



LERMEN FORIGUA ACOSTA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÔMICOS
DE *Crambe abyssinica* Hochst SUBMETIDA À
SALINIDADE**

LAVRAS - MG

2017

LERMEN FORIGUA ACOSTA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÔMICOS DE *Crambe abyssinica*
Hochst SUBMETIDA À SALINIDADE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Fernanda Carlota Nery

LAVRAS-MG

2017

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo próprio autor.

Forigua Acosta, Lermen.

Aspectos fisiológicos e anatômicos de *Crambe abyssinica*
Hochst submetida à salinidade / Lermen Forigua Acosta. - 2017.
52 p. : il.

Orientadora: Fernanda Carlota Nery.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Crambe. 2. Salinidade. 3. Sistema antioxidante. I. Nery,
Fernanda Carlota. . II. Título.

LERMEN FORIGUA ACOSTA

ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÔMICOS DE *Crambe abyssinica*

Hochst SUBMETIDA À SALINIDADE

PHYSIOLOGICAL AND ANATOMICAL ASPECTS OF *Crambe*

***abyssinica* Hochst UNDER SALINITY CONDITIONS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 23 de fevereiro de 2017.

Dra. Vanessa Cristina Stein UFSJ

Dr. Diogo Pedrosa Corrêa da Silva UFLA

Dra. Fernanda Carlota Nery

Orientadora

LAVRAS - MG

2017

*Faith in God may rest upon other insights...
including the beauties of nature.*

Frank B Salisbury

AGRADECIMENTOS

Quero estabelecer meu profundo agradecimento a Deus, por me encaminhar no mestrado e fazer possível esse projeto.

À minha família, pelo apoio constante.

À Universidade Federal de Lavras.

À minha orientadora, a Prof^a Doutora Fernanda, muito obrigado pelas orientações e valiosos ensinamentos.

A todos os professores do setor de Fisiologia vegetal.

Uma longa lista de amigos setor de Fisiologia vegetal, Rapha e Rafa, Débora e Débora, Rodrigo, Lucas, Tanhan, Odorencio, Joel, Fábio, Adnane, nos Departamentos de Sementes, de Solos e de Agricultura e a todas as pessoas que, de uma forma ou outra, contribuíram para fazer possível o trabalho.

Finalmente, agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo fornecimento da bolsa de estudo.

RESUMO

A salinidade é o principal fator abiótico que afeta as culturas, tendo origem em práticas inadequadas e não sustentáveis do uso do solo, da água de irrigação e em fenômenos naturais. Em geral, a vegetação é afetada por alterações nesse ambiente, no entanto, algumas espécies apresentam adaptações ao solo salino em maior ou menor grau, sendo necessário estudar essas espécies para conhecer as potencialidades e limitações do seu ajuste a este ambiente. *Crambe abyssinica* é uma planta que tem chamado a atenção dos agricultores por seu potencial para geração de óleo com diversos fins industriais, entre outros usos, mas até o momento pouca informação tem sido gerada sobre sua adaptação a solos salinos. Dessa forma, objetivou-se uma compreensão dos efeitos da salinidade sobre a fisiologia e anatomia de plantas de *Crambe abyssinica* examinando algumas variáveis fisiológicas relatadas com a tolerância da planta. Para isso, plantas de Crambe da variedade FMS Brilhante foram submetidas a quatro condições de salinidade induzidas com cloreto de sódio no solo, reportando condutividades elétricas de 802, 961, 1374 e 1788 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (CE 1:1), constituindo os tratamentos, tendo como controle solo sem tratamento de cloreto de sódio, e foram realizadas análises de crescimento, enzimas do metabolismo antioxidante nos três estados fenológicos da planta e da anatomia da folha. As análises de crescimento proporcionaram informação sobre as mudanças na altura, na biomassa e no rendimento da cultura, o tratamento com maior salinidade teve uma diminuição na altura de 32% com relação ao controle. As análises das enzimas dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e catalase (CAT) foram avaliadas no intuito de compreender as respostas do sistema antioxidante de plantas de Crambe submetidas a diferentes níveis de salinidade no solo, encontrando aumentos nas atividades enzimáticas junto com os níveis de salinidade, em geral a maior atividade foi encontrada nos tratamentos de 1374 e 1788 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, os aumentos foram associados à resposta bioquímica da planta para poder neutralizar as espécies reativas de oxigênio geradas como consequência dos níveis de salinidade avaliados, já as variáveis de anatomia deram como resultado que a salinidade modifica a densidade e a formato dos estômatos. Pode se concluir que a variedade FMS Brilhante tem tolerância a salinidade no tratamento de 1374 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (CE 1:1) o que não aconteceu com o maior nível de salinidade onde foi obtida uma queda na produção de 75,6%.

Palavras-chave: Crambe. Salinidade. Sistema antioxidante.

ABSTRACT

Salinity has the first place on the abiotic factors that affect the cultures, it has origin on inappropriate and unsustainable soil and irrigation water management and on natural processes, on general terms vegetations is affected by alterations on that media, however some species show adaptations to those environments, to at a lesser or greater extent, being necessary to study those species in order to know their potentialities and limitations according to their adjustment to saline environments. *Crambe abyssinica* is a plant which has called the agriculturists interest because of its oil production potential with many industrial uses and other plant utilities, but little information has been generated about its adaptation to saline soils. In this way was established the objective to understand the salinity effects about the *crambe abyssinica* physiology and anatomy measuring some physiological variables related to the plant tolerance. Accordingly *crambe* plants of the variety "Brilhante" were subjected to four salinity conditions induced on the soil with sodium chloride, resulting on electrical conductivities of 802, 961, 1374 e 1788 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (CE_{1:1}), which constituted the treatments, the control treatments was established as soil without sodium chloride treatment, and were made growth analysis, antioxidant enzyme tests on the three plant phenological stages and leaf anatomy. The growth analyses gave information about changes on the height, biomass and yield, the treatment with the highest salinity level had a 32% height decrease compared with the control. The enzymatic analysis: superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT), were evaluated in order to understand the *crambe* antioxidant system responses to different salinity levels on the soil, the results showed an increase in the enzymatic activities along with the salinity levels, in general terms the major activity registers were found at 1374 e 1788 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, these increases were associated with the biochemical plant responses as a result of the salinity levels tested, also the anatomy variables gave as a result that salinity modifies the stomata density and format. Can be concluded that variety FMS Brilhante has salinity tolerance at 1374 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (CE_{1:1}), which did not happen with the highest salinity level, were obtained a 75.6 % production drop.

Keywords: *Crambe*. Salinity. Antioxidant system.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Planta de <i>Crambe abyssinica</i>	14
Figura 2	Plantas de <i>Crambe abyssinica</i> correspondentes a cada um dos tratamentos de salinidade avaliados.	28
Figura 3	Análise de crescimento de plantas de <i>Crambe abyssinica</i> submetidas à salinidade.....	30
Figura 4	Atividade da enzima dismutase do superóxido (SOD) em plantas de <i>C. abyssinica</i> , em dois estádios fenológicos, sob diferentes níveis de salinidade.....	34
Figura 5	Atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) em plantas de <i>C. abyssinica</i> , em dois estádios fenológicos, sob diferentes níveis de salinidade.....	37
Figura 6	Atividade da enzima catalase (CAT) em plantas de <i>C. abyssinica</i> , em dois estádios fenológicos, sob diferentes níveis de salinidade.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Determinação dos estádios fenológicos de coleta de material vegetal para análise da atividade enzimática.....	25
Tabela 2	Valores médios da densidade estomática (Número de estômatos /mm ²) na superfície epidérmica adaxial e abaxial, diâmetro polar (DP) adaxial e abaxial, diâmetro equatorial (DE) adaxial e abaxial e razão DP/DE adaxial e abaxial de folhas jovens de plantas de <i>C. abyssinica</i> sob estresse salino.....	41
Tabela 3	Cortes paradérmicos de folhas de plantas de <i>C. abyssinica</i> , submetidas a diferentes níveis de salinidade, o tratamento controle corresponde à condutividade de 271 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1	Descrição da espécie.....	13
2.2	Importância econômica	15
2.3	Efeitos da salinidade sobre a cultura de crambe	18
2.4	Alterações anatômicas das plantas submetidas à salinidade	21
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1	Localização e características da área experimental.....	23
3.2	Material vegetal e condições de cultivo	23
3.3	Delineamento experimental e processamento estatístico	24
3.4	Avaliação de crescimento e produção de grãos de plantas de crambe submetidas à salinidade	24
3.5	Atividade das enzimas do metabolismo antioxidante	25
3.6	Avaliações anatômicas de plantas de crambe submetidas à salinidade.....	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1	Análise de crescimento	28
4.2	Análise das atividades enzimáticas.....	33
4.3	Anatomia.....	40
5	CONCLUSÕES.....	43
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

O estudo da utilização de vegetação em solos salinos tem chamado atenção dos cientistas porque a salinização é um problema que vem aumentando significativamente. No ano 2001, estimou-se que, no mundo, 12 milhões de hectares de solo irrigado teriam deixado de ser produtivos devido a esse processo (HORNEY et al., 2005; NELSON; MAREIDA, 2001). Hoje, os solos salinos no mundo são recursos com importância para a agricultura porque entre os fatores abióticos que afetam as culturas, a salinidade é o principal (LI et al., 2016; NEGRÃO; SCHMÖCKEL; TESTER, 2017), principalmente devido à diminuição de áreas para cultivo.

A absorção de água pela planta é limitada pela salinização, e os íons sódio e cloro afetam o metabolismo e a eficiência fotossintética, prejudicando o crescimento da planta (DEINLEIN et al., 2014). Como consequência da salinidade, a planta sofre os efeitos no balanço hídrico (AMORIM et al., 2002). Afetadas pelo estresse salino, a maioria das plantas cultivadas não expressam plenamente o seu potencial de crescimento, o que reduz o seu valor econômico.

O conhecimento do comportamento dos recursos vegetais em solos salinos serve como base para determinar as potencialidades e as limitações de uma determinada cultura quando exposta a essa condição adversa, levando a uma melhor produtividade.

