

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**CIÊNCIA DO SOLO**

**DISSERTAÇÃO**

**Respostas Morfológicas, Fisiológicas e Bioquímicas  
de Acessos de Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.)  
Submetidos ao Estresse Salino-Sódico**

**Maicon Wandermaz dos Santos**

**2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
CIÊNCIA DO SOLO**

**RESPOSTAS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E  
BIOQUÍMICAS DE ACESSOS DE PINHÃO MANSO (*Jatropha  
curcas* L.) SUBMETIDOS AO ESTRESSE SALINO-SÓDICO**

**MAICON WANDERMAZ DOS SANTOS**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Roberto Oscar Pereyra Rossiello**

*e Co-orientação da Professora*  
**Sílvia Aparecida Martim**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de **Mestre em Ciências**, no  
Curso de Pós-Graduação em  
Agronomia, Área de Concentração  
em Ciência do Solo

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2013

633.85

S237r

T

Santos, Maicon Wandermaz dos, 1986-

Respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas de acessos de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidos ao estresse salino – sódico / Maicon Wandermaz dos Santos. – 2013.

63 f.: il.

Orientador: Roberto Oscar Pereyra Rossiello.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia.

Bibliografia: f. 49-63.

1. Pinhão - manso - Cultivo – Teses. 2. Pinhão – Manso – Morfologia – Teses. 3. Pinhão - manso – Cultivo - Condições ambientais - Teses. 4. Plantas oleaginosas - Teses. I. Rossiello, Roberto Oscar Pereyra, 1948- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO**

**MAICON WANDERMAZ DOS SANTOS**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/02/2013

---

Roberto Oscar Pereyra Rossiello. Dr. UFRRJ  
(Orientador)

---

Everaldo Zonta. Dr. UFRRJ

---

Marcel Giovanni Costa França. Dr. UFMG

## DEDICATÓRIA

Aos meus irmãos e sobrinhos, por serem tão especiais.

À minha mãe, Marinalva, ao meu pai, Antônio, pela minha vida, pelo esforço e dedicação em minha educação, pelo exemplo de força de vontade e por todo amor que dedicam aos seus filhos.

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Ao Deus, Pai todo poderoso, por me ajudar a superar todos e tantos obstáculos e por toda a glória a mim concedida, OBRIGADO SENHOR!!!

À minha mãe, Marinalva, pelo exemplo de mulher guerreira e perseverante, por me dar a vida, amor, carinho e muita força em todas as fases da minha vida.

Ao meu pai, Antônio, pelo exemplo de homem trabalhador e honesto.

Aos meus irmãos e sobrinhos, por serem tão importantes e especiais na minha vida.

À Rogéria, pelo companheirismo, nos momentos mais difíceis e felizes desta caminhada.

A toda família Sobradense, em especial a família Maia, pelo incentivo e apoio.

Ao meu orientador, Professor Roberto Oscar Pereyra Rossiello, pela extrema competência, pelos ensinamentos, dedicação, paciência e amizade, em todas as fases do projeto.

Aos Professores Everaldo Zonta e Sílvia Martim pela co-orientação, oportunidade, credibilidade e confiança para conduzir e executar o projeto.

Aos amigos-estagiários Camila, Pedro, Gisele, Ádria e Aline, que foram fundamentais na condução e execução dos trabalhos.

Aos amigos Leandro Martim, Janiélio, Orlando, Fabiano, Rafael Presotto, Helen, funcionários e Professores dos laboratórios do Departamento de Solos, pela grande amizade, convívio, troca de experiências e sugestões.

Aos Professores que comporam a banca examinadora.

À UFRRJ, ao CPGA-CS, a CAPES e Petrobras pela oportunidade e financiamento concedido.

## **BIOGRAFIA**

Maicon Wandermaz dos Santos, filho de Antônio Pereira dos Santos e Marinalva Wandermaz dos Santos, nascido em 07 de dezembro de 1986, em São João do Sobrado, no município de Pinheiros, no estado do Espírito Santo. Coursou Ensino Fundamental na Escola Estadual de Ensino Fundamental São João do Sobrado e concluiu o ensino Médio e Técnico na Escola Agrotécnica Federal de Colatina-ES, no ano de 2005. Ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 2006, diplomando-se em Agronomia em 2010. Foi monitor das disciplinas de Pedologia e Fundamentos da Ciência do Solo, de 2008 a 2010, sendo bolsista de Iniciação Científica (PROIC) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no último período de graduação. Em março de 2011 iniciou o Mestrado no Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro concluindo-o em Fevereiro de 2013.

## RESUMO

SANTOS, Maicon Wandermaz dos. **Respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas de acessos de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidos a estresse salino-sódico**. 2013. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie arbustiva, oleaginosa da família *Euphorbiaceae* que vem merecendo muita atenção como fonte potencial de biodiesel, esta espécie é tolerante à seca, com potencial para ser cultivada em ambientes semiáridos sobre solos salino-sódico. Entretanto, para atingir este objetivo, é necessário o melhor entendimento das respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas do pinhão manso perante essas condições climáticas adversas. Procurando dar uma contribuição nesse sentido, foram conduzidos, no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, uma série de experimentos curtos sob condições ambientais controladas. Os experimentos foram conduzidos em cultivo hidropônico usando a solução de Hoagland e Arnon à força iônica total, conforme determinado em testes preliminares. As condições experimentais foram as seguintes: o fotoperíodo foi de 12 horas, a irradiância fotossintética de  $450 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , com temperatura do ar de 28/24 °C para o período dia/noite. Após um período pré-experimental de cultivo em areia em condições de casa de vegetação, as plântulas de pinhão manso foram transferidas para potes de plástico na câmara de crescimento e os tratamentos de salinidade foram iniciados pela adição de NaCl à solução nutritiva basal. No primeiro ensaio o acesso 305 foi submetido a três níveis de NaCl: 0, 50, 150  $\text{mmol L}^{-1}$ , enquanto que no segundo e terceiro ensaio, os acessos 356 e 345 foram tratados com cinco níveis, 0, 50, 75, 100 e 150  $\text{mmol L}^{-1}$ , respectivamente. Foi utilizado um desenho experimental inteiramente casualizado com 4 repetições, ensaios 1 e 3 e com 5 repetições o ensaio 2. As plantas foram distribuídas ao acaso sobre as bancadas e suas posições foram mudadas diariamente. As plantas foram colhidas quinze dias após aplicação dos tratamentos, ocasião em que foram separadas, em lâmina foliar + pecíolo, caule e raízes e sua área foliar total foi medida usando análise de imagens. Em amostras foliares frescas foram determinados o teor relativo de água, os teores de clorofilas totais, açúcares solúveis, aminoácido livres e prolina. Em amostras secas foram determinados os teores de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ . Os acessos exibiram padrões diferenciados da resposta aos níveis crescentes de NaCl na solução nutritiva. Utilizando o rendimento relativo da matéria seca total como primeiro critério de avaliação, foi concluído que o acesso 356 foi mais sensível e o 305, o mais tolerante. O segundo critério de importância foi o teor foliar do íon  $\text{Na}^+$  e sua relação associada  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Em relação à acumulação de solutos orgânicos compatíveis, foi concluído que o aumento em sensibilidade ao NaCl esteve associado a uma acumulação crescente de aminoácido livres e prolina. Finalmente, o teor relativo de água e o conteúdo foliar de clorofila total podem servir apenas como indicadores complementares devido ao aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva.

**Palavras chave:** Rendimento relativo. Relação Na/K. Solutos compatíveis

## ABSTRACT

SANTOS, Maicon Wandermaz dos. **Morphological, physiological and biochemical responses of physic nut (*Jatropha curcas* L.) accessions submitted to NaCl stress. 2013.** 63p. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science) Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

*Jatropha curcas* L. (Physic nut) is a woody oil-seed bearing species of the *Euphorbiaceae* family that has emerged as a potential source of biodiesel. This species is drought tolerant, with potential for cultivation in semi-arid environments on salt- and sodium-affected soils. However, to reach this objective, it is necessary a better understanding of the morphological, physiological and biochemical responses of physic nut to these adverse climate conditions. Aiming to contribute in this direction, a series of short experiments, under controlled environmental conditions, were conducted at the Soil Department of the Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. Inter-accession evaluations were conducted in hydroponics, using a Hoagland and Arnon solution at full ionic strength, as determined in a preliminary test. Experimental conditions were as follow: photoperiod was 12 h of 450  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (400-700) photon flux density, with air temperatures of 28/24 °C for the day/night period. After a pre-treatment period in a sand bed and in greenhouse conditions, physic nut seedlings were transferred to plastic pots in the growth chamber and salinity treatments begun by adding NaCl to the basal nutrient solution. In the first assay, the accession 305 was treated with three levels of NaCl: 0, 50 and 150  $\text{mmol l}^{-1}$  while in the second and third assays, the accessions 356 and 345 were treated with five levels: 0, 50, 75, 100 and 150  $\text{mmol l}^{-1}$ , respectively. A fully randomized experimental design with 4 repetitions (assays 1 and 3) or 5 repetitions (assay 2) was used. Plants were randomly distributed with positions changed daily. All the plants were harvested 15 days after beginning the treatment. At harvesting plants were separated into leaf blade + petiole, stems and roots, and the total leaf area was measured using image analysis. In the fresh leaf samples the relative water content (RWC), total chlorophyll, soluble sugars, free-amino acids and proline contents were determined. Ionic composition, evaluated in terms of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  contents were determined in the leaf, stems and roots from dry samples. The accessions exhibited different response patterns to increasing levels of NaCl in the nutrient solution. Using the relative yield of total dry matter as the first criterion of evaluation it was concluded that accession 356 was the most sensitive and 305, the most tolerant. The second criterion in importance was the leaf  $\text{Na}^+$  content and its associated Na/K ratio. Regarding the accumulation of organic compatible solutes it was concluded that increased sensitivity was associated with increased accumulation of free amino acids and proline. Finally, regarding the relative water content and total chlorophyll content of the leaf blade, these traits may be used only as complementary indicators, due to their low sensitivity to increases in NaCl concentration in the nutrient solution.

**Key words:** Relative yield. Na/K ratio. Compatibles solutes

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 O Pinhão Manso como Espécie Oleaginosa.....	2
2.2 Solos Afetados por Salinidade e Sodicidade.....	2
2.3 Efeitos Sobre o Crescimento Vegetal.....	3
2.4 Intensidade do Estresse.....	3
2.5 Absorção Iônica.....	4
2.6 Respostas Vegetais.....	4
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	6
3.1 Estratégia Experimental.....	6
3.2 Condições Gerais de Cultivo nos Experimentos.....	6
3.3 Calibração de Métodos - Experimento Preliminar.....	6
3.4 Avaliação dos Efeitos de Adição de NaCl à Solução Nutritiva.....	11
3.5 Determinações Experimentais.....	11
3.6 Análise Estatística.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4.1 Acesso 305.....	13
4.1.1 Área foliar, teor relativo de água, e produção de massa seca.....	13
4.1.2 Teores de clorofila, N-amino livre, prolina e açúcares solúveis.....	18
4.2 Acesso 356.....	21
4.2.1 Área foliar, teor relativo de água, e produção de massa seca.....	26
4.2.2 Teores de clorofila, N-amino livre, prolina e açúcares solúveis.....	30
4.2.3 Acúmulo de íons inorgânicos.....	34
4.3 Acesso 345.....	34
4.3.1 Área foliar, teor relativo de água, e produção de massa seca.....	34
4.3.2 Teores de clorofila, N-amino livre, prolina e açúcares solúveis.....	37
4.3.3 Acúmulo de íons inorgânicos.....	40
5 CONCLUSÕES.....	48
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

## 1 INTRODUÇÃO

A maior parte da energia consumida no mundo provém de combustíveis fósseis, principalmente petróleo, carvão e gás natural, as quais são fontes não renováveis, e, portanto, destinadas ao seu esgotamento no futuro. Por essa razão, a procura global por combustíveis alternativos vem se intensificando de forma crescente (FRANCIS et al., 2005).

Diversos estudos com plantas oleaginosas, vistas como uma alternativa em relação aos combustíveis fósseis tem destacado a sua utilização como fontes de energia limpa, principalmente no relativo à produção de biodiesel (RAMOS et al., 2003). Em particular, o interesse pela cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é cada vez maior, visando à seleção e o aprimoramento da cultura, para que se obtenham variedades mais produtivas e economicamente viáveis, pois produz, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectare, levando de três a quatro anos para atingir a idade produtiva, a qual pode se estender por quarenta anos (CARNIELLI, 2003; NUNES, 2007).

Uma característica atraente no pinhão manso é a sua rusticidade, expressa pela sua baixa exigência hídrica, o que a torna capaz de sobreviver em ambientes de baixa precipitação e altas temperaturas do ar. Essas características de ajuste a condições de aridez ambiental permitem adiantar a possibilidade do seu cultivo em extensas áreas do Nordeste brasileiro, caracterizadas por solos afetados por alta salinidade-sodicidade. Para viabilizar tal possibilidade há necessidade de mais estudos sobre o desempenho cultural desta espécie sob condições de alta salinidade-sodicidade no solo (VERAS et al., 2011), tal como foi realizado com as culturas da mamoneira e do algodoeiro (JÁCOME et al., 2005). Pouco se conhece ainda sobre a bioquímica e a fisiologia do pinhão manso (SAPETA et al., 2013); não existindo cultivares definidas, sendo que outros aspectos agronômicos ainda carecem de investigação.

No intuito de contribuir a um melhor entendimento das limitações e vantagens ecofisiológicas que apresenta esta espécie, no presente trabalho partiu-se da hipótese de que acessos diferenciados de pinhão manso expressam respostas diferenciadas à salinidade, envolvendo diferenças morfológicas (ao nível de planta inteira), fisiológicas (ao nível tissular) ou bioquímicas (ao nível celular ou de organela).

Para tal, foram conduzidos estudos, sob condições ambientais controladas, com os seguintes objetivos:

i) quantificar os efeitos de doses crescentes de NaCl no meio de cultivo sobre os padrões de crescimento da parte aérea e raízes de acessos de pinhão manso contrastantes em testes de produtividade no campo;

ii) verificar os padrões de absorção e acúmulo dos íons  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  em parte aérea e raízes; E

iii) selecionar entre diversos atributos (teor de clorofila, “pools” de aminoácidos livres totais, prolina livre, açúcares solúveis e teor relativo de água), aquele ou aqueles que melhor possam indicar o grau de tolerância/sensibilidade dos acessos de *Jatropha curcas* estudados à presença de teores elevados de NaCl no meio de crescimento

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O Pinhão Manso como Espécie Oleaginosa

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie arbustiva pertencente à família *Euphorbiaceae*, de hábito perene, adaptada às diversas condições edafoclimáticas existentes dentro da faixa intertropical (JONGSCHAAP et al., 2007). Trata-se de uma espécie de crescimento rápido, que atinge altura adulta entre dois e três metros, embora se tenham registros de até cinco metros. O diâmetro do tronco é, aproximadamente, 0,2 m; com caule liso, de lenho pouco resistente e medula desenvolvida; floema que se estende até as raízes, onde circula o látex, bastante cáustico (ARRUDA et al., 2004). Ramifica-se desde a base do tronco, formando ramos compridos. Os ramos apresentam numerosas cicatrizes produzidas pela queda das folhas durante a estação seca, as quais ressurgem logo após as primeiras chuvas (DUKE, 1983).

