. REFERÊNCIAS

- AHMAD, O. A. (2016). Salinity Soil Effects on Yield, Fruit Quality and Mineral Composition of Superior Seedless Grapevines Grafted on Some Rootstocks. **J. Applied Sci.**, 16: 359-371.
- AROCA R, PORCEL R, RUIZ-LOZANO JM. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. **J Exp Bot**, 2012; 63: 43-57.
- ASHRAF, M., FOOLAD, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environ. Exp. Bot.** 59, 206-216.
- BALL M C. 1988. Salinity tolerance in the mangroves, *Aegiceras corniculatum* and *Avicinnia.1*. Water use in relation to growth, carbon partitioning and salt balance. **Australian Journal of Plant Physiology** 15: 447-464.
- CATHERINE R. SIMPSON, SHAD D. NELSON, JUAN C. MELGAR, JOHN JIFON, GRETA SCHUSTER, ASTRID VOLDER. (2015). Effects of salinity on physiological parameters of grafted and ungrafted citrus trees. **Scientia Horticulturae** 197: 483-489.
- CHEESEMAN J M. 1988. Mechanisms of salinity tolerance in plants. **Plant Physiology** 87: 547-550.
- CHEN Z, NEWMAN I, ZHOU M, MENDHAM N, ZHANG G, SHABALA S. 2005. Screening plants for salt tolerance by measuring K^+ flux: a case study for barley. **Plant, Cell & Environment** 28, 1230–1246.
- CHEN Z, POTTOSIN II, CUIN TA, et al. 2007a. Root plasma membrane transporters controlling K^+/Na^+ homeostasis in salt-stressed barley. **Plant Physiology** 145, 1714–1725.
- CHEN ZH, ZHOU MX, NEWMAN IA, MENDHAM NJ, ZHANG GP, SHABALA S. 2007b. Potassium and sodium relations in salinised barley tissues as a basis of differential salt tolerance. **Functional Plant Biology** 34, 150–162.
- CORSO, M., VANNOZZI, A., ZILLOTTO, F., ZOUINE, M., MAS, E., NICOLATO, T., VITULO, N., MEGGIO, F., VALLE, G., BOUZAYEN, M., MULLER, M., MUNNÉ-BOSCH, S., LUCCHIN, M., BONGHI, C. (2016). Grapevine rootstocks differentially affects ripening rate and modulates asinine-related genes in Carbert Sauvignon berries. **Front Plant Sci** 7:69.
- CUARTERO, J., BOLARIN, M.C., ASINS, M.J., MORENO, V., 2006. Increasing salt tolerance in tomato. **J. Exp. Bot.** 57, 1045–1058.
- DEGL'INNOCENTI E, HAFSI C, GUIDI L, NAVARI-IZZO F (2009) The effect of salinity on photosynthetic activity in potassium-deficient barley species. **J Plant Physiol** 166: 1968–1981.

ELLOUZI, H., HAMED, K. B., HERNANDEZ, I., CELA, J., MULLER, M., MAGNE, C., et al. (2014). A comparative study of the early osmotic, ionic, redox and hormonal signalling response in leaves and roots of two halophytes and a glycophyte to salinity. **Planta** 240, 1299–1317. doi: 10.1007/s00425-014- 2154-7.

HENDERSON, S.W., BAUMANN, U., BLACKMORE, D.H., WALKER, A.R., WALKER, R.R., GILLIHAM, M. Shoot chloride exclusion and salt tolerance in grapevine is associated with differential ion transporter expression in roots. *BMC Plant Biology*; 2014, v. 14, p. 1-18.

HENDERSON, S.W., DUNLEVY J.D., WU, Y., BLACKMORE, D.H., WALKER, R.R., EDWARDS, E.J., GILLIHAM, M AND AMANDA R. WALKER, A.R. Functional differences in transport properties of natural HKT1;1 variants influence shoot Na⁺ exclusion in grapevine rootstocks. **New Phytologist**; 2018, v. 217, p. 1113-1127.

