

Estresse salino em duas variedades de cana-de-açúcar: enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila¹

Salinity stress in two varieties of sugar cane: enzymes of the antioxidant system and chlorophyll fluorescence

Lilia Willadino^{2*}, Ronaldo Alves de Oliveira Filho³, Elias Arcanjo da Silva Junior⁴, Artur Gouveia Neto⁵ e Terezinha Rangel Camara⁶

Resumo - O Brasil destaca-se por ser o maior produtor de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e por dominar todos os estágios da tecnologia de produção de açúcar e etanol. Atualmente se observa a expansão dessa cultura para a região semiárida brasileira, a qual apresenta solos propensos à salinização. O presente trabalho objetivou avaliar a resposta à salinidade de duas variedades de cana-de-açúcar. O ensaio foi implantado em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 8 com cinco repetições, correspondendo a duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e RB863129) e oito níveis de NaCl (0; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 200 mM de NaCl). A salinidade induziu aumento na fluorescência e diminuição na concentração de clorofila em ambas as variedades. A redução da clorofila, entretanto, foi maior na variedade RB867515. Observou-se, nesta mesma variedade, aumento da atividade da peroxidase do ascorbato (APX) e da catalase (CAT), enquanto na variedade RB863129 ocorreu redução na atividade dessas enzimas. Esses resultados indicam que a variedade RB867515 apresenta um mecanismo mais eficiente na proteção da planta contra danos no aparato fotoquímico e contra a ação de espécies reativas de oxigênio, em particular o H₂O₂.

Palavras-chave - Catalase. Fluorescência da clorofila. Peroxidase. *Saccharum officinarum*.

Abstract - Brazil is seen as being the largest producer of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) and of mastering all stages in the production of sugar and ethanol. Currently this production is being expanded into the semi-arid regions of Brazil, where there are soil-types prone to salinity. This study aimed to evaluate the response to salinity in two sugarcane genotypes, RB867515 and RB863129. Salinity caused an increase in chlorophyll fluorescence and a reduction of chlorophyll concentration in both varieties. The reduction of chlorophyll however was higher in RB867515. In this same type, an increase in the activity of ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT) was observed, while in genotype RB863129 there was a reduction in the activity of these two enzymes. These results show that RB867515 has a mechanism which better protects the plant against damage to the photochemical system and the action of reactive oxygen species, particularly H₂O₂.

Key words - Chlorophyll fluorescence. Peroxidase. Catalase. *Saccharum officinarum*.

* Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 31/08/2010; aprovado em 31/01/2011

Trabalho submetido e selecionado no primeiro Simpósio Brasileiro de Salinidade realizado de 12-15/10/2010 em Fortaleza, Ceará, Brasil; Pesquisa financiada pela CAPES e CNPq

²Departamento de Biologia/UFRPE, Rua dom Manoel de Medeiros s/n, Recife-PE, Brasil, 52.511-900; lilia@pq.cnpq.br

³Graduando do curso de Agronomia/UFRPE, Rua dom Manoel de Medeiros s/n, Recife-PE, Brasil, 52.511-900

⁴Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada/UFRPE, Rua dom Manoel de Medeiros s/n, Recife-PE, Brasil, 52.511-900

⁵Departamento de Física/UFRPE, Rua dom Manoel de Medeiros s/n, Recife-PE, Brasil, 52.511-900

⁶Departamento de Química/UFRPE, Rua dom Manoel de Medeiros s/n, Recife-PE, Brasil, 52.511-900

Introdução

As áreas de cultivo de cana-de-açúcar têm se expandido para a região semiárida brasileira. Esta região caracteriza-se por apresentar condições edafoclimáticas favoráveis à salinização dos solos. Os efeitos da salinidade sobre as plantas incluem restrição na assimilação do CO₂ e queda no teor de clorofila (SILVA et al., 2010), resultando, frequentemente, na redução do crescimento da planta (MUNNS et al., 2002). Todo estresse ambiental pode acarretar estresse oxidativo, resultado do acúmulo de espécies reativas e citotóxicas de oxigênio (O₂⁻, H₂O₂, OH) (MITTLER, 2002).