A semente de pinhão manso pesa entre 0,5 e 0,8 gramas, sendo constituída por casca (34- 45 %) e amêndoa (55-66%), dependendo de genótipo e tratos culturais (DUKE, 1983). As sementes podem acumular de 25 a 40 % de óleo, sendo, portanto, uma concorrente preferencial em programas de produção de óleos vegetais, com diversas finalidades, principalmente a produção de bicomustíveis (SLUSZZ & MACHADO, 2006; NUNES et al., 2008).

Nos países importadores, basicamente Portugal e França, as sementes de pinhão manso sofrem o mesmo tratamento industrial que as bagas de mamona, isto é, cozimento prévio e esmagamento subsequente em prensas tipo “expeller”, para extração do óleo. Subsequentemente, o óleo é filtrado, centrifugado e clarificado, obtendo-se um produto livre de impurezas. A torta, contendo ainda aproximadamente 8% de óleo, é re-extraída com solventes orgânicos, geralmente hexano, sendo o farelo residual ensacado para aproveitamento como fertilizante natural, em virtude dos seus elevados teores de N, P e K (DOURADO, 2009).

Segundo Ackom e Ertel (2005) o óleo oriundo do pinhão manso contribui para redução das emissões de CO<sub>2</sub> e contém quantidades de enxofre ambientalmente aceitáveis, quando comparada às quantidades contidas nos combustíveis fósseis. Arruda et al. (2004) citaram pesquisas onde o óleo de pinhão manso apresentou bom rendimento em motores a diesel, quando utilizado cru, contudo, seu consumo é maior, devido à diferença do poder calorífico com relação ao diesel, o que também é descrito por Augustus et al. (2002), para quem este óleo deve ser usado como fonte energética intermediária.

Além de apresentar vantagens inerentes à produção de biodiesel, as plantas de pinhão manso vêm sendo plantadas visando o controle de erosão, a contenção de encostas e de dunas, e ao longo de canais, rodovias, ferrovias, e como cerca viva em divisões internas ou nos limites de propriedades rurais (PURCINO & DRUMMOUND, 1986; TEIXEIRA, 2005; JONGSCHAAP et al., 2007).

### 2.2 Solos Afetados por Salinidade e Sodicidade

Os problemas de excesso de sais em solos são conhecidos há muito tempo, mas sua magnitude e intensidade têm aumentado, resultando em expansão significativa da área de solos degradados por salinidade e sodicidade (LEAL et al., 2008). Atualmente, os solos afetados por sais estão presentes em mais de 100 países, sendo que muitas regiões caracterizam-se pela salinização causada pela água de irrigação (RENGASAMY, 2006).

No Brasil, os solos da região semi-árida, em razão das altas taxas de evaporação e baixas taxas de precipitação pluviométrica, apresentam, em geral, elevadas concentrações de

sais solúveis. Além dos solos naturalmente halomórficos, muitos são salinizados e, ou, sodificados pelo homem, com o uso inadequado da água de irrigação (RUIZ et al., 2004).

A atribuição do caráter salino ou sódico é baseada em três propriedades químicas: a condutividade elétrica da pasta de saturação do solo ( $CE_{es}$ ); a percentagem de saturação em sódio trocável (PST) e o pH (ROBBINS & GARLAK, 1989). De acordo com esse critério distinguem-se solos não afetados por sais ( $CE_{es} < 4 \text{ dS m}^{-1}$ ; PSS < 15 % e pH < 8,4); solos salinos ( $CE_{es} > 4 \text{ dS m}^{-1}$ ; PSS < 15 % e pH > 8,4); solos sódicos ( $CE_{es} < 4 \text{ dS m}^{-1}$ ; PSS > 15 % e pH > 8,4) e solos salino-sódicos ( $CE_{es} > 4 \text{ dS m}^{-1}$ ; PSS > 15 % e pH > 8,4) (OLIVEIRA, 1997).

Essas propriedades químicas, responsáveis pelos efeitos tóxicos sobre as plantas não adaptadas, também são responsáveis pelas condições físicas dos solos, via processos de floculação/dispersão das argilas coloidais. Assim, quando a salinidade não é muito elevada e o  $Na^+$  é íon predominante na solução, verifica-se a dispersão de argila coloidal e a consequente desestruturação dos solos, diminuindo a aeração e dificultando o movimento de água e o desenvolvimento radicular (RUIZ et al., 2004). Solos salino-sódicos, embora apresentem uma elevada concentração de sódio, possuem permeabilidade menos crítica do que os solos sódicos, em razão do efeito floculante dos sais solúveis (RUIZ et al., 2004).

### 2.3 Efeitos sobre o Crescimento Vegetal

Do ponto de vista da produção vegetal, salinidade refere-se à presença de sais solúveis no solo em níveis tais que possam prejudicar significativamente o rendimento das plantas cultivadas (MUNNS & TESTER, 2008). Enquanto algumas espécies apresentam elevada tolerância à salinidade, outras são altamente susceptíveis. As espécies que se desenvolvem naturalmente em ambientes com elevados teores de sais solúveis são denominadas halófitas, enquanto que, as chamadas glicófitas, não conseguem se desenvolver em tais ambientes. Por exemplo, a quinoa (*Chenopodium quinoa*) é uma dicotiledônea C3 que exibe um crescimento ótimo a 150 mM NaCl e é capaz de suportar 500 mM NaCl (SHABALA et al., 2012). Em contraste, a maioria das glicófitas pode apresentar redução no crescimento quando a salinidade supera 10 mM, dependendo do seu grau de sensibilidade (MUNNS, 2002).

Os efeitos gerais sobre o crescimento vegetal, decorrentes da exposição das plantas a níveis crescentes de salinidade (NaCl), são atribuídos a três causas: *i*) no curto prazo, a um estresse osmótico, induzido pela alta concentração salina no meio externo, *ii*) no meio e longo prazo, à toxidez iônica induzida pelo acúmulo de  $Na^+$  e  $Cl^-$  nos tecidos vegetais e/ou, *iii*) ao desequilíbrio nutricional causado pelos distúrbios na absorção dos nutrientes essenciais (MUNNS & TESTER, 2008).

Em relação ao estresse osmótico, o mesmo se manifesta através de uma inibição ou redução do influxo de água nas raízes. Essa situação acarreta consequentemente, uma deficiência hídrica na planta, evidenciado pela redução do potencial hídrico dos tecidos, provocando restrição no crescimento. Essa redução é expressão do fato de que as taxas de divisão e alongação celular dependem tanto do nível de turgescência quanto da extensibilidade da parede celular (HSIAO, 1973; ASHRAF & HARRIS, 2004). Portanto, a resposta imediata das plantas ao estresse salino é uma forte diminuição na expansão foliar (PARIDA & DAS, 2005). Dessa forma, a manutenção do balanço osmótico é essencial para o crescimento dos vegetais em meio salino (ASHRAF & HARRIS, 2004).

### 2.4 Intensidade do Estresse

Nos últimos anos, estudos relativos aos mecanismos de resposta vegetal frente a diversos estresses ambientais, como baixa temperatura, deficiência hídrica, choque osmótico ou salinidade, comprovaram que os agentes estressantes são percebidos de forma diferenciada pelos sistemas de sinalização das plantas, de acordo com a intensidade da sua ação (PASTORI

& FOYER, 2002). Isso significa que os roteiros de transdução, assim como os seus resultados, diferirão entre células que respondam a um estresse moderado ou a um estresse severo (KACPERSKA, 2004). No caso do estresse salino-sódico a situação deve ser similar, uma vez que o tempo de exposição e a concentração de NaCl interagem tanto na manifestação dos sintomas de toxidez quanto na expressão dos mecanismos de tolerância ao estresse (SHAVRUKOV, 2012). Por exemplo, Kawasaki et al. (2001) observaram, em plantas de arroz expostas a um choque osmótico (150 mM NaCl), que os genes que se expressaram quinze minutos após o evento foram diferentes daqueles que se expressaram após uma semana.

Há vários estresses abióticos que induzem respostas essencialmente similares nas plantas. A elevada salinidade ou o dessecamento progressivo do solo, assim como as baixas ou altas temperaturas, tem em comum o fato causarem a desidratação da célula vegetal. Como observaram Hoekstra et al. (2001), a hidrofobicidade é essencial para a organização celular, sendo a água a força impulsora para o encaixe dos fosfolipídios nas membranas biológicas e, em parte, para a correta conformação estrutural de muitas proteínas. Quando a célula se desidrata, tal força se dissipa, acarretando mudanças mais ou menos drásticas na organização das membranas e a própria desnaturação das proteínas.

## 2.5 Absorção Iônica

As vias de entrada do sódio nas raízes das plantas, sob alta salinidade, não são ainda compreendidas definitivamente (KRONZUCKER & BRITTO, 2010). Os mecanismos de influxo de  $K^+$  e  $Na^+$  sobre a membrana plasmática não estão bem caracterizados. A absorção de  $Na^+$  ocorre por um sistema de alta afinidade para absorção de  $K^+$ , além de canais não seletivos para absorção de cátions (BLUMWALD et al., 2000; HORIE & SCHROEDER, 2004, KRONZUCKER & BRITTO, 2011). A absorção de  $K^+$  ocorre tanto por transportadores seletivos de alta afinidade como por canais seletivos de baixa afinidade (GIERTH & MÄSER, 2007). Sob condições de salinidade-sódica, altas doses de  $Na^+$  não só interferem na aquisição de  $K^+$  pelas raízes, mas também podem provocar danos nas membranas de raízes e alterar sua seletividade (VIÉGAS et al., 2001; SILVA et al., 2009a; KRONZUCKER & BRITTO, 2011; BRINI & MASMOUDI, 2012, RODRIGUES et al., 2012). Entretanto, tais efeitos são dependentes de fatores inerentes à espécie, cultivar, estágio fenológico, composição química dos sais, intensidade e duração do estresse salino, manejo cultural e da irrigação. Algumas espécies podem até mesmo serem beneficiadas quando expostas a certas condições de salinidade, por exemplo, durante a germinação, o que lhes conferirá uma maior capacidade de adaptação à salinidade no restante do ciclo (ALIAN et al., 2000; TESTER & DAVENPORT, 2003; VIANA et al., 2004,).

## 2.6 Respostas Vegetais

A primeira resposta de, virtualmente, todas as plantas a uma deficiência hídrica aguda é o fechamento dos seus estômatos para prevenir a perda transpiratória de água (HSIAO, 1973; MANSFIELD & ATKINSON, 1990). Essa ação fornece prevenção às plantas contra a desidratação nociva, mas, em contrapartida, inevitavelmente resulta em reduções na absorção de  $CO_2$  para a fotossíntese (OZFIDAN et al., 2013).

Dentro da faixa compreendida entre a inibição da extensão celular e a perda da turgescência celular, acontecem outras alterações metabólicas características. Os teores de aminoácidos livres e de açúcares solúveis aumentam progressivamente em razão do bloqueio do crescimento celular e da redução do volume citoplasmático decorrente da desidratação (ROSSIELLO et al, 1981a, b). Todavia, algumas espécies bioquímicas acumulam-se em níveis superiores àqueles esperados em função da simples desidratação passiva do tecido, indicando serem produto de uma regulação metabólica diferenciada ou de novas rotas biossintéticas. Esses metabólitos têm sido denominados “solutos compatíveis”, porque a sua

acumulação em altas concentrações não interfere com a estrutura e o funcionamento celular, nem envolve toxicidade (CHEN & MURATA, 2002). Essas condições são preenchidas por uma série de compostos solúveis como oligossacarídeos e polialcóis derivados (como sacarose, trehalose e manitol), aminas quaternárias (como glicina betaína) e o iminoácido prolina, os quais, frequentemente, têm sido relacionados diretamente com tolerância à salinidade e à desidratação protoplasmática (DELAUNEY & VERMA, 1993; HOEKSTRA et al., 2001).

A biossíntese de prolina utiliza duas vias, a partir de glutamato como precursor, e depende de um adequado suprimento de carboidratos (STEWART et al., 1966). Os acúmulos de prolina em plantas submetidas a estresse parecem depender de um balanço entre a ativação de sua biossíntese e a inativação da sua degradação (SEKI et al., 2003). Adicionalmente, prolina pode acumular também como expressão da hidrólise de proteínas e da inibição da síntese protéica, as quais são respostas característica de estresse (PIMENTEL & ROSSIELLO, 1995; LEA et al., 1995).

O declínio em produtividade observado em muitas espécies submetidas a excesso de salinidade tem isso frequentemente relacionado com a redução da capacidade fotossintética. Essa redução em fotossíntese também pode ser atribuída a um decréscimo no teor de clorofila. Em rabanete (*Raphanus sativus* L.) submetido a estresse salino, a sua redução em crescimento foi atribuída às seguintes razões: em primeiro lugar, a uma redução em expansão de área foliar, e, portanto a uma mais baixa interceptação de luz. Em segundo lugar, a uma possível redução em condutância estomática, seguida por uma depressão nos processos metabólicos associados com a assimilação do carbono, uma inibição na capacidade fotoquímica ou uma combinação desses fatores. (JAMIL et al., 2007).

Díaz-López et al. (2012 a), observaram, em seu experimento com um acesso de pinhão manso submetido a doses crescentes de NaCl, que após 30 dias de exposição, as plantas tratadas com 30, 60 ou 150 mM tiveram uma redução da sua taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A<sub>CO2</sub>) da ordem de 20, 27 e 68 % em relação ao controle não salinizado. Os autores atribuíram essas reduções ao efeito combinado de restrições estomáticas (redução da condutância estomática devido ao fechamento estomático) e a restrições não estomáticas, ligadas principalmente ao efeito dos íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> sobre os processos fotoquímicos.

Outra feição característica do estresse salino é a indução do estresse oxidativo. A produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) tais como o radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), o radical hidroxila (OH<sup>•</sup>) e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), são respostas fisiológicas conhecidas, associadas aos estresses hídrico e salino (MILLER et al., 2010). Em plantas de trigo e milho, a aplicação de um estresse salino (50, 100 e 150 mM NaCl) em solução nutritiva implicou em aumento significativo das atividades enzimáticas ligadas ao sistema de defesa anti-oxidativo (superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, glutatona redutase) assim como de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (STEPIEN & KLOBUS, 2005). Em quinoa (*Chenopodium quinoa*), foi verificado que o acúmulo de osmólitos orgânicos compatíveis, como a glicina betaína, desempenha um papel dual: por um lado em relação ao ajustamento osmótico, por outro, na proteção do sistema fotossintético contra estresse oxidativo, particularmente em folhas jovens em expansão (SHABALA et al., 2012).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Estratégia Experimental

Para atingir os objetivos do presente projeto, foram realizados experimentos em condições de ambiente controlado (câmara de crescimento), durante o período compreendido entre setembro de 2011 e outubro de 2012.

