

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA VEGETAL



Dissertação

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE QUINOA cv.
BRS PIABIRU CULTIVADAS SOB CONDIÇÕES DE SALINIDADE**

Gabriele Espinel Ávila

Pelotas, 2015.

Gabriele Espinel Ávila

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE QUINOA cv.
BRS PIABIRU CULTIVADAS SOB CONDIÇÕES DE SALINIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de conhecimento: Fisiologia Vegetal).

Orientador: Prof. Dr. Sidnei Deuner

Dr.^a Caroline Jácome Costa

Pelotas, 2015

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

A958r Ávila, Gabriele Espinel
Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de quinoa
cv. brs piabiru cultivadas sob condições de salinidade / Ga-
briele Espinel Ávila. – 47f. : il. – Dissertação (Mestrado). Pro-
grama de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universida-
de Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2015. –
Orientador Sidnei Deuner; coorientadora Caroline Jácome
Costa.

1.Fisiologia vegetal. 2.*Chenopodium quinoa*. 3.Halófitas.
4.Estresse salino.5.Tolerância I.Deuner, Sidnei. II.Costa, Ca-
roline Jácome. III.Título.

CDD: 631.521

Banca Examinadora

Dr. Sidnei Deuner (Orientador)

Dr^a. Cristina Ferreira Larré

Dr^a. Eugenia Jacira Bolacel Braga

Dr^a. Letícia Carvalho Benitez (suplente)

A minha mãe, Rosa (*in memoriam*)
por estar sempre ao meu lado

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Carlos, minha irmã Caroline, a tia “Gigi”, e a minha avó Eva, pelo apoio e amor incondicional em todos os momentos. A minha mãe Rosa (*in memoriam*) que acompanha-me sempre.

As minhas “primas-amigas”, Jehad e Fernandinha.

Ao professor e pesquisador Dr. Sidnei Deuner pela confiança a mim depositada, assim como pela orientação, paciência, ensinamentos, amizade e apoio, que foram de suma importância para a realização deste trabalho.

À Dr.^a Cristina Cuchiara pela extrema paciência, pelas risadas e amizade. Por ter sido essencial durante a elaboração do presente trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Relações Hídricas pela amizade e companheirismo.

À pesquisadora Dr.^a Caroline Jácome Costa, pela coorientação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV), por oportunizar a realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores do PPGFV pelos ensinamentos conferidos no decorrer do curso.

Aos colegas e amigos do PPGFV pelo companheirismo e amizade.

RESUMO

ÁVILA, Gabriele Espinel. **Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de quinoa cv. BRS PIABIRU cultivadas sob condições de salinidade.** 2015. 47f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Classificada como halófita facultativa, a quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) é reconhecida por tolerar elevados níveis de salinidade. No Brasil, a cv. BRS Piabiru é a primeira recomendada para o cultivo granífero, constituindo alternativa para diversificação dos sistemas agrícolas. Contudo, estudos relativos à adaptação dessa cultivar no estado do Rio Grande do Sul, bem como às condições de salinidade ainda são necessários. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas (pigmentos e trocas gasosas) e bioquímicas (atividade enzimática antioxidante, teores de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica, prolina e potencial osmótico) de plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas sob condições de salinidade. O experimento foi conduzido em casa de vegetação onde as sementes foram distribuídas em vasos plásticos, preenchidos com areia lavada. Após sete dias da germinação foi fornecida solução nutritiva, ministrada a cada quatro dias e, aos 30 dias, foi realizado o desbaste, mantendo-se quatro plantas por vaso. Neste período também foram aplicadas as soluções salinas, na forma de cloreto de sódio, nas concentrações de 100, 200, 300 e 400 mM, além do tratamento controle cuja as plantas foram cultivadas na ausência da salinidade. As soluções nutritiva e salina foram aplicadas intercaladamente, a cada dois dias, até o fim do experimento. Aos 30, 60 e 90 dias após indução dos tratamentos, as plantas foram avaliadas quanto a parâmetros fisiológicos e bioquímicos (análises não destrutivas e destrutivas, respectivamente). Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro e analisados por regressão polinomial. Houve redução no índice de clorofila e índice de balanço de nitrogênio e, a partir de 60 dias, incremento no índice de flavonoides. Neste período, a taxa de assimilação líquida de CO_2 seguiu tendência quadrática de elevação até a concentração de 250 mM e as variáveis eficiência de uso da água e eficiência de carboxilação aumentaram linearmente com o incremento da salinidade. A atividade enzimática antioxidante, através das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, demonstrou que a salinidade promoveu adaptação e tentativa de neutralização das espécies reativas de oxigênio produzidas durante o estresse salino, tanto na parte aérea quanto em raízes. Houve aumento no potencial osmótico em ambos órgãos aos 90 dias após indução dos tratamentos, contudo, nas raízes a síntese de prolina não seguiu a mesma tendência. Apesar da redução nos índices de clorofila e de balanço de nitrogênio, há manutenção da taxa fotossintética, a qual, associada a capacidade antioxidante e ao ajuste osmótico até a concentração de 250 mM de NaCl, caracteriza a cv. BRS Piabiru com potencial de cultivo em solos sujeitos a salinização.

Palavras-chave: *Chenopodium quinoa*; halófitas; estresse salino; tolerância.

ABSTRACT

ÁVILA, Gabriele Espinel. **Physiological and biochemical responses of quinoa cv. BRS Piabiru cultivated under saline conditions**. 2015. 47f. Dissertation (Master degree) - Post-Graduation Program in Plant Physiology. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Classified as optional halophyte, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) is recognized for tolerate high levels of salinity. In Brazil, the cv. BRS Piabiru is the first recommended for grain production, providing an alternative for diversification of agricultural systems. However, studies on the adaptation of this variety in the state of Rio Grande do Sul, as well as the salinity conditions are still needed. Therefore, the objective of this study was to evaluate the physiological responses (pigments and gas exchange) and biochemical (antioxidant enzyme activity, hydrogen peroxide levels, lipid peroxidation, proline and osmotic potential) of quinoa plants cv. BRS Piabiru cultivated under saline conditions. The experiment was conducted in a greenhouse where the seeds were distributed in plastic pots filled with washed sand. After seven days of germination was supplied nutrient solution administered every four days and at day 30, the trimming was carried out, keeping four plants per pot. During this period the salt solutions have also been applied in the form of sodium chloride at concentrations of 100, 200, 300 and 400 mM, beyond which the control treatment plants were grown in the absence of salinity. The nutrient and saline solutions were applied interchangeably, every two days until the end of the experiment. At 30, 60 and 90 days after induction of treatments, the plants were evaluated for physiological and biochemical parameters (non-destructive and destructive analysis, respectively). Data were subjected to analysis of variance ($p \leq 0.05$), the averages compared by Tukey test at 5% error probability and analyzed by polynomial regression. There was reduction in chlorophyll content and nitrogen balance index and from 60 days, an increase in flavonoid content. During this period, net assimilation rate of CO₂ followed quadratic upward trend until the concentration of 250 mM and the conditions of water use efficiency and carboxylation efficiency increased linearly with increasing salinity. The antioxidant enzyme activity by the enzyme superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase showed that the salinity promoted adaptation and attempt to neutralize the reactive oxygen species produced during salt stress, both in shoots and in roots. There was an increase of osmotic potential in both organs 90 days after induction of treatment, however, the roots proline synthesis did not follow the same trend. Despite the reduction in levels of chlorophyll and nitrogen balance, there is maintenance of photosynthetic rate, that, associated with antioxidant capacity and osmotic adjustment, until the concentration of 250 mM of NaCl, featuring the cv. BRS Piabiru with growing potential subjects soil salinization.

Key words: *Chenopodium quinoa*; halophytes; salinity stress; tolerance.

Lista de Figuras

Figura 1. Plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas sob condições de salinidade.....**09**

Figura 2. Sistema de neutralização de EROs por meio da ação das enzimas antioxidantes Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX). Fonte: Modificado de Ceron – García et al., 2011.....**12**

Figura 3. Plantas de quinoa cv. BRS Piabiru aos 30 dias após aplicação dos tratamentos salinos.....**15**

Figura 4. Índice de clorofila (Chl) (A e B), índice de balanço de nitrogênio (NBI) (C e D) e índice de flavonoides (Flv) (E) em folhas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.....**21**

Figura 5. Taxa assimilatória líquida de CO₂ (A, A), condutância estomática (gS, B), taxa transpiratória (E, C), concentração interna de CO₂ (Ci, D), eficiência do uso da água (EUA, E) e eficiência de carboxilação (A/Ci, F) em plantas de quinoa aos 60 dias após aplicação de diferentes tratamentos salinos. ^{ns} não significativo.....**25**

Figura 6. Atividade das enzimas Superóxido dismutase (A), Ascorbato peroxidase (B e C) e Catalase (D) em folhas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} não significativo.....**27**

Figura 7. Conteúdo de H₂O₂ (A) e Peroxidação Lipídica (B e C) em folhas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} não significativo.....**29**

Figura 8. Atividade das enzimas Superóxido dismutase (A e B), Ascorbato peroxidase (C e D) e Catalase (E e F) em raízes de plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} não significativo.....**30**

Figura 9. Conteúdo de H₂O₂ (A e B) e Peroxidação Lipídica (C e D) em raízes de plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não

diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} não significativo.....**32**

Figura 10. Potencial osmótico (A) e teor de prolina (B) em folhas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. ^{ns} não significativo.....**34**

Figura 11. Potencial osmótico (A) e teor de prolina (B) em raízes de plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos.....**36**

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	07
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4. CONCLUSÃO	37
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1 INTRODUÇÃO

A quinoa é uma planta eudicotiledônea, botanicamente classificada como: subclasse *Dycotiledoneae*, grupo *Thalamiflorae*, ordem *Caryophyllales*, família *Chenopodiaceae*, gênero *Chenopodium*, espécie *Chenopodium quinoa* (BHARGAVA et al., 2005). O referido gênero é cultivado há séculos como hortaliça (*C. album*) e como fornecedor de grãos (*C. quinoa* e *C. album*) para o consumo humano e animal, em razão da sua elevada quantidade de proteína fornecendo aminoácidos essenciais de forma equilibrada, com destaque para lisina e metionina (KOZIOL, 1993). Sob o ponto de vista nutricional, a proteína apresenta qualidade elevada, comparada à caseína do leite (BENTO et al., 2012). Além disso, a ausência de proteínas formadoras de glúten torna os grãos da espécie opção de consumo a pessoas portadoras da doença celíaca (SAMPAIO et al., 2014).

As plantas de quinoa apresentam quantidades elevadas de minerais, como magnésio, zinco, cobre, ferro, manganês e potássio e seus grãos possuem teores de fibras maiores que os do arroz, trigo e milho. A planta é comumente referida como pseudocereal porque, apesar de não pertencer a família das gramíneas como os cereais tradicionais, possui sementes ricas em amido, as quais podem ser empregadas na fabricação de farinhas (BRADY et al., 2007). É também caracterizada por possuir notável equilíbrio de aminoácidos, reduzido nível de colesterol e ausência de glúten, sendo qualificada como o melhor alimento de origem vegetal para o consumo humano (SANTOS; SPEHAR, 2003). O ano de 2013 foi eleito pela FAO (Food and Agriculture Organization), como “Ano Internacional da Quinoa”, pelo potencial da espécie em desempenhar importante papel na erradicação da fome, da desnutrição e da pobreza (FAO, 2013). Aliado a esse fato, o mercado de alimentos funcionais tem apresentado elevado crescimento nos últimos anos em função do interesse do consumidor por alimentos capazes de conferir benefícios a saúde (ANNUNZIATA; VECCHIO, 2011).

A quinoa foi domesticada pelos povos habitantes da Cordilheira dos Andes, há milhares de anos (SPEHAR; SANTOS, 2002). Cultivada principalmente no Peru e na Bolívia há mais de 7.000 anos pelos pré-incas e incas, desenvolveu-se desde o norte da Colômbia até o sul do Chile, a partir do nível do mar até 4.000 m de altitude (MUJICA et al., 2000). Bolívia e Peru são os maiores exportadores, com 88% da produção mundial, seguidos pelos Estados Unidos, com 6% (ALMEIDA; SÁ, 2009). Tendo evoluído em condições climáticas extremas, a espécie adquiriu altos níveis de tolerância à situações adversas como geada, seca e salinidade do solo (SANCHEZ et al., 2003; TROGNITZ, 2003).

No Brasil, a quinoa foi introduzida pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), que através de programas de melhoramento genético, desenvolveu a variedade BRS Piabiru (LOPES, 2011) (Figura 1). A cultivar é a primeira recomendação de quinoa como cultivo granífero no país e constitui alternativa para diversificação dos sistemas de cultivo em plantio direto, podendo o grão ser utilizado pelas indústrias de alimentos e rações (SPEHAR, 2002). A planta inteira, como forragem na alimentação animal, pode integrar o sistema lavoura-pecuária (SPEHAR et al., 2003).