As plantas possuem um mecanismo de defesa antioxidativo que atua mediante a ativação de um sistema enzimático (AGARWAL; PANDEI, 2004) e que inclui a peroxidase do ascorbato (APX), a catalase (CAT) e a peroxidase (POD). Essas enzimas catalisam a decomposição do H₂O₂, desempenhando um papel fundamental no equilíbrio redox (MITTLER, 2002).

É frequente o aumento da atividade de uma ou mais enzimas do sistema antioxidativo, em função do incremento da salinidade, como registrado para a APX (BOR et al. 2003; KOCA et al., 2007; MAIA et al., 2010), CAT (ABOGADALLAH et al, 2010; AGARWAL; PANDEI, 2004; KOCA et al., 2007) e POD (ABOGADALLAH et al., 2010). O aumento da atividade dessas enzimas minimiza os efeitos deletérios do H₂O₂ sobre a célula e suas estruturas (MAIA, 2002).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a resposta de duas variedades de cana-de-açúcar ao estresse salino, mediante a variação da atividade das enzimas do sistema antioxidativo (CAT, POD, APX), da fluorescência e do teor de clorofila.

Material e métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, em Recife - PE. Foram utilizadas duas variedades de cana-de-açúcar, RB863129 e RB867515. As mudas foram procedentes do Centro de Tecnologia Estratégicas do Nordeste (CETENE), em Recife - PE. Ambas as variedades foram submetidas a oito níveis de salinidade (0; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 200 mM de NaCl) em esquema fatorial 2 x 8, inteiramente casualizado. Foram mantidas cinco repetições por tratamento. Trinta dias após a diferenciação do experimento, a massa fresca das plantas foi determinada por meio de balança de precisão (Kern410) e as plantas congeladas em nitrogênio líquido para análises bioquímicas. Foi avaliada a atividade de

enzimas do sistema antioxidativo, o teor de clorofila, e a fluorescência induzida por *laser*. Para obtenção do extrato enzimático, macerou-se 0,2g de massa fresca em nitrogênio líquido. As atividades enzimáticas foram expressas em unidade enzimática. Uma unidade da enzima é definida como a quantidade de enzima que causa um aumento de 0,001 unidade de absorvância por minuto e expressas como U min⁻¹ mg⁻¹ de proteína solúvel.

A atividade da catalase foi determinada pela adição de 100 µL do extrato enzimático a 2,9 mL de uma solução contendo H₂O₂ (12,5 mM) e tampão fosfato de potássio (50 mM), com pH 7,0. A absorvância foi medida a 240 nm, usando espectrofotômetro UV-VIS (HAVIR; MCHALE, 1987). Para a determinação da atividade da peroxidase foram adicionados 100 µL do extrato enzimático bruto a 0,9 mL da mistura de reação contendo tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, acrescida de pirogalol a 20 mM e H₂O₂ a 20 mM. A absorvância, medida a 420 nm, foi obtida 60 segundos após o início da reação (KAR; MISHRA, 1976). A atividade da peroxidase do ascorbato foi determinada mediante a adição de 100 µL do extrato ao meio de reação constituído por 2,7 mL de tampão fosfato de potássio a 50 mM, pH 6,0, e 75 µL de ácido L-ascórbico 0,8 mM. A absorvância foi medida a 290 nm (NAKANO; ASADA, 1981, modificado por KOSHIBA, 1993). A determinação do teor de clorofila seguiu o método de Arnon (1949): o tecido vegetal foi macerado, utilizando-se acetona a 80%, e centrifugado por cinco minutos a 2000 g. A absorvância foi medida a 663 nm e 645 nm.