#### 3.2 Condições Gerais de Cultivo nos Experimentos Realizados.

Os experimentos foram conduzidos em câmara de crescimento, localizada no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Todos os experimentos foram realizados em condições hidropônicas, utilizando a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), sob aeração contínua, fornecida por compressor de ar de 35 watts acoplado a tubos de polietileno afixados em orifício no fundo dos vasos.

Sementes de acessos de pinhão manso, provenientes do Banco de Germoplasma da UFRRJ, foram submersas em solução de hipoclorito de sódio 2% por 2 minutos. Logo após, foram lavadas em água corrente deionizada e semeadas na casa de vegetação, em bandejas plásticas com capacidade para 15 Kg utilizando areia como substrato. Inicialmente, as sementes foram embebidas com água destilada, e, após 10 dias, com solução de Hoagland e Arnon (1950) a 10% de força iônica até o dia da transferência para os potes, dentro da câmara de crescimento. Os potes permaneceram sobre uma bancada metálica (Figura 1), sob condições ambientais pré-programadas, incluindo irradiância fotossintética =  $450 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; fotoperíodo de 12 h; e temperatura do ar (ciclo dia/noite) de 28°C/24°C.



**Figura 1.** Vista parcial de plântulas de pinhão manso cultivadas em potes plásticos de 2 L de capacidade, em condições de ambiente controlado, mostrando detalhe do sistema de distribuição de ar entre os recipientes.

#### 3.3 Calibração de Métodos – Experimento Preliminar

Previamente à condução dos experimentos de resposta à aplicação de doses de NaCl, foi realizado um estudo, tendente à visualização do comportamento de um acesso de pinhão manso em três níveis de força iônica (F.I.) da solução de Hoagland e Arnon (1950). Tal

experimento serviu para aferir possíveis efeitos iônicos dependentes da F.I. das soluções a serem empregadas nos experimentos principais, assim como também calibrar as técnicas de análise de crescimento e acúmulo de biomassa por parte da espécie objeto deste estudo.

Para tal, após completar as fases de germinação e emergência, as plântulas de pinhão manso (acesso 842) foram transferidas para vasos com capacidade de 3 L (duas plantas/vaso), contendo solução de Hoagland e Arnon (1950), em três níveis de força iônica, a saber: 1) F.I. = 100%; 2) F.I. diluída a 50 % e 3) F.I. diluída a 25 %, de acordo com um delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. (Figura 2). As soluções foram trocadas com intervalos de sete dias, e, durante esse período, os volumes de água transpirados pelas plântulas, eram completados com volumes iguais das soluções nutritivas correspondentes a cada tratamento.

No transcurso do período experimental foi medida a altura do caule, considerada como a distância entre o colo da planta e a extremidade do broto terminal do ramo principal assim como o comprimento da raiz principal (cm planta<sup>-1</sup>).

Com base nesses dados, determinou-se o crescimento absoluto (CA) e a taxa de crescimento (TC, mm dia<sup>-1</sup>) de caules e raízes, de acordo às seguintes expressões:

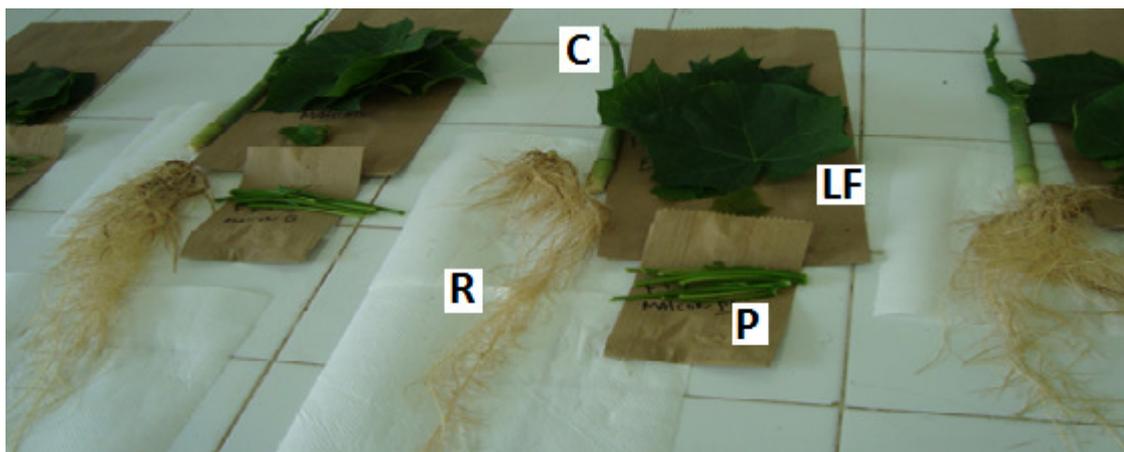
$CA = C_f - C_i$ ; onde:  $C_i$  e  $C_f$  significam comprimento inicial e final (cm planta<sup>-1</sup>)

$TC = (C_f - C_i) / (t_2 - t_1)$ , onde:  $t_1$  e  $t_2$  significam tempo inicial e final (dias).

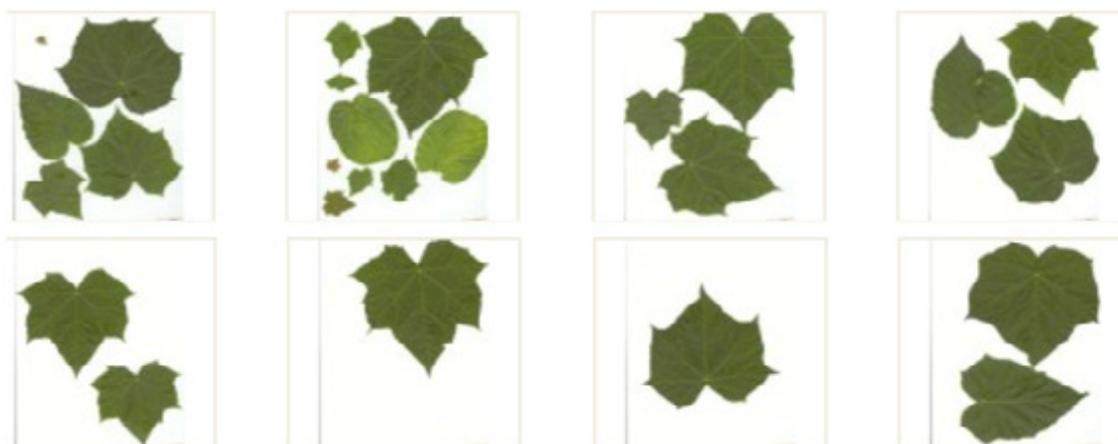


**Figura 2.** Vista do experimento preliminar, onde o acesso 842 foi cultivado em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), a três níveis de força iônica.

Transcorridos 28 dias de permanência nas soluções experimentais, as plantas foram coletadas e fracionadas em limbo foliar (LF), pecíolo (P), caule (C) e raiz (R) (Figura 3). Subsequentemente, as frações foram pesadas, identificadas e levadas para estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, até peso constante. Imagens digitais dos limbos foliares foram obtidas em scanner HP (modelo scanjet 5490c), com resolução de 200 dpi e quantização true color (16,7 milhões de cores), e posteriormente processadas com o Software SIARCS (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo – EMBRAPA) para a determinação da sua área foliar (Figura 4).



**Figura 3.** Plantas de pinhão manso separadas em limbo foliar (LF), pecíolo (P), caule (C) e raízes (R).



**Figura 4.** Determinação de área foliar. Imagens de limbos foliares foram obtidas em scanner HP, com resolução de 200 dpi. Posteriormente, as imagens foram processadas pelo software SIARCS.

Os resultados obtidos deste ensaio de calibração são apresentados nas Tabelas 1-4.

Em termos absolutos, os maiores valores das massas frescas ou secas do limbo foliar e caule, corresponderam às plantas cultivadas com solução nutritiva na concentração plena, sem apresentar, entretanto, diferenças significativas em relação à solução a meia força iônica (Tabela 1). Por outro lado, a solução em 100% de força iônica favoreceu um maior acúmulo de massa fresca ( $\text{g planta}^{-1}$ ) de pecíolo e de raiz (Tabela 1, e Figura 5). Já quando expressos na base da massa seca, as massas secas do caule e raízes não responderam significativamente aos níveis de diluição da solução examinados (Tabela 1).

**Tabela 1.** Massas fresca e seca de limbo foliar, pecíolo, caule e raiz (g. planta<sup>-1</sup>) de plantas de pinhão manso, cultivadas durante 28 dias, em três níveis de força iônica da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950).

F.I. (%)	Massa fresca (g. planta <sup>-1</sup> )			
	Limbo	Pecíolo	Caule	Raiz
25	7,06 b*	1,88 b	11,72 b	3,63 b
50	10,96ab	3,40 b	16,40 ab	7,20 b
100	14,64 a	6,01 a	21,35 a	11,11 a
C.V. (%)	21,88	31,41	21,61	27,94
F.I (%)	Massa seca (g. planta <sup>-1</sup> )			
	Limbo	Pecíolo	Caule	Raiz
25	1,93 b	0,28 b	2,164 a	0,58 a
50	2,58 ab	0,35 ab	2,48 a	0,72 a
100	3,16 a	0,56 a	2,66 a	0,93 a
C.V. (%)	24,69	32,85	21,45	26,97

\*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Os dados de área foliar correspondentes ao acesso de pinhão manso estudado evidenciaram uma redução significativa (- 68%,  $p \leq 0,05$ ) na solução mais diluída (Tabela 2 e Figura 5). Não se verificaram diferenças significativas na relação raiz/parte aérea em função da diluição da solução nutritiva, embora houvesse uma tendência ao aumento (+ 12 %) em soluções com força iônica plena, como reflexo de uma maior massa e taxa de crescimento absoluto da raiz (Tabelas 1-3). O crescimento absoluto do caule foi favorecido em maior grau, em 100% de força iônica (Tabela 3).

**Tabela 2.** Área foliar (cm<sup>2</sup> planta<sup>-1</sup>) e relação raiz/parte aérea de plantas de pinhão manso, cultivadas durante 28 dias, em três níveis de força iônica da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) : 100 %; 50% ou 25%.

F.I. (%)	Área foliar (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )
25	288,69 b*
50	537,19 ab
100	889,14 a
C.V. (%)	46,36
F.I. (%)	Relação raiz/parte aérea
25	0,132 a
50	0,132 a
100	0,148 a
C.V. (%)	13,49

\*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

**Tabela 3.** Crescimento absoluto de caule e raiz (cm planta<sup>-1</sup>) de plantas de pinhão manso, cultivadas durante 28 dias, em três níveis de força iônica da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950).

<b>Crescimento absoluto Caule</b>	
F.I. (%)	(cm)
25	4,84 c*
50	7,84 b
100	10,7 a
C.V. (%)	17,64

<b>Crescimento absoluto Raiz</b>	
F.I. (%)	(cm)
25	12,5 a
50	17,2 a
100	17,6 a
C.V. (%)	47,89

\*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Dessa forma, as respectivas Taxas de Crescimento Relativo (TCR) desses órgãos repetiram esses comportamentos, registrando-se maior TCR Caule com FI plena, enquanto que as TC Raiz não resultaram afetadas pelo fator diluição (Tabela 4).

**Tabela 4.** Taxa de crescimento do caule e raiz (mm dia<sup>-1</sup>) de plantas de pinhão manso, cultivadas durante 28 dias, em três níveis de força iônica da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950).

<b>Taxa de crescimento relativo do caule</b>	
F.I. (%)	(mm dia <sup>-1</sup> )
25	1,73 c*
50	2,8 b
100	3,82 a
C.V. (%)	17.62

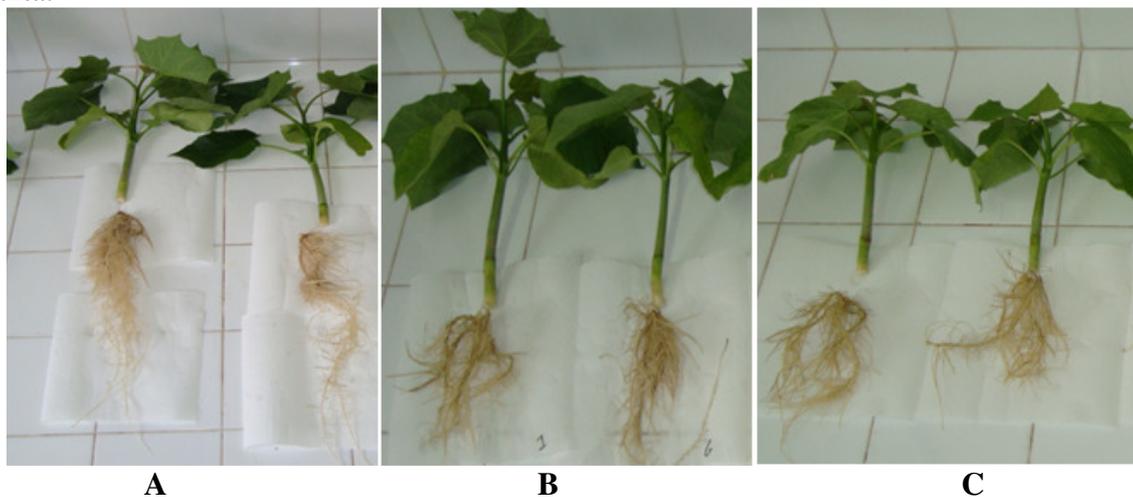
  

<b>Taxa de crescimento relativo da raiz</b>	
F.I. (%)	(mm dia <sup>-1</sup> )
25	2,89 b
50	6,14 a
100	6,28 a
C.V. (%)	59.2

\*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Foi concluído que a variação da concentração de nutrientes da solução de cultivo tem efeitos diferenciados em relação aos processos contribuintes ao crescimento das plantas de pinhão manso. Este tipo de comportamento exprime o fato de que as espécies oleaginosas são exigentes em fertilidade, apresentando redução de crescimento quando as condições nutricionais não são adequadas (Sousa et al., 2011, 2012). Em vista dos resultados obtidos, foi

decidido que os experimentos envolvendo adição de NaCl fossem realizados, em todos os casos com solução de Hoagland e Arnon (1950), utilizando-se a sua concentração original, sem prejuízo de utilizar diluições da mesma, durante as fases de crescimento inicial da planta.



**Figura 5.** Detalhe de acessos de pinhão manso cultivados em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), em três níveis de força iônica (F.I.). A): 100% F.I.; B): 50 % F.I.; C): 25 % F.I

### 3.4 Avaliação dos Efeitos da Adição de NaCl à Solução Nutritiva.

Foram realizados três experimentos independentes, envolvendo três acessos de pinhão manso e diversos níveis de NaCl.

Os aspectos comuns desses experimentos consistiram do manejo inicial das plântulas e do tempo de exposição ao sal. Após a completa germinação e emergência, as plântulas de pinhão manso foram transferidas para vasos com capacidade de 2 L (duas plantas/vaso), contendo solução de Hoagland e Arnon (1950), a 0,25 F.I, na primeira semana, aumentando-se para 0,5 F.I na segunda semana. Ao início da terceira semana pós-transplante todas as plantas foram mantidas em solução com força iônica plena. Em relação ao tempo de exposição ao sal, em todos os casos, foram 15 dias.