Figura 1. Plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas sob condições de salinidade.

A espécie é anual, com ciclo de aproximadamente 145 dias (SPEHAR, 2001). Após 30 dias da sementeira, o crescimento é rápido e algumas variedades podem atingir cerca de dois metros de altura. Nas fases iniciais do desenvolvimento, a planta assemelha-se fortemente ao espinafre e no período de maturação, produz panículas as quais remetem as produzidas por plantas de sorgo, com coloração variando entre roxo e amarelo (SPEHAR; SANTOS, 2002).

Atualmente, a quinoa tem sua sementeira dependente do cultivo de outras culturas de verão, tais como soja e milho, pois ainda é pouco difundida no Brasil, sendo uma cultura secundária dentro do processo produtivo (DE VASCONCELOS et al., 2012). O uso de cultivares precoces de soja como cultivo principal viabiliza a produção de quinoa, em sucessão, como safrinha na região do Paraná (SPEHAR; SANTOS, 2002). No país, a demanda é suprida pela importação, já que a área cultivada no Brasil ainda é pequena. Contudo, os preços atrativos no mercado tem aumentado o interesse de produtores e da indústria alimentícia (HENDGES, 2014).

No Rio Grande do Sul (RS), a cultivar poderia ser utilizada em sucessão ou rotação aos cultivos de verão, incrementando a renda do produtor, diversificando o sistema de produção, possibilitando ainda a otimização do uso do solo, especialmente em áreas afetadas pela salinização.

Atualmente, a salinização dos solos atinge cerca de 10% da superfície terrestre e aproximadamente 50% de toda área irrigada no mundo (RUAN et al., 2010). Este problema é ocasionado por ciclos sucessivos de encharcamento e evaporação (FÉLIX; DUARTE, 2005), especialmente em áreas tropicais, irrigadas e com drenagem inadequada (DE SOUZA FILHO et al., 2003). A gênese dos solos, originários de sedimentos costeiros, constitui outro fator capaz de favorecer a presença de altos níveis de sódio (CARMONA, 2011). Assim, as perdas globais anuais na produção agrícola são estimadas em aproximadamente US\$ 12 bilhões (QADIR et al., 2008; FLOWERS et al., 2010) pois a maioria das plantas cultivadas são sensíveis ao sal.

Além das perdas econômicas, há o fato de que a produção agrícola de alimentos precisará aumentar entre 50 e 70% até 2050 para coincidir com o crescimento populacional, projetado para atingir 9,3 bilhões de pessoas (BROWN; FUNK, 2008; RUAN et al., 2010; MILLAR; ROOTS, 2012). Assim, de acordo com a média histórica de produção, deveria haver incremento de 44 milhões de ton ano⁻¹ nos próximos 40 anos, ou seja elevação de 38%.

No Rio Grande do Sul, a água utilizada para irrigação das lavouras provém basicamente da Laguna dos Patos. Esta possui ligação com o Oceano Atlântico, sofrendo influência, em épocas de baixa pluviosidade, da entrada de água salina, acarretando no aumento da salinidade dos solos (CARMONA, 2011). Os sais se dissolvem na água de irrigação na forma de íons, sendo os mais comuns o cloreto de sódio (NaCl), sulfato de cálcio (CaSO₄), sulfato de magnésio (Mg SO₄) e o bicarbonato de sódio (NaHCO₃). Estes se dissociam como cátions e ânions. Os cátions mais comuns são o cálcio (Ca²⁺), magnésio (Mg²⁺) e sódio (Na⁺). Enquanto os ânions são cloreto (Cl⁻), sulfato (SO₄²⁻) e bicarbonato (HCO₃⁻) (GRATTAN et al., 2002).

As mudanças fisiológicas causadas às plantas pelos efeitos da salinidade incluem, inicialmente, a absorção de água e nutrientes e a permeabilidade das membranas. A água é osmoticamente retida em solução

salina, de forma que o aumento da concentração de sais a torna cada vez menos disponível para as plantas (RIBEIRO et al., 2001). Com o aumento da salinidade, ocorre a diminuição do potencial osmótico do solo e, conseqüentemente, queda no potencial hídrico dificultando a absorção de água pelas raízes, ocasionando a seca fisiológica (PRISCO et al., 1970; AMORIM et al., 2002). Em resposta à restrição hídrica, ocorre o fechamento estomático para redução da transpiração, em consequência, há diminuição das taxas fotossintéticas de incremento de biomassa e, portanto, de crescimento (FLOWERS, 2004; MUNNS; TESTER, 2008). Além disso, a salinidade causa degradação do conteúdo de clorofilas, resultando também em redução das taxas fotossintéticas e da produção de biomassa (KAYA et al., 2015).

A diminuição do potencial osmótico (Ψ_s) em resposta ao estresse hídrico é um mecanismo bem elucidado através do qual muitas plantas se ajustam às condições de seca. O acúmulo líquido de solutos permite a manutenção de processos dependentes de turgor sob condições de estresse hídrico (PATAKAS, 2002). Os osmoprotetores sintetizados em resposta a condições adversas incluem grande variedade de aminoácidos (ASHRAF, 2010). Estes solutos orgânicos compatíveis possuem baixo peso molecular, são altamente solúveis e não interferem negativamente no metabolismo da planta (ALONSO et al., 2001). Dentre os compostos orgânicos acumulados em plantas sob condições de estresse, encontra-se a prolina, aminoácido essencial, o qual possui função osmoprotetora, auxiliando na manutenção da integridade celular de proteínas, enzimas e membranas (ASHRAF et al., 2011). A prolina aumenta a osmolaridade celular (pressão de turgescência), fornecendo o turgor necessário para a expansão das células sob condições de estresse (MATYSIK et al., 2002).

De acordo com Apel; Hirt (2004), a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) constitui evento dinâmico durante o desenvolvimento vegetal, bem como resposta da planta a estresses bióticos e abióticos. Dentre as EROs encontram-se o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila (OH^{\cdot}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete (1O_2) (JALEEL et al., 2007). Contudo, quando há desequilíbrio entre a produção e a remoção dessas EROs, estas são potencialmente capazes de causar a peroxidação lipídica em membranas

celulares, danificação no DNA, desnaturação de proteínas, oxidação de carboidratos, inibição enzimática e morte celular programada (SCANDALIOS 1993; NOCTOR; FOYER 1998; ANDRADE, 2013).

A mitigação dos danos oxidativos causados por EROs ocorre por meio da ativação de enzimas antioxidantes, constituindo esta importante estratégia para aumentar a tolerância ao estresse (REDDY et al., 2015). O sistema de desintoxicação enzimático inclui enzimas como a Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) (GILL, 2010) (Figura 2). A SOD é a mais eficaz enzima antioxidante intracelular, estando presente em todos os compartimentos subcelulares propensos a estresse oxidativo mediado por EROs (GILL, 2010).

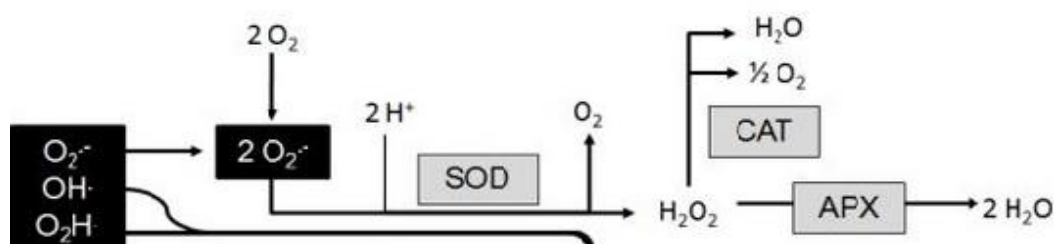


Figura 2. Sistema de neutralização de EROs por meio da ação das enzimas antioxidantes Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX). Fonte: Modificado de Ceron – García et al., 2011.

Contudo, para limitar o efeito do estresse salino, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa os quais permitem a atenuação dos efeitos prejudiciais da salinidade (XIONG et al., 2002; GUPTA; HUANG, 2014). Assim, a capacidade da planta em perceber o estímulo externo, gerar e transmitir sinais, iniciando mudanças bioquímicas e fisiológicas as quais ajustem seu metabolismo determinará sua sobrevivência (HASEGAWA et al., 2000).

A introdução de espécies halófitas, as quais são capazes de sobreviver e reproduzir sob concentrações salinas elevadas, constitui alternativa para o cultivo em solos afetados pela salinização (FLOWERS; COLMER, 2008). Estas plantas podem ser classificadas como halófitas obrigatórias ou facultativas. No primeiro grupo são encontradas espécies como *Suaeda maritima* e

Mesembryanthemum crystallinum, as quais exigem ambientes salinos para seu crescimento. No segundo grupo, encontram-se *Puccinellia maritima* e *Thellungiella halophila*, espécies que não necessitam de ambientes salinos mas possuem a capacidade de tolerar concentrações elevadas de sais (FLOWERS, 1972; GONG et al., 2005; GAO et al., 2006; AGARIE et al., 2007; WANG et al., 2011; GUO et al., 2012).

As plantas halófitas podem acumular íons nas partes aéreas, exibindo maior capacidade de sequestro vacuolar destes nas células foliares (TAIZ; ZEIGER, 2013). Assim, essas plantas exibem acentuada capacidade de tolerar um aumento do fluxo de Na^+ das raízes na corrente transpiratória (APSE; BLUMWALD, 2007).

Encontradas em cerca de 50% de todas as espécies halófitas, as glândulas de sal, presentes na superfície foliar, são estruturas únicas, as quais permitem a retenção de diversos compostos, como Na^+ , Cl^- e K^+ quando em excesso (FLOWERS; COLMER, 2008). Podem armazenar água e vários compostos metabólicos, tais como malato, flavonoides, cisteína, pinitol, inositol e cristais de oxalato de cálcio (ADAMS et al., 1992; AGARIE et al., 2007; JOU et al., 2007). São consideradas capazes de atuar como epiderme secundária, reduzindo a perda de água e protegendo as folhas do excesso de raios UV. A densidade dessas glândulas varia conforme a idade das folhas, sendo maior em folhas jovens (SHABALA et al., 2012).

Além de bem adaptadas a solos áridos e salinos, estas plantas são capazes de tolerar condições climáticas adversas, sendo utilizadas em programas de reabilitação de solos em várias regiões áridas e semi-áridas em processo de degradação ou sujeitas à desertificação (WATSON, 1990; GLENN et al., 1998). Ocorrem em diversas famílias de plantas, sendo dominante na família Chenopodiaceae (FLOWERS; COLMER, 2008). A quinoa tolera elevados níveis de salinidade, sendo portanto, classificada como halófito facultativa. Algumas variedades da espécie podem desenvolver-se sob concentrações de até 40 mS cm^{-1} (JACOBSEN, 2009).

Com base nisso, estudos relativos à adaptação da cultivar no estado do RS, bem como às condições de salinidade ainda são incipientes. A grande maioria das pesquisas relacionadas ao cultivo de quinoa cv. BRS Piabiru são

voltadas para a região do cerrado brasileiro. Dessa forma, o entendimento a cerca dos possíveis mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na tolerância de plantas de quinoa cv. BRS Piabiru a salinidade é de grande importância para a expansão da cultura no estado do RS, podendo ainda contribuir para o melhoramento genético de plantas sensíveis a essas condições de estresse. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações nos índices de pigmentos, trocas gasosas, atividade antioxidante e ajustamento osmótico da cultivar de quinoa BRS Piabiru frente à salinidade ao longo do seu ciclo de cultivo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e em laboratórios pertencentes à Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), município do Capão do Leão/RS, no período compreendido entre novembro de 2014 e março de 2015.

Como material vegetal foram utilizadas sementes de quinoa cultivar BRS Piabiru semeadas em vasos plásticos, com capacidade para três litros e preenchidos com areia lavada. Após sete dias da germinação teve início o fornecimento de solução nutritiva de Hoagland; Arnon (1950), ministrada a cada dois dias em volume equivalente a 50 mL por vaso. A irrigação, com água destilada, ocorreu conforme a necessidade. Aos 30 dias após a germinação foi realizado o desbaste, mantendo-se quatro plantas por vaso. Neste período também foi feita aplicação de soluções salinas, na forma de cloreto de sódio (NaCl), nas concentrações de 100 (T2), 200 (T3), 300 (T4) e 400 mM (T5), além do tratamento controle (T1), irrigado apenas com água destilada. A aplicação de soluções nutritiva e salinas foi realizada intercaladamente, a cada quatro dias, até o encerramento do experimento. Aos 30, 60 e 90 dias após

indução dos tratamentos salinos, as plantas foram avaliadas quanto a parâmetros fisiológicos (análises não destrutivas) e bioquímicos (a partir da coleta das plantas) (Figura 3).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 3 (tratamentos – T1, T2, T3, T4 e T5 x períodos de avaliação – 30, 60 e 90 dias) com três repetições do fator tratamento, sendo cada unidade experimental (repetição) composta por um vaso contendo quatro plantas. Em cada período de avaliação foram coletadas quatro plantas de três vasos por tratamento.