O crambe é uma planta com origem em ecossistemas com condições extremas: as terras altas do oeste da África e no Mediterrâneo; é uma cultura possível em várias condições agroclimáticas segundo avaliação feita por Falasca et al. (2010). Baseado nisso, tem sido reportado uma tolerância mediana da espécie aos estresses abióticos, como por exemplo, baixas temperaturas (-4°C), seca e exposição a metais pesados (CHHIKARA et al., 2012; JANSEN, 2013).

O conteúdo de óleo nas sementes de crambe tem chamado a atenção para a espécie como insumo para a elaboração de bicompostíveis e também por seu alto teor de ácido erúico, representando 63,8% do total do óleo da semente (LALAS et al., 2012). Este pode ser utilizado em uma variedade de processos industriais como a fabricação de plástico, perfumes (TOPFER; MARTINI; SCHELL, 1995), nylon, tintas, amaciantes de têxteis, surfactantes (LEONARD, 1992; PIAZZA; FOGLIA, 2001), borracha sintética, possuindo ainda aplicações na indústria de isolamento elétrico e farmacêuticas (BASSEGIO et al., 2016; RIZZO et al., 1989). A torta de crambe pode ainda, ser utilizada para a suplementação proteica em gado (OPLINGER et al., 1991).

No Brasil, o crambe vem sendo indicado para plantios de outono/inverno e seu cultivo tem se concentrado principalmente no Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso e Paraná (PITOL; BROCH; ROSCOE, 2010; ROSCOE; DELMONTES, 2008). Quanto à quantidade de hectares semeadas, a informação mais recente disponível estimou em 4,8 mil hectares de área plantada (UNIÃO BRASILEIRA DO BIODIESEL E BIOQUEROSENE- UBRABIO, 2015). A cultura precisa continuar sendo desenvolvida, para lograr maior adoção pelos agricultores (MEIJER; MATHIJSEN; KREUZER, 1999).

Alguns estudos relatam efeitos desfavoráveis da salinidade sobre o desenvolvimento de plantas de crambe (FOWLER, 1991), mas por outro lado existem trabalhos que têm identificado uma tolerância dessas plantas a condições intermediárias de sal (FOWLER, 1991; FRANCOIS; KLEIMAN, 1990; IONOV et al., 2013). Porém, nestes trabalhos, as avaliações realizadas não relacionam as análises bioquímicas com a anatomia e o crescimento dessas plantas quando expostas a essa condição adversa.

Sendo uma espécie com potencial para produção de bio-óleo de qualidade, o estudo dos aspectos fisiológicos de plantas de crambe submetidas à

salinidade pode contribuir para a expansão geográfica da sua cultura do e a utilização do óleo derivado nas múltiplas aplicabilidades mencionadas. No entanto, até o momento, o crambe tem recebido pouca atenção no que diz respeito ao seu melhor aproveitamento como cultura e, até a presente data, poucos estudos têm abordado em conjunto o comportamento fisiológico e anatômico de plantas do crambe em condições salinas.

Diante do exposto, no presente trabalho objetivou-se uma compreensão dos efeitos da salinidade sobre a fisiologia e anatomia de plantas de *Crambe abyssinica*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Descrição da espécie

O crambe (*Crambe abyssinica*) é uma planta da família Brassicaceae. O gênero *Crambe* tem origem em algumas partes do este da África e no Mediterrâneo é constituído por cerca de 30 espécies, a maior parte delas são ervas perenes (DESAI, 2004; ZHU, 2016). No entanto, *C. abyssinica* é a única planta cultivada de seu gênero (WARWICK; SAUDER, 2005).

A planta de crambe cresce como uma erva anual ereta, com numerosos ramos que chegam à altura de 0,6 a 1 m. A planta tem um sistema radicular axonomorfo típico das crucíferas, sua haste é rígida e se ramifica perto do solo formando 30 ou mais divisões secundárias, que ramificam para formar hastes terciárias (DESAI, 2004). Possui folhas com forma oval, de formato assimétrico, podem chegar a uma largura de sete centímetros e até dez de comprimento, as folhas caem ao final do ciclo. Possui um pecíolo pubescente de 20 cm de comprimento (DESAI, 2004; OPLINGER et al., 1991). A fecundação é cruzada e a floração é indeterminada, as flores são pequenas e esbranquiçadas (OPLINGER et al., 1991; PIMENTEL, 1983; PITOL; BROCH; ROSCOE, 2010) (Figura 1).

Figura 1 Planta de *Crambe abyssinica*



No ramo são formados numerosos frutos, podendo chegar de 530 a 1.840 frutos por planta(OPLINGER et al., 1991; PIMENTEL, 1983. O fruto é uma cápsula com forma de esfera, que guardam uma semente cada com um tamanho de 0.8-2.6 mm, geralmente as capsulas não desprendem com a maturação.Existe evidência que a semente é afetada pelo regime de umidade disponível, assim como pela fertilidade do solo (DESAI, 2004; OPLINGER et al., 1991; ZHU, 2016).

Quando maduros, os frutos são secos e variam em cor:de verde claro a castanho claro. O peso de 1000 sementes é de aproximadamente 7.09 g (OPLINGER et al., 1991), as sementes têm comportamento ortodoxo (SOUZA et al., 2009). Quando maduras, acumulam quantidades bastante elevadas de óleo (cerca de 35% a 38%, com vagem e até 50% sem a vagem) e proteínas (26%

com vagem) (GUAN, 2014). Sendo que o ácido erúico representa 55% a 60% do total do óleo da semente (CHHIKARA et al., 2012).

O ácido cis-13-docosenóico ou ácido erúico ($C_{22}H_{42}O_2$) é um ácido graxo com uma longa cauda monoinsaturada, indicado como lubrificante de alta qualidade (LALAS et al., 2012; VARGAS-LOPEZ et al., 1999; WAZILEWSKI et al., 2013), sendo inclusive, promissor para a produção de biodiesel, já que o óleo e o biodiesel obtido do crambe tem resistência a deterioro oxidativo (LALAS et al., 2012; WAZILEWSKI et al., 2013).

2.2 Importância econômica

Os impactos ambientais das atividades relatadas com a obtenção e distribuição de energia junto com sua crescente demandam por parte da população levaram a pensar na diversificação e geração de fontes alternativas que incluam cada vez maiores níveis de sustentabilidade, essa diversificação pode contribuir a distribuir a pressão exercida sobre os meios de produção do petróleo o carvão ou outras fontes fósseis residuais e mais contaminantes. Uma das soluções propostas é o aproveitamento da dos óleos combustíveis com origem vegetal (TRUMBO; TONN, 2016).

Várias fontes alternativas para produção de bio-óleos vêm sendo exploradas mundialmente, mas no país a soja ocupa o primeiro lugar (BRASIL, 2015), o que propicia uma concorrência no uso de terras agrícolas entre a produção de óleo para fins energéticos com as culturas alimentares desfavorecendo a seguridade alimentar da região. Sendo impróprio para o consumo humano, o crambe surge como uma alternativa a essa problemática, (ZANETTI; MONTI; BERTI, 2013) pois, se sua cultura é manejada utilizando-se racionalmente o critério de sustentabilidade a produção de óleo de crambe em escalas maiores, poderia contribuir para seus diversos usos como biocombustível

e/ou industrial. O crambe tem mais ácido erúxico que a canola (*B napus*), representando uma importante vantagem com relação a essa cultura que é mais estendida no mundo.

Nos anos noventa, foram introduzidos oficialmente os primeiros genótipos para a geração da primeira variedade no Brasil no ano de 1995, denominada FMS Brilhante (PITOL; BROCH; ROSCOE, 2010). No país, a cultura tem sido indicada para o plantio de outono/inverno e, apesar de estar concentrada na região sul, seu cultivo tem expandido para as áreas mais quentes como a região central (FUNDAÇÃO MS, 2016) com rendimentos de 1000 a 1500 kg ha⁻¹ de sementes. Em estudos realizados na cidade de Botucatu-SP, os pesquisadores alcançaram um rendimento de 1507 kg de semente por hectare (ha⁻¹) (JASPER; BIAGGIONI; SILVA, 2010). Em outros países, a produção tem alcançado valores altos, atingindo 2353 kg.ha⁻¹ na Europa, representando 846 kg de óleo bruto contendo 57,8% de ácido erúxico. Já nos Estados Unidos têm sido alcançados rendimentos de até 2.522 kg.ha⁻¹ (PITOL; BROCH; ROSCOE, 2010), o menor rendimento na produção de sementes do crambe no Brasil permite entrever algumas dificuldades na adaptação da cultura para alguns climas.

O óleo de crambe contém altos teores de ácido erúxico, este é uma matéria-prima importante para a indústria óleo química em diferentes e variadas manifestações: aditivos de baixo peso para plástico, aplicações na indústria de filmes plásticos, lubrificantes, fármacos, cosméticos, produtos de cuidado pessoal, derivados com aplicações na indústria de papel, tratamento de água, gás, tintas, revestimentos, adesivos e surfactantes (BASSEGIO et al., 2016). Particularmente um derivado, a erucamida, é importante na manufatura de plásticos, nylon13-13, e lubrificantes de alta temperatura (LI et al., 2012), demonstrando a alta importância industrial do ácido erúxico, de tal forma que, no mundo, a demanda de sementes contendo este ácido está estimada em cem

mil toneladas (ZANETTI; MOSCA, 2012), por outro lado, o mercado de derivados de ácido erúico utilizados como aditivos da lubrificação de filmes plásticos, está estimada em trinta mil toneladas no ano, com um crescimento esperado de 3-5% anual (ZANETTI; VAMERALI; MOSCA, 2009), além dos mencionados usos, existe evidência de que subprodutos da semente de crambe podem ser utilizados na descontaminação de solos por metais pesados como chumbo (RUBIO et al., 2015).

Quanto ao panorama da demanda do óleo no país, atualmente existe obrigatoriedade de obter uma proporção de óleo de 8% no combustível (PLS 613, 2015), essa porcentagem tem crescido desde o início da iniciativa do programa nacional de uso e produção de biodiesel no Brasil e estima-se que continue crescendo até atingir 15% (UBRABIO, 2015), o que geraria uma maior demanda pela matéria-prima vegetal. Dados da União Brasileira de Biodiesel e Bioquerosene estimam que existiam no ano 2013, 4,8 mil hectares de culturas de crambe plantadas no país(UBRABIO, 2015).