As medidas de fluorescência da clorofila foram realizadas utilizando-se uma fonte de excitação no UV, azul, verde, vermelho ou infravermelho associada a um sistema de coleta de sinal de fluorescência por cabos de fibras ópticas, acoplado a um espectrômetro com fotodetector. Os dados foram tratados e analisados usando o software Ocean Optics USB HR4000.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste 'F' e regressão. Para o fator "dose de salinidade" realizou-se análise de regressão, por ser um fator quantitativo. Para o fator "variedade", por ser qualitativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT (SILVA; AZEVEDO, 2002).

Resultados e discussão

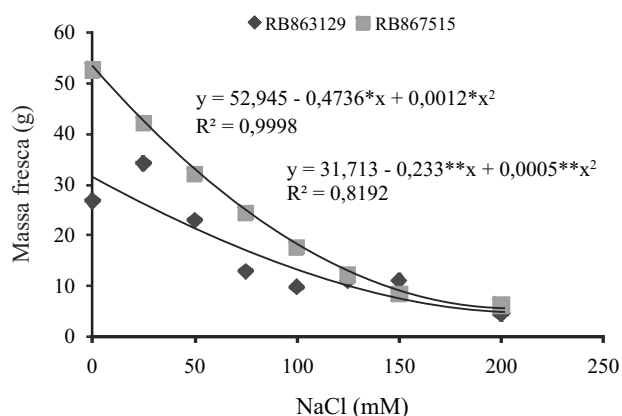
Ambas as variedades apresentaram redução na biomassa fresca da parte aérea em função do incremento dos níveis de sal na solução nutritiva (FIG. 1), entretanto, destaca-se o melhor desempenho da variedade RB867515 (TAB. 1). O efeito deletério da salinidade sobre o

Tabela 1 - Resumo da análise de variância para peso de massa fresca (MF), fluorescência da clorofila (F690/F735), teor de clorofila, atividade da peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT) e peroxidase (POD) de duas variedades de cana-de-açúcar aos 30 dias de tratamento em distintos níveis de salinidade

| Fator de Variação | Quadrado Médio | | | | | |
|-------------------|----------------|-----------|-----------|----------------|--------------------------|-----------------|
| | MF | F690/F735 | clorofila | APX | CAT | POD |
| Variedade (V) | 953,37** | 0,03** | 0,01* | 3.955.805,08** | 146.810,66* | 31.978.924,98** |
| Nível de sal (S) | 994,12** | 0,80** | 4,28** | 1.829.748,12** | 243.692,37 ^{ns} | 37.340.726,63** |
| Interação (VxS) | 125,47** | 0,07** | 0,42** | 2.429.862,82** | 397.009,30 ^{ns} | 6.067.688,18** |
| Tratamentos | 586,04** | 0,41** | 2,19** | 2.251.538,78** | 308.781,49 ^{ns} | 22.389.188,57** |
| Resíduo | 22,05 | 0,002 | 0,06 | 406.818,63 | 271.409,29 | 9.665,72 |
| CV % | 23,35 | 2,26 | 18,39 | 28,76 | 26,23 | 2,47 |

** significativo a 1%, e * significativo a 5% (teste F); ns não significativo

crescimento da planta já está bem documentado e, frequentemente, em uma mesma espécie, a cultivar sensível apresenta maior redução do crescimento do que a tolerante (MUNNS et al., 2002; KOCA et al., 2007; CORREIA et al., 2009).



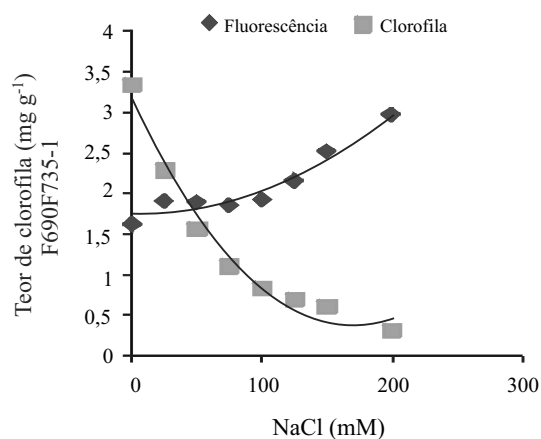
* significativo a 5%, e ** significativo a 1% pelo teste F