Food and Agricultural Organisation (FAO) of the United Nations. Statistics Division Report. 2014. [http://www.fao.org/faostat/en/#data/ QC](http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC). Accessed 02 nov 2017.

FORT, K.P., HEINITZ, C.C., WALKER, M.A. Chloride exclusion patterns in six grapevine populations. *Australian Journal of Grape and Wine Research*; 2015, v. 21, p. 147-155.

FERREIRA-SILVA, S.L., SILVEIRA, J.A.G., VOIGT, E.L., SOARES, L.S.P., VIÉGAS, R.A. Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, p. 51-59, 2008.

FERREIRA-SILVA SL, SILVA EN, CARVALHO FEL, DE LIMA CS, ALVES FAL, SILVEIRA JAG. Physiological alterations modulated by rootstock and scion combination in cashew under salinity. **Sci. Hort** 2010; 127: 39-45.

GALMÉS J, ARANJUELO I, MEDRANO H, FLEXAS J. Variation in Rubisco content and activity under variable climatic factors. **Photosyn Res** 2013; 117: 73-90.

HEATH RL, PACKER L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Arch Biochem Biophys** 1968;125:189–98.

HOAGLAND DR, ARNON DI (1950) The water-culture method for growing plants without soil. **Cir Calif Agr Exp Stan** 347: 1–32.

INOSTROZA-BLANCHETEAU C., AQUEA F., MORAGA F., IBAÑEZ C., RENGEL Z., REYES-DÍAZ M. (2017) Genetic Engineering and Molecular Strategies for Nutrient Manipulation in **Plants**. In: Naeem M., Ansari A., Gill S. (eds) *Essential Plant Nutrients*. Springer, Cham.

JAMIL, A., RIAZ, S., ASHRAF, M., FOOLAD, M.R., 2011. Gene expression profiling of plants under salt stress. **Crit. Rev. Plant Sci.** 30 (5), 435–458.

KRASENSKY, J., JONAK, C., 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **J. Exp. Bot.** 63, 1593-1608.

MAIA, J.M., MACEDO, C.E.C., VOIGT, E.L., FREITAS, J.B.S., SILVEIRA, J.A.G.: Antioxidative enzymatic protection in leaves of two contrasting cowpea cultivars under salinity. - **Biol. Plant.** 54: 159-163, 2010.

MARSCHNER, H. (1986). **Mineral Nutrition of Higher Plants**. London: Academic Press.

MEGGIO, F., PRINSI, B., NEGRI, A.S., DI LORENZO, G.S., LUCCHINI, G., PITACCO, A., FAILLA, O., SCIENZA, A., COCCUCCI, M. AND ESPEN, L. (2014) Biochemical and physiological responses of two grapevine rootstock genotypes to drought and salt treatments. **Australian Journal of Grape and Wine Research** 20, 310–323.

MINGXING TU., XIANHANG WANG., LI HUANG., RONGRONG GUO., HONGJING ZHANG., JUNSHE CAI., XIPING WANG. Expression of a grape bZIP transcription factor, VqbZIP39, in transgenic *Arabidopsis thaliana* confers tolerance of multiple abiotic stresses. **Plant Cell Tiss Organ Cult** (2016) 125:537–551 DOI 10.1007/s11240-016-0969-6.

MIRÁS-AVALOS J. M & INTRIGLIOLO D. S. (2017). Grape Composition under Abiotic Constraints: Water Stress and Salinity. *Front. Plant Sci.* 8:851. doi: 10.3389/fpls.2017.00851.

MIREN SEQUERA-MUTIOZABAL., CHRYSTALLA ANTONIOU., ANTONIO F. TIBURCIO., RUBÉN ALCÁZAR., VASILEIOS FOTOPOULOS. (2017). Polyamines: Emerging Hubs Promoting Drought and Salt Stress Tolerance in Plants. **Curr Mol Bio Rep.** DOI 10.1007/s40610-017-0052-z.