Os acessos submetidos à experimentação foram os distinguidos com os números 305, 356 e 345. Com o acesso 305 foram testadas as doses de NaCl de 0, 50 e 150 mM.; enquanto que no experimento com o acesso 356 as doses foram de 0, 50, 75, 100 e 150 mM. Finalmente, com o acesso 345 foram utilizadas doses de 0, 50, 75, 100 e 150 mM de NaCl.

### 3.5 Determinações Experimentais

Nos três experimentos foram determinados, ao final do ciclo de crescimento das plantas, a área foliar total por planta, e a massa seca total, assim como a sua distribuição entre as porções vegetativas, segundo os procedimentos descritos previamente, em relação ao experimento de calibração (subitem 3.3)

O teor relativo de água (TRA, %), um estimador da turgescência relativa (BARRS, 1968), foi determinado de acordo com a fórmula proposta por Weatherley (1950):

$$TRA = \frac{\text{Peso Fresco} - \text{Peso Seco}}{\text{Peso Túrgido} - \text{Peso Seco}} \times 100$$

Para a determinação das clorofilas *a*, *b* e total (*a* + *b*), discos foliares com 10 mm de diâmetro, obtidos de limbos foliares frescos, foram incubados, por 72 h., no escuro, com 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), de acordo com Hiscox & Israelstam (1979). Subsequentemente realizaram-se as leituras em espectrofotômetro nas absorvâncias de 480, 649 e 665 nm (WELLBURN, 1994).

A estabilidade das membranas foi testada pela técnica do extravasamento de eletrólitos, conforme a metodologia descrita por Bajji et al. (2002). Para estimar a possibilidade de estresse oxidativo nos lipídeos ligados às membranas, foi seguido o nível de malondialdeído (MDA), de acordo com o método de Health & Packer (1968), baseado na determinação espectrofotométrica do complexo colorido formado pela reação desse composto com o ácido tiobarbitúrico (TBA), o qual constitui um método rápido e sensível, embora apresente certas limitações (VALENZUELA, 1991). Para a determinação do teor de  $\alpha$  – aminoácidos totais e carboidratos solúveis, foi preparado um extrato alcoólico (Etanol 80 %) segundo Fernandes (1974), a partir de 0,5 g. de material fresco coletado de limbos foliares, o qual foi subsequentemente submetido a partição de fases em clorofórmio. A determinação dos teores de N-amino seguiu a metodologia de Yemm e Cocking (1955) enquanto os teores de carboidratos solúveis seguiram a metodologia de Yemm e Willis (1954). A determinação de prolina foi realizada pelo método clássico de Bates et al. (1973), baseada na maceração de 0,5 g de material fresco na presença de 10 ml de ácido sulfo-salicílico a 3 %.

Para a determinação da composição iônica, as porções vegetativas (limbo + pecíolo, caule e raiz) foram submetidas à secagem segundo descrito previamente (subitem 3.3). O material seco e triturado (Willey, 20 mesh) foi submetido à digestão nítrico-perclórica, e os teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  em cada porção vegetativa foram determinados por fotometria de chama (MALAVOLTA et al., 1989) enquanto os de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  por espectrofotometria de absorção atômica (TEDESCO et al., 1995). Essas determinações foram realizadas nos acessos 356 e 345.

### 3.6 Análises Estatísticas

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado para todos os experimentos. Para o ensaio com o acesso 305 utilizaram-se três concentrações de NaCl: 0; 50 e 150 mmol de NaCl  $\text{L}^{-1}$ , com quatro repetições. Os acessos 356 e 345 foram testados em cinco concentrações: 0; 50; 75; 100 e 150 mmol de NaCl  $\text{L}^{-1}$  utilizando-se cinco repetições no estudo do 356 e quatro no 345.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância univariada, sendo os tratamentos discriminados pelo teste F ( $p = 0,05$ ). Devido à necessidade de se estabelecer patamares quantitativos de resposta, optou-se pela discriminação de médias pós teste F, por meio do teste de Tukey ao nível de  $p = 0,05$ . De forma complementar, quando julgado apropriado, as tendências de resposta foram parametrizadas por análise de regressão, linear e não linear, segundo os modelos existentes no *software* GraphPad Prism, v. 5.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Acesso 305

#### 4.1.1 Área foliar, teor relativo de água e produção de massa seca.

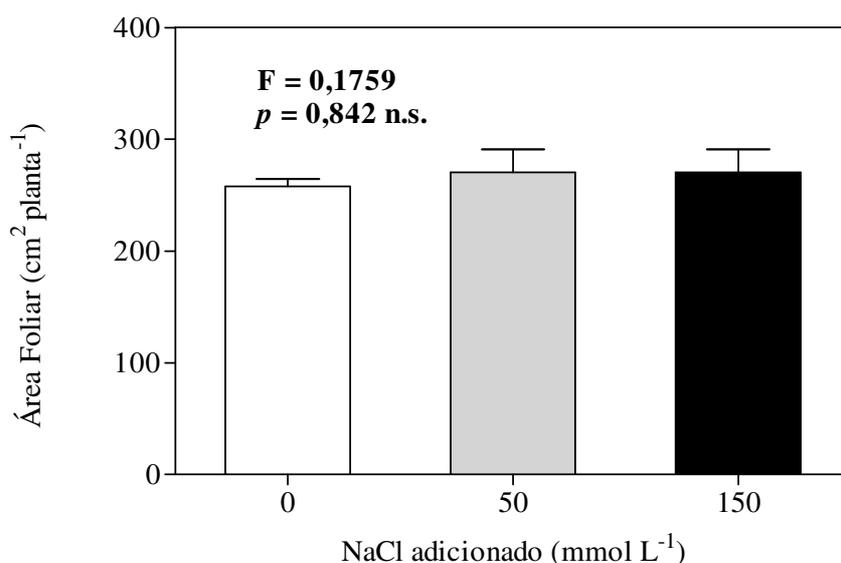
A figura 6 mostra uma visão geral do aspecto das plantas do acesso 305 cultivadas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), com as doses 0; 50 e 150 mmol L<sup>-1</sup> NaCl.



**Figura 6.** Vista do experimento do acesso 305 em cultivo hidropônico. Departamento de Solos, UFRRJ, março de 2012.

De acordo com Munns & Tester (2008), três causas concorrem para explicar os efeitos da exposição das plantas a níveis crescentes de salinidade (NaCl): *i*) no curto prazo, estresse osmótico, induzido pela alta concentração salina no meio externo; *ii*) no meio e longo prazo, toxicidade iônica induzida pelo acúmulo de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nos tecidos vegetais e/ou, *iii*) desequilíbrio nutricional causado pelos distúrbios na absorção dos nutrientes essenciais. Em relação ao estresse osmótico, o mesmo se manifesta através de uma inibição ou redução dos influxos de água nas raízes. Essa redução na absorção de água induziria uma deficiência hídrica na planta, evidenciada pela inibição da expansão foliar em folhas jovens, que é um dos processos de maior sensibilidade ao estresse hídrico (HSIAO, 1973; HSIAO et al., 1976; PANTIN et al., 2012).

Na figura 7 são apresentados os dados relativos à produção de área foliar total (AFT, cm<sup>2</sup> planta<sup>-1</sup>) deste acesso, os quais indicam que a presença de NaCl na solução não afetou esse parâmetro (teste F, p > 0,05), nem mesmo em 150 mM NaCl, considerado um nível de salinidade médio a forte para espécies glicófitas (MUNNS & TESTER, 2008).

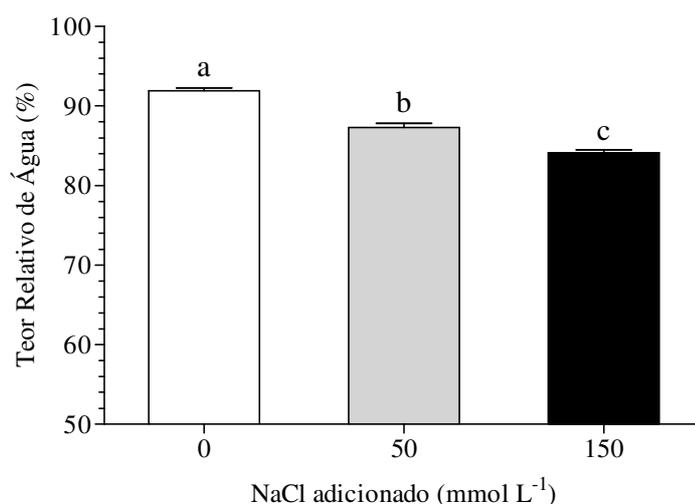


**Figura 7.** Área foliar total de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon, na ausência (controle) ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento.

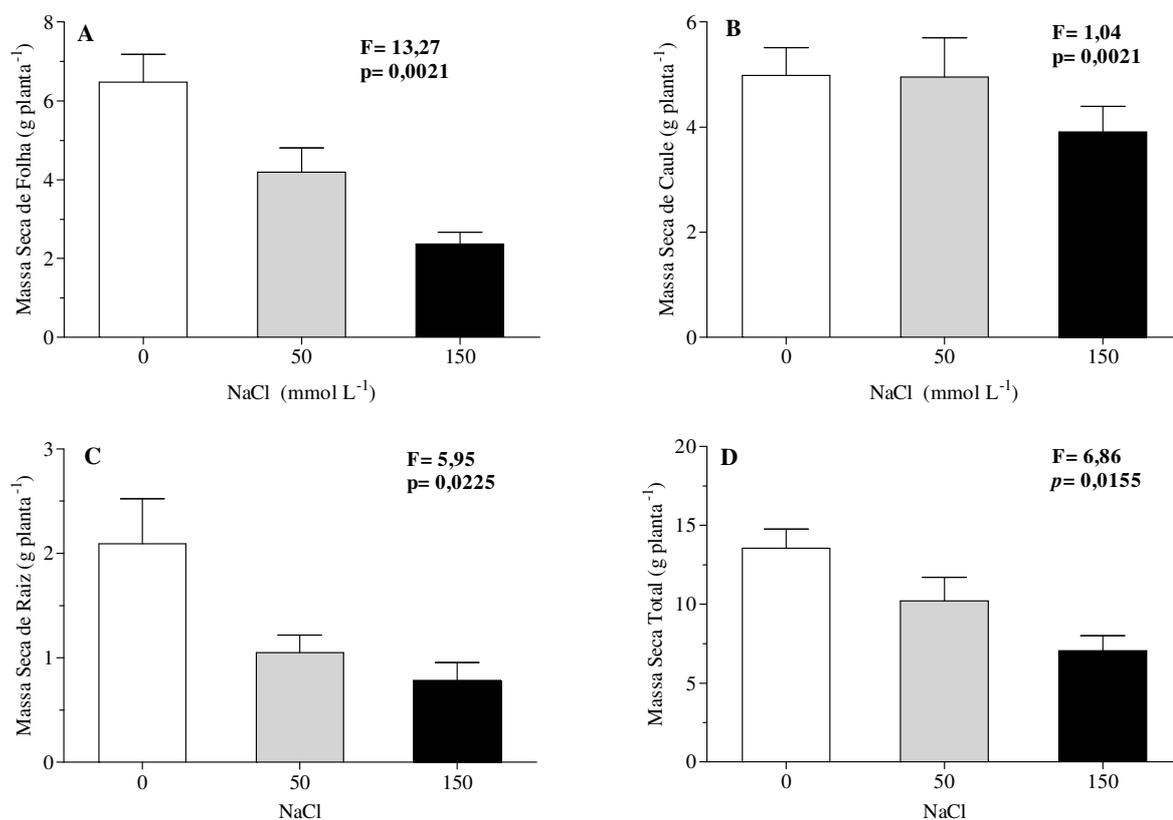
Díaz-López et al. (2012a) verificaram, trabalhando com outro acesso de pinhão manso, que a adição de até 150 mM NaCl não interferiu nem com o teor relativo de água (TRA, %) nem com o potencial hídrico dos limbos foliares das plantas. Baseados nesses resultados, esses autores sugeriram que em *J. curcas* o componente osmótico do estresse salino não teria maior significação, sendo as respostas determinadas pela toxicidade direta dos íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>, ou por desbalanços nutricionais induzidos. Segundo esses autores, este tipo de resultado seria uma consequência do mecanismo adaptativo da espécie em face ao risco de desidratação: rápido fechamento estomático como forma de conservar água a altos níveis de potencial hídrico.

Todavia, os presentes resultados, obtidos com o acesso 305, não corroboram totalmente a conclusão de Díaz-López et al. (2012a), uma vez que foram registradas reduções significativas no TRA foliar, indicativas da indução de deficiência hídrica, especialmente nas folhas submetidas ao maior nível de salinidade (TRA<sub>controle</sub> = 91,9 %; TRA<sub>150NaCl</sub> = 84,1 %,  $p < 0,05$ , Figura 8).

Os dados relativos à produção de massa seca são apresentados na figura 9A-D. Contrariamente ao verificado para a área foliar, a produção de massa seca total e sua distribuição entre folhas, caule e raízes foi afetada pelos níveis de NaCl adicionados. Considerando-se a massa seca no maior nível de salinidade em relação ao tratamento controle (= 100%), a produção de massa foliar (Fig. 9A) caiu para 37 %; a do caule (Fig. 9 B) para 79 % e a das raízes (Fig. 9C) para 38 %.



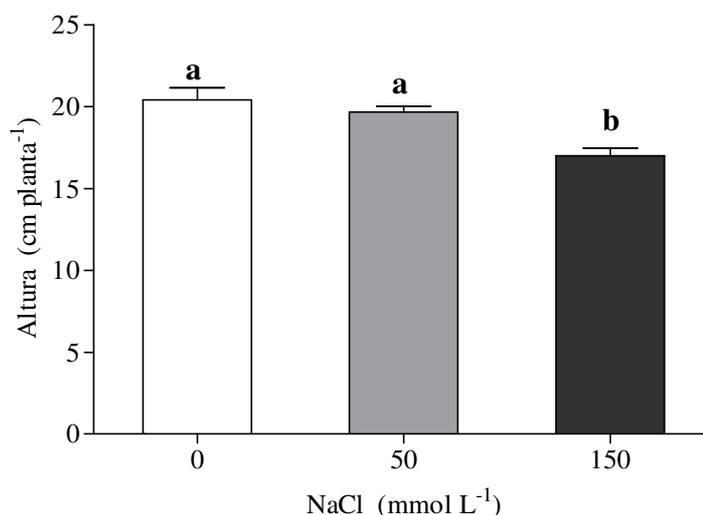
**Figura 8.** Teor Relativo de Água (TRA, %) de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), na ausência ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).



**Figura 9.** Produção de massa seca de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), na ausência ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. A: folha; B: caule; C: raízes; D: total. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento.

Globalmente, a redução da massa seca total foi de 48 % (Fig. 9D). O teste de Tukey indicou a existência de diferença significativa apenas entre o tratamento controle e a dose de 150 mM NaCl ( $p > 0,01$ ).