Uma análise do mercado do Biodiesel reportou rentabilidade para o agricultor de 62%, também que o fator de maior relevância é o valor pago pelo comprador, enquanto que para o processador de óleo é o valor pago ao produtor, o valor da venda do óleo e a eficiência de extração (ROSCOE; BROCH; WILLIAM, 2010).

Em países como Brasil e Paraguai, o crambe possui vantagens para o cultivo por ser uma cultura de ciclo curto que apresenta rusticidade, precocidade e tolerância ao déficit hídrico (COLODETTI et al., 2012; FEROLDI et al., 2012), constituindo uma alternativa para a rotação de culturas nesses países (COLODETTI et al., 2012).

2.3 Efeitos da salinidade sobre a cultura de crambe

A aplicação de modelos de agricultura insustentáveis junto com o aumento de frequência de períodos de seca, geram uma forte dependência da irrigação e a gestão de recursos hídricos muitas vezes limitados. A extensão da agricultura irrigada e do uso intensivo da água, combinadas com elevadas taxas de evaporação, chamaram a atenção para os problemas de salinidade no solo e águas subterrâneas (LAMBERS, 2003). Estima-se que 20% da área irrigada no mundo apresenta problemas de salinidade (NEGRÃO; SCHMÖCKEL; TESTER, 2017), também é conhecido que o uso intensivo de fertilizantes pode gerar problemas de salinização (JACOBS; TIMMER, 2005).

A salinidade é um importante fator ambiental que limita a produtividade das plantas (BOYER, 1982), pode ocorrer naturalmente no subsolo, ser induzida por práticas inadequadas de irrigação e uso de fertilizantes (ALVES DE LIMA; PEREIRA DA SILVA, 2010; MUNNS; GILLIHAM, 2015), a salinização pode causar a redução do potencial hídrico, dificultar a absorção de água pela planta e pode limitar o crescimento. O sódio e o cloro produzem desajustes nos processos metabólicos se não forem compartimentalizados e diminuição da eficiência fotossintética (DEINLEIN et al., 2014; JULKOWSKA; TESTERINK, 2015).

O estresse salino em plantas pode ser subdividido em estresse osmótico, ocorrendo de forma precoce e estresse de acumulação iônica. A fase osmótica, representada na queda de crescimento do caule é resultado de ultrapassar os limiares de salinidade ao redor da raiz, também se reduz a taxa de expansão das folhas; a segunda é a iônica, representada na acumulação de sais em concentrações tóxicas em folha velhas e sua nula taxa de expansão. Para mitigar o estresse osmótico, as plantas reduzem a perda de água por fechamento estomático ao mesmo tempo em que maximizam sua absorção. Já os efeitos nocivos da tensão iônica, são minimizados mediante a exclusão desses íons a

partir de tecidos de folha e por compartimentalização principalmente nos vacúolos (BLUMWALD, 2000; MUNNS; TESTER, 2008). Apesar destes mecanismos de tolerância, o estresse salino diminui o rendimento das colheitas e está levando à contínua perda de solo cultivável (DEINLEIN et al., 2014).

Existe diversidade de respostas dos vegetais à salinidade em função dos meios empregados pelas plantas para lidar com este tipo de estresse, dessa forma existem diferenças na redução e nas taxas de crescimento e nos níveis tolerados (HASEGAWA et al., 2000).

O estresse salino influencia uma ampla variedade de atividades metabólicas (GREENWAY; MUNNS, 1980). Como consequência do déficit de água, pode haver a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), entre as que podemos citar estão: o radical hidroxila (OH^\cdot), o íon superóxido (O_2^\cdot), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), (HALLIWELL; GUTTERIDGE; ARUOMA, 1987) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (ELSTNER, 1987). As EROs, quando produzidas em excesso, podem perturbar seriamente a homeostase celular, através de dano oxidativo a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (BEN HAMED et al., 2014). Dado ainda, que as concentrações internas O_2 são elevadas durante a fotossíntese, os cloroplastos são especialmente propensos a gerar EROs (CHEN et al., 2012). Entretanto, funcionam as enzimas dismutase do superóxido dismutando O_2^\cdot para H_2O_2 , e da catalase que neutraliza o de H_2O_2 (KIM, 1999; SUZUKI et al., 2012). A catalase está presente nos peroxissomos, mas o principal lugar de produção de H_2O_2 são nos cloroplastos (ANJUM et al., 2016), para a neutralização do H_2O_2 a planta conta com a enzima peroxidase do ascorbato presente em cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos e glioxissomos que pode catalisar a reação de neutralização do H_2O_2 (MIYAKE; ASADA, 1996). Em geral, os níveis das enzimas do sistema antioxidante entre elas a peroxidase do ascorbato, a dismutase do superóxido e a catalase, aumentam dentro da planta para retomar o equilíbrio desajustado pelas espécies reativas de oxigênio (GILL; TUTEJA, 2010).

Existem duas categorias para classificar o comportamento das plantas quanto à sua capacidade para lidar com a salinidade em termos de rendimento, sendo plantas tolerantes ou não tolerantes. Na literatura, encontra-se também a denominação resistente, mas não se faz diferença entre as duas denominações, sendo que o limiar para determinar se uma planta não é tolerante está definido quando seu rendimento é reduzido em 50%(SHANNON; GRIEVE, 1998).

Para a cultura do crambe, o incremento na concentração do sal não afetou a germinação de sementes, número de plântulas normais, velocidade de emergência de sementes e comprimento de plântulas e raízes para avaliações feitas em cultivo *in vitro* com NaCl (VASCONCELOS et al., 2014). Os mesmos autores ainda relataram que a análise de crescimento de plântulas de crambe usando soluções salinas (NaCl, CaCl₂ + NaCl) nos níveis de 0, 2.5, 4.0, 5.5 e 7.0 dS m⁻¹, não expressaram efeitos significativos nas medições da altura da planta, número de folhas e peso da matéria fresca.

Um experimento que avaliou a germinação de sementes de crambe *in vitro*, simulando níveis de salinidades entre 0,03 e 36.3 dS m⁻¹ teve, como resultado, diminuição da germinação com o incremento na salinidade, os autores avaliaram também a interação da temperatura com a salinidade encontrando que a temperatura ótima de germinação está entre 15 e 25 °C em todos os níveis avaliados; os autores concluem que o crambe é moderadamente tolerante ao estresse salino na germinação(FOWLER, 1991).

Poucos trabalhos foram realizados com plantas de crambe em condições de salinidade e, os resultados obtidos, sugerem que essas plantas podem não ser tolerantes a altos níveis de salinidade. Em casa de vegetação a altura da planta de crambe foi reduzida (entre 12% e 20%) sob salinidade (NaCl + CaCl) em concentrações correspondentes 6 e 9 dS m⁻¹ (IONOV et al., 2013). A salinização também diminuiu significativamente a biomassa tanto de folhas, quanto de

caules de plantas de crambe, no entanto, o índice de colheita não foi alterado (IONOV et al., 2013).

Em relação ao conteúdo de íons, a exposição de planta de crambe à salinidade, induziu a absorção e acumulação tanto de Na^+ como de Cl^- , proporcionando ainda, flutuações no teor de K^+ , aumentando a relação $\text{Na}^+:\text{K}^+$, significativamente (IONOV et al., 2013) os autores, concluíram que a produção de sementes foi significativamente afetada em condições de salinidade, resultando em queda no peso do fruto de 36% a 43%.

Apesar de alguns trabalhos terem identificado uma tolerância moderada do crambe à salinidade, as avaliações realizadas não chegam a obter uma visão integrada do comportamento fisiológico e anatômico dessas plantas (FOWLER, 1991; FRANCOIS; KLEIMAN, 1990; IONOV et al., 2013).

2.4 Alterações anatômicas das plantas submetidas à salinidade

As plantas compensam a falta de capacidade para se movimentar através da aptidão para gerar ajustes em resposta ao ambiente no qual se desenvolvem. Os princípios de adaptação nos vegetais são fundamentais para sua sobrevivência.

Algumas das estratégias adotadas pelas plantas expostas à salinidade são as alterações anatômicas, como por exemplo, a extrusão de sal por glândulas secretoras (JULKOWSKA; TESTERINK, 2015), a diminuição da quantidade de Na^+ no fluxo de transpiração, seja pelo decréscimo na saída inicial de Na^+ para as células corticais e da epiderme da raiz ou maximizando o efluxo de Na^+ de volta para o solo, todos na tentativa de reduzir a quantidade de Na^+ que penetra através da endoderme em direção ao centro da raiz. A maximização do influxo de Na^+ em células de armazenamento que rodeiam os vasos do xilema e a minimização do efluxo de Na^+ a partir de células de armazenamento para o xilema, vão favorecer a

redução da quantidade de Na^+ na água que é transportada para a parte aérea, através do xilema. O aumento da recirculação de íons no floema desde a parte aérea para outros tecidos contribuem para minimizar o acúmulo de sal, enquanto a compartimentalização de íons nos vacúolos das células, tanto na raiz como na parte aérea irão minimizar os efeitos tóxicos dos íons Na^+ e Cl^- em processos celulares (FOSTER; MIKLAVCIC, 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e características da área experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), situada na cidade de Lavras, Minas Gerais. A temperatura média desde o início até final do experimento foi de 24,8 °C e a umidade relativa média foi de 58,17%.

3.2 Material vegetal e condições de cultivo

O solo utilizado para o experimento foi Latossolo vermelho obtido dentro do campus da UFLA. Foi feita uma análise mineral e de pH para obtenção das fórmulas de fertilização e de correção de pH seguindo a metodologia de (MALAVOLTA, 1980). Foram colocados 7 kg de solo em cada vaso, e foi corrigido individualmente seu pH. Posteriormente, a fórmula de fertilização e a solução de cloreto de sódio foram uniformemente distribuídas no solo de cada vaso para obter as condutividades desejadas, essas concentrações foram obtidas empregando soluções de 1.17, 1.96, 3.91 e 5.48 mg de NaCl.g⁻¹ de solo obtendo assim quatro níveis de salinidade.

O solo foi depositado dentro dos vasos de 25.5 cm de diâmetro e 23 cm de altura contendo uma dupla sacola plástica para evitar a lavagem dos sais e a fertilização fora do vaso. O tratamento controle consistiu de solo com correção de pH e com fórmula de fertilização igual aos outros tratamentos, mas sem adição de solução de cloreto de sódio. O pH final do solo foi de 6.1.