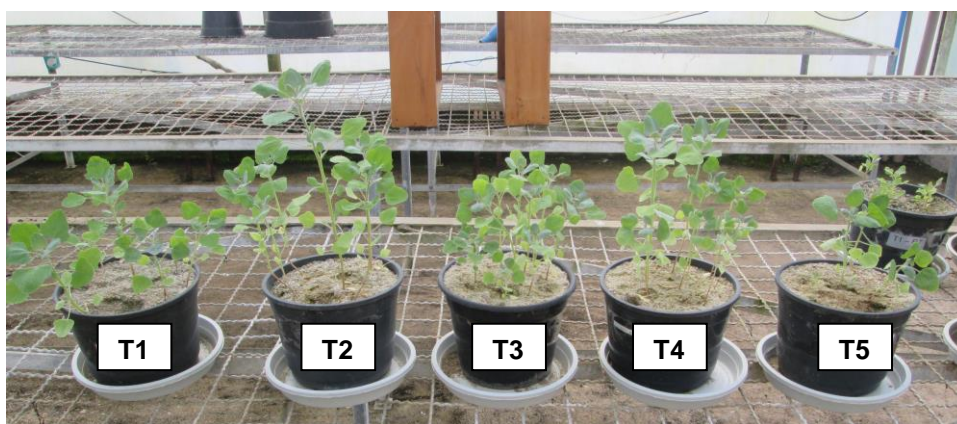


Figura 3. Plantas de quinoa cv. BRS Piabiru aos 30 dias após aplicação dos tratamentos salinos.

2.2. Análises Fisiológicas

2.2.1. Índice de clorofila, flavonoides, antocianinas e índice de balanço do nitrogênio (NBI)

O índice de clorofila (Chl), flavonoides (Flv), antocianinas e índice de balanço de nitrogênio (NBI) foram aferidos com auxílio de clorofilômetro (modelo Dualex FORCE-A, Orsay, France), a partir da média das leituras de duas plantas por vaso em três vasos por tratamento (12 por tratamento), em folhas do terço médio de cada planta. O índice de Flv é deduzido a partir de propriedades de absorção UV de flavonoides. Esta abordagem está relacionada à técnica de fluorescência utilizando dois comprimentos de onda

de excitação: no comprimento de onda de UV (375 nm), absorvido por flavonoides, localizados principalmente na epiderme; e no comprimento de onda de referência que passa através da epiderme, sem ser absorvido antes de atingir a clorofila no mesofilo. A relação entre Chl/Flv permite a estimativa do índice de NBI (ABDALLAH, 2012).

2.2.2. Trocas Gasosas

A avaliação de trocas gasosas foi realizada somente aos 60 dias (A2) após a indução dos tratamentos, a partir da média das leituras de duas plantas por vaso de três vasos por tratamento (12 por tratamento), entre 9 e 10 horas da manhã, em folhas do terço médio de cada planta, através do analisador portátil infravermelho de CO₂ modelo LI-6400XT (LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA), com densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativo de 1.200 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e concentração de CO₂ no interior da câmara de 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$. Foram mensuradas a taxa assimilatória líquida de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração intercelular de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Através dos valores de A , E e C_i foram calculadas a eficiência de uso da água (EUA) e de carboxilação (A/C_i), definidas pelas razões A/E e A/C_i , respectivamente.

2.3. Análises Bioquímicas

2.3.1. Atividade Enzimática

As análises enzimáticas foram determinadas a partir da maceração de 200 mg de tecido vegetal (folhas e raízes) na presença de polivinilpirrolidona (PVPP) e homogeneizado em 1,8 mL do tampão de extração composto por: fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM. Após centrifugação a 12.000g por 20 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi coletado. O extrato obtido foi utilizado para a quantificação das proteínas em espectrofotômetro a 595 nm pelo método de Bradford (1976)

e determinação da atividade específica das enzimas antioxidantes, descrita a seguir.

A atividade da Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O meio de reação, composto por fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, metionina 14 mM, EDTA 0,1 μ M, NBT 75 μ M, riboflavina 2 mM e amostra, foi iluminado por sete minutos, com lâmpada fluorescente de 20W. O controle, composto do mesmo meio de reação, não recebeu a amostra. O branco permaneceu no escuro. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da enzima feito pela equação: % DE INIBIÇÃO = $(A_{560} \text{ amostra com extrato enzimático} - A_{560} \text{ controle sem enzima}) / (A_{560} \text{ controle sem enzima})$. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio. Os resultados foram expressos em U mg^{-1} proteína.

A atividade da Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) foi determinada seguindo metodologia proposta por Nakano; Asada (1981), com monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm. O meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, ácido ascórbico 0,5 mM e H_2O_2 0,1 mM, foi incubado a 28°C. O decréscimo na absorbância foi observado por período de 1,5 minutos a partir do início da reação e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol ASA min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

A atividade da Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foi determinada conforme protocolo proposto por Azevedo et al. (1998). O extrato enzimático foi analisado pelo decréscimo na absorbância a 240 nm durante 1,5 minutos em meio de reação incubado a 34°C contendo tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 e H_2O_2 12,5 mM. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

2.3.2. Teores de Peróxido de Hidrogênio, Peroxidação Lipídica e Prolina

Para avaliação do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxidação lipídica foram macerados aproximadamente 300 mg de matéria fresca de folhas e raízes. O tampão de extração foi composto por ácido

tricloroacético (TCA) a 0,1%. O homogenato foi centrifugado a 12.000g, durante 20 minutos e o sobrenadante obtido, transferido para tubos de polipropileno de 2 mL.

A quantificação do peróxido de hidrogênio seguiu metodologia descrita por Velikova et al. (2000). Constituíram o meio de reação: 0,7 mL de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0), 1 mL de KI 1 M e 0,3 mL do sobrenadante coletado. Os tubos de ensaio foram levados a banho-maria a 30°C durante 10 minutos. As leituras ocorreram em espectrofotômetro a 390nm e a concentração de H₂O₂ expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$.

A peroxidação lipídica foi determinada por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, segundo Cakmak; Horst (1991). Foi adicionado ao sobrenadante 1 mL do meio de reação composto por 0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10 % (p/v) de TCA sendo posteriormente incubados a 90°C, por 20 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo por 10 minutos, logo após a retirada do meio de incubação. As amostras foram em seguida lidas em espectrofotômetro a 535nm e 600nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário dos processos de peroxidação. A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela equação: $[\text{MDA}] = (A_{535} - A_{600})/(\xi \cdot b)$, onde ξ : coeficiente de extinção = $1,56 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1}$, e b: comprimento ótico=1. A peroxidação foi expressa em $\mu\text{mol de MDA g}^{-1} \text{ MF}$.

A quantificação do aminoácido prolina foi determinada a partir da maceração de 200 mg de tecido foliar, seguindo metodologia proposta por Bates et al. (1973), com adição de 2 mL de ácido sulfossalicílico a 3%. O extrato obtido foi centrifugado por 10 minutos a 13.000g. Após, 1,0 mL do sobrenadante de cada amostra recebeu 2 mL de ninhidrina ácida, 2 mL de ácido acético glacial e 2 mL de água destilada. Posteriormente, as amostras foram levadas ao banho-maria a 100°C, onde permaneceram por 1 hora. Em seguida, os tubos foram resfriados. Sequencialmente, 4 mL de tolueno foram adicionados a cada amostra, sendo elas agitadas vigorosamente por 20 segundos, para a separação das fases. O sobrenadante foi aspirado da fase aquosa, e a leitura procedida em espectrofotômetro em comprimento de onda

de 520 nm. A concentração de prolina foi determinada usando-se a curva padrão, preparada com concentrações conhecidas de prolina: 0; 0,10; 0,25; 0,50; 1, 1,50 e 2 mg L⁻¹. Os valores obtidos foram expressos em mmol prolina g⁻¹ MF.

2.3.3 Potencial osmótico

O potencial osmótico foi determinado com auxílio de osmômetro de pressão de vapor modelo 5600 VAPRO (Wescor, Logan, Utah, EUA). Amostras foliares e radiculares de aproximadamente 700 mg foram maceradas em tubos de polipropileno com capacidade para 2 mL com auxílio de bastão de vidro. Posteriormente, o extrato obtido foi centrifugado a 12000g, a temperatura de 4°C durante 20 minutos. Utilizou-se alíquota de 10 µL para realização das leituras. Para conversão dos valores de mmol kg⁻¹ a potencial osmótico (Ψ_s), utilizou-se a equação de Van't Hoff em que $\Psi_s = -C \times 2,58 \times 10^{-3}$, na qual C é o valor de osmolalidade.

2.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro e analisados por regressão polinomial por meio do Programa Estatístico WinStat 1.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As clorofilas constituem indicador primordial do status fisiológico das plantas, sendo essenciais ao seu crescimento e adaptação aos mais variados ambientes (RÊGO; POSSAMAI, 2004). O NBI é um parâmetro que considera a relação entre o índice de clorofila e de flavonoides, possibilitando estimativa do estado nutricional do nitrogênio na planta (RABIER et al., 2014).

Para o índice de Chl e NBI das plantas de quinoa cv. Piabiru não foram observadas interações entre os fatores tratamento e período de avaliação

(Figuras 4A – 4D). Contudo, quando analisados isoladamente, apresentaram respostas significativas e similares para as variáveis em questão ($p < 0,05$). O menor índice de Chl foi expresso na concentração de 268,18 mM, com média estimada de 23,29. Já para o NBI, o ponto mínimo, com média estimada de 14,31 ocorreu com 259,48 mM de NaCl. Esse comportamento está associado ao fato das clorofilas possuírem correlação positiva com o nitrogênio (N) foliar, uma vez que 70% do N contido nas folhas está nos cloroplastos, participando da síntese e da estrutura das moléculas de clorofila (WOOD et al., 1993).

O aumento das concentrações salinas provocou tendência de redução na variável índice de clorofila (Figura 4A). Este resultado está de acordo com Geissler et al. (2015) ao estudarem o efeito da salinidade sobre o referido parâmetro em plantas de quinoa. Rajaravindran; Natarajan (2012) relataram decréscimo deste componente em plantas de *Sesuvium portulacastrum* a partir de concentrações de 600 mM de NaCl. De acordo com os mesmos autores, o decréscimo no índice de clorofilas pode estar relacionado a degradação da clorofila “a”, sendo esta mais sensível a salinidade em relação a clorofila “b”.

Para o fator período de avaliação, houve diferença significativa entre 30, 60 e 90 dias (Figura 4B) tanto para o índice de Chl quanto para o NBI, sendo as menores médias expressas aos 90 dias. Neste período, as plantas encontravam-se em 120 dias após a germinação, indicando finalização do ciclo da cultura. Os resultados obtidos no presente trabalho são corroborados por López-Fernandez et al. (2015) ao estudarem o efeito do tempo sobre a senescência em folhas de quinoa. Tais observações podem ser explicadas pela relação existente entre o conteúdo de Chl na folha com as respostas das plantas ao estresse e à senescência (LOBOS, 2012). Além disso, a redução do NBI pode ter ocorrido devido ao aumento da absorção e acúmulo de Cl^- nas plantas, acompanhado por decréscimo no teor de NO_3^- na parte aérea (DE OLIVEIRA BOSCO, 2009). Há relatos do efeito antagônico do cloreto sobre a absorção de nitrato (BAR et al., 1997).