MOHAMMADKHANI, N., HEIDARI, R., ABBASPOUR, N., & RAHMANI, F. (2016) Salinity effects on expression of some important genes in sensitive and tolerant grape genotypes. **Turkish Journal of Biology**, 40(1), 95–108. <https://doi.org/10.3906/biy-1501-67>.

MOHAMMADKHANI, N., HEIDARI, R., ABBASPOUR, N., RAHMANI, F., 2014. Evaluation of salinity effects on ionic balance and compatible solute contents in nine grape (*Vitis L.*) genotypes. **J. Plant Nutr** 37, 1817–1836.

MOYA, J.L., TADEO, F.R., GOMEZ-CADENAS, A., PRIMO-MILLO, E., TALON, M., 2002. Transmissible salt tolerance traits identified through reciprocal grafts between sensitive Carrizo and tolerant Cleopatra citrus genotypes. **J. Plant Physiol.** 159, 991–998.

MUNNS, R., GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops – what is the cost? **New Phytologist** (2015) 208: 668–673 doi: 10.1111/nph.13519

MUNNS, R., HUSAIN, S., RIVELLI, A.R., JAMES, R., CONDON, A.G., LINDSAY, M., LAGUDAH, E.S., SCHACHTMAN, D.P., HARE, R.A., 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Plant Soil** 247, 93-105.

MUNNS, R., TESTER, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. **Annu. Rev. Plant Biol.** 59, 651-681.

PARIDA, A.K., DAS, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60, 324-349.

PENELLA, C., LANDI, M., GUIDI, L., NEBAUER, S.G., PELLEGRINI, E., BAUTISTA, A.S., REMORINI, D., NALI, C., LÓPEZ-GALARZA, S., CALATAYUD, A., 2016. Salt-tolerant rootstock increases yield of pepper under salinity through maintenance of photosynthetic performance and sinks strength. **J. Plant Physiol.** 193, 1-11.

PENELLA, C., NEBAUER, S.G., BAUTISTA, A.S., LÓPEZ-GALARZA, S., CALATAYUD, A., 2014a. Rootstock alleviates PEG-induced water stress in grafted pepper seedlings: physiological responses. **J. Plant Physiol.** 171, 842-851.

PENELLA, C., NEBAUER, S.G., LÓPEZ-GALARZA, S., BAUTISTA, A.S., RODRIGUEZ-BURRUEZO, A., CALATAYUD, A., 2014b. Evaluation of Some Pepper Genotypes as Rootstocks in Water Stress Conditions 41. pp. 192-200.

PENELLA, C., NEBAUER, S.G., QUIÑONES, A., SAN BAUTISTA, A., LÓPEZ-GALARZA, S., CALATAYUD, A., 2015. Some rootstocks improve pepper tolerance to mild salinity through ionic regulation. **Plant Sci.** 230, 12-22.

PRIOR, L. D., GRIEVE, A. M., & CULLIS, B. R. (1992). Sodium chloride and soil texture interactions in irrigated fieldgrown Sultana grapevines. 1. Yield and fruit quality. **Australian Journal of Agricultural Research**, 43, 1051-1066.

QIN, L., KANG, W. HUAI, QI, Y. LING, ZHANG, Z. WEN, & WANG, N. (2016). The influence of silicon application on growth and photosynthesis response of salt stressed grapevines (*Vitis vinifera* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, 38(3), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2087-9>

SHARMA, I., BHARDWAJ, R., PATI, P.K., 2013a. Stress modulation response of 24-epibrassinolide against imidacloprid in an elite indica rice variety Pusa Basmati-1. **Pestic. Biochem. Physiol.** 105, 144-153.

SHARMA, I., CHING, E., SAINI, S., BHARDWAJ, R., PATI, P.K., 2013b. Exogenous application of brassinosteroid offers tolerance to salinity by altering stress responses in rice variety Pusa Basmati-1. **Plant Physiol. Biochem.** 69, 17-26.