No presente ensaio não foram determinados os parâmetros correspondentes às trocas gasosas das plantas de pinhão manso, de forma que não é possível saber a condição funcional ou condutância dos estômatos, em resposta ao aumento progressivo de salinidade no substrato. Neste ponto, pode ser interessante seguir a abordagem analítica proposta por Hall & Long (1993) relativa às possíveis razões para a redução da produtividade em cultivares de uma espécie glicofítica em resposta à salinidade. Nessa situação, esses autores estabeleceram duas razões primárias para um decréscimo na produção: ou há um decréscimo na taxa de assimilação líquida ou ocorre uma redução em área foliar, junto com mudanças na estrutura do dossel. A segunda alternativa pode ser descartada com base no resultado mostrado na figura 7 e no fato de ter sido observada redução (-17 %) apenas na altura das plantas (Figura 10) mais não na distribuição angular das folhas (visualmente), sendo, portanto, improvável que as reduções em massa seca sejam causadas por diferenças significativas na quantidade de radiação interceptada entre os três níveis de salinidade estudados.



**Figura 10.** Variação em altura de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), na ausência ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ )

Embora o efeito da salinidade sobre a fotossíntese seja complexo (TAVAKKOLI et al., 2011), é possível admitir que um decréscimo na taxa de assimilação líquida deva refletir um decréscimo na taxa de assimilação fotossintética ou um aumento nas perdas respiratórias totais (HALL & LONG, 1993). A primeira alternativa deve resultar primariamente de limitações produzidas ao nível dos estômatos, com a rápida redução na condutância estomática induzida pelo componente osmótico do estresse salino (MUNNS & TESTER, 2008; TAVAKKOLI et al., 2011), assim como também por um aumento em limitações dentro do mesófilo, resultando em efeitos sobre os processos fotoquímicos e o transporte fotossintético de elétrons (HALL & LONG, 1993). Finalmente, o acúmulo gradual de íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nos cloroplastos pode induzir aumentos na degradação de clorofilas e interferir diretamente na eficiência do Fotossistema II (JAMIL et al., 2007; MUNNS & TESTER,

2008) ou nas atividades enzimáticas associadas com o metabolismo fotossintético do carbono (HALL & LONG, 1993; FLEXAS et al., 2004). Com respeito à segunda alternativa (aumento das perdas respiratórias), Martí et al. (2011) observaram que o efeito do estresse salino sobre a respiração mitocondrial em plantas tem recebido menos atenção e que há uma falta de consistência nos efeitos descritos. Assim, vários estudos têm mostrado que as taxas específicas de respiração resultam aumentadas, diminuídas ou permanecem inalteradas com o aumento da salinidade (BYBORDI, 2012).

Por outro lado, sais podem acumular-se nas folhas a níveis excessivos. Os sais podem acumular-se no apoplasto e induzir desidratação no simplasto (MUHLING & LAUCHLI, 2002; MUNNS & TESTER, 2008), sendo esta uma possibilidade para explicar a queda no TRA dos tecidos foliares (Figura 8). Silva et al. (2009) cultivaram plântulas de pinhão manso com 23 dias de idade, em solução nutritiva contendo entre 0 e 100 mM de NaCl durante quinze dias em condições de casa de vegetação. Esses autores observaram que o acúmulo de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nas folhas e raízes aumentou proporcionalmente ao incremento de NaCl na solução.

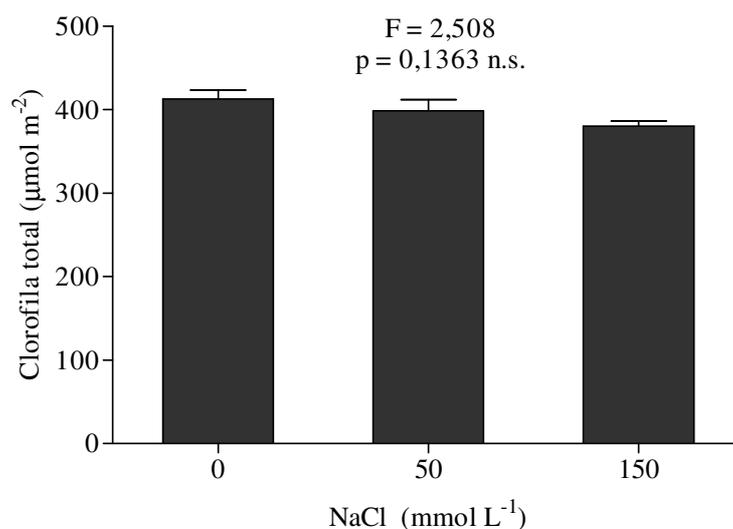
O nível de tolerância de uma espécie vegetal ao estresse salino pode ser expresso em termos da porcentagem de biomassa produzida ou da porcentagem de sobrevivência (MUNNS, 2002). No citado trabalho de Díaz-López et al. (2012a) foi utilizado o critério de determinar o valor de condutividade elétrica inicial ( $\text{EC}_i$ ) da água de irrigação (ou da solução nutritiva, no caso do cultivo hidropônico) associado a um valor de Rendimento Relativo (R.R.) = 0,5 ( $\text{EC}_{i0,5}$ ), o qual foi deduzido a partir de um modelo exponencial da forma  $\text{R.R.} = a \cdot \exp(b \cdot \text{EC}_i)$ , onde  $a$  e  $b$  são parâmetros de ajuste.

No presente experimento a matéria seca total (Fig. 9D) teve um R.R. de 0,52, no maior nível de NaCl aplicado, sugerindo que este acesso possui um nível relativamente elevado de tolerância à salinidade induzida por NaCl.

#### **4.1.2 Teores de clorofila, N-amino livre, prolina e açúcares solúveis.**

Como mencionado previamente, o estresse salino pode afetar negativamente os teores de clorofila, quer pela redução da sua biossíntese como pelo aumento da sua degradação (HSIAO, 1973; JAMIL et al., 2007). Em cevada, a redução da clorofila é atribuída, especificamente, à acumulação tóxica do íon  $\text{Cl}^-$  nos cloroplastos (TAVAKKOLI et al., 2011). Todavia, no presente caso, a adição de até 150 mM NaCl à solução nutritiva, não teve efeito significativo sobre os teores de clorofila total no acesso 305 (Figura 11).

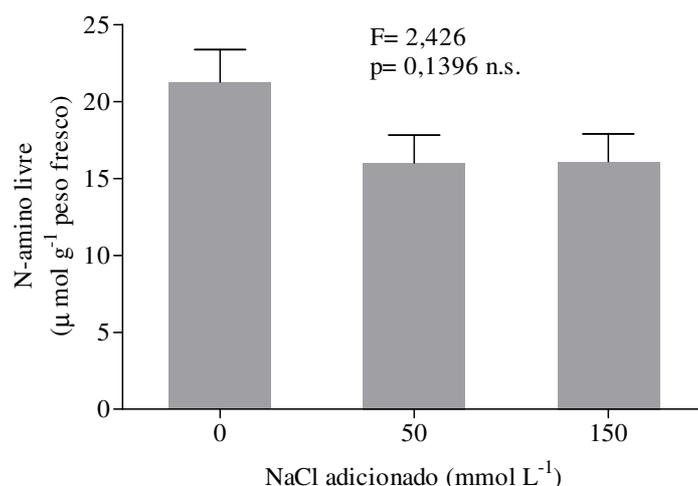
No supracitado trabalho de Díaz-López et al. (2012a) foi verificado que, os teores de clorofila, estimados indiretamente através do SPAD, diferiram significativamente apenas entre o controle (com um valor superior) e os tratamentos que receberam NaCl (de 30 a 150 mM), os quais pela sua vez não diferiram entre si. Essas observações foram feitas aos 30, 35 e 40 dias após a adição do NaCl à solução de Hoagland e Arnon (1950), repetindo-se sempre tal padrão nessas três datas. Essa comparação de resultados pode indicar duas coisas: ou o tempo aqui empregado (15 dias) foi insuficiente para a manifestação de toxidez sobre as clorofilas, ou então, o acesso 305 possui um nível de tolerância superior a aquele estudado por Díaz-López et al. (2012a).



**Figura 11.** Teores de clorofila total (*a + b*) extraída com DMSO, de limbos foliares de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), na ausência ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento.

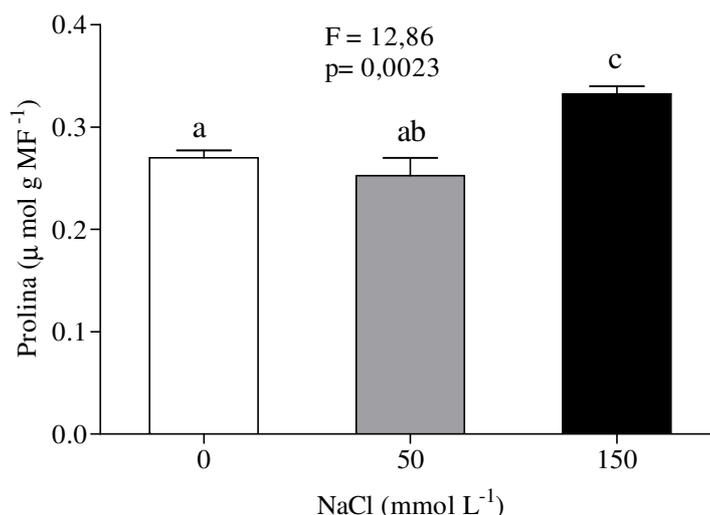
As elevadas concentrações de sais dissolvidos na solução nutritiva reduzem o potencial osmótico da mesma, diminuindo, em consequência, a disponibilidade da água para a planta. Nessas condições, a manutenção da turgescência celular e a absorção de água para o crescimento celular exigem um ajuste osmótico na célula vegetal (HSIAO et al., 1976). O abaixamento do potencial osmótico tissular requer um aumento da concentração de osmólitos no citoplasma, seja pela absorção de solutos inorgânicos e/ou pela síntese de compostos orgânicos compatíveis com o metabolismo celular (GREENWAY & MUNNS 1980; DOWNTON & LOVEYS, 1981; KAWASAKI et al., 2001; CHEN & MURATA, 2002; CHEN et al., 2007; SILVA et al., 2010; DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012 b; SHABALA et al. 2012).

Uma resposta comumente observada é um aumento no “pool” de aminoácidos livres (AAL), ao menos em espécies relativamente suscetíveis ao estresse salino-sódico (CHEN et al., 2007). Todavia, como é mostrado na Figura 12, os resultados analíticos neste acesso de pinhão manso indicaram que o aumento de NaCl na solução induziu reduções não significativas dos teores de N-amino livre foliar. CHEN et al. (2007) observaram que certos genótipos de cevada, tolerantes à salinidade, não aumentaram os seus teores de AAL nem mesmo quando cultivados em solução nutritiva com 320 mM NaCl, o qual foi aplicado gradativamente, em incrementos diários de 40 mmol L<sup>-1</sup>. Já no trabalho de Silva et al. (2010) onde plântulas de *J. curcas* foram expostas a diferentes intensidades de deficiência hídrica, foi observado um acúmulo de AAL em resposta à seca, caracterizando-se assim a sua participação no ajuste osmótico em folhas e raízes.



**Figura 12.** Teores de N-amino livre, em folhas de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), na ausência ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento.

Plantas podem acumular prolina livre nos seus tecidos quando expostas a um estresse osmótico, sendo que após a remoção deste, os níveis do iminoácido retornam aos seus valores normais (PENG et al., 1996). Pensa-se que o acúmulo de prolina seja parte do processo de ajuste osmótico contribuinte à adaptação celular de muitas espécies à seca, salinidade e outros estresses (LAROSA et al., 1991). Na figura 13 são apresentados os dados relativos aos teores de prolina observados no acesso 305, quando submetido a três níveis de NaCl na solução nutritiva. Embora a adição de 150 mmol L<sup>-1</sup> NaCl tenha induzido um aumento estatisticamente significativo (Tukey,  $p < 0,05$ ) do teor de prolina em relação ao controle, o que chama a atenção primariamente são os valores absolutos, todos abaixo de 0,4 μmol prolina g<sup>-1</sup>MF.



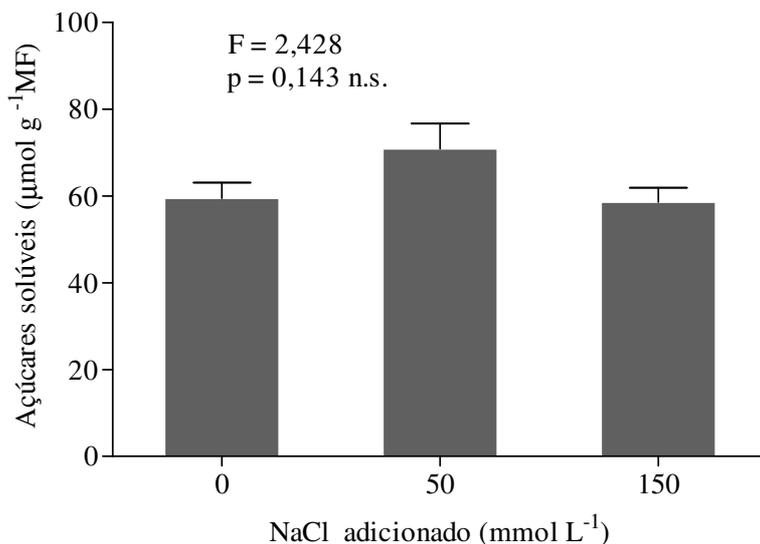
**Figura 13.** Teores de prolina em folhas de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), na ausência ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Embora esses valores possam parecer baixos, há registros, na literatura, de concentrações de prolina da mesma ordem. Por exemplo, no trabalho de OZfidan et al. (2013) foram medidas concentrações (estatisticamente significantes) de prolina desde <10 nmol até 200 nmol g<sup>-1</sup> MF em folhas de plântulas de *Arabidopsis thaliana* submetidas, a um estresse osmótico induzido por PEG 8000 (-0,73 MPa) por 24 h, valores esses, de fato, menores que os constantes na Fig. 13. É verdade que o tempo de exposição no presente ensaio foi de 15 dias, mas não existe evidência de que os acúmulos de prolina em folhas aumentem continuamente com a duração do período de estresse (CLAUSSEN, 2005).

Quando acessos de pinhão manso foram expostos a estresses puramente hídricos, os resultados, em relação ao acúmulo de prolina, foram conflitantes. No experimento de Diaz-López et al. (2012), plântulas submetidas à dessecação progressiva do solo por supressão total da irrigação durante quatro semanas, não mostraram aumentos significativos em relação a controles mantidos à capacidade de campo (teores entre 4-5 μmol prolina g<sup>-1</sup> MS). Já nos experimentos de Silva et al. (2009a,b e 2010), os teores foliares de prolina acumularam significativamente em resposta à deficiência hídrica, mas os valores observados, entre 0,2 - 0,9 μmol prolina g<sup>-1</sup> água tissular, foram considerados insignificantes, em termos de sua contribuição ao ajustamento osmótico foliar.

Frequentemente, as concentrações de açúcares solúveis totais (AST) são aumentadas em plantas sob condições de estresse hídrico ou salino (ROSSIELLO et al. 1981a,b; PIMENTEL & ROSSIELLO, 1995), principalmente em razão do aumento na atividade das amilases (MARANVILLE & PAULSEN, 1970; PAUL & FOYER, 2001).