Amostras de solo representativas de cada tratamento foram secas em estufa e mediram-se as condutividades elétricas em laboratório de estudo de matéria orgânica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Lavras,

com auxílio de condutivímetro marca Mettler Toledo modelo FE 30 em relação 1:1 com água destilada. As condutividades no solo acima de $1000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ são consideradas salinas (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2012), constituindo os seguintes tratamentos: o controle que correspondeu à condutividade elétrica de $271 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, e 4 níveis crescentes de salinidade representadas pelas condutividades elétricas de 802, 961, 1347 e $1788 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

As sementes foram colocadas diretamente no solo do vaso, consistindo duas plantas por vaso. O nível de umidade do solo foi mantido pela reposição diária de água até a capacidade de campo. O registro da temperatura e umidade relativa da casa de vegetação foi feito com termômetro digital automático marca Extech modelo RHT10 em intervalos de meia hora.

3.3 Delineamento experimental e processamento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (controle e 4 níveis de salinidade do solo) e 32 repetições cada, totalizando 160 plantas. O processamento dos dados foi feito mediante análise de variância e as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o *software* estatístico R ver. 3.1.0. 2014.

3.4 Avaliação de crescimento e produção de grãos de plantas de crambe submetidas à salinidade

Ao final do ciclo de cultivo foi avaliada a altura (AL) das plantas através de medições realizadas com auxílio de régua graduada (cm), obtendo medições desde o solo até o ápice das plantas. Posteriormente, as plantas foram cortadas, separadas em parte aérea e grãos, as quais foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C durante 72 horas e em seguida pesadas em balança de

precisão de 0,1 g, sendo obtida a massa seca da parte aérea (MSPA) e a massa seca do grão (MSG).

3.5 Atividade das enzimas do metabolismo antioxidante

O momento da coleta para as análises de enzimas foi baseado nos estados fenológicos de crambe descritos por (PILAU et al., 2011) como pode ser verificado na tabela 1.

Tabela 1 Determinação dos estádios fenológicos de coleta de material vegetal para análise da atividade enzimática.

Emergência	(EME)	Momento em que 50% das plantas estavam com cotilédones abertos acima do nível do solo
<i>Coleta 1 Estado vegetativo</i>		<u>Momento anterior ao alongamento das plantas para emitir estruturas reprodutivas</u>
Início de floração	(IFLO)	Onde 50% das plantas devem ter pelo menos uma flor aberta
<i>Coleta 2 Floração</i>		<u>Pelo menos 50% dos botões abertos (avaliados na rama da metade das plantas)</u>
Fim de floração	(FFLO)	Momento em que as plantas não apresentem mais flores
<i>Coleta 3 Enchimento de grão</i>		<u>Pelo menos 50% dos grãos em desenvolvimento (avaliados na rama da metade da planta)</u>
Maturação	(MAT)	Quando em 50% das cápsulas a coloração for amarronzada.

Para quantificação da atividade enzimática nas raízes, foram realizadas três coletas de amostras representativas dos três estádios fenológicos: vegetativo, florescimento e de enchimento de grão em todos os tratamentos. Já para a quantificação enzimática nas folhas, foram realizadas apenas duas coletas, nos estádios fenológicos vegetativo e de florescimento em todos os tratamentos, uma vez que as plantas perdem as folhas ao final do ciclo, período correspondente ao enchimento do grão.

Com o fim de obter os extratos enzimáticos, foram macerados 200 mg de folhas ou raízes com uma posterior maceração em nitrogênio líquido acrescido de 22 mg PVPP (Polivinilpolipirrolidona) insolúvel, foram adicionados 1,5 mL do tampão de extração composto de: fosfato de potássio 400 mM (pH 7,8), EDTA 10 mM e ácido ascórbico 200 mM. O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado foi utilizado para quantificação das atividades da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX). A atividade da dismutase do superóxido foi avaliada pela aptidão da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). Obtendo leituras no espectro de 560 nanômetros. Uma unidade da SOD equivale à quantidade de enzima que pode inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio.

A atividade da catalase foi determinada conforme (HAVIR; MCHALE, 1987). A atividade dessa enzima foi registrada pelo decréscimo na absorbância no espectro dos 240 nanômetros, a cada 15 segundos, durante 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar utilizado é: $36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, conforme descrito por (AZEVEDO et al., 1998). A atividade da peroxidase do ascorbato foi determinada segundo (NAKANO; ASADA, 1981), por meio do registro da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nanômetros e o coeficiente de extinção molar utilizado foi $2,8 \text{ mM} \text{ cm}^{-1}$. Com o

fim de determinar a atividade específica na quantidade de proteína das enzimas, foi determinado o teor proteico pelo método de Bradford(1976) de cada amostra.

3.6 Avaliações anatômicas de plantas de crambe submetidas à salinidade

As amostras para as avaliações anatômicas foram obtidas no momento em que as plantas estiveram no início da fase fonológica de floração, momento de avançado estado de desenvolvimento da planta e alto tempo de exposição aos tratamentos. Foram coletadas folhas totalmente expandidas na fase floral de todos os tratamentos. As folhas foram fixadas em etanol a 70% (v/v). As secções transversais da lâmina de folha foram feitas à mão e, subsequentemente, a clarificação foi realizada numa solução de hipoclorito de sódio a 20% (v/v de produto comercial), durante um período de 3-5 minutos e lavada três vezes com água destilada. As secções foram coradas por Azul de alcian (1%) por 2 minutos e Safranina (1% em água), montado em glicerol: água 1:1 (v/v) e selado com esmalte. As medidas de densidade estomática e diâmetro polar e equatorial dos estômatos foram analisadas por delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. Observações foram feitas com o uso de um microscópio ZeissScope AX10[®] acoplado à câmera digital e fotomicrografadas em software AxioVision R.L. 4.8[®]. O cálculo do índice dos estômatos (SI) foi realizado pela equação de Cutter (1986) e a densidade estomática foi expressa como o número de estômatos por mm².

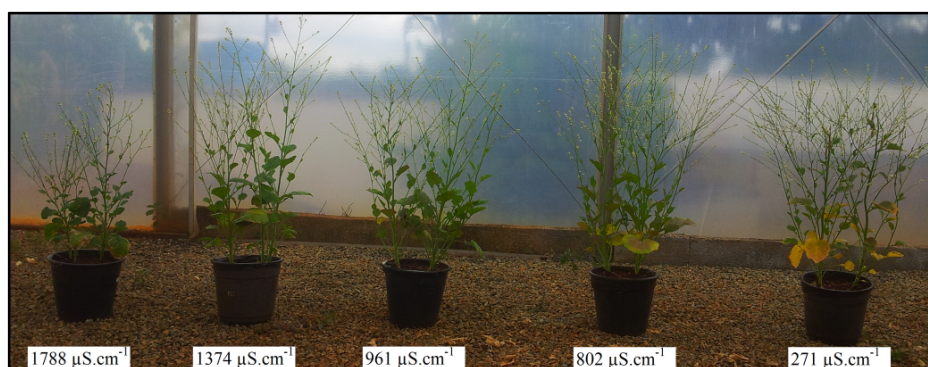
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de crescimento

Ao final do ciclo das plantas, 96 dias após a semeadura, foram coletadas amostras para determinação da altura da planta (AL), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca dos grãos (MSG). Permitindo uma análise quantitativa do crescimento vegetal, ampliando o conhecimento dos efeitos da aplicação de diferentes níveis de salinidade em plantas de crambe.

As plantas expostas aos maiores níveis de salinidade passaram por mudanças metabólicas e anatômicas para que pudessem manter seu ciclo de vida. Consequentemente, houve uma diminuição no crescimento da planta (Figura 2), o que tem sido proposto como uma característica adaptativa ao estresse, onde os fotoassimilados são investidos em moléculas que reduzem o efeito do estresse abiótico (ZHU, 2002). Isto implica que, grande parte do carbono fixado pelo processo fotossintético foi investido em adaptações ao estresse em detrimento do acúmulo de biomassa.

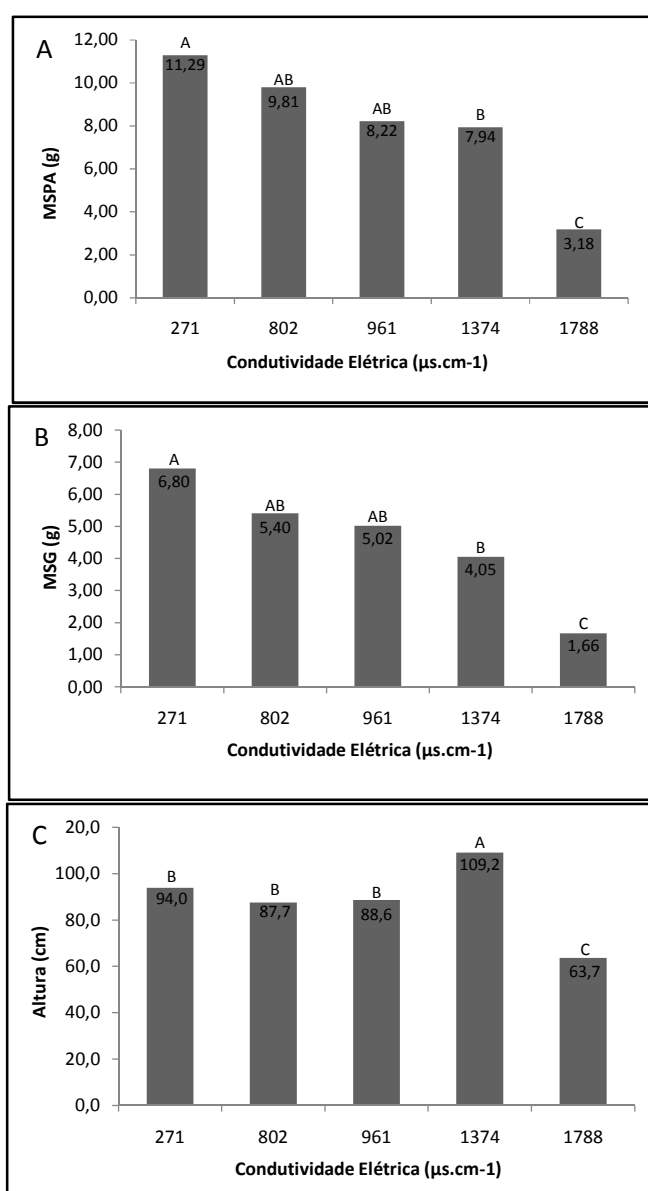
Figura 2 Plantas de *Crambe abyssinica* correspondentes a cada um dos tratamentos de salinidade avaliados. O tratamento controle corresponde à condutividade de $271 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.