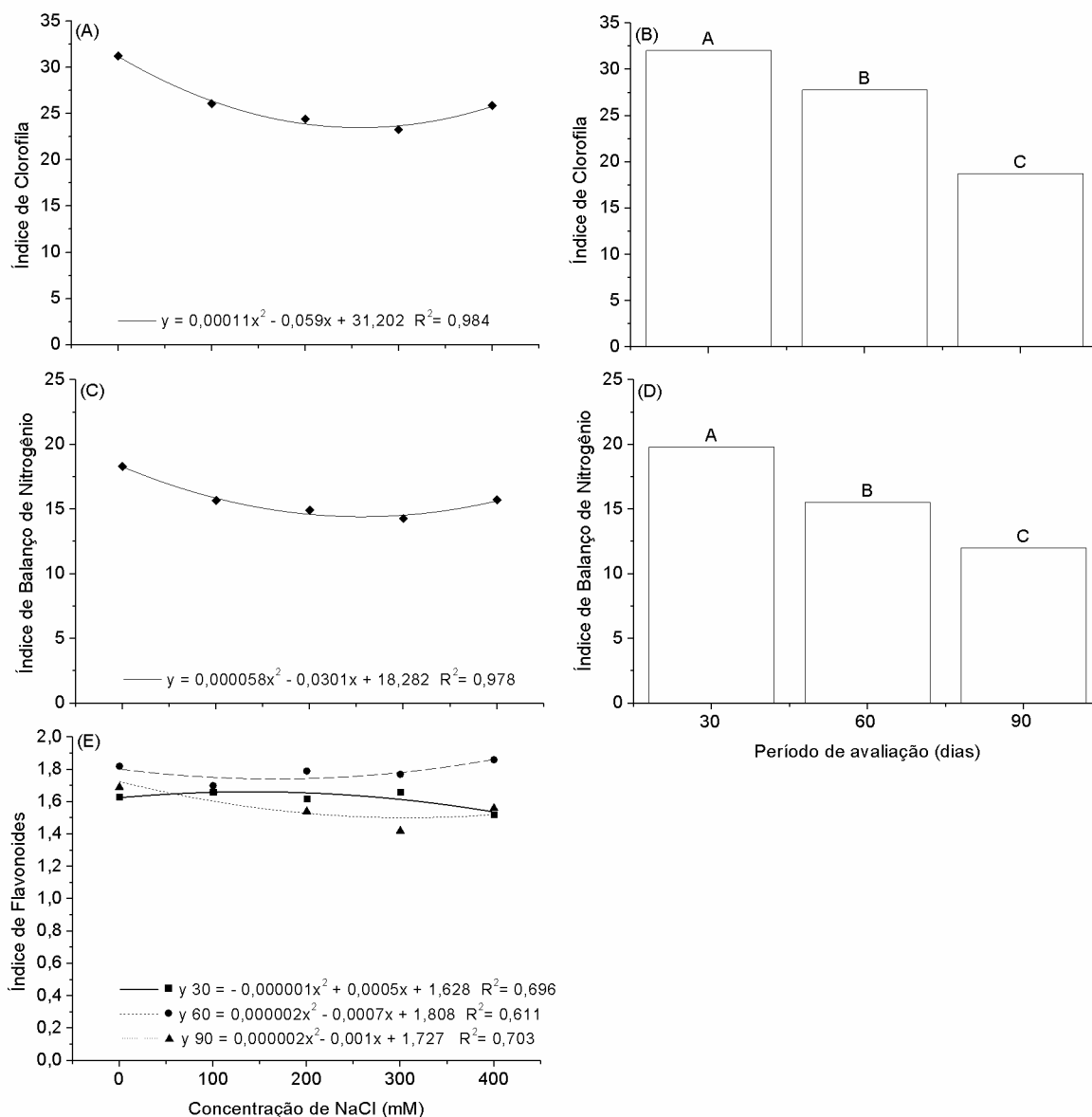


Figura 4. Índice de clorofila (Chl) (A e B), índice de balanço de nitrogênio (NBI) (C e D) e índice de flavonoides (Flv) (E) em folhas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Os flavonoides representam a maior classe de compostos fenólicos, possuem propriedades antioxidantes e a sua função em plantas está relacionada à resposta a estresses (TAIZ; ZEIGER, 2013). Para essa variável, houve interação entre fatores estudados ($p < 0,05$). Aos 30 dias do início da aplicação dos tratamentos, foi observada tendência quadrática de elevação no

índice de flavonoides até o valor de 1,69 na concentração de 250 mM, sendo observada posterior redução (Figura 4E).

Aos 60 e 90 dias também foi observada tendência quadrática porém com incremento destes compostos em resposta ao aumento da concentração salina. Nas referidas avaliações foram obtidas as mínimas de 1,74 e 1,60 para as concentrações de 175 e 250 mM, respectivamente. Além disso, aos 60 dias do início da aplicação dos tratamentos foram observadas as maiores médias. Ithal; Reddy (2004) afirmam que a expressão de genes *OsDfr* e *OsAns*, envolvidos na biossíntese de flavonoides em arroz, foram induzidos por seca, salinidade e ácido abscísico, sendo os flavonoides necessários na mitigação dos danos oxidativos ocasionados por condições de estresse.

No presente estudo foi constatada ausência de antocianinas. É provável que a pigmentação em plantas de quinoa seja governada por betalaínas. Segundo Gonçalves (2014), a ocorrência de betalaínas e antocianinas é mutuamente exclusiva e, portanto, a presença de uma classe elimina a possibilidade da ocorrência da outra. Além disso, a capacidade de sintetizar betalaínas foi observada somente em *Caryophyllales*, ordem a qual pertence a espécie estudada neste trabalho (GANDÍA-HERRERO; GARCÍA-CARMONA, 2013). Betalaínas são quimicamente definidas como derivadas de ácidos betalâmicos e consistem em duas subclasses: betacianinas, responsáveis pelos pigmentos vermelho - violeta e betaxantinas, promotores da pigmentação amarelo – alaranjada (DELGADO – VARGAS, 2000). Dessa forma, possivelmente ocorra acúmulo destes pigmentos nas glândulas de sal encontradas na superfície foliar, como relatado para a espécie *Mesembryanthemum crystallinum* e consequente ausência de antocianinas, seja essa resposta relacionada a presença de sal e/ou espécie específica (GERSHENZON, 1994; ADAMS et al., 1998; RIBEIRO et al., 2014). Assim, frente ao gasto energético para a síntese desses pigmentos, bem como o dispêndio de tempo, possuir os mesmos previamente armazenados pode garantir vantagens à planta sob condições de estresse (GERSHENZON, 1994). Além disso, diversos autores tem relatado o papel das betalaínas como potentes antioxidantes, bem como fotoprotetoras dos cloroplastos (HILOU et al., 2013; JAIN et al., 2015; TAIRA et al., 2015). Wang et al. (2008) relataram

haver envolvimento de betalainas no aumento da tolerância à salinidade na espécie halófito *Suaeda salsa*. Os autores observaram aumento na atividade da ATPase vacuolar, as quais são capazes de transportar Na^+ para o vacúolo, bem como no acúmulo de betacianinas. Wang et al. (2008) sugeriram então que a biossíntese de betacianinas estimularia a atividade das ATPases vacuolares.

O estado funcional do aparato fotossintético é um indicador fisiológico para o estudo da sensibilidade das plantas a estresses abióticos, tais como salinidade (LIU et al., 2010; MEHTA et al., 2010). A avaliação de trocas gasosas ocorreu somente aos 60 dias, pois na primeira avaliação as plantas ainda apresentavam folhas demasiadamente pequenas e aos 90 dias, estas encontravam-se em processo de senescência. A taxa de assimilação líquida de CO_2 seguiu tendência quadrática de elevação até a concentração de 250 mM, com a média de 14,28. Foi observado declínio nesta variável nas condições mais severas de salinidade aos 60 dias de aplicação dos tratamentos salinos (Figura 5A). Padrão similar a assimilação líquida de CO_2 foi observado para as variáveis condutância estomática e taxa transpiratória (Figuras 5B e 5C). Estes resultados estão de acordo com Amjad et al. (2014).

No presente trabalho, para a variável concentração interna de CO_2 , foi observada tendência linear de redução com o aumento da concentração de sal (Figura 5D). O aumento da salinidade reduz o potencial osmótico do solo, dificultando a absorção de água pelas raízes (AMORIM et al., 2002). Nessas condições, ocorre redução da concentração intercelular de CO_2 , em razão do controle da abertura dos estômatos (Figura 5D). Assim, também ocorre a diminuição da condutância estomática que é um componente de fundamental importância na manutenção da turgescência em resposta a decréscimos no potencial hídrico das plantas (CARNEIRO, 2011). Todavia, quando o estômato se fecha para proteger a planta da perda de água, ele, simultaneamente, restringe a difusão do CO_2 atmosférico e, conseqüentemente, provoca queda na taxa fotossintética (DAMATTA, 2003).

A manutenção da capacidade fotossintética, mesmo sob as condições de salinidade reportadas no presente trabalho, pode estar relacionada a expressão de proteínas CP24, envolvidas na proteção do fotossistema II (FS

II). Além disso, pode ter ocorrido aumento no conteúdo de sulfolipídeos, bem como a modificação do perfil de ácidos graxos de sulfoquinovosildiacilglicerol (SQDG), conhecidos como protetores do FSII. Estas alterações foram relatadas por Ramani et al. (2004) estudando o comportamento das halófitas *Aster tripolium* e *Sesuvium portulacastrum* sob condições de salinidade.

Para as variáveis eficiência do uso da água (*EUA*) e eficiência de carboxilação foi observada tendência linear crescente com o aumento da concentração salina (Figuras 5E e 5F). Sobre condições salinidade as plantas de quinoa podem reduzir a densidade estomática, controlando assim a transpiração e otimizando, desta forma, a *EUA* (ORSINI et al., 2011; SHABALA et al., 2012). Além disso, os resultados obtidos podem ser explicados pelo incremento na produção de ácido abscísico, hormônio responsável pela sinalização e fechamento estomático. Como supracitado, aos 60 dias, foram observadas as maiores médias para o índice de flavonoides (Figura 4E), sendo estes compostos também induzidos pela síntese de ABA.

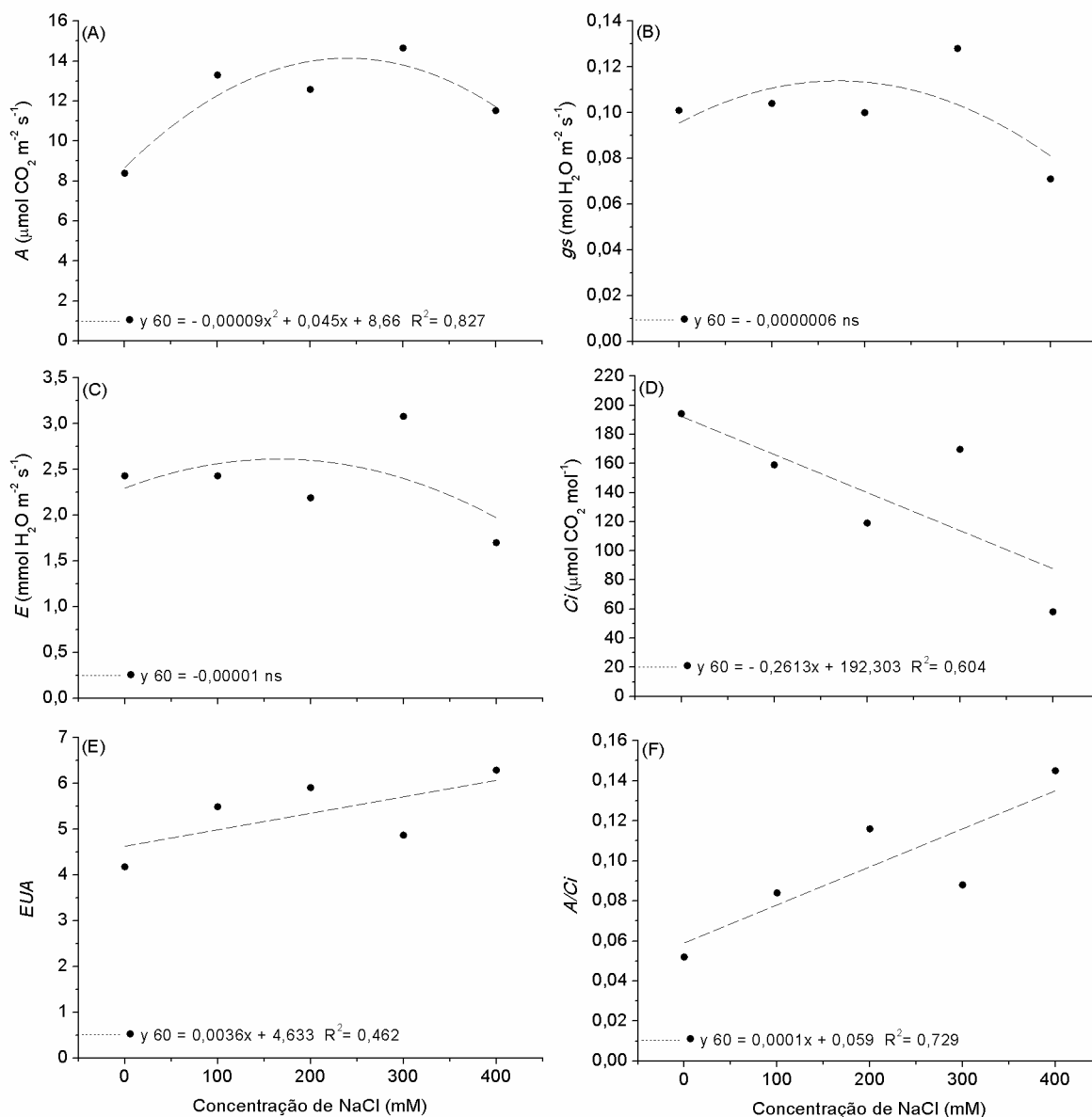


Figura 5. Taxa assimilatória líquida de CO₂ (A , A), condutância estomática (g_s , B), taxa transpiratória (E , C), concentração interna de CO₂ (C_i , D), eficiência do uso da água (EUA , E) e eficiência de carboxilação (A/C_i , F) em plantas de quinoa aos 60 dias após aplicação de diferentes tratamentos salinos. ^{ns} não significativo.