Na figura 14 são mostrados os teores de AST em resposta aos tratamentos de salinidade impostos no acesso 305. Foi verificada a ausência de significação estatística para os teores de açúcares solúveis totais, sendo que os teores determinados nos tratamentos controle e 150 mM NaCl foram praticamente iguais. Gimeno et al. (2012) cultivaram plantas de *J. curcas* em casa de vegetação, e com idade de 90 dias, as submeteram a um alagamento, durante 9 dias, com água contendo 0, 150 ou 300 mM de NaCl.



**Figura 14.** Teores de açúcares solúveis em folhas de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), na ausência ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento.

Com relação ao controle não alagado, houve redução significativa dos teores de AST nas folhas dos tratamentos alagados, mas os açúcares solúveis não resultaram afetados pelas

concentrações de NaCl impostas. Nesse mesmo trabalho (Gimeno et al., 2012), foram acompanhados os efeitos dos tratamentos sobre os teores dos compostos quaternários de amônio (usando glicina betaína como padrão), sendo observado, em folhas e caules, ausência de qualquer resposta significativa, sendo que nas raízes houve redução significativa desses compostos apenas no nível de 300 mM NaCl. De forma diversa, Souza et al. (2012), observaram, em plantas de pinhão manso, com quatro anos de cultivo em potes de 200 L, e irrigadas normalmente com água salinizada a 2,4 dS m<sup>-1</sup>, que as concentrações de AST, açúcares redutores, AAL, prolina e glicina betaína aumentaram significativamente em relação ao tratamento controle.

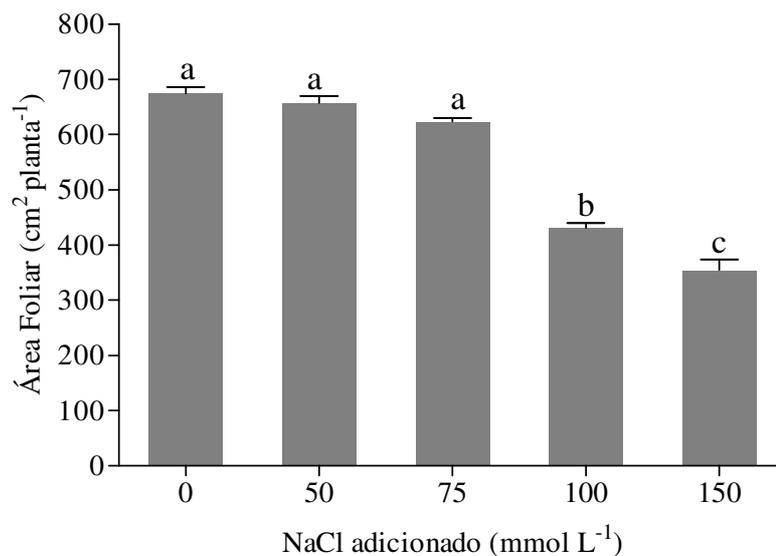
Como conclusão preliminar desses resultados, pode-se inferir que as respostas do pinhão manso à salinidade dependerão do acesso (e sua idade fisiológica); da condição ambiental e da concentração de NaCl percebida pelo sistema radicular. Nesse sentido, é interessante observar que o acesso utilizado por Gimeno et al. (2012) é notável, no sentido de suportar, mesmo com certos prejuízos, uma concentração externa de 300 mM, ao passo que os três acessos aqui estudados, não conseguiram sobreviver, em nenhum caso, a uma exposição de 200 mM NaCl, por um tempo razoável. Esse trabalho também, foi único encontrado na literatura a usar uma dose tão elevada de NaCl no pinhão manso, a qual é utilizada, normalmente, para ensaiar respostas em espécies sabidamente halofíticas (FLOWERS, 2004; PARIDA & DAS, 2005; MUNNS & TESTER, 2008; RADÍC et al., 2013).

## **4.2 Acesso 356**

### **4.2.1 Área foliar, teor relativo de água e produção de massa seca.**

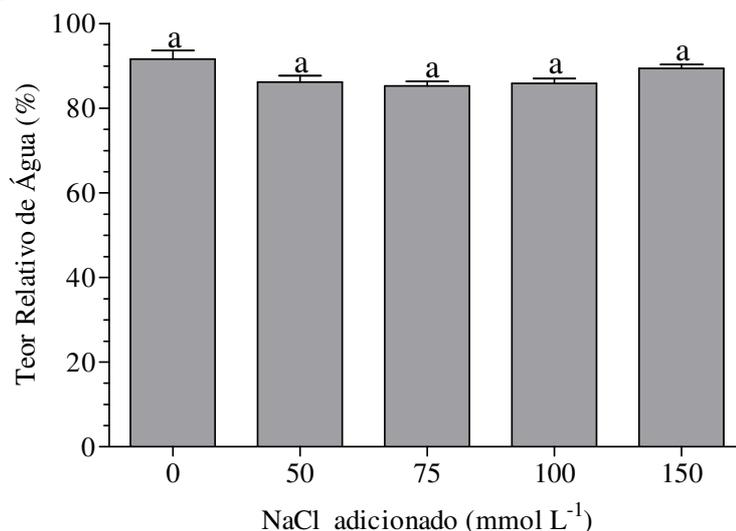
Em vista dos resultados obtidos com o acesso 305, no segundo ensaio, realizado com o acesso 356, foram incluídos dois níveis adicionais de salinidade (75 e 100 mM NaCl), para verificar o comportamento das plantas nessas doses intermediárias.

Os resultados mostraram uma situação diversa em relação aos dados obtidos com o acesso 305. Com efeito, a produção de AFT do acesso 356 declinou gradualmente, conforme aumentou a salinidade da solução, de forma não significativa (Tukey,  $p > 0,05$ ), até 75 mM, seguida de uma redução brusca nos dois maiores níveis de NaCl aplicados, de forma que a redução máxima, com relação ao tratamento controle, foi de 49 % (Figura 15). A área foliar total média por planta é o produto de dois componentes: o número médio de folhas por planta e a área foliar média por folha. Enquanto ao primeiro componente, a ANOVA revelou não existirem diferenças significativas ( $p = 0,659$ ) entre as doses de NaCl, variando entre  $10,0 \pm 0,89$  e  $9,0 \pm 0,32$  folha planta<sup>-1</sup>, para os tratamentos correspondentes a 0 e 150 mM NaCl, respectivamente. Dessa forma, o padrão de resposta em AFT neste acesso pode ser explicado por reduções na área foliar por folha, as quais se tornaram significantes a partir do nível de 100 mM NaCl. De acordo a Munns e Tester (2008), a redução do tamanho da folha é uma função do tempo de exposição ao estresse salino, e decorre de efeitos tanto sobre o alongamento como sobre a divisão celular.



**Figura 15.** Área foliar total de plantas do acesso 356, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), na presença de doses crescentes de NaCl . Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Na figura 16 são apresentados os dados relativos à variação do TRA. O padrão de resposta caracterizou-se, neste acesso, por variações não significativas (Tukey  $p > 0,05$ ), de forma que o valor registrado na maior dose de NaCl foi muito similar ao valor do tratamento controle. Portanto, as possíveis restrições às taxas de alongamento foliar, não podem ser adscriptas a limitações nos níveis de hidratação foliar, e sim ao componente iônico do estresse salino-sódico. Esse tipo de resposta é complexo, podendo envolver declínios no volume celular induzidos pela salinidade e/ou mudanças nas propriedades da parede celular, porém a sua natureza exata permanece desconhecida (MUNNS & TESTER, 2008).

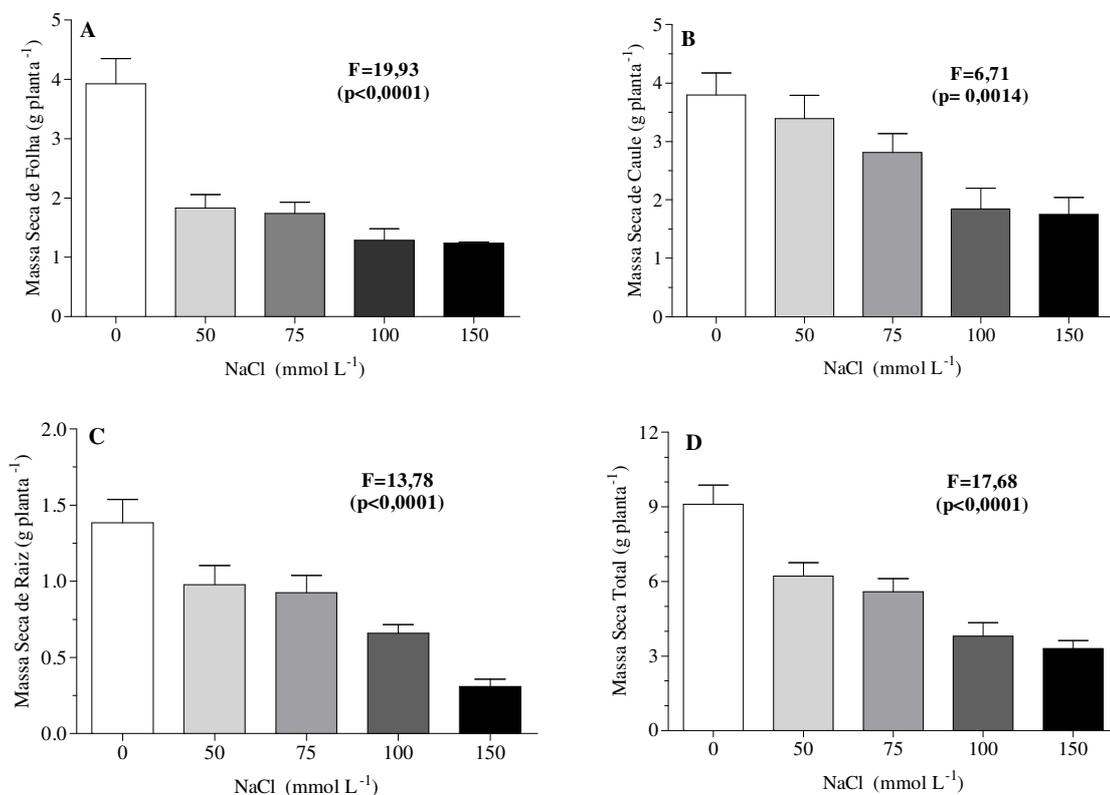


**Figura 16.** Teor Relativo de Água (TRA, %) de plantas do acesso 356, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon, na presença de doses crescentes de NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Plântulas de pinhão manso, quando submetidas à seca, mostraram um padrão similar ao evidenciado na Figura 16, isto é, falta de resposta do TRA à redução progressiva da disponibilidade hídrica, o que tem sido atribuído a um rápido e completo fechamento estomático, prevenindo assim perdas transpiratórias de água, de forma muito eficiente (SILVA et al., 2010; DIAS-LÓPEZ et al., 2012b). De acordo com a sugestão de Sapeta et al. (2013), tal tipo de resultado implica em um papel dominante para o controle hormonal sobre o fechamento estomático, presumivelmente via Ácido Abscísico (ABA).

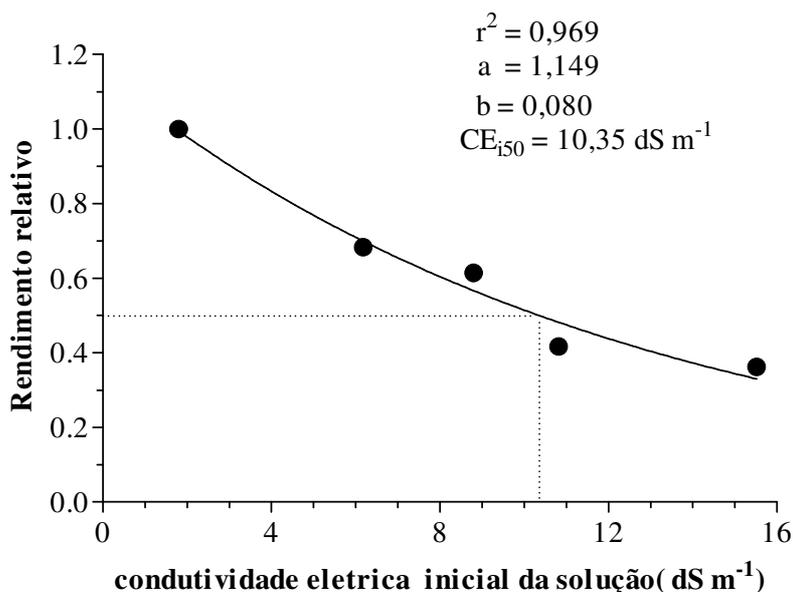
De fato, existem evidencias consistentes de que o ABA desempenha um papel importante na regulação do comportamento estomático (NETTING, 2000; PASTORI & FOYER, 2002; LIU et al., 2005), desencadeando a ocorrência de uma complexa série de eventos, que conduzem ao fechamento estomático sob condições de estresse hídrico (VERSLUES & BRAY, 2006). No supracitado trabalho de Ozfidan et al. (2013) foi sugerida a possibilidade de que o fechamento estomático mediado por ABA seja um passo necessário para a ocorrência de outras respostas como mudanças nos teores de AAL e prolina. De fato, diversos resultados da literatura indicam que acúmulos significativos de prolina geralmente ocorrem após certo patamar de estresse hídrico ou salino (NOFTAH & MICHEL, 1987; DELAUNEY & VERMA, 1993; PIMENTEL & ROSSIELLO, 1995). Chu et al (1976) mostraram que ABA promove a atividade de  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilato redutase, a enzima envolvida na etapa final da síntese de prolina.

Considerando-se produção de massa seca no maior nível de salinidade em relação ao tratamento controle (considerado como 100 %) a produção de massa foliar caiu para 32 % (Fig. 17A), a do caule para 46 % (Fig. 17B) e a das raízes para 22 % (Fig. 17C).

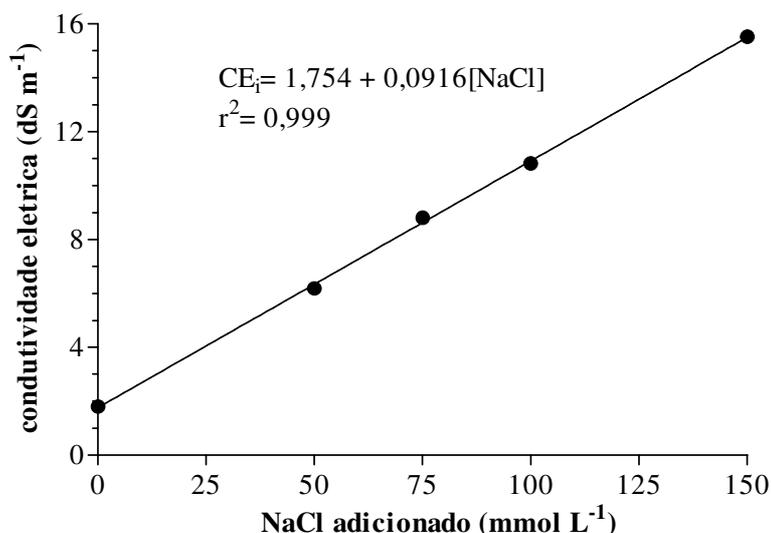


**Figura 17.** Produção de massa seca de folhas, caule, raiz e total para o acesso 356 submetido a doses crescentes de NaCl (0 – 150 mM) em cultura hidropônica. A: folha; B: caule; C: raízes; D: total. Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento.