Em todos os parâmetros avaliados (AL, MSPA e MSG), as plantas de crambe submetidas ao nível mais alto de salinidade examinado neste trabalho ($1788 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), apresentaram reduções significativas.

Em relação à AL, as plantas de crambe cultivadas sob salinidade de $1788 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, apresentaram uma redução de 32% em relação ao controle, como pode ser visto na figura 3C.

Figura 3 Análise de crescimento de plantas de *Crambe abyssinica* submetidas à salinidade.



A. Massa seca da parte aérea (MSPA), **B** Massa seca de grãos (MSG), **C** Altura (AL). As medidas foram realizadas ao final do ciclo fenológico. O tratamento controle

corresponde à condutividade de $271 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. As letras maiúsculas comparam entre os tratamentos. Médias representadas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

A massa seca da parte aérea MSPA de plantas de crambe submetidas a diferentes níveis de salinidade no solo, assim como altura AL, também apresentou uma queda significativa no tratamento que corresponde à condutividade elétrica de $1788 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, conforme apresentado na figura 3A y 3C. Ionov et al. (2013) evidenciaram uma diminuição na massa seca da parte aérea em plantas de crambe submetidas a condições salinas, o que está de acordo com os dados obtidos nesse trabalho.

Um dos efeitos do NaCl na planta é a consequente limitação na entrada de água, como as plantas dependem de disponibilidade hídrica para a expansão o alongamento e divisão celular o crescimento poderia ter sido limitado pela disponibilidade de água (HSIAO, 2000).

Para avaliação da MSG, foi verificada uma queda de 40,5% para o tratamento de $1374 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, em relação ao controle (figura 3B), levando em conta que os solos salinos segundo a metodologia empregada neste trabalho são aqueles com condutividade elétrica maior que $1000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, e o critério de tolerância estabelecido por Shannon e Grieve (1998), foi possível estabelecer que o crambe é tolerante à salinidade no nível de $1374 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ nas condições avaliadas, o que não aconteceu no nível de $1788 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ onde a queda na produção foi de 75,6% , superior ao critério de 50%.

A queda na produção de grãos, possivelmente pode ser atribuída ao desvio do carbono assimilado para síntese de metabólitos, complexos enzimáticos antioxidantes e investimento em estruturas anatômicas, tais como os estômatos avaliados nesse trabalho. Essas mudanças fisiológicas e estruturais provavelmente funcionam como dreno de carbono em situações estressantes,

visto que há um investimento tanto de esqueletos de carbono propriamente ditos, como ainda, de energia na forma de poder redutor.

Entretanto, o tratamento que corresponde à condutividade elétrica de $961 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ no solo, encontra-se perto do limiar de tolerância e não apresentou diferenças significativas em relação ao controle, porém seu nível de salinidade era de mais de 8 vezes o nível de salinidade do controle, o que indica que este nível intermediário poderia ser considerado tolerável por plantas de crambe.

Em contrapartida, no estudo realizado por Francois e Kleiman (1990) constatou-se uma redução na produção de grãos de crambe de 6,5% por cada $1000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ de salinidade no solo. Ionov et al.(2013) encontraram uma queda na produção de crambe de 36 e até 46%, quando as plantas foram expostas a solos salinos. Os mesmos autores sugerem que o crambe pode ter menores quedas na produção sob cultivo em condições de salinidade, se são utilizadas sementes provenientes de plantas que cresceram expostas a essa mesma condição adversa.

Em condições de salinidade, o sódio produz desbalanço osmótico e homeostático que pode dar lugar à alteração do potencial da membrana que pode concluir com a entrada do íon Cl^- , também afeta o funcionamento enzimático, e produz redução do crescimento pela inibição da divisão e expansão celular (MAHAJAN; TUTEJA, 2005). A tolerância à salinidade é possível na planta por mecanismos classificados em três categorias, mecanismos de exclusão de sódio e do cloro na folhas por transporte nas raízes, a compartimentalização de sais especialmente no vacúolo, e a tolerância osmótica que consiste em sinais de longa distância que são traduzidos em diminuição do crescimento (ROY; NEGRÃO; TESTER, 2014). Por outro lado, um indicador de tolerância à salinidade baseia-se na produção de biomassa da planta (NEGRÃO; SCHMÖCKEL; TESTER, 2017).

Com relação ao crescimento, um dos mecanismos de tolerância à salinidade propostos é a autonomia da planta para manter os níveis de água embora estejam presentes os íons geradores de salinidade como o sódio e o cloro (MUNNS; TESTER, 2008) com o fim de manter as taxas de divisão e alongamento celular; por outro lado, os efeitos do estresse salino se traduzem em diminuição do crescimento quando a entrada dos íons produto da salinidade inibem a entrada de água toda vez que concorrem com os osmólitos ou bem esses íons são suficientes para gerar pressão osmótica, mas as plantas sofrem os efeitos tóxicos desses íons, também podem existir efeitos pela diminuição na absorção de água pelos baixos potenciais hídricos na raiz denominado como estresse osmótico ou por alterações específicas da célula a concentrações elevadas de íons (FRICKE, 2002). Dessa forma, os dados obtidos nesse experimento podem refletir um somatório desses efeitos ou de apenas alguns deles, sendo necessária a realização de trabalhos adicionais que apontem a análise de processos fisiológicos em plantas de crambe sob estresse salino e que não foram objetos de estudo nesse trabalho.

4.2 Análise das atividades enzimáticas

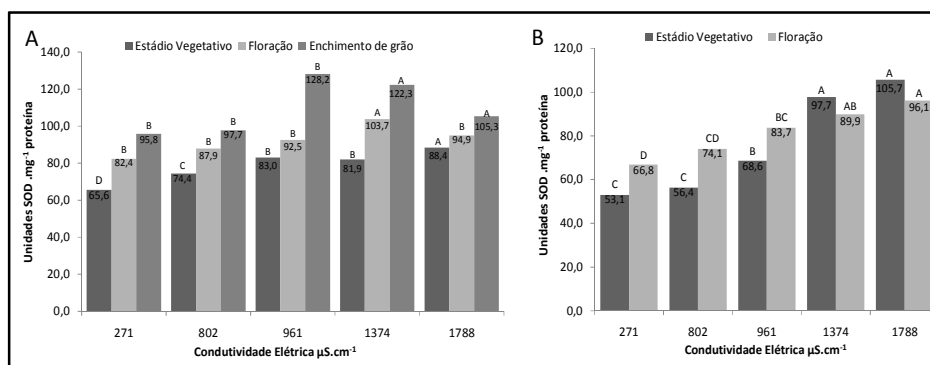
➤ Enzima dismutase do superóxido (SOD)

Na raiz a atividade da SOD nos diferentes estádios fenológicos caracterizou uma eficiente detoxificação do superóxido (O_2^-), em todos os níveis de salinidade avaliados (Figura 4A). O radical O_2^- é a espécie reativa de oxigênio que pode gerar os maiores danos na célula, a neutralização desse radical é uma função da enzima SOD que converte o O_2^- em peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

O comportamento diferencial da tolerância das plantas à salinidade pode ser explicado pelas diferenças na percepção dos sinais de longa distância ou

diferenças na resposta a esses sinais, também pelas diferenças na compartimentalização que é mediada por transportadores de membrana e no tonoplasto, também alguns mecanismos podem ter variações na sua ação em diferentes níveis de salinidade (ROY; NEGRÃO; TESTER, 2014) e também pode ser explicado pelo aumento da atividade de enzimas que neutralizam espécies reativas de oxigênio (EROs) que podem desintoxicar o organismo de radicais livres. Nas raízes das plantas de crambe avaliadas é possível observar um aumento da atividade da SOD na condição de salinidade correspondente a $1788 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, sendo significativamente maior nos estádios fenológicos vegetativo e de enchimento de grão (Figura 4A). Similarmente Zaefizade et al. (2011) encontraram um aumento na atividade da SOD da raiz com o aumento das concentrações de salinidade em plântulas de Canola (*Brassica napus* L) sugerindo o mecanismo como uma das formas de tolerância à salinidade. Já para o estágio fenológico que corresponde à floração, a atividade da SOD se manteve estável, exceto pelo aumento no nível de $1374 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. (Figura 4A).

Figura 4 Atividade da enzima dismutase do superóxido (SOD) em plantas de *C. abyssinica*, em dois estádios fenológicos, sob diferentes níveis de salinidade.



A resposta avaliada em raízes, B resposta avaliada em folhas. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). As letras

maiúsculas compararam entre os tratamentos nos estádios fenológicos vegetativo e de floração. O tratamento controle corresponde à condutividade de $271 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Em folhas (Figura 4B), a atividade da enzima dismutase do superóxido aumentou na medida em que foram incrementados os níveis de salinidade tanto no estado vegetativo quanto na floração, existindo diferenças estatísticas respeito do tratamento controle. Esse aumento pode estar relacionado ao estresse salino uma vez que os desajustes homeostáticos como consequência da salinidade, levam a planta à adoção de medidas para conseguir um novo balanço, a limitação na abertura estomática, levam a uma limitação na disponibilidade de dióxido de carbono que acaba desacoplando a transferência de elétrons, do FSI para o NADP+, os elétrons então passam a interagir com o oxigênio disponível e que se está formando como resultante da fotólise da água, formando O_2^- aqui as variantes da SOD podem converter esse O_2^- em H_2O_2 . (HOSSAIN; DIETZ, 2016).

A maior atividade da SOD pode ser justificada também, pelo fato de que maiores quantidades de sais podem chegar até as folhas acompanhando o fluxo xilemático e ocasionando a geração de maiores níveis EROs. Uma vez que o estresse salino tem diversos efeitos nas atividades da cadeia de transporte de elétrons fotossintético entre eles a inibição do PSII (SUDHIR et al., 2005), o extravasamento de elétrons em direção ao O_2 pode contribuir significativamente para aumentar os níveis de O_2^- em folhas.