Durante condições de estresse, ocorre o aumento da produção de espécies reativas ao oxigênio (EROs) (FOYER; NOCTOR, 2005), as quais, podem ser vistas tanto como indicadores celulares de estresse, como mensageiros secundários envolvidos na via de transdução de sinais na resposta ao estresse (MITTLER, 2002). As EROs são neutralizadas por um

grupo de enzimas antioxidantes. A SOD é a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos causados por níveis elevados do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (GILL, 2010), catalisando-o em H_2O_2 e O_2 (ASADA, 2006; FEDOROFF, 2006; LI et al., 2010). O H_2O_2 produzido é também citotóxico para as plantas, devendo ser subsequentemente catalisado por enzimas como APX, GR e CAT (VENKATESAN; SRIDEVI, 2009; FARHOUDI et al., 2012).

A SOD constitui importante defesa primária das células contra os radicais superóxido gerados sob condições de estresse. Assim, o aumento em sua atividade é conhecido por conferir tolerância ao estresse oxidativo (JALEEL et al., 2007). No presente trabalho, para a atividade dessa enzima nos tecidos foliares, foi observada interação entre os fatores tratamento e período de avaliação (Figura 6A) ($p < 0,05$). Aos 30 e 60 dias, a atividade da SOD seguiu tendência de aumento linear crescente com a elevação das concentrações salinas. Aos 90 dias foi verificada tendência quadrática na atividade da enzima, sendo a máxima atividade de 140,03 obtida na concentração de 205,38 mM.

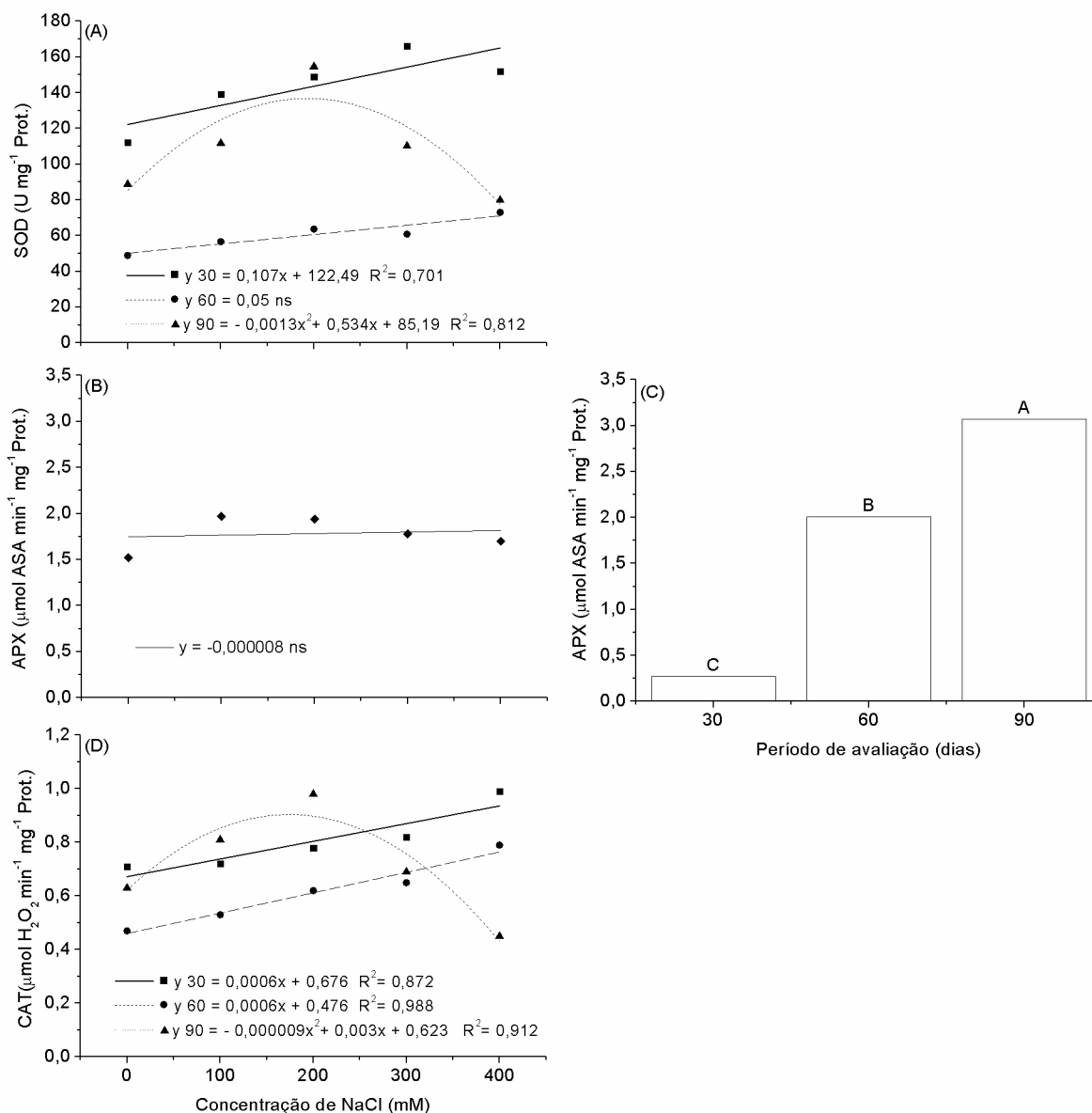


Figura 6. Atividade das enzimas Superóxido dismutase (A), Ascorbato peroxidase (B e C) e Catalase (D) em folhas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} não significativo.

Nos tecidos foliares, não houve interação entre os fatores para a variável atividade da APX ($p > 0,05$). De acordo com a análise de regressão, não foi observada diferença na atividade da enzima para o fator tratamento (Figura 5B). Já para a variável período de avaliação, houve aumento significativo e gradual na atividade da APX com o aumento do período avaliado ($p < 0,05$) (Figura 6C).

A atividade da enzima CAT seguiu padrão semelhante ao relatado para a SOD (Figura 6D) ($p < 0,05$). Aos 30 e 60 dias, tendências lineares crescentes foram observadas no padrão de atividade e aos 90 dias, elevação máxima da atividade, atingindo 0,872 na concentração de 166,66 mM com posterior queda.

A partir do aumento observado na atividade das enzimas, é possível inferir que ocorreu adaptação e tentativa de neutralização das EROS produzidas durante o estresse salino. Os comportamentos similares da SOD e da CAT podem ser justificados pela necessidade de remoção do H_2O_2 produzido pela atividade da SOD (CARNEIRO, 2011).

A CAT tem uma baixa afinidade pelo H_2O_2 , sendo ativa somente quando este está em altas concentrações, ou seja, quando o estresse é mais severo. Já a APX e outras peroxidases, que também eliminam o H_2O_2 , apresenta alta afinidade, eliminando o H_2O_2 mesmo quando em baixas concentrações. Contudo, a menor atividade da APX aos 30 dias quando comparada a da CAT indica ter sido esta última a principal via de remoção do H_2O_2 na referida avaliação.

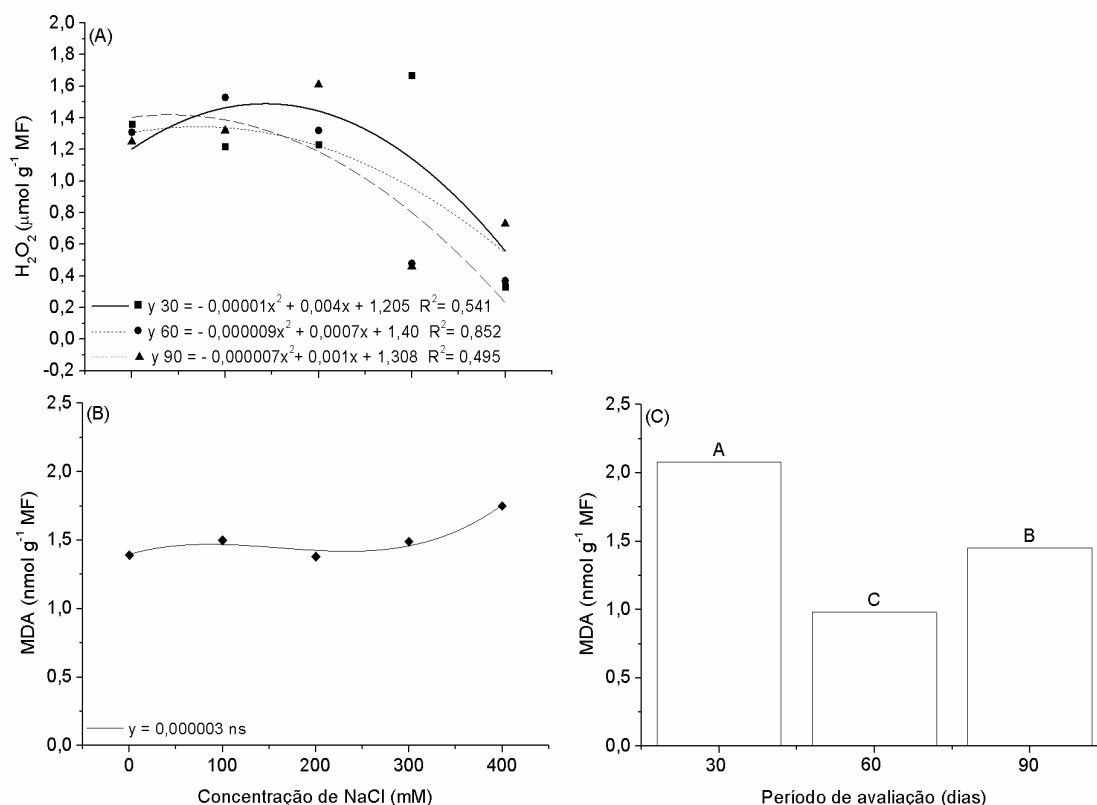


Figura 7. Conteúdo de H₂O₂ (A) e Peroxidação Lipídica (B e C) em folhas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} não significativo.

Para a variável conteúdo de H₂O₂, nos tecidos foliares, foi observada interação entre os fatores período de avaliação e tratamento, sendo que aos 30, 60 e 90 dias foi observado comportamento semelhante (Figura 7A) ($p < 0,05$). As máximas para os períodos de avaliação ocorreram nas concentrações de 200 mM (30), 38,88 mM (60) e 71,42 (90) e as respectivas médias para a variável foram 1,60; 1,41 e 1,34.

Já para peroxidação lipídica, parâmetro este baseado na formação de MDA, não ocorreu interação entre fatores ($p > 0,05$). De acordo com a análise de regressão, não houve diferença significativa entre os tratamentos, embora tenha sido observado ligeiro incremento na produção do referido composto com o aumento da salinidade (Figura 7B). Este comportamento é corroborado por Ozghur et al. (2013) os quais, analisando espécies halófitas em condições de salinidade, reportaram aumentos nos níveis de MDA somente a partir da aplicação de 150 mM de NaCl.

Em relação ao fator período de avaliação, todos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$). No primeiro período de avaliação (30), foram observadas as maiores médias, decaindo para as menores aos 60 dias. Aos 90 dias, houve pequeno incremento na síntese de MDA.