Em relação à produção de matéria seca total (Fig. 17D), a mesma sofreu uma redução global de 64 %, ou de outra forma, o seu R.R. foi de 0,36. Utilizando-se a função previamente mencionada de Diaz-López et al. (2012a), é possível determinar o valor da eletrocondutividade inicial da solução nutritiva no qual o R.R. = 0,5. Como se indica na figura 18, tal valor correspondeu a  $EC_{i,0,5} = 10,35 \text{ dS m}^{-1}$ , muito próximo de  $10,79 \text{ dS m}^{-1}$ , obtido por Diaz-López et al. (2012a). Por outro lado, utilizando-se a relação entre EC e concentração de NaCl adicionado, específica para este experimento (Figura 19), é possível calcular que o valor de  $10,35 \text{ dS m}^{-1}$  se corresponde com uma concentração de sal  $\approx 94 \text{ mmol L}^{-1}$ .



**Figura 18** Relação entre o rendimento relativo (base massa seca total) do acesso 356 e a condutividade elétrica inicial ( $EC_i$ ) da solução de Hoagland e Arnon (1950) contendo cinco níveis de NaCl. A linha tracejada indica o valor da condutividade elétrica da solução ( $CE_{i,0,5}$ ) que induz um valor de R.R. = 0,5.

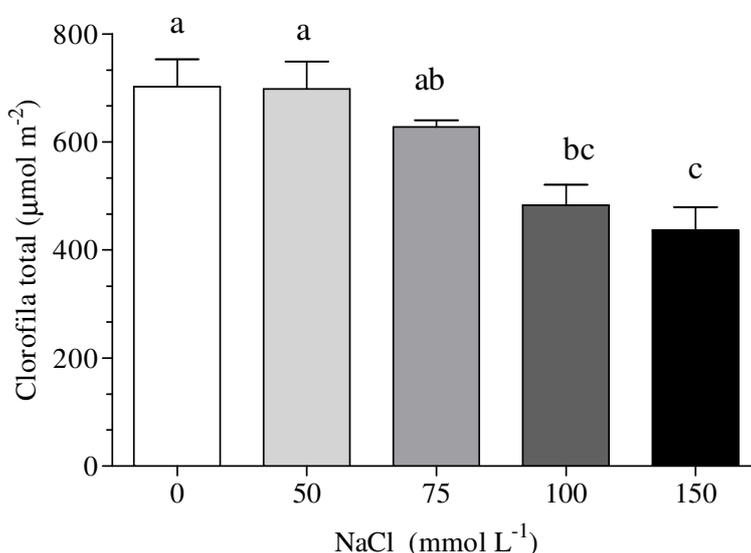


**Figura 19.** Condutividade elétrica inicial da solução de Hoagland e Arnon (1950) utilizada na experimentação com o acesso 356, em função de níveis de NaCl adicionados.

Silva et al. (2009) observaram que plantas jovens de pinhão-mansó são sensíveis ao excesso de NaCl na solução externa, mostrando uma redução de 50% na massa seca total com uma concentração de 47 mM. Tomados em conjunto, esses resultados indicam que, aparentemente, há uma ampla variabilidade entre os diferentes acessos atualmente sob experimentação, no relativo aos seus limites de tolerância ao estresse por NaCl, indo desde 0,5 R.R. = 47 mM (SILVA et al, 2009) ou 94 mM (acesso 356), até 0,52 R.R. = 150 mM (acesso 305).

#### 4.2.2 Teores de clorofila, N-amino livre, prolina e açúcares solúveis.

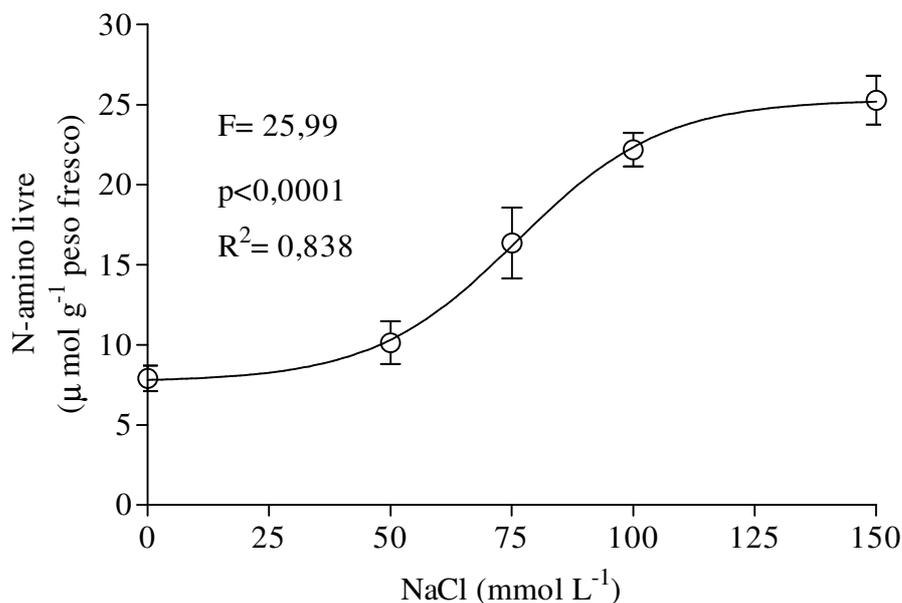
Os teores de clorofila total extraída de folhas do acesso 356 submetidas a doses crescentes de NaCl são apresentados na figura 20. A tendência de variação desse indicador bioquímico foi similar à apresentada pela área foliar (Figura 15), incluindo uma tendência à redução, até 75 mM NaCl (não significativa em relação ao controle), seguido de uma queda brusca entre 100-150 mM, implicando em reduções de 31 a 38 % em relação ao controle não salinizado.



**Figura 20.** Teores de clorofila total (*a + b*) extraída com DMSO, de folhas do acesso 356, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), contendo doses crescentes de NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Na figura 21 são apresentados os valores relativos aos teores de AAL, determinados nas folhas deste acesso. No caso deste indicador, os seus valores mostraram uma tendência bem definida de variação, com diferenças altamente significativas (Teste F,  $p < 0,0001$ ). Até 100 mM NaCl, há um padrão exponencial bem definido, seguido de uma estabilização ou “plateau” entre 100-150 mM NaCl, de forma tal que um modelo logístico pode ser ajustado satisfatoriamente (Figura 20). Tal modelo é estruturalmente complexo, com quatro parâmetros, servindo apenas para melhor visualizar a tendência de variação. De importante, é que o acúmulo de ALL, na fase de estabilização da resposta, foi entre 2,9 e 3,2 vezes superior ao valor do controle. Esses níveis de acumulação refletem, provavelmente, contribuições para o “pool” citoplasmático, de AAL oriundos de aumentos no processamento hidrolítico de proteínas e/ou de redução da síntese protéica, sintomas comuns de danificação metabólica sob condições de deficiência hídrica (HSIAO, 1973). Acúmulos similares têm sido verificados em

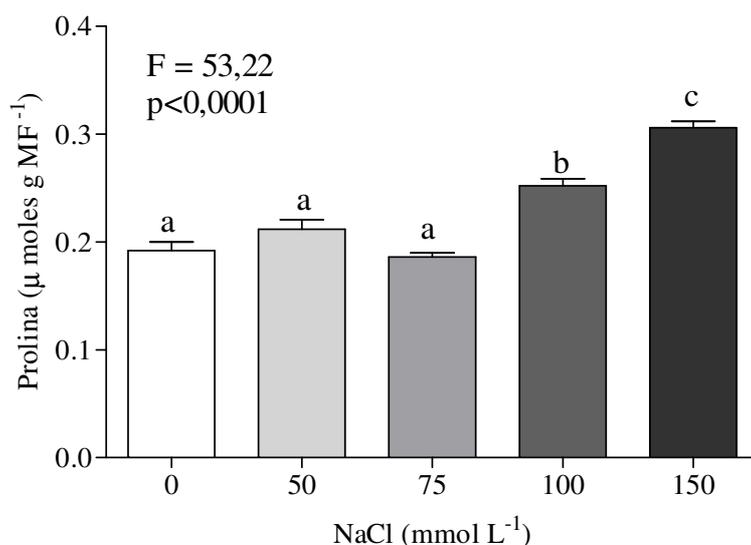
plântulas de sorgo expostas à salinidade (LACERDA et al, 2003), e de mamona (*Ricinus communis*) sob condições de sub-irrigação (BABITA et al., 2013).



**Figura 21.** Teores de N-amino livre (AAL) em folhas do acesso 356, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), contendo doses crescentes de NaCl (0 – 150 mM). Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento.

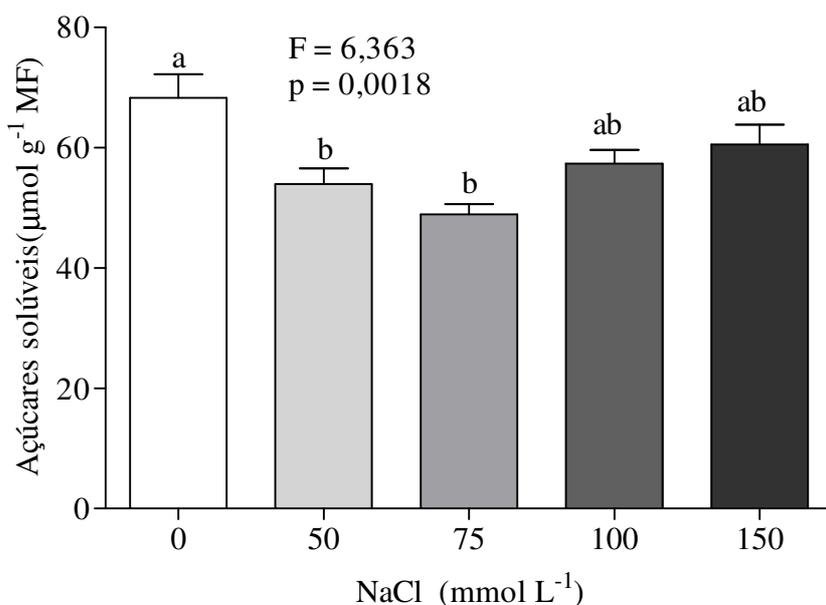
Similarmente ao observado com o acesso 305, os teores de prolina livre foliar apresentaram valores absolutos entre 0,2 -0,3 μmol g<sup>-1</sup> MF (Figura 22). Entretanto, neste acesso, houve uma tendência definida de acumulação, a partir da dose de 75 mM, registrando-se aumentos estatisticamente significativos nas duas doses superiores, de forma que em 150 mM NaCl, o teor foliar de prolina resultou 60 % superior ao do respectivo controle (Figura 22). Ozfidan et al. (2013) sugeriram o envolvimento da prolina (induzida por ABA endógeno, ou aplicado exogenamente) na manutenção de um status hídrico (TRA) constante em folhas de *A. thaliana* submetidas a estresse osmótico. Tal situação lembra o resultado aqui obtido em relação ao TRA (Figura 16). Por outro lado, a prolina cumpre roles diversos sob estresse hídrico ou salino, além de ter uma contribuição (mais ou menos importante), na osmorregulação celular: *i*) estabiliza membranas celulares interagindo com fosfolipídios; *ii*) atua de forma similar a chaperonas, protegendo a conformação estrutural das proteínas, evitando a sua desnaturação; e *iii*) em alguns casos, contribui com o sistema antioxidante, via detoxificação de radicais livres (DELAUNEY & VERMA, 1993; RONDE et al., 2000; CHEN & MURATA, 2002; CLAUSSEN, 2005; WALLADINO & CAMARA, 2010).

Desses papéis, o mais amplamente pesquisado é o seu papel como soluto compatível em processos de ajuste do potencial osmótico, o qual permite a manutenção de valores positivos do potencial de pressão, responsável pela geração da turgescência celular, sendo considerado um dos mecanismos responsáveis pela osmotolerância em plantas (TURNER & JONES, 1980). Por outro lado, como observaram Delauney e Verma (1993), a ausência de uma correlação positiva entre acúmulo de prolina e osmotolerância em algumas espécies, não nega o papel adaptativo da prolina, antes, pode refletir a predominância de outros mecanismos osmorregulatórios diferentes do ajuste osmótico. Nesse contexto, é interessante a sugestão de Díaz-López et al. (2012b) no sentido de que em *J. curcas* o abaixamento do potencial osmótico se daria via ajustes do módulo de elasticidade da parede celular e não via acumulação ativa de solutos orgânicos.



**Figura 22.** Teores de prolina livre em folhas do acesso 356, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), contendo doses crescentes de NaCl (0 – 150 mM). Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Neste acesso, diferentemente do observado no 305, houve uma depressão significativa nos teores de açúcares solúveis nas folhas, a níveis de salinidade moderados para esta espécie (< 75 mM NaCl), seguida de uma recuperação nos dois maiores níveis de aplicação de sal, com valores estatisticamente similares aos do controle (comparar Fig. 14 e 23). Um padrão de resposta igual ao da figura 23, já fora descrito previamente por Silva et al. (2009b), trabalhando com um acesso de pinhão manso proveniente de São João do Bonfim, PB.



**Figura 23.** Teores de açúcares solúveis em folhas de plantas do acesso 356, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon, contendo doses crescentes de NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

### 4.2.3 Acúmulo de íons inorgânicos

As determinações relacionadas aos teores de cátions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  foram feitas em folhas (limbo + pecíolo), caules e raízes. Na Tabela 5 constam os dados relativos ao  $\text{Na}^+$ .

**Tabela 5.** Concentrações de  $\text{Na}^+$  em folhas, caules e raízes de pinhão-manso (acesso 356) submetidas a diferentes doses de NaCl. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

(mmol $\text{Na}^+$ $\text{kg}^{-1}$ MS)			
[ NaCl ] mM	Folha	Caule	Raiz
0	192,4 a	20,0 a	58,1 a
50	645,8 b	173,3 b	656,4 b
75	834,8 c	292,1 c	649,7 bc
100	823,7 c	273,3 cd	939,1 d
150	789,4 bc	371,7 e	1218,8 e

Para caracterizar, de forma rápida, o fenômeno do acúmulo diferencial de  $\text{Na}^+$  entre as partes da planta, assim como a sua magnitude, definiu-se o índice RAR, ou “Razão de Acúmulo Relativo”, obtido pelo quociente entre a máxima concentração de íon quando cultivado com adição de NaCl em relação à concentração observada nas plantas testemunhas (Tabela 6).

**Tabela 6.** Razão de Acúmulo Relativo (\*) do íon  $\text{Na}^+$  em folhas, caule e raízes de dois acessos de pinhão manso, submetidos a diferentes doses de NaCl.