De forma similar ao verificado neste trabalho, Shahbazi, Arzani e Saeidi (2011) encontraram aumento nos valores de SOD em folhas de canola expostas a níveis crescentes de salinidade, mencionando que o incremento na atividade desta enzima pode proteger estes tecidos de danos oxidativos, desde que a formação do H_2O_2 seja devidamente neutralizada por outros complexos enzimáticos que tenham o H_2O_2 como substrato.

➤ Enzima peroxidase do ascorbato (APX)

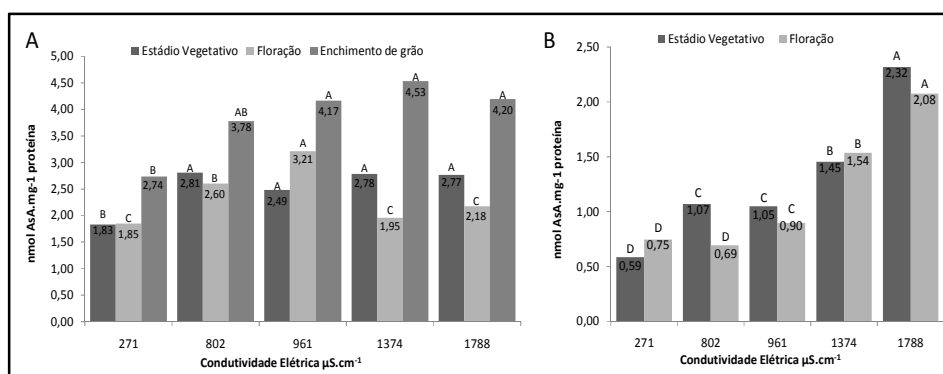
Em raízes coletadas durante o estado vegetativo, a atividade da enzima peroxidase do ascorbato apresentou maior atividade a respeito do tratamento controle em todos os níveis de salinidade avaliados, (Figura 5A) no entanto, esses valores não cresceram significativamente com os níveis de salinidade, diferente do que foi obtido no estado de enchimento de grão onde foram obtidos valores em aumento com os níveis de salinidade. Já o comportamento da enzima no estado de floração apresenta um pico de atividade no tratamento de 961 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ para depois cair a valores estatisticamente similares ao controle nos dois tratamentos de salinidade seguintes, sendo o valor de 961 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ um valor próximo do limiar a partir do qual se considera solo salino, sugerindo que para esse valor de condutividade elétrica no solo a planta não investiu mas nesse recurso enzimático para neutralizar o peróxido de hidrogênio quando a planta se encontra no estado de floração. De forma similar, Abdelgawad et al. (2016) em experimentos com plantas de milho expostas a níveis crescentes de salinidade, constataram um aumento na atividade da APX em raízes (Figura 5A).

A atividade da APX em folhas (Figura 5B), apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. Nos estádios vegetativo e de floração, a atividade desta enzima aumentou de acordo com o aumento nos níveis de salinidade. Resultados similares foram obtidos por Weisanyet al. (2012) em folhas de plantas de soja, onde os valores da atividade da APX começaram a subir quando as plantas foram expostas a níveis médios de salinidade, porém, apresentaram um incremento acentuado em níveis de salinidade considerados como severos.

O dano oxidativo é resultado da acumulação de espécies reativas de oxigênio (ABDELGAWAD et al., 2016), portanto o mecanismo de neutralização deve operar constante. A enzima peroxidase do ascorbato tem importância

complementar à enzima dismutase do superóxido, pois o H_2O_2 , produto da redução parcial do O_2 pela SOD, é um agente oxidante que pode ocasionar danos para a os tecidos da planta, devendo ser neutralizado. A APX contribui nessa função, por ser uma enzima chave no ciclo do ascorbato/glutaciona, onde usa o ascorbato para reduzir H_2O_2 em água (H_2O) e O_2 .

Figura 5 Atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) em plantas de *C. abyssinica*, em dois estádios fenológicos, sob diferentes níveis de salinidade.



A resposta avaliada em raízes, B resposta avaliada em folhas. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). As letras maiúsculas comparam entre os tratamentos nos estádios fenológicos vegetativo e de floração. O tratamento controle corresponde à condutividade de $271 \mu S.cm^{-1}$.

➤ Enzima catalase (CAT)

Nas raízes de plantas de crambe a atividade da CAT aumentou conforme o incremento no nível de salinidade nos estados de crescimento vegetativo e de floração, alcançando seu máximo no tratamento de $1374 \mu S.cm^{-1}$ (Figura 6A), porém, no tratamento que corresponde ao maior nível de salinidade avaliado

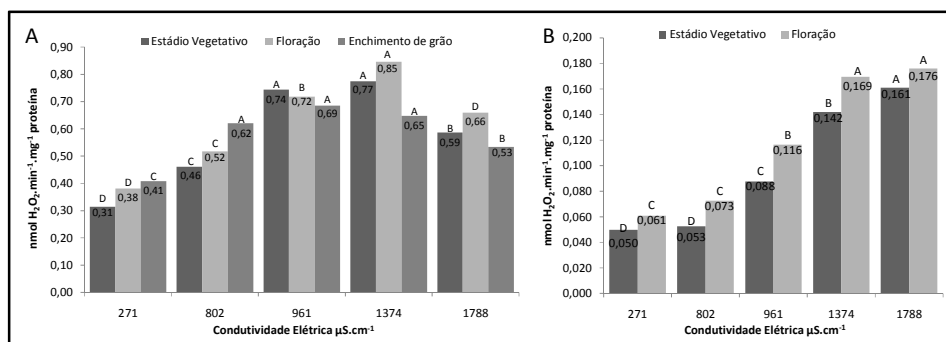
neste trabalho ($1788 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), a atividade desta enzima caiu. Este comportamento sugere que há um limite de salinidade onde a atividade da CAT é maximizada e a partir do qual outros fatores ocasionados pelo excesso de sal podem estar influenciando negativamente esta enzima.

A afinidade do CAT pelo H_2O_2 faz dela um complemento ao trabalho da APX. A atividade da catalase aumenta linearmente com as concentrações de H_2O_2 , a enzima tem uma alta constante de Michaelis-Menten ($K \approx 10^7 \text{M}^{-1} \text{se}^{-1}$) dessa forma a enzima funciona eficientemente em altas concentrações (ANJUM et al., 2016). Embora o H_2O_2 em concentrações baixas possa funcionar como sinalizador, em altas concentrações pode chegar a causar morte celular (SOFO et al., 2015).

Em estudo realizado com duas variedades de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L) cultivados sob salinidade, foi verificado um decréscimo na atividade da CAT em raízes da variedade Pitiúba, enquanto houve aumento na atividade da cultivar Pérola, para os autores, os resultados obtidos são compatíveis com uma tolerância diferencial à salinidade (MAIA et al., 2010).

O aumento verificado para a atividade da CAT nas folhas, foi significativamente superior ao controle durante a floração no tratamento que corresponde às condutividades elétricas de 961, 1374 e $1788 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (Figura 6B), ao passo que para este último nível de salinidade a atividade desta enzima também foi superior ao controle no estágio vegetativo (figura 6). Sofo et al. (2015) em trabalho realizado com tomate, relata que a atividade peroxissômica da enzima CAT em folhas aumentou em plantas sob diferentes graus de estresse salino quando comparado ao controle.

Figura 6 Atividade da enzima catalase (CAT) em plantas de *C. abyssinica*, em dois estádios fenológicos, sob diferentes níveis de salinidade.



A resposta avaliada em raízes, **B** resposta avaliada em folhas. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). As letras maiúsculas comparam entre os tratamentos nos estádios fenológicos vegetativo e de floração. O tratamento controle corresponde à condutividade de $271 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

A fotorrespiração tem um papel importante em evitar o excesso de redução do aparelho fotossintético, situação que pode ocorrer em condições de estresse salino devido à baixa disponibilidade de CO_2 , resultante da redução na condutância estomática (ACOSTA-MOTOS et al., 2017). A fotorrespiração é uma consequência da dupla afinidade da Rubisco tanto para oxigênio (O_2), quanto para o CO_2 (BAUWE, 2010). Um dos produtos da reação de oxigenação da Rubisco é H_2O_2 produzido nos peroxissomos que deve ser prontamente dismutado em H_2O e O_2 , através da ação da CAT localizada nessa organela. Sendo assim, é possível supor que o aumento da atividade da CAT em folhas de crambe expostas a condições salinas mais severas, pode estar relacionado a um aumento da fotorrespiração.

4.3 Anatomia

A relação DP/DE determina o formato do estômato, segundo Khan et al. (2003), essa relação permite inferir sobre sua funcionalidade. Estômatos menos esféricos, isto é, com maior relação DP/DE são mais funcionais, por outro lado a relação DP/DE teve alterações em relação ao controle em plantas de crambe, tanto na parte adaxial quanto na parte abaxial fazendo com que os estômatos ficassem mais esféricos, como observado na (Tabela 3).