SARABI, B., BOLANDNAZAR, S., GHADERI, N., & GHASHGHAIE, J. (2017). Genotypic differences in physiological and biochemical responses to salinity stress in melon (*Cucumis melo* L.) plants: Prospects for selection of salt tolerant landraces. **Plant Physiology and Biochemistry**, 119, 294-311. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2017.09.006>

SHABALA L., CUIN T.A., NEWMAN I.A. & SHABALA S. (2005) Salinity-induced ion flux patterns from the excised roots of *Arabidopsis* sos mutants. **Planta** 222, 1041-1050.

SHABALA S, MUNNS R. Salinity Stress: physiological constraints and adaptive mechanisms. In: Shabala S, editor. *Plant Stress Physiology*. CAB International, 2012. p. 59-93.

SHABALA S. (2017). Signalling by potassium: another second messenger to add to the list? **Journal of Experimental Botany**. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

STEVENS, R.M., PECH, J.M, TAYLOR, J., CLINGELEFFER, P., WALKER, R. R., NICHOLAS P. R. (2016). Effects of irrigation and rootstock on *Vitis vinifera* (L.) cv. Shiraz berry composition and shrivel, and wine composition and wine score. **Australian Journal of Grape and Wine Research** 22, 124–136.

TERRY, N., ULRICH, A (1973) Effects of potassium deficiency on the photosynthesis and respiration of leaves of sugar beet. **Plant Physiol** 51: 783–786.

VÉRY, A.A., NIEVES-CORDONES, M., DALY, M., KHAN, I., FIZAMES, C., SENTENAC, H. 2014. Molecular biology of K⁺ transport across the plant cell membrane: What do we learn from comparison between plant species? **Journal of Plant Physiology** 171, 748–769.

VRŠIČ, S., PULKO, B., & KOCSIS, L. (2016). Effects of rootstock genotypes on compatibility, biomass, and the yield of Welschriesling. **Horticultural Science**, 43(2), 92–99. <https://doi.org/10.17221/141/2015-HORTSCI>.

WALKER, R.R., BLACKMORE, D.H, GONG, H., HENDERSON, S.W., GILLIHAM, M and WALKER, A.R. Analysis of the salt exclusion phenotype in rooted leaves of grapevine (*Vitis* spp). **Australian journal of grape and vine research**. DOI: 10.1111/ajgw.12334, 2018.

WALKER B.J., STRAND D.D., KRAMER D.M., COUSINS A.B. (2014) The response of cyclic electron flow around photosystem I to changes in photorespiration and nitrate assimilation. **Plant Physiology**, 165, 453–462.

WALKER, R.R., BLACKMORE, D.H., CLINGELEFFER, P.R., IAKONO, F., 1997. Effect of salinity and Ramsey rootstock on ion concentrations and carbon dioxide assimilation in leaves of drip-irrigated, field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). **Aust. J. Grape Wine Res.** 3, 66–74.

WICKE, B., SMEETS, E., DORNBURG, V., VASHEV, B., GAISER, T., TURKENBURG, W., FAAIJ, A., 2011. The global technical and economic potential of bioenergy from salt-affected soils. **Energy & Environmental Science** 4(8): 2669-2681.

WU H, SHABALA L, BARRY K, ZHOU M, SHABALA S (2013) Ability of leaf mesophyll to retain potassium correlates with salinity tolerance in wheat and barley. **Physiol Plant** 149: 515–527.

WU H., ZHU M., SHABALA L., ZHOU M., SHABALA S. (2015). K⁺ retention in leaf mesophyll, an overlooked component of salinity tolerance mechanism: A case study for barley. **Journal of Integrative Plant Biology**. 57:2 171-185.

ZHU, J., BIE, Z., HUANG, Y., HAN, X.Y., 2008. Effect of grafting on the growth and ion concentrations of cucumber seedlings under NaCl stress. **Soil Sci. Plant Nutr.** 54 (6), 895–902, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1747-0765.2008.00306.x>

ZRIG, A., TOUNEKTI, T., ENNAJEH, M., VALERO, D. AND KHEMIRA, H. 2015. A comparative study of salt tolerance of three almond rootstocks: Contribution of organic and inorganic solutes to osmotic adjustment. **Journal of Agricultural Science and Technology**, 17(3): 675-689.