Acesso nº	Folha	Caule	Raiz
356	4,4	18,6	20,5
345	5,3	17,7	32,4

(\*)  $\text{RAR} = [\text{Na}^+] \text{ máxima} / [\text{Na}^+] \text{ controle}$

Dessa forma, para as folhas, o RAR foi de 4,4, tomando-se como base as concentrações de  $\text{Na}^+$  observadas nas doses de 75-100 mM, onde se verificam os máximos valores (Tabela 5). Comparativamente, caules e raízes têm um poder de acumulação ainda maior, de quatro e 4,6 vezes respectivamente, em relação às folhas.

Entretanto, como houve reduções significativas de massa nos três compartimentos, em resposta à salinidade da solução (Figura 17 A-C) é possível que parte dos acúmulos seja devido a um efeito simples de concentração por redução de matéria seca. Todavia, um re-exame da figura 17A, relativa à massa seca das folhas, indicou que o único contraste significativo (Tukey,  $p < 0,05$ ) foi entre a controle e os tratamentos que levaram NaCl, os quais não diferiram estatisticamente entre si. Isto significa que as folhas sob NaCl tiveram

massas bastante similares, e portanto, os teores de  $\text{Na}^+$  nelas determinados refletem influxos positivos de  $\text{Na}^+$ , dos feixes vasculares em direção às células do mesófilo foliar. Todavia, esse processo de transporte e acúmulo foliar tende à saturação, fato evidenciado na Tabela 5, uma vez que as taxas de transpiração são progressivamente reduzidas pela presença do íon sódio nos tecidos foliares (RODRIGUES et al., 2012).

Similarmente ao observado nas folhas, em caules e raízes, os maiores gradientes de acumulação de sódio ( $\Delta[\text{Na}^+] / \Delta[\text{NaCl}]$ ) ocorreram com a menor dose de sal adicionada (Tabela 5), o que mostra a alta afinidade que esta espécie tem por esse íon, uma situação já verificada por outros autores (SILVA et al., 2009a, CHEN et al., 2012). As concentrações de sódio aumentaram linearmente em ambas as porções vegetativas (caule:  $r^2 = 0,913$ ; raízes:  $r^2 = 0,954$ ), sendo particularmente elevadas nas raízes, especialmente no maior nível de NaCl aplicado, onde a  $[\text{Na}^+]$  atingiu um teor de 2,8 % da massa seca ( $1218,8 \text{ mmol kg}^{-1} \text{ MS}$ , tabela 5), correspondente a uma R.A.R de 20,5 (Tabela 6).

Na Tabela 7 são apresentadas as concentrações do cátion potássio em folhas, caules e raízes. A aplicação de doses crescentes de NaCl resultou em reduções das concentrações de  $\text{K}^+$  em folhas e raízes, enquanto que as variações no caule não atingiram significação estatística. O padrão de redução em ambos os casos foi linear (folha:  $r^2 = 0,638$ ; raiz:  $r^2 = 0,840$ ) e considerando-se os menores teores em relação ao tratamento controle a redução foi de 33 % para a folha e 45 % para as raízes, em 100 e 150 mM NaCl, respectivamente (Tabela 7).

**Tabela 7.** Concentrações de  $\text{K}^+$  em folhas, caules e raízes de pinhão manso (acesso 356) submetidas a diferentes doses de NaCl. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

(mmol $\text{K}^+$ $\text{kg}^{-1} \text{ MS}$ )			
[ NaCl ] mM	Folha	Caule	Raiz
0	456,1 a	266,2 a	970,9 a
50	364,0 b	289,0 a	800,4 b
75	317,6 c	306,6 a	597,3 c
100	304,9 c	302,7 a	577,5 c
150	331,0 bc	326,9 a	548,0 c

Embora seja freqüentemente reportado que uma consequência usual do estresse salino, independentemente do grau de tolerância da espécie considerada, seja o distúrbio do balanço nutricional (HU & SCHMIDHALTER, 2005; MUNNS & TESTER, 2008, DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012a), no presente caso, e no relativo aos cátions divalentes, os dados mostraram tendência a um tipo de comportamento homeostático.

Na Tabela 8 são apresentadas as concentrações do cátion cálcio em folhas, caules e raízes. O aumento da concentração externa de NaCl induziu uma redução significativa na absorção radicular de  $\text{Ca}^{2+}$  no nível de 100 mM nas raízes, com reflexos no caule, onde os teores declinaram significativamente a baixos níveis de NaCl, para aumentar no máximo nível de sal aplicado, provavelmente devido a um efeito de concentração associado à redução da massa caulinar. Todavia, essas oscilações nos teores de  $\text{Ca}^{2+}$  em caules e raízes não tiveram qualquer consequência sobre as concentrações foliares do elemento, que oscilaram não significativamente em torno de  $315,3 \pm 13,1 \text{ mmol Ca}^{2+} \text{ kg}^{-1} \text{ MS}$ .

**Tabela 8.** Concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$  em folhas, caules e raízes de pinhão manso (acesso 356) submetidas a diferentes doses de NaCl. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

(mmol $\text{Ca}^{2+}$ $\text{kg}^{-1}\text{MS}$ )			
[ NaCl ] mM	Folha	Caule	Raiz
0	332,8 a	94,1 a	123,8 a
50	317,1 a	63,4 b	118,3 a
75	316,1 a	87,7 c	98,9 ab
100	295,8 a	80,3 c	90,9 b
150	314,5 a	107,5 a	87,1 b

Esses resultados são de interesse ao se considerar que uma concentração basal de  $\text{Ca}^{2+}$  é essencial para o alongamento celular, porque na parede celular, os íons cálcio desempenham papel-chave na manutenção da conformação espacial das redes de pectina. Portanto, o deslocamento do  $\text{Ca}^{2+}$  ligado às pectinas inevitavelmente alterará as propriedades físicas da parede celular, incluindo a sua extensibilidade, rigidez e permeabilidade (RENGEL & ZHANG, 2003). O deslocamento de íons  $\text{Ca}^{2+}$  de sítios críticos no apoplasto é a base da chamada “hipótese do deslocamento” segundo o qual um cátion é tóxico porque desloca  $\text{Ca}^{2+}$  da superfície celular (KINRAIDE, 1998), e esse aspecto poderia formar parte da toxicidade do cátion  $\text{Na}^+$  atuando extracitoplasmaticamente, um assunto pouco abordado pela pesquisa nesta área.

Radíc et al. (2013) observaram, na espécie halófitica *Centaurea ragusina* L., uma redução significativa do teor foliar de  $\text{Mg}^{2+}$  em resposta à aplicação de 150 mM NaCl na solução nutritiva, e sugeriram que isto poderia ter contribuído para o decréscimo das concentrações de clorofila, e por essa via, no funcionamento da maquinaria fotossintética. No presente ensaio, se por um lado os teores de clorofila do acesso declinaram em resposta à adição de sal (Fig. 20), por outro, a adição de NaCl à solução não teve efeito significativo sobre os teores de  $\text{Mg}^{2+}$  em folhas, caules e raízes (Tabela 9).

**Tabela 9.** Concentrações de  $Mg^{2+}$  em folhas, caules e raízes de pinhão manso (acesso 356) submetidas a diferentes doses de NaCl. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

[ NaCl ] mM	(mmol $Mg^{2+}$ $kg^{-1}$ MS)		
	Folha	Caule	Raiz
0	228,5 a	59,8 a	204,0 a
50	213,8 a	57,9 a	222,2 a
75	230,5 a	64,8 a	234,1 a
100	228,9 a	55,6 a	234,8 a
150	221,6 a	62,8 a	211,3 a

De acordo com Silva et al. (2009a, b), a sensibilidade das plantas de pinhão-manso ao estresse salino deve-se, principalmente, a uma grande acumulação de  $Na^+$  e  $Cl^-$  nas folhas, principalmente o primeiro. Todavia, os dados obtidos com o acesso 356 concordam apenas parcialmente com a conclusão de Silva et al. (2009a, b) uma vez que no presente caso, embora se registraram acúmulos significativos de  $Na^+$  na parte aérea (os quais podem ser utilizados em ajuste osmótico, gerando turgescência), a acumulação quantitativamente mais importante aconteceu nas raízes (Tabelas 5 e 6). Então, aparentemente, neste acesso, outros mecanismos poderiam estar atuando para regular o transporte de  $Na^+$  para a parte aérea. Um desses mecanismos poderia consistir na retenção ou seqüestro de íons  $Na^+$  nas células acompanhantes do xilema no caule (WATSON et al., 2001; MUNNS & TESTER, 2008; RODRIGUES et al., 2012), e nesse sentido, os dados da Tabela 5 são sugestivos dessa possibilidade. Como Watson et al. (2011) observaram, a regulação do teor de solutos do xilema é um componente importante da regulação da composição iônica da parte aérea e sua tolerância a sais. Entretanto, ainda não são conhecidos o(s) transportador (es) responsável(is) pelo transporte de  $Na^+$  para e desde os vasos xilemáticos, embora antiportes  $Na^+/H^+$  ligados à membrana plasmática tenham sido propostos (KRONZUCKER & BRITTO, 2011; BRINI & MASMOUDI, 2012). Outra possibilidade poderia ser a reciclagem xilema-floema, transferindo o excesso de  $Na^+$  para os vacúolos das folhas mais velhas ou diretamente para as raízes (WATSON et al., 2001). Embora que, de acordo com Munns e Tester (2008), para a maioria das plantas, o transporte de  $Na^+$  desde a parte aérea para as raízes, via floema, possa provavelmente recircular somente uma pequena proporção do  $Na^+$  que é descarregado nas folhas, esse mecanismo poderia ser acionado em *J. curcas*, dependendo da intensidade do estresse. Com efeito, se a expressão dos mecanismos de defesa depende, principalmente, da intensidade do estresse e da sua duração (KACPERSKA, 2004; MUNNS & TESTER, 2005; SHAVRUKOV, 2012) então, o mecanismo poderia ser acionado, p. ex., a partir de 100 mM NaCl, que é o nível a partir do qual se verificam os maiores acúmulos de  $Na^+$  nas raízes deste acesso (Tabela 5). Díaz-López et al. (2012a), observaram, em um acesso de pinhão manso cultivado hidroponicamente, com doses crescentes de NaCl, que a concentração foliar de  $Cl^-$  permaneceu estável de 60 a 150 mM, o mesmo acontecendo com o teor radicular de  $Na^+$  nos tratamentos de 90 a 150 mM. De acordo com esses autores, esses fatos poderiam indicar a existência de algum mecanismo eficiente de exclusão salina quando as concentrações de NaCl no meio de crescimento são elevadas. Todavia, no seu trabalho, diversamente dos presentes

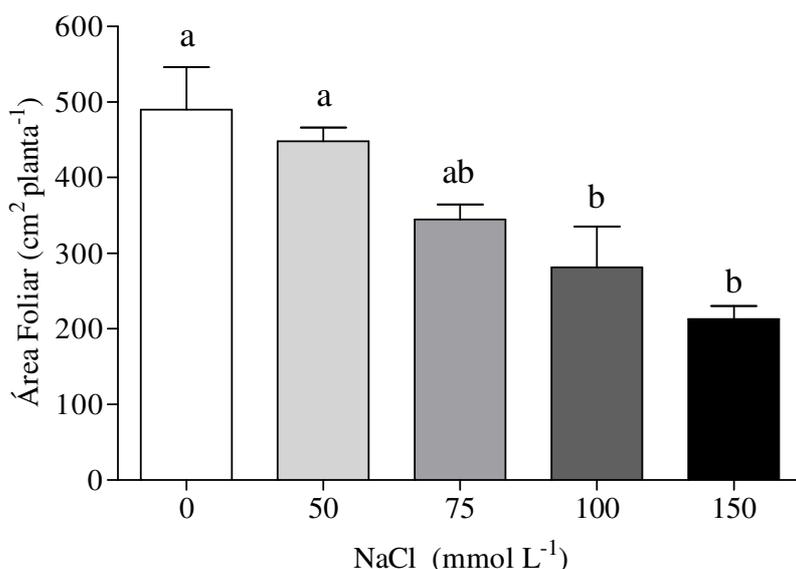
resultados, os teores de  $\text{Na}^+$  acumulados nas folhas sempre foram superiores aos acumulados nas raízes.

Por outro lado, sabe-se que o íon sódio exerce um forte efeito inibitório sobre a absorção de  $\text{K}^+$ , presumivelmente por interferir com os transportadores na membrana plasmática das células corticais da raiz (BRINI & MASMOUDI, 2012). Por essa razão, em *J. curcas* assim como em outras espécies, a salinidade induzida por NaCl conduz à redução dos teores de  $\text{K}^+$  tanto nas folhas quanto nas raízes das plantas (SILVA et al., 2009; RODRIGUES et al., 2012). Os dados da Tabela 7 confirmam esse fato para o caso do acesso 356.

### 4.3 Acesso 345

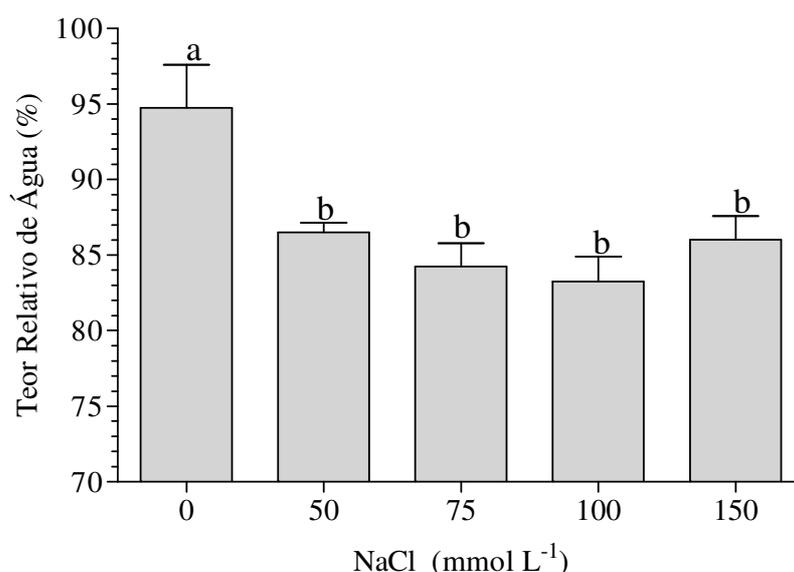
#### 4.3.1 Área foliar, teor relativo de água e produção de massa seca.

A área foliar total do acesso 345 resultou afetada pelo aumento da concentração de NaCl na solução (Figura 24), de forma similar ao já observado com o acesso 356 (Figura 15). Se bem a tendência de resposta foi similar, o comportamento do acesso 345, em relação à tolerância da AFT à salinidade pareceu mais sensível do que o anterior, uma vez a redução máxima, em relação ao tratamento controle, foi de 57 %. Neste acesso o número de folhas foi reduzido significativamente pelo efeito da salinidade ( $F = 3,321$ ;  $p = 0,0384$ ), variando de  $7,5 \pm 0,65$  no tratamento controle para  $5,5 \pm 0,28$  folha planta<sup>-1</sup> com a adição de 150 mM NaCl, uma redução de 27 %.



**Figura 24.** Área foliar total de plantas do acesso 345, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon, na presença de doses crescentes de NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Por outro lado, e também de forma similar ao observado com o acesso 305