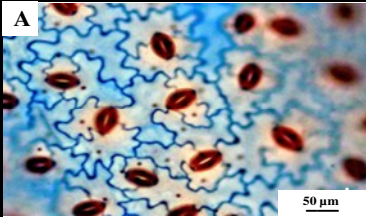
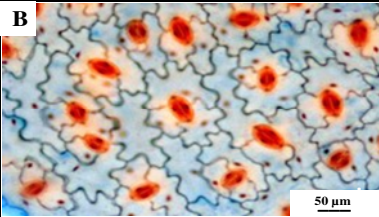
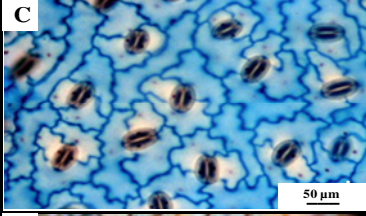
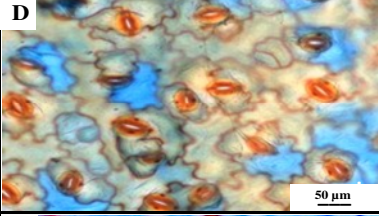
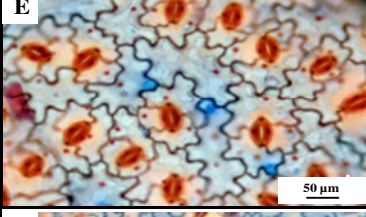
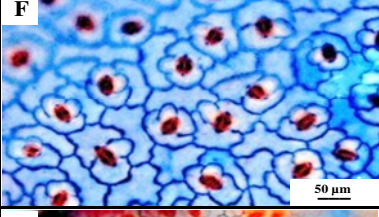
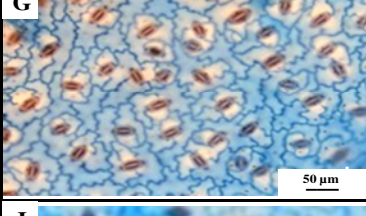
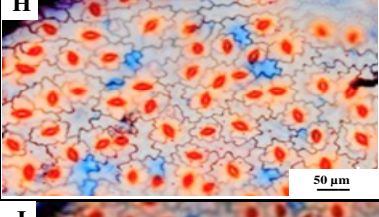
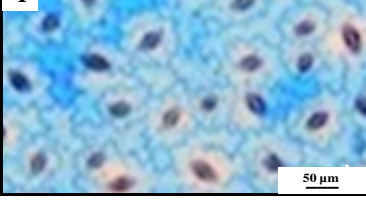
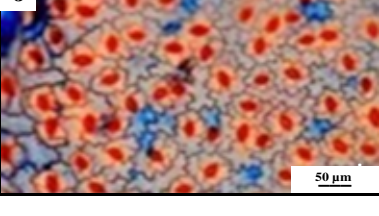
A densidade estomática aumentou significativamente com o incremento nos níveis de salinidade (Tabela 2), este comportamento é contrário ao encontrado em outras espécies tolerantes por exemplo *Solanum pennellii* (ALBALADEJO et al., 2017) e *Salvadora persica* (PARIDA et al., 2016) onde a redução na densidade estomática é considerada como um indicador de tolerância à salinidade explicado pelo fato que uma menor densidade permite uma maior eficiência no uso da água (PARIDA et al., 2016). Esse aumento de densidade estomática poderia ser entendido então como uma expressão fenotípica de uma planta não tolerante, o tratamento com as maiores densidade e a menor funcionalidade estomática observadas possui também as maiores reduções nos índices de crescimento e os maiores valores nas atividades enzimáticas avaliadas em folhas, sugerindo que a planta teve que investir recursos em outras estratégias como a bioquímica para compensar essa característica de não tolerância.

Tabela 2 Valores médios da densidade estomática (Número de estômatos /mm²) na superfície epidérmica adaxial e abaxial, diâmetro polar (DP) adaxial e abaxial, diâmetro equatorial (DE) adaxial e abaxial e razão DP/DE adaxial e abaxial de folhas jovens de plantas de *C. abyssinica* sob estresse salino.

Folhas jovens	NE/mm ² adaxial	NE/mm ² abaxial	(DP) adaxial (μm)	(DP) abaxial (μm)	(DE) adaxial (μm)	(DE) abaxial (μm)	Razão DP/DE adaxial	Razão DP/DE abaxial
Trat								
271 μscm ⁻¹	26 d	38 c	34.07 a	32.44 a	14.09 b	15.42 a	2.42 a	2.10 a
802 μscm ⁻¹	21 d	35 c	30.18 a	31.23 a	13.37 a	15.21 a	2.25 b	2.05 a
961 μscm ⁻¹	31 c	37 c	25.42 ab	28.37 a	15.21 a	18.23 a	1,67 c	1.55 b
1347 μscm ⁻¹	47 b	52 b	24.30 ab	25.52 ab	16.56 a	18.77 a	1,47 d	1.35 c
1788 μscm ⁻¹	59 a	64 a	23.19 ab	24.41 ab	19.63 a	18.56 a	1,18 e	1.31 c

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey, a 5% de probabilidade (P<0,05). O tratamento controle corresponde à condutividade de 271 μS.cm⁻¹.

Tabela 3 Cortes paradérmicos de folhas de plantas de *C. abyssinica*, submetidas a diferentes níveis de salinidade, o tratamento controle corresponde à condutividade de $271 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Tratamentos	Face adaxial	Face abaxial
$271 \mu\text{scm}^{-1}$	 A	 B
$802 \mu\text{scm}^{-1}$	 C	 D
$961 \mu\text{scm}^{-1}$	 E	 F
$1347 \mu\text{scm}^{-1}$	 G	 H
$1788 \mu\text{scm}^{-1}$	 I	 J

5 CONCLUSÕES

As atividades das enzimas SOD, APX e CAT aumentaram em plantas de crambe sob condições de solo salinos, em folhas e raízes avaliadas nas três fases do ciclo fenológico da planta, sendo influenciadas pelo aumento nos níveis de salinidade.

Plantas de crambe submetidas a condições de salinidade sofrem mudanças na densidade e funcionalidade dos estômatos.

A altura e a massa seca da parte aérea de plantas de crambe são negativamente afetadas nos níveis salinos de 1374 e 1788 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (CE 1:1).

A produção de grão em plantas de crambe cultivadas em solo com salinidade correspondente a 1374 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ de condutividade elétrica (CE 1:1), sofre uma redução de 40,5%, por tanto a planta é tolerante a este nível de salinidade nas condições avaliadas.

REFERÊNCIAS

ABDELGAWAD, H. et al. High Salinity Induces Different Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Maize Seedlings Organs. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 276, Mar. 2016.

ACOSTA-MOTOS, J. et al. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. **Agronomy Journal**, Madison, v. 7, n. 1, p. 18, Feb. 2017.

ALBALADEJO, I. et al. Unravelling the strategies used by the wild tomato species *Solanum pennellii* to confront salt stress: from leaf anatomical adaptations to molecular responses. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 135, p. 1–12, Mar. 2017.

ALVES DE LIMA, J.; PEREIRA DA SILVA, L. A. Estudo do processo de salinização para indicar medidas de prevenção de solos salinos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 6, n. 11, p. 1–21, 2010.

AMORIM, J. R. A. 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, fev. 2002.

ANJUM, N. A. et al. Catalase and ascorbate peroxidase -representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants. **Environmental Science and Pollution Research**, Cham, v. 23, n. 19, p. 19002–19029, Oct. 2016.

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**, Copenhagen, v. 104, n. 2, p. 280–292, Oct. 1998.

BASSEGIO, D. et al. Oilseed crop crambe as a source of renewable energy in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Berlin, v. 66, p. 311–321, 2016.

BAUWE, H. Photorespiration: the bridge to C₄ photosynthesis. In: _____. **C₄ Photosynthesis and Related CO₂ Concentrating Mechanisms**. Dordrecht: Springer, 2010. v. 32, p. 81–108. Chapter 6.

BEN HAMED, K. et al. Growth, sodium uptake and antioxidant responses of coastal plants differing in their ecological status under increasing salinity. **Biologia**, Lahore, v. 69, n. 2, p. 193–201, Jan. 2014.

BLUMWALD, E. Sodium transport and salt tolerance in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, London, v. 12, n. 4, p. 431–434, ago. 2000.

BOYER, J. S. Plant productivity and environment. **Science**, Washington, v. 218, n. 4571, p. 443–448, Oct. 1982.

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**, New York, v. 72, n. 1, p. 248–254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário estatístico da agroenergia 2014**. 5. ed. Brasília, 2015.

CHEN, S. et al. Reactive oxygen species from chloroplasts contribute to 3-acetyl-5-isopropyltetramic acid-induced leaf necrosis of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 52, p. 38–51, Mar. 2012.

CHHIKARA, S. et al. Development of an *Agrobacterium*-mediated stable transformation method for industrial oilseed crop *Crambe abyssinica* “BelAnn”. **Industrial Crops and Products**, Fargo, v. 37, n. 1, p. 457–465, maio 2012.

COLODETTI, T. V. et al. *Crambe*: aspectos gerais da produção agrícola. **Revista Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, p. 258–269, 2012.

CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal**. Parte I. Células e tecidos. 2. ed. São Paulo: Roca, 1986.

DEINLEIN, U. et al. Plant salt-tolerance mechanisms. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 371–379, June 2014.

DESAI, B. B. **Seeds handbook**: processing and storage. 2nd ed. New York: M. Dekker, 2004.

ELSTNER, E. F. Metabolism of activated oxygen species. In: DAVIES, D. D. (Ed.). **The biochemistry of plants**: a comprehensive treatise. New York: Academic, 1987. v. 11, p. 253–315.

FALASCA, S. L. et al. Crambe abyssinica: an almost unknown crop with a promissory future to produce biodiesel in Argentina. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 35, n. 11, p. 5808–5812, June 2010.

FEROLDI, M. et al. Cultivo do crambe: potencial para produção de biodiesel. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, Palotina, v. 2, p. 11–22, 2012.

FOSTER, K. J.; MIKLAVCIC, S. J. On the competitive uptake and transport of ions through differentiated root tissues. **Journal of Theoretical Biology**, London, v. 340, p. 1–10, Jan. 2014.

FOWLER, J. L. Interaction of salinity and temperature on the germination of crambe. **Agronomy Journal**, Madison, v. 83, n. 1, p. 169, 1991.

FRANCOIS, L. E.; KLEIMAN, R. Salinity effects on vegetative growth, seed yield, and fatty acid composition of crambe. **Agronomy Journal**, Madison, v. 82, n. 6, p. 1110, 1990.

FRICKE, W. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. a study at the cell level. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 129, n. 1, p. 374–388, May 2002.

FUNDAÇÃO MS. **Crambe**. Disponível em:

<<http://www.fundacaoms.org.br/produtos/crambe>>. Acesso em: 20 jan. 2016.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: i. occurrence in higher Plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 59, n. 2, p. 309–314, Feb. 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, n. 12, p. 909–930, Dec. 2010.

GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanisms of Salt tolerance in nonhalophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 31, n. 1, p. 149–190, June 1980.

GUAN, R. **Metabolic engineering of crambe abyssinica for producing high erucic acid oil**. Alnarp: Swedish University of Agricultural Sciences, 2014.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; ARUOMA, O. I. The deoxyribose method: a simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 165, n. 1, p. 215–219, Aug. 1987.

HASEGAWA, P. M. et al. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, n. 1, p. 463–499, 28 June 2000.