Figura 1 - Massa fresca de parte aérea de cana-de-açúcar, variedades RB 867515 e RB 863129, submetidas a distintos níveis de NaCl durante 30 dias

A redução de produção de massa fresca, à medida que ocorreu um incremento dos níveis de sal na solução, foi acompanhada pelo aumento na fluorescência das moléculas de clorofila (FIG. 2 e 3), indicando que houve perturbação no processo fotossintético. Em condições de estresse a taxa de fluorescência (FR) das bandas de emissão da clorofila no vermelho e vermelho distante, denotadas pela relação F690/F735, é aumentada (SCHREIBER,

1983; STÖBER; LICHTENTHALER, 1992). O aumento dessa relação F690/F735 indica que a capacidade de captação da luz é superior à capacidade de aproveitamento fotoquímico, resultando na emissão de fluorescência.

Paralelamente ao aumento da fluorescência observou-se um decréscimo no teor de clorofila. O coeficiente de correlação negativa entre essas duas variáveis foi altamente significativa tanto na variedade RB863129 (-0,847) como na variedade RB867515 (-0,854). A variedade RB867515,

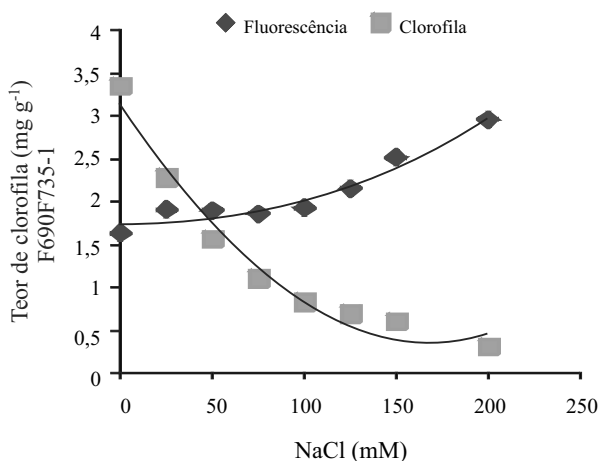


$y = 1,7375 - 0,0003**x + 3E - 05**x^2$ $R^2 = 0,9474$

$y = 3,1467 - 0,033**x + 1E - 04**x^2$ $R^2 = 0,9755$

** significativo a 1% pelo teste F

Figura 2 - Teor de clorofila em mg g⁻¹ massa fresca (■) e fluorescência de clorofila F690/F735 (◆) da parte aérea da variedade RB867515 submetida durante 30 dias a distintos níveis de NaCl



$$y = 1,7375 - 0,0003**x - 3E - 05**x^2 \quad R^2 = 0,9474$$

$$y = 3,1467 - 0,033**x - 1E - 04**x^2 \quad R^2 = 0,9755$$

** significativo a 1% pelo teste F

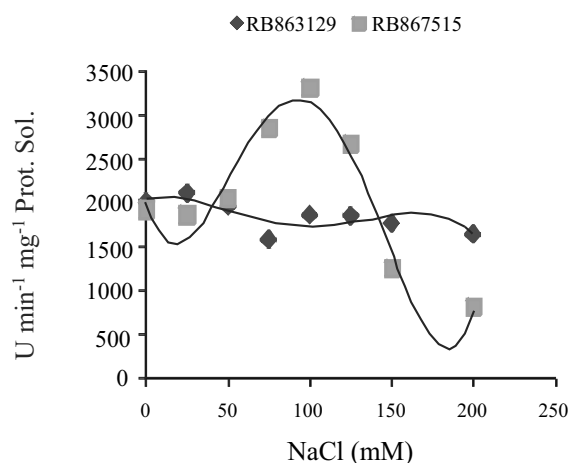
Figura 3 - Teor de clorofila em mg/g massa fresca e fluorescência de clorofila F690/F735 da parte aérea da variedade RB863129 submetida durante 30 dias a distintos níveis de NaCl

entretanto, apresentou um maior incremento na fluorescência e uma maior redução no teor de clorofila do que a variedade RB863129 (TAB. 1). A variedade RB867515, portanto, apresenta uma maior aclimatação ao estresse imposto, visto que a maior redução do teor de clorofila é um mecanismo de defesa por reduzir a captação de energia luminosa e conseqüentemente diminuir o fluxo de elétrons para a cadeia de transferência de elétrons, uma vez que essa está altamente reduzida favorecendo a redução parcial do oxigênio que resulta na formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (BROSCHÉ et al., 2010). A redução do teor de clorofila em função do incremento do nível de sal é uma resposta frequente em várias espécies vegetais, entre elas *Grewia tenax* (HUNSCHE et al., 2010), *Jatropha curcas* (SILVA et al., 2010) e *Tamarindus indica* (HUNSCHE et al., 2010). É interessante destacar que algumas espécies, como o *Arachis hipogaea*, não apresentam alteração significativa nos parâmetros associados à emissão da fluorescência sob condições de estresse (CORREIA et al., 2009).

A condição de desequilíbrio entre a atividade fotoquímica e bioquímica da fotossíntese favorece a geração de ROS (SOUZA et al., 2005), o que resulta numa maior demanda por um eficiente mecanismo antioxidante de defesa para evitar o estresse oxidativo (CAVALCANTI et al., 2004). No que se refere à decomposição de espécies reativas, e mais especificamente do H_2O_2 , observou-se, de uma maneira geral, o incremento na atividade da APX e da CAT em ambas as variedades quando submetidas a até

aproximadamente 100 mM de NaCl. A partir de 100 mM de NaCl, estresse salino severo, observou-se uma queda progressiva nas atividades dessas enzimas (FIG. 4 e 5).

As variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB863129 apresentaram valores similares da atividade da peroxidase do ascorbato (APX) no tratamento controle e no de 25 mM de NaCl (FIG. 4). No entanto, os valores de atividade divergem entre as duas variedades em função do aumento da concentração salina. Na variedade RB863129 a atividade da APX decaiu em aproximadamente $190 \text{ U min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína solúvel, a cada incremento de 25 mM de NaCl. Por outro lado, na variedade RB867515 ocorreu um incremento da atividade dessa enzima, com valores máximos atingidos a 75 e 100 mM de NaCl. As APXs são consideradas as enzimas mais importantes na eliminação de H_2O_2 tanto no citosol quanto nos cloroplastos (INZÉ; VAN MONTAGU, 1995). Geralmente o maior incremento na atividade da APX caracteriza variedades com maior tolerância ao NaCl como constatado em *Sesamum indicum* (KOCA et al., 2007), *Beta vulgaris* (BOR et al. 2003), *Lycopersicon* (MITTOVA et al. 2002), e *Vigna unguiculata* (MAIA et al., 2010). A partir de 100 mM de NaCl observou-se o decréscimo da atividade da APX na variedade RB 867515. Segundo Munns et al. (2002) níveis de NaCl superiores a 100 mM provocam a inibição de uma vasta gama de enzimas.



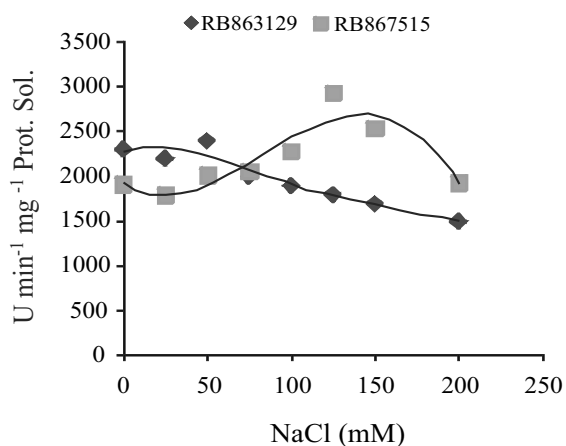
$$y = 2099,8 - 57,917**x + 2,0651**x^2 - 0,0184**x^3 + 5E - 05**x^4 \quad R^2 = 0,9541$$

$$y = 2050,1 + 5,2486**x - 0,2606**x^2 + 0,0024**x^3 - 7E - 06**x^4$$

** significativo a 1% pelo teste F

Figura 4 - Atividade da enzima, peroxidase do ascorbato (APX) (EC 1.11.1.11) da parte aérea de duas variedades de cana-de-açúcar submetidas durante 30 dias a distintos níveis de NaCl

Da mesma forma que a APX, a atividade da CAT foi maior na variedade RB867515 (TAB. 1, FIG. 5). Em diversas espécies como *Sesamum indicum* (KOCA et al., 2007), *Cassia angustifolia* (AGARWAL, PANDEI, 2004), *Echinochloa crusgalli* L. (ABOGADALLAH et al., 2010) e *Chenopodium álbum* (YAO et al., 2010) foi observado um incremento da atividade da CAT, sendo o mesmo considerado uma habilidade para fazer frente às espécies reativas de oxigênio. Na variedade RB863129, foi observado decréscimo moderado da atividade da CAT quando as plantas foram submetidas ao estresse salino.



$$y = 1916,3 - 10,717^{ns}x + 0,2638^{ns}x^2 - 0,0011^{ns}x^3 + 6E - 08^{ns}x^4$$

$$R^2 = 0,8561$$

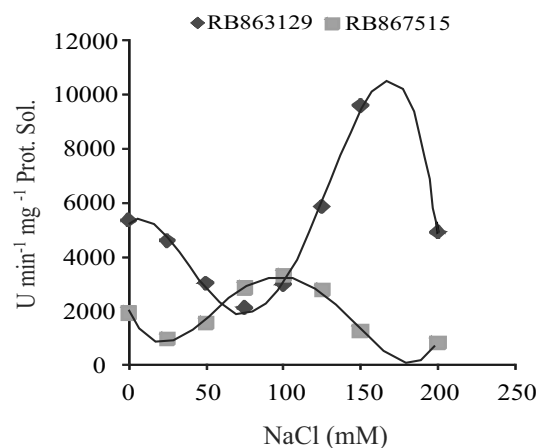
$$y = 2267,2 + 6,1355^{ns}x - 0,1955^{ns}x^2 + 0,0012^{ns}x^3 - 3E - 06^{ns}x^4$$

$$R^2 = 0,9258$$

^{ns} não significativo pelo teste F

Figura 5 - Atividade da enzima catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) da parte aérea de duas variedades de cana-de-açúcar submetidas durante 30 dias a distintos níveis de NaCl

A atividade da POD, na variedade RB867515, tendeu a se manter constante até a concentração de 100 mM de NaCl, a partir da qual detectou-se o incremento da atividade dessa enzima (FIG. 6). A variedade RB863129, por sua vez, também apresentou tendência de aumento da atividade da POD a partir de 100 mM de NaCl. O aumento da atividade da peroxidase minimiza os efeitos prejudiciais do estresse salino e, ademais, responde pela regulação fina da concentração do H₂O₂ em função da grande afinidade com esta ROS (MITTLER, 2002; ABOGADALLAH et al., 2010).



$$y = 5277 + 54,438^{**}x - 4,0102^{**}x^2 + 0,0462^{**}x^3 - 0,0001^{**}x^4$$

$$R^2 = 0,9957$$

$$y = 1962,7 - 113,6^{**}x + 3,4062^{**}x^2 - 0,0284^{**}x^3 + 7E - 05^{**}x^4$$

$$R^2 = 0,9922$$

** significativo a 1% pelo teste F

Figura 6 - Atividade da enzima peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7) da parte aérea de duas variedades de cana-de-açúcar submetidas durante 30 dias a distintos níveis de NaCl

Os resultados indicam a maior capacidade de aclimação da variedade RB867515, uma vez que apresentou uma menor redução da massa fresca associada ao maior incremento da atividade da peroxidase do ascorbato (APX) e da catalase (CAT), além de redução do teor de clorofila, caracterizando sua estratégia de aclimação.

Conclusão

A relação entre a maior atividade enzimática e o maior crescimento indica uma melhor aclimação da variedade RB867515 quando comparada à variedade RB863129 sob estresse salino, na fase inicial de crescimento. Observa-se, em ambas as variedades, um aumento na fluorescência paralelo à redução do teor de clorofila à medida que ocorre incremento dos níveis de sal, indicando a perturbação no processo fotossintético.

Referências

ABOGADALLAH, G. M.; SERAG, M. M.; QUICK, P. W. Fine and coarse regulation of reactive oxygen species in the salt tolerant mutants of barnyard grass and their wild-type parents under salt stress. *Physiologia Plantarum*, v. 138, n. 01, p. 60-73, 2010.

- AGARWAL, S.; PANDEY, V. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifoli*. **Biologia Plantarum**, v. 48, n. 04, p. 555-560, 2004.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, n. 01, p. 1-15, 1949.
- BOR, M.; OZDEMIR, F.; TURKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, n. 164, n. 01, p. 77-84, 2003.
- BROSCHÉ, M. *et al.* Stress Signaling III: Reactive Oxygen Species (ROS). In: PAREEK, A. *et al.* **Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation**. Dordrecht: Springer, 2010. Cap. 5, p. 91-102.
- CAVALCANTI, F. R. *et al.* Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, n. 163, n. 03, p. 563-71, 2004.
- CORREIA, K. G. *et al.* Crescimento, produção e características de fluorescência da clorofila a em amendoim sob condições de salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 04, p. 514-521, 2009.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.
- HUNSCHE, M. *et al.* Effects of NaCl on surface properties, chlorophyll fluorescence and light remission, and cellular compounds of *Grewia tenax* (Forssk.) Fiori and *Tamarindus indica* L. leaves. **Plant Growth Regulation**, v. 61, n. 03, p. 253-263, 2010.
- INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.6, n. 02, p 153-158, 1995.
- KAR M.; MISHRA D. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 02, p. 315- 319, 1976.
- KOCA, H. *et al.* The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, n. 03, p. 344-351, 2007.
- KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 05, p. 713-721, 1993.
- MAIA, J. M. *et al.* Antioxidative enzymatic protection in leaves of two contrasting cowpea cultivars under salinity. **Biologia Plantarum**, v. 54, n. 01, p. 159-163, 2010.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 09, p. 405-410, 2002.
- MITTOVA, V. *et al.* Salt stress induces upregulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerant wild tomato species *Lycopersicon pennellii* but not in the cultivated species. **Physiologia Plantarum**, v. 115, n. 03, p. 393-400, 2002.
- MUNNS, R. *et al.* Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selections traits. **Plant Soil**, v. 247, n. 01, p. 93-105. 2002.
- NAKANO Y.; ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, n. 05, p.867-880, 1981.
- SCHREIBER, U. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. 1: The measuring system. **Photosynthesis Research**, v. 4, n. 04, p. 361-375, 1983.
- SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, n. 01, p. 71-78, 2002.
- SILVA, E. N. *et al.* Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, n. 10, p. 1130-1137, 2010.
- SOUZA, R. P. *et al.* Photosynthetic responses of young cashew plants to varying environmental conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 08, p.735-744, 2005.
- STOBER, F.; LICHTENTHALER, H. K. Change of laser-induced blue, green, and red fluorescence signature during greening of etiolated leaves of wheat. **Journal of Plant. Physiology**, v. 140, n. 06, p. 673-680, 1992.
- YAO, S. *et al.* Plant growth and responses of antioxidants of *Chenopodium album* to long-term NaCl and KCl stress. **Plant Growth Regul.**, v. 60, n. 02, p. 115-125, 2010.