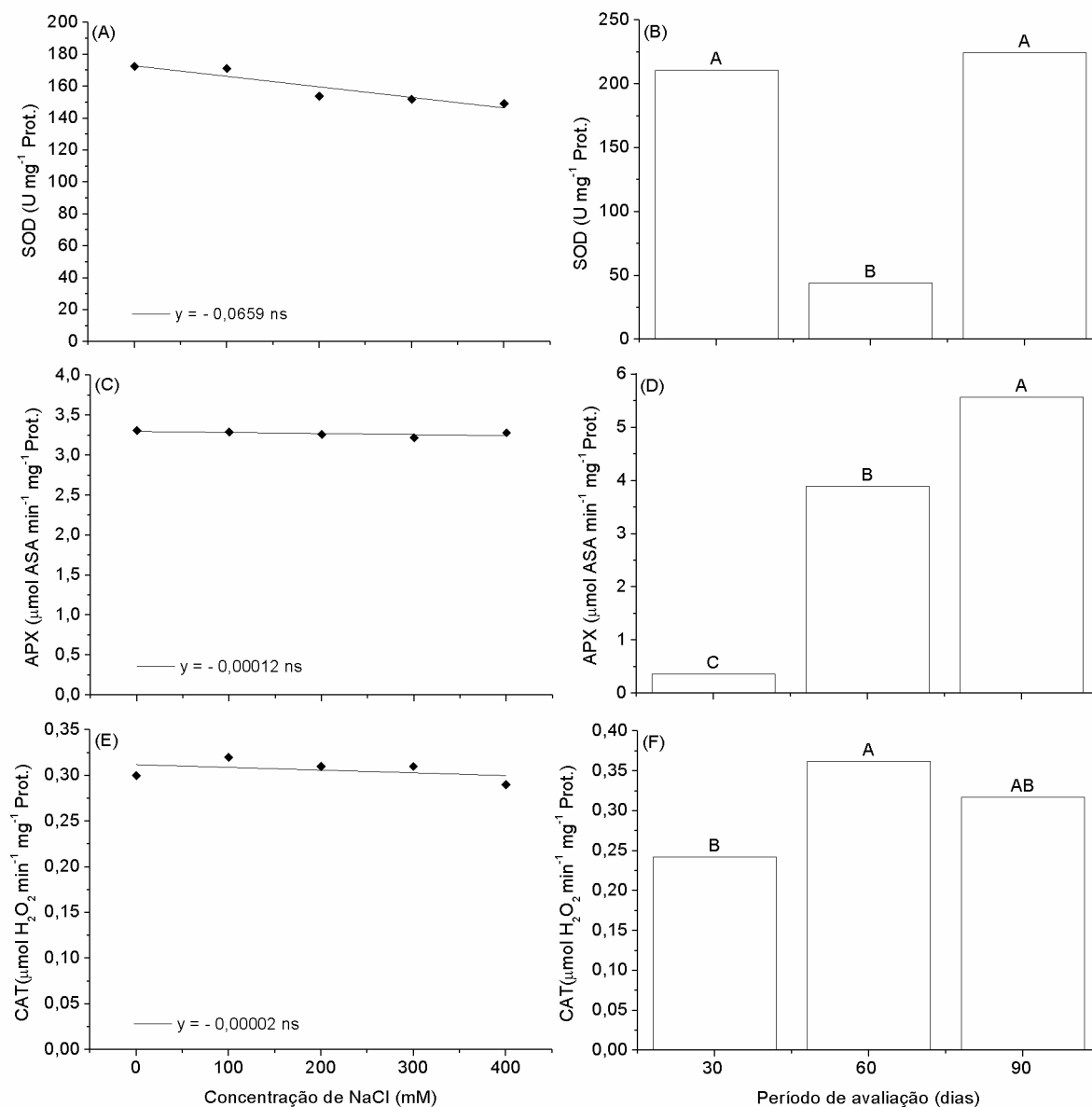


Figura 8. Atividade das enzimas Superóxido dismutase (A e B), Ascorbato peroxidase (C e D) e Catalase (E e F) em raízes de plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} não significativo.

Nos tecidos radiculares, não foi observada interação entre tratamento e período de avaliação sobre a atividade das enzimas do sistema antioxidante

(Figura 8) ($p>0,05$). De acordo com a análise de regressão para o fator tratamento é possível verificar comportamento semelhante nas atividades da SOD, APX e CAT, onde as concentrações salinas não promoveram diferenças significativas sobre o comportamento das referidas enzimas (Figuras 8A, 8C e 8E) ($p>0,05$).

Ao estudar o efeito isolado do período de avaliação na atividade da enzima SOD nas raízes, aos 60 dias foram verificadas as menores médias quando comparados aos demais períodos. Entretanto, nesta mesma avaliação foi obtida a maior média do conteúdo de H_2O_2 (Figura 9B). De acordo com Alscher et al. (2002) e Jithesh et al. (2006) diferentes isoformas da enzima podem ser ativadas durante a adaptação ao estresse. E ainda, segundo Ozgur et al. (2013), algumas espécies de plantas halófitas podem sintetizar novas isoformas de SOD durante o estresse salino, sendo o surgimento delas dependente da duração do período de estresse bem como do estágio de desenvolvimento das plantas. Portanto, neste trabalho infere-se a ocorrência da ativação de determinada isoforma desta enzima.

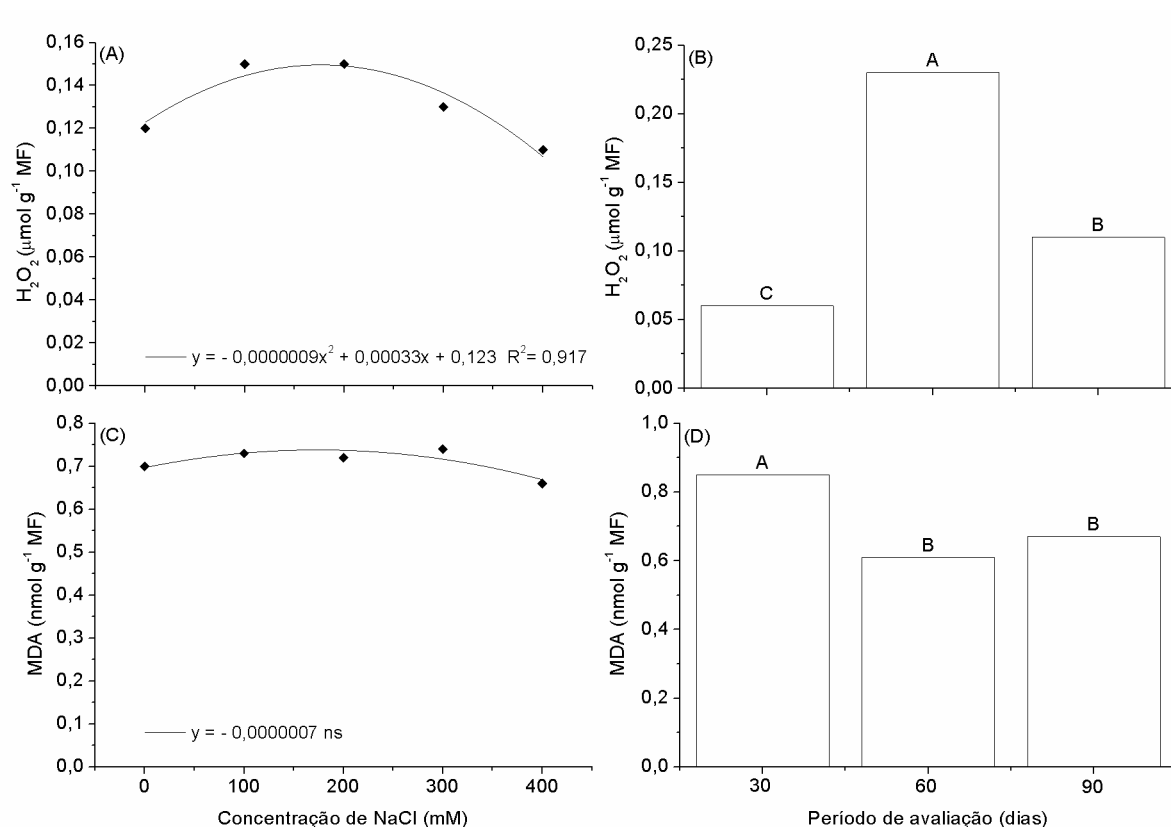


Figura 9. Conteúdo de H₂O₂ (A e B) e Peroxidação Lipídica (C e D) em raízes de plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} não significativo.

Para as variáveis H₂O₂ e peroxidação lipídica, nos tecidos radiculares, não ocorreu interação entre os fatores tratamento e período de avaliação ($p > 0,05$) (Figura 9). Foi observada tendência quadrática de elevação nos teores de H₂O₂ para o fator tratamento com ponto de máxima de 0,15 na concentração de 183,33 mM (Figura 9A). Segundo Kaur et al. (2014), a aclimação a condições de estresse é obtida pela manutenção de níveis baixos de H₂O₂, o que foi observado para esse fator. Contudo, na análise do fator período de avaliação foram observados resultados adversos, com as maiores médias expressas no segundo período de avaliação, diferindo das demais (Figura 9B). O decréscimo apresentado no terceiro período de avaliação pode ser explicado pela elevação da atividade da APX no referido período. O principal papel da CAT é degradar o H₂O₂ em H₂O e O₂, sendo indispensável para desintoxicação das EROs durante condições de estresse

(WILLEKENS, 1997). Esta enzima localiza-se principalmente nos peroxissomos, contudo, podem ocorrer isoformas mitocondriais (JITESH et al., 2006). Frente ao fato de que, em raízes, as mitocôndrias constituem a principal fonte de EROS, aos 90 dias, o período de exposição das plantas ao estresse pode ter induzido a expressão de isoformas da CAT mitocondrial pois nesta avaliação houve redução dos teores de H_2O_2 (RHOADS et al., 2006).

O malondialdeído (MDA) é um produto secundário do processo de peroxidação, e o seu acúmulo é frequentemente, utilizado como indicador de estresse oxidativo (DEL RIO et al., 2005). A peroxidação lipídica, segundo a análise de regressão para a variável tratamento, não apresentou diferença entre as concentrações salinas utilizadas (Figura 9C) ($p > 0,05$). Já para o fator período de avaliação foi observada diferença entre os períodos, onde raízes apresentaram as maiores médias nos danos membranares no primeiro período de avaliação, manifestando redução nos períodos posteriores (Figura 9D). Este fato pode estar relacionado a maior expressão de genes *SOS1* e *NHX1*, responsáveis pelo transporte de Na^+ para fora da célula e para dentro do vacúolo, respectivamente (TAIZ; ZEIGER, 2013). A tolerância a salinidade é regida por diversos fatores complexos e dentre os genes expressos menos de 25% dos genes regulados por sal são específicos de estresse salino (MA et al., 2006).

Nos resultados das variáveis Ψ_s e teor de prolina nos tecidos foliares foi observada interação entre os fatores tratamento e época de avaliação (Figuras 10A e 10B) ($p < 0,05$). O Ψ_s considera o efeito dos solutos dissolvidos sobre o potencial hídrico, sendo, portanto, medida do estado hídrico das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

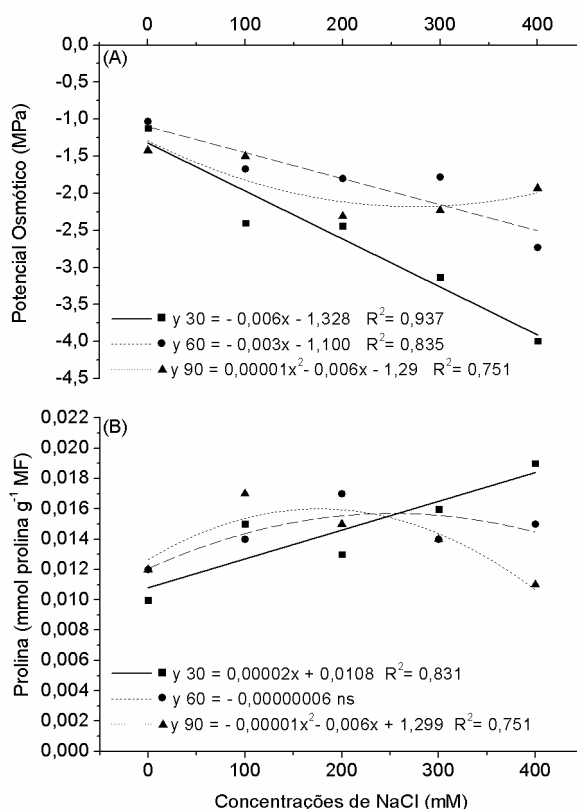


Figura 10. Potencial osmótico (A) e teor de prolina (B) em folhas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos. ^{ns} não significativo.

O ajuste osmótico promove redução do potencial osmótico pelo aumento líquido de solutos intracelulares, sendo mecanismo adaptativo de muitas culturas a diversos tipos de estresse. Pode ser obtido pela síntese de novo de solutos compatíveis, como osmólitos orgânicos, ou pelo acúmulo de íons inorgânicos (ADOLF et al., 2012).

Na função de osmólito compatível, ocorre o acúmulo de prolina livre para preservar o metabolismo celular sob condições adversas, sendo este o aminoácido mais pesquisado nas respostas dos vegetais superiores aos estresses abióticos (GIANNAKOULA et al., 2008).

Na primeira avaliação, foi observada tendência similar para as variáveis Ψ_s e teor de prolina em folhas de quinoa, indicando o papel deste aminoácido no ajuste osmótico. Contudo, a síntese de prolina em plantas de quinoa pode responder por apenas 3% do ajuste osmótico realizado (RUFFINO et al., 2010). Entretanto, a presença de aminoácidos livres desempenha papel indireto na manutenção do ajuste osmótico. Aos 60 e 90 dias foram observadas tendências quadráticas. No segundo período de avaliação, embora não

significativa, a síntese de prolina apresentou comportamento semelhante à avaliação realizada aos 90 dias.