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

HORNEY, R. D. et al. Development of practical site-specific management methods for reclaiming salt-affected soil. **Computers and Electronics in Agriculture**, New York, v. 46, n. 1/3, p. 379–397, Mar. 2005.

HOSSAIN, M. S.; DIETZ, K.J. Tuning of redox regulatory mechanisms, reactive oxygen species and redox homeostasis under salinity stress. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 548, May 2016.

HSIAO, T. C. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 350, p. 1595–1616, 2000.

IONOV, M. et al. Growth, development and yield of *crambe abyssinica* under saline irrigation in the greenhouse. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Chichester, v. 199, n. 5, p. 331–339, Oct. 2013.

JACOBS, D. F.; TIMMER, V. R. Fertilizer-induced changes in rhizosphere electrical conductivity: relation to forest tree seedling root system growth and function. **New Forests**, Dordrecht, v. 30, n. 2/3, p. 147–166, Sept. 2005.

JANSEN, R. A. Biokerosene. In: _____. **Second generation biofuels and biomass**. Weinheim: Wiley-VCH, 2013. p. 183–191.

JASPER, S. P.; BIAGGIONI, M. A. M.; SILVA, P. R. A. Comparação do custo de produção do crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) com outras culturas oleaginosas em sistema de plantio direto. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 25, n. 4, p. 141, dez. 2010.

JULKOWSKA, M. M.; TESTERINK, C. Tuning plant signaling and growth to survive salt. **Trends in plant science**, Oxford, v. 20, n. 9, p. 586–594, July 2015.

KHAN, P. S. S. V. et al. Growth and Water Relations of paulownia fortunei under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 46, n. 2, p. 161–166, 2003.

KIM, C. S. Reactive oxygen species as causative agents in the ichthyotoxicity of the red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*. **Journal of Plankton Research**, London, v. 21, n. 11, p. 2105–2115, Nov. 1999.

LALAS, S. et al. Full Characterisation of crambe abyssinica hochst. seed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 89, n. 12, p. 2253–2258, Dec. 2012.

LAMBERS, H. Introduction, dryland salinity: a key environmental issue in Southern Australia. **Plant and Soil**, The Hague, v. 257, n. 2, p. 5-7, Dec. 2003.

LEONARD, E. C. High-erucic vegetable oils. **Industrial Crops and Products**, Fargo, v. 1, n. 2/4, p. 119–123, Dec. 1992.

LI, X. et al. Development of ultra-high erucic acid oil in the industrial oil crop *Crambe abyssinica*. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 10, n. 7, p. 862–870, Sept. 2012.

LI, X. et al. Response of a salt-sensitive plant to processes of soil reclamation in two saline–sodic, coastal soils using drip irrigation with saline water. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 164, p. 223–234, Jan. 2016.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 444, n. 2, p. 139–158, Dec. 2005.

MAIA, J. M. et al. Salt-induced changes in antioxidative enzyme activities in root tissues do not account for the differential salt tolerance of two cowpea cultivars. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 113–122, 2010.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 1980.

MEIJER, W. J. M.; MATHIJSEN, E. W. J. M.; KREUZER, A. D. Low pod numbers and inefficient use of radiation are major constraints to high productivity in *Crambe* crops. **Industrial Crops and Products**, Fargo, v. 9, n. 3, p. 221–233, Mar. 1999.

MIYAKE, C.; ASADA, K. Inactivation mechanism of ascorbate peroxidase at low concentrations of ascorbate; hydrogen peroxide decomposes compound i of ascorbate peroxidase. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 37, n. 4, p. 423–430, June 1996.

MUNNS, R.; GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops - what is the cost? **The New phytologist**, Cambridge, v. 208, n. 3, p. 668–73, Nov. 2015.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, n. 1, p. 651–681, June 2008.

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

NEGRÃO, S.; SCHMÖCKEL, S. M.; TESTER, M. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. **Annals of Botany**, London, v. 119, n. 1, p. 1–11, Jan. 2017.

NELSON, M.; MAREIDA, M. **Environmental impacts of the CGIAR: an assessment**. 2001. Disponível em: <<https://library.cgiar.org/handle/10947/492>>. Acesso em: 22 jan. 2017.

NO, D. S. et al. Enrichment of erucic acid from crambe oil in a recirculated packed bed reactor via lipase-catalyzed ethanolysis. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 87, p. 6–10, Mar. 2013.

OPLINGER, E. et al. **Alternative field crops manual: crambe**. 1991. Disponível em: <<https://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/crambe.html>>. Acesso em: 9 ago. 2015.

PARIDA, A. K. et al. Physiological, Anatomical and Metabolic Implications of Salt Tolerance in the Halophyte *Salvadora persica* under Hydroponic Culture Condition. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 1–18, Mar. 2016.

PIAZZA, G. J.; FOGLIA, T. A. Rapeseed oil for oleochemical usage. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 103, n. 7, p. 450–454, July 2001.

PILAU, F. G. et al. Temperatura basal, duração do ciclo e constante térmica para a cultura do crambe. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p. 958–964, 2011.

PIMENTEL, D. **Handbook of energy utilization in agriculture**. Boca Raton: CRC, 1983.

PITOL, C.; BROCH, D. L.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção:** crambe. Maracaju: Fundação MS, 2010. 60 p.

RIZZO, W. B. et al. Dietary erucic acid therapy for X-linked adrenoleukodystrophy. **Neurology**, New York, v. 39, n. 11, p. 1415–22, Nov. 1989.

ROSCOE, R.; BROCH, D. L.; WILLIAM, L. Análise de sensibilidade dos modelos agrícola e industrial de utilização do óleo de crambe na cadeia produtiva de biodiesel em mato grosso do sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 1., 2010, João Pessoa. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 332-340. 1 CD-ROM.

ROSCOE, R.; DELMONTES, A. M. A. **Agrianual 2008**. São Paulo: Instituto FNP, 2008.

ROY, S. J.; NEGRÃO, S.; TESTER, M. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 26, p. 115–124, Apr. 2014.

RUBIO, F. et al. A Crambe abyssinica seed by-product as biosorbent for lead (II) removal from water. **Desalination and Water Treatment**, Berlin, v. 53, n. 1, p. 139–148, Jan. 2015.

SHAHBAZI, E.; ARZANI, A.; SAEIDI, G. Effects of NaCl treatments on seed germination and antioxidant activity of canola (*Brassica napus* L.) cultivars. **Bangladesh Journal of Botany**, Dhaka, v. 40, n. 1, July 2011.

SHANNON, M. C.; GRIEVE, C. M. Tolerance of vegetable crops to salinity. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 78, n. 1/4, p. 5–38, Nov. 1998.

SOFO, A. et al. Ascorbate Peroxidase and Catalase Activities and Their Genetic Regulation in Plants Subjected to Drought and Salinity Stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, n. 6, p. 13561–13578, June 2015.

SOUZA, A. D. V. et al. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-mansão, nabo-forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 10, p. 1328–1335, out. 2009.

SUDHIR, P.-R. et al. The Effects of Salt Stress on Photosynthetic Electron Transport and Thylakoid Membrane Proteins in the Cyanobacterium *Spirulina platensis*. **BMB Reports**, Seoul, v. 38, n. 4, p. 481–485, July 2005.

SUZUKI, N. et al. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. **Plant, Cell & Environment**, Beijing, v. 35, n. 2, p. 259–270, Feb. 2012.

TOPFER, R.; MARTINI, N.; SCHELL, J. Modification of plant lipid synthesis. **Science**, Washington, v. 268, n. 5211, p. 681–686, May 1995.

TRUMBO, J. L.; TONN, B. E. Biofuels: a sustainable choice for the United States' energy future? **Technological Forecasting and Social Change**, New York, v. 104, p. 147–161, Mar. 2016.

UNIÃO BRASILEIRA DO BIODIESEL E BIOQUEROSENE. **Agricultores colhem crambe no DF**. Disponível em: <http://www.ubrabilio.com.br/1891/noticias/agricultorescolhemcrambenodf_192974/>. Acesso em: 15 set. 2015.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Soil electrical conductivity**. Washington, 2012. Disponível em: <http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_053280.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2017.

VARGAS-LOPEZ, J. M. et al. Processing of crambe for oil and isolation of erucic acid. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 76, n. 7, p. 801–809, July 1999.

VASCONCELOS, A. C. F. et al. Germination and formation of crambe seedlings irrigated with saline waters. **Revista Ciências Agrárias**, Buenos Aires, v. 37, n. 3, p. 306–311, 2014.

WARWICK, S. I.; SAUDER, C. A. Phylogeny of tribe Brassiceae (Brassicaceae) based on chloroplast restriction site polymorphisms and nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast trn L intron sequences. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 83, n. 5, p. 467–483, May 2005.

WAZILEWSKI, W. T. et al. Study of the methyl crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) and soybean biodiesel oxidative stability. **Industrial Crops and Products**, Fargo, v. 43, n. 1, p. 207–212, May 2013.

WEISANY, W. et al. Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). **Plant Omics Journal**, St Lucia, v. 5, n. 2, p. 60, 2012.

ZAEFIZADEH, M. et al. Superoxide Dismutase (SOD) Activity in NaCl stress in salt-sensitive and salt-tolerance genotypes of colza (*Brassica napus* L.). **Middle-East Journal of Scientific Research**, Deira, v. 7, n. 1, p. 7–11, 2011.

ZANETTI, F.; MONTI, A.; BERTI, M. T. Challenges and opportunities for new industrial oilseed crops in EU-27: a review. **Industrial Crops and Products**, Fargo, v. 50, p. 580–595, Oct. 2013.

ZANETTI, F.; MOSCA, G. Adaptability and sustainable management of high-erucic Brassicaceae in Mediterranean environment. In: AKPAN, U. G. (Ed.). **Oilseeds**. Rijeka: Intech, 2012. 184 p.

ZANETTI, F.; VAMERALI, T.; MOSCA, G. Yield and oil variability in modern varieties of high-erucic winter oilseed rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) and Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) under reduced agricultural inputs. **Industrial Crops and Products**, Fargo, v. 30, n. 2, p. 265–270, Sept. 2009.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 53, n. 1, p. 247–273, June 2002.

ZHU, L. H. Crambe (*Crambe abyssinica*). In: MCKEON, T. A. et al. (Ed.). **Industrial oil crops**. London: Elsevier, 2016. p. 195–205.