No último período de avaliação, o ponto mínimo foi observado na concentração de 300 mM, com - 2,19 MPa de Ψ_s e o máximo, foi observado em 150 mM para o teor de prolina de 0,015 mmol prolina g^{-1} MF.

O ajuste osmótico permite a manutenção da turgescência, que por sua vez contribui para que as plantas mantenham processos tais como abertura estomática (FOX, 1984).

De acordo com Reddy et al. (2015), a prolina é capaz de proteger as clorofilas *a* e *b* contra os danos induzidos pela salinidade. Este fato pode explicar a obtenção da máxima taxa de assimilação líquida de CO_2 ter ocorrido na concentração de 250 mM.

Segundo Hariadi et al. (2011), estudando plantas de quinoa, foi demonstrado que até 95% do ajuste osmótico nas folhas mais velhas e 80-85% em folhas jovens foi obtido por meio do acúmulo de íons inorgânicos (Na^+ , K^+ e Cl^-) nas plantas tratadas com NaCl as concentrações dentro da faixa de 0-500 mM (\sim 0-50 dS m^{-1}). Em plantas de quinoa, o acúmulo de Na^+ constitui opção de baixo custo energético para a planta na realização do ajuste osmótico. Para manutenção de razão balanceada entre K^+ e Na^+ , neste caso, o aumento na captação do Na^+ precisa ser acompanhado pela elevação na absorção de K^+ . Segundo Ruffino et al. (2010), as plântulas de quinoa são capazes de manter elevadas concentrações de K^+ em seus cotilédones, sendo esta capacidade mantida em estágios posteriores (CUIN et al., 2009; ADOLF, 2012).

Para as variáveis Ψ_s e teor de prolina em raízes foi observada interação entre os fatores tratamento e época de avaliação (Figuras 11A e 11B) ($p < 0,05$). O Ψ_s apresentou comportamento semelhante aos 30, 60 e 90 dias com recuperação gradual a cada período de avaliação. Para os três, o ponto mínimo de ajuste osmótico foi obtido na concentração de 250 mM, com as médias de - 0,58, - 0,36 e - 0,31 MPa.

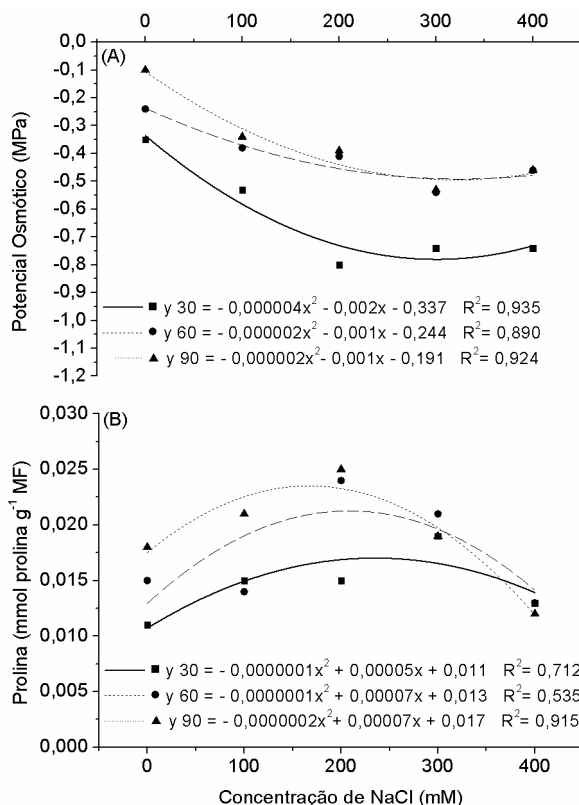


Figura 11. Potencial osmótico (A) e teor de prolina (B) em raízes de plantas de quinoa cv. BRS Piabiru cultivadas por 30, 60 e 90 dias sob diferentes tratamentos salinos.

O teor máximo de prolina aos 30 dias foi obtido na concentração de 250 mM, com 0,017 mmol prolina g⁻¹ MF. Já no segundo período de avaliação, a máxima foi observada em 350 mM, com 0,025 mmol prolina g⁻¹ MF. Aos 90 dias, a máxima foi obtida na metade da concentração observada aos 60 dias, com 175 mM e 0,022 mmol prolina g⁻¹ MF. O acúmulo de prolina ocorre devido ao aumento na expressão e atividade das enzimas de síntese (Δ -pirrolina-5-carboxilato sintetase, P5CS; redutase Δ -pirrolina-5-carboxilato de etilo, P5CR) ou pela diminuição das enzimas de degradação, prolina desidrogenase ou prolina oxidase (PDH ou POX), e P5C desidrogenase (P5CDH) (HUANG et al., 2013). Diversos estudos demonstram ser a super-expressão do gene *P5CS* responsável por aumentar a síntese de prolina, conferindo tolerância à salinidade em plantas transgênicas (KISHOR; SREENIVASULU, 2014).

É provável que aos 30 e 90 dias, nas raízes, tenha ocorrido outro mecanismo de ajuste osmótico, pois o teor de prolina nas referidas avaliações foi inversamente proporcional ao Ψ_s . Rorat (2006) relatou a presença de

desidrinas em raízes de quinoa como adaptação ao déficit hídrico induzido pela salinidade. As desidrinas integram o conjunto de genes *COR* e suas proteínas são sintetizadas durante situações de desidratação celular, o que ocorre durante estágios de desenvolvimento ou em resposta a estímulos ambientais, tais como baixas temperaturas, perda de água ou alta salinidade (KURBIDAEVA; NOVOKRESHCHENOVA, 2011).

Rajaravindran; Natarajan (2012), estudando o comportamento de *Sesuvium portulacastrum* sob diferentes concentrações de NaCl relataram maiores teores de prolina livre em tecidos foliares em relação as raízes. Este fato não observado no presente trabalho, pois as médias para esta variável nas diferentes regiões da planta foram semelhantes.

4 CONCLUSÃO

A salinidade na água de irrigação influencia o metabolismo das plantas de quinoa cv. BRS Piabiru. Ocorre redução no índice de Chl e NBI, e, a partir de 60 dias da indução dos tratamentos, há incremento no índice de flavonoides.

A salinidade influencia negativamente a taxa assimilatória líquida de CO₂, a partir da concentração de 250 mM, contudo as variáveis *EUA* e *A/Ci* aumentam linearmente com o incremento da concentração salina.

A análise da atividade enzimática demonstra que a salinidade promove adaptação e tentativa de neutralização das EROS produzidas durante o estresse salino, tanto na parte aérea quanto em raízes.

Há aumento no Ψ_s nos tecidos foliares e radiculares aos 90 dias após aplicação dos tratamentos, contudo, nas raízes a síntese de prolina não segue a mesma tendência, indicando a presença de outros mecanismos capazes de realizar o ajuste osmótico.

REFERÊNCIAS

ABDALLAH, F. B.; GOFFART, J. P. **Potential indicators based on leaf flavonoids content for the evaluation of potato crop nitrogen status.** in: 11th ICPA Indianapolis Mi USA: pp. 1-18 (Mx) 2012.

ADAMS, C. J. et al. Evidence from U–Pb zircon and $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ muscovite detrital mineral ages in metasediments for movement of the Torlesse suspect terrane around the eastern margin of Gondwanaland. **Terra Nova**, v. 10, n. 4, p. 183-189, 1998.

ADAMS, P. et al. Distinct cellular and organismic responses to salt stress. **Plant and Cell Physiology**, v. 33, n. 8, p. 1215-1223, 1992.

ADOLF, V. I. et al. Varietal differences of quinoa's tolerance to saline conditions. **Plant and Soil**, v. 357, n. 1-2, p. 117-129, 2012.

AGARIE, S. et al. Salt tolerance, salt accumulation, and ionic homeostasis in an epidermal bladder-cell-less mutant of the common ice plant *Mesembryanthemum crystallinum*. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 8, p. 1957-1967, 2007.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 372, p. 1331-1341, 2002.

ALMEIDA, S. G.; SÁ, WILDEMARA, A. C. Amarantho (*Amaranthus* spp) e quinoa (*Chenopodium quinoa*) alimentos alternativos para doentes Celíacos. **Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 13, n. 1, p. 77-92, 2009.

ALONSO, R. et al. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. **Plant, cell & environment**, v. 24, n. 9, p. 905-916, 2001.

AMJAD, M. et al. Integrating role of ethylene and ABA in tomato plants adaptation to salt stress. **Scientia Horticulturae**, v. 172, p. 109-116, 2014.

ANDRADE, Cínthia Aparecida. O papel do peróxido de hidrogênio na tolerância de soja (*Glycine max*) ao alagamento. 2013.

ANNUNZIATA, A.; VECCHIO, R. Factors affecting italian consumer attitudes toward functional foods. **Journal of Agrobiotechnology Management & economics**, v.14, n.1, p. 20- 32, 2011.

APEL, K; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

APSE, M. P.; BLUMWALD, E. Na^+ transport in plants. **FEBS letters**, v. 581, n. 12, p. 2247-2254, 2007.

ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant physiology**, v. 141, n. 2, p. 391-396, 2006.

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: recent advances. **Biotechnology advances**, v. 28, n. 1, p. 169-183, 2010.

ASHRAF, M. et al. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in agronomy**, 2011.

AZEVEDO, R.A et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v.104, p.280-292, 1998.

BAR, Y. et al. Relationship between chloride and nitrate and its effect on growth and mineral composition of avocado and citrus plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 20, n. 06, p. 715-731, 1997.

BATES, L. S. et al. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil, The Hague**, v.39, p.205-207, 1973.

BENTO, Rafaela Suzuki; SCAPIM, Mônica Regina da Silva; AMBROSIO-UGRI, Miriam Carla Bonicontro. Desenvolvimento e caracterização de bebida achocolatada à base de extrato hidrossolúvel de quinoa e de arroz. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, n. 2, p. 317-323, 2012.

BHARGAVA, B. L.; BALASUBRAMANIAN, S. Dynamics in a room-temperature ionic liquid: A computer simulation study of 1, 3-dimethylimidazolium chloride. **The Journal of chemical physics**, v. 123, n. 14, p. 1445, 2005.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRADY, K. et al. Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa. **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1209-1216, 2007.

BROWN, M. E.; FUNK, C. C. Food security under climate change. 2008.

CAKMAK, I; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxido dismutase, catalase, and peroxidases activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, n.3, p. 463-468, 1991.

CARMONA, Felipe de Campos. **Salinidade da água e do solo e sua influência sobre o arroz irrigado**. 2011. 132f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

CARNEIRO, Marília Mércia Lima Carvalho. **Trocas gasosas e metabolismo antioxidativo em plantas de girassol em resposta ao déficit hídrico**. 2011.

43f. Dissertação (Mestre em Ciências - Programa de Pós Graduação em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

CERON-GARCIA, A. et al. Oligoglucan Elicitor effects during plant oxidative stress. **Edited by Paula Bubulya**, p. 1, 2011.

CUIN, T. A. et al. Ionic relations and osmotic adjustment in durum and bread wheat under saline conditions. **Functional Plant Biology**, v. 36, n. 12, p. 1110-1119, 2009.

DAMATTA, F. M. et al. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. **Plant Science**, v. 164, n. 1, p. 111-117, 2003.

DE ARAÚJO AMORIM, J. R. et al. Efeito da salinidade e modo de aplicação da água de irrigação no crescimento e produção de alho. **Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília**, v. 37, n. 2, p. 167-176, 2002.

DELGADO - VARGAS, F. et al. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000.

DE OLIVEIRA BOSCO, M. R. et al. Influência do estresse salino na composição mineral da berinjela. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 02, p. 157-164, 2009.

DE VASCONCELOS, F. S. et al. Desenvolvimento e produtividade de quinoa semeada em diferentes datas no período safrinha. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 510-515, 2012.

DEL RIO, D. et al. Review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 15, p.316–328. 2005.

DE SOUZA FILHO, G. A. et al. Accumulation of SALT protein in rice plants as a response to environmental stresses. **Plant Science**, v. 164, n. 4, p. 623-628, 2003.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**.2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/>>. Acesso em: 22 Mai. 2015.

FARHOUDI, R. et al. Modulation of enzymatic antioxidants improves the salinity resistance in canola (*Brassica napus*). **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 14, n. 3, p. 465-468, 2012.

FEDOROFF, N. Redox regulatory mechanisms in cellular stress responses. **Annals of Botany**, v. 98, n. 2, p. 289-300, 2006.

FÉLIX, J.M.; DUARTE, R. Estresse salino em arroz. Acessado em: 20 jun. 2015. Disponível em: <<http://www.cafe.cbmeg.unicamp.br/>>.

FLOWERS, T. J. Salt Tolerance in *Suaeda maritima* (L.) Dum. The effect of sodium chloride on growth, respiration, and soluble enzymes in a comparative study with *Pisum sativum* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 23, n. 2, p. 310-321, 1972.

FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental botany**, v. 55, n. 396, p. 307-319, 2004.

FLOWERS, T. J.; COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 945-963, 2008.

FLOWERS, T. J. et al. Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants. **Functional Plant Biology**, v. 37, n. 7, p. 604-612, 2010.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: A re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant Cell & Environment**, v. 28, 1056-1070, 2005.

FOX, T. C.; GEIGER, D. R. Effects of decreased net carbon exchange on carbohydrate metabolism in sugar beet source leaves. **Plant physiology**, v. 76, n. 3, p. 763-768, 1984.

GAO, F. et al. Cloning of an H⁺-PPase gene from *Thellungiella halophila* and its heterologous expression to improve tobacco salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 12, p. 3259-3270, 2006.

GANDÍA-HERRERO, F.; GARCÍA-CARMONA, F. Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. **Trends in plant science**, v. 18, n. 6, p. 334-343, 2013.

GEISSLER, N. et al. Elevated atmospheric CO₂ concentration leads to different salt resistance mechanisms in a C3 (*Chenopodium quinoa*) and a C4 (*Atriplex nummularia*) halophyte. **Environmental and Experimental Botany**, v. 118, p. 67-77, 2015.

GERSHENZON, J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 6, p. 1281-1328, 1994.

GIANNAKOULA, A. et al. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. **Journal of plant physiology**, v. 165, n. 4, p. 385-396, 2008.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

GILL, S. S.; NARENDRA, T. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, p. 909-930, 2010.

GLENN, E. et al. Water use, productivity and forage quality of the halophyte *Atriplex nummularia* grown on saline waste water in a desert environment. **Journal of Arid Environments**, v.38, p.45-62, 1998.

GONÇALVES, L. C. P. et al. Betalaínas: das Cores das Beterrabas à Fluorescência das Flores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 292-309, 2014.

GONG, Q. et al. Salinity stress adaptation competence in the extremophile *Thellungiella halophila* in comparison with its relative *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 44, n. 5, p. 826-839, 2005.

GRATTAN, S. et al. Rice is more sensitive to salinity than previously thought. **California Agriculture**, v. 56, n. 6, p. 189-198, 2002.

GUO, J. et al. Properties of the Acceleration Regions in Several Loop-structured Solar Flares. **The Astrophysical Journal**, v. 755, n. 1, p. 32, 2012.

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

HARIADI, Y. et al. Ionic and osmotic relations in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants grown at various salinity levels. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 1, p. 185-193, 2011.

HASEGAWA, P. M. et al. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual review of plant biology**, v. 51, n. 1, p. 463-499, 2000.

HENDGES, Diogo Henrique. **Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto**. 2014. 93f. Tese (Doutorado em Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

HILOU, A. et al. Betacyanins are the most relevant antioxidant molecules of *Amaranthus spinosus* and *Boerhavia erecta*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 11, p. 645-652, 2013.

HOAGLAND D.R.; ARNON, D. I. **The waterculture method for growing plants without soil**. Berkeley: Agric. Exp. Stn., Univ. of California, 1950.

HUANG, Z. et al. Salt stress encourages proline accumulation by regulating proline biosynthesis and degradation in Jerusalem Artichoke plantlets, 2013.

ITHAL, N.; REDDY, A. R. Rice flavonoid pathway genes, OsDfr and OsAns, are induced by dehydration, high salt and ABA, and contain stress responsive promoter elements that interact with the transcription activator, OsC1-MYB. **Plant science**, v. 166, n. 6, p. 1505-1513, 2004.

JACOBSEN, S.-E. et al. Does root-sourced ABA play a role for regulation of stomata under drought in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Scientia Horticulturae**, v. 122, n. 2, p. 281-287, 2009.

JAIN, G.; GOULD, K. S. Are betalain pigments the functional homologues of anthocyanins in plants?. **Environmental and Experimental Botany**, v. 119, p. 48-53, 2015.

JALEEL, M. et al. LRRK2 phosphorylates moesin at threonine-558: characterization of how Parkinson's disease mutants affect kinase activity. **Biochemistry Journal**, v. 405, p. 307-317, 2007.

JITHESH, M. N. et al. Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. **Journal of genetics**, v. 85, n. 3, p. 237-254, 2006.

JOU, Y. Vacuolar acidity, protein profile, and crystal composition of epidermal bladder cells of the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*. **Functional plant biology**, v. 34, n. 4, p. 353-359, 2007.

KAUR, G. et al. Versatile roles of plant NADPH oxidases and emerging concepts. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 3, p. 551-563, 2014.

KAYA, C. et al. Exogenously applied nitric oxide confers tolerance to salinity-induced oxidative stress in two maize (*Zea mays* L.) cultivars differing in salinity tolerance. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, p. 39, 2015.

KISHOR, K. et al. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue?. **Plant, cell & environment**, v. 37, n. 2, p. 300-311, 2014.

KOZIOL, M. J. Quinoa: a potential new oil crop. **New crops. Wiley, New York**, p. 328-336, 1993.

KURBIDAEVA, A. S.; NOVOKRESHCHENOVA, M. G. Genetic control of plant resistance to cold. **Russian Journal of Genetics**, v. 47, n. 6, p. 646-661, 2011.

LI, G. et al. Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. **Industrial crops and products**, v. 31, n. 1, p. 13-19, 2010.

LIU, B. Uncertain risk analysis and uncertain reliability analysis. **Journal of Uncertain Systems**, v. 4, n. 3, p. 163-170, 2010.

LOBOS, G. A. et al. Spectral irradiance, gas exchange characteristics and leaf traits of *Vaccinium corymbosum* L. "Elliott" grown under photo selective nets. **Environ Exp Bot**, vol. 75, p. 142–149, 2012.

LOPES, Cristiane de Oliveira. **Composição química e influência do consumo de farinhas de quinoa (*Chenopodium quinoa*) processadas nos níveis glicêmicos e lipídêmicos de ratos wistar**. 2011. 152 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, M. P. et al. Cellular and molecular aspects of quinoa leaf senescence. **Plant Science**, v. 238, p. 178-187, 2015.

MA, S. et al. Dissecting salt stress pathways. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 5, p. 1097-1107, 2006.

MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. WinStat – Sistema de Análise Estatística para Windows versão 1.0. Universidade Federal de Pelotas, 2007.

MATYSIK, J. et al. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. **Current Science**, v. 82, n. 5, p. 525-532, 2002.

MEHTA, P. et al. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). **Photosynthesis research**, v. 105, n. 3, p. 249-255, 2010.

MILLAR, J.; ROOTS, J. Changes in Australian agriculture and land use: implications for future food security. **International journal of agricultural sustainability**, v. 10, n. 1, p. 25-39, 2012.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MUJICA, V. et al. Molecular wire conductance: Electrostatic potential spatial profile. **The Journal of Chemical Physics**, v. 112, n. 15, p. 6834-6839, 2000.

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

NAKANO, Y.; ASADA, K. hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, n.5, p.867-880, 1981.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Biology**, v. 49, n. 1, p. 249-279, 1998.

ORSINI, F. et al. Beyond the ionic and osmotic response to salinity in *Chenopodium quinoa*: functional elements of successful halophytism. **Functional Plant Biology**, v. 38, n. 10, p. 818-831, 2011.

OZGUR, R. et al. Reactive oxygen species regulation and antioxidant defence in halophytes. **Functional Plant Biology**, v. 40, n. 9, p. 832-847, 2013.

PATAKAS, A. et al. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. **Plant Science**, v. 163, n. 2, p. 361-367, 2002.

PRISCO, J. T. et al. Osmotic and toxic effects of salinity on germination of *Phaseolus vulgaris* L. seeds. **Turrialba**, v. 20, n. 2, p. 177-84, 1970.

QADIR, M. et al. Productivity enhancement of salt-affected environments through crop diversification. **Land Degradation and Development**, v. 19, n. 4, p. 429, 2008.

RABIER, J. et al. Heavy metal and arsenic resistance of the halophyte *Atriplex halimus* L. along a gradient of contamination in a French Mediterranean spray zone. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, n. 7, p. 1-16, 2014.

RAJARAVINDRAN, M.; NATARAJAN, S. Effects of salinity stress on growth and biochemical constituents of the halophyte *Sesuvium portulacastrum*. **International Journal of Research in Biological Sciences**, v. 2, p. 18-25, 2012.

RAMANI, B. et al. Quantification and fatty acid profiles of sulfolipids in two halophytes and a glycophyte grown under different salt concentrations. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 59, n. 11-12, p. 835-842, 2004.

REDDY, P. S. et al. Proline over-accumulation alleviates salt stress and protects photosynthetic and antioxidant enzyme activities in transgenic sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Plant Physiology and Biochemistry**, 2015.

RÊGO, G.M.; POSSAMAI, E. Avaliação dos teores de clorofila no crescimento de mudas de Jequitibá-Rosa (*Cariniana legalis*). Comunicado Técnico 128, Colombo, PR, EMBRAPA, Dezembro, 2004.

RHOADS, D. M. et al. Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 357-366, 2006.

RIBEIRO, M. C. C. et al. Efeito da salinidade na germinação de sementes de quatro cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 281-284, 2001.

RIBEIRO, M. V. et al. Betacyanin and antioxidant system in tolerance to salt stress in *Alternanthera philoxeroides*. **Agrociencia**, v. 48, n. 2, p. 199-210, 2014.

RORAT, T. Plant dehydrins - tissue location, structure and function. **Cellular & molecular biology letters**, v. 11, n. 4, p. 536-556, 2006.

RUAN, C.-J. et al. Halophyte improvement for a salinized world. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 29, n. 6, p. 329-359, 2010.

RUFFINO, A. M. C. et al. The role of cotyledon metabolism in the establishment of quinoa (*Chenopodium quinoa*) seedlings growing under salinity. **Plant and Soil**, v. 326, n. 1-2, p. 213-224, 2010.

SAMPAIO, V. T. Análise da composição centesimal, do valor calórico total da quinua real (*Chenopodium quinoa* Willd.) e seu perfil de ácidos graxos. **Revista Educação-UnG**, v. 9, n. 2 ESP, p. 66, 2014.

SANCHEZ, H; BOSQUE et al. Ecophysiological analysis of drought and salinity stress of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Food Reviews International**, v. 19, n. 1-2, p. 111-119, 2003.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant physiology**, v. 101, n. 1, p. 7, 1993.

SHABALA, L. et al. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia plantarum**, v. 146, n. 1, p. 26-38, 2012.

SPEHAR, C. R. **Piaburu: a quinoa brasileira que chegou para diversificar a safrinha**. Disponível em: <<http://www.clubedofazendeiro.com.br/Cietec/artigos/ArtigosTexto.asp?Codigo=82>>. 2001.

SPEHAR, C.R.; SANTOS, R.L.B. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) BRS PIABIRU: alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.6, p.889-893, 2002.

SPEHAR, C. R. Morphological differences between *Amaranthus cruentus*, cv. BRS Alegria, and the weed species *A. hybridus*, *A. retroflexus*, *A. viridis* and *A. spinosus*. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 481-485, 2003.

TAIRA, J. et al. Antioxidant capacity of betacyanins as radical scavengers for peroxy radical and nitric oxide. **Food chemistry**, v. 166, p. 531-536, 2015.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. Respostas e Adaptações ao Estresse Abiótico. In: _____. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artimed, 2013. p.763 - 780.

TROGNITZ, B. R. Prospects of breeding quinoa for tolerance to abiotic stress. **Food Reviews International**, v. 19, n. 1-2, p. 129-137, 2003.

VELIKOVA, V. et al. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. **Plant Science**, v.151, p.59-66, 2000.

VENKATESAN, A. et al. Response of antioxidant metabolism to NaCl stress in the halophyte *Salicornia brachiata* Roxb. **Journal of Phytology**, v. 1, n. 4, p. 242-248, 2009.

XIONG, L. et al. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. **The plant cell**, v. 14, n. suppl 1, p. S165-S183, 2002.

WANG, C.-Q. et al. Enhanced tonoplast H⁺-ATPase activity and superoxide dismutase activity in the halophyte *Suaeda salsa* containing high level of betacyanin. **Journal of plant growth regulation**, v. 27, n. 1, p. 58-67, 2008.

WANG, W. et al. Mangroves: obligate or facultative halophytes? A review. **Trees**, v. 25, n. 6, p. 953-963, 2011.

WATSON, M. C. *Atriplex* species as irrigated forage crops. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 32, n. 1, p. 107-118, 1990.

WILLEKENS, H. et al. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. **The EMBO journal**, v. 16, n. 16, p. 4806-4816, 1997.

WOOD, C. W. et al. Relationships between chlorophyll meter readings and leaf chlorophyll concentration, N status, and crop yield: a review. In: **Proc Agron Soc NZ**. 1993. p. 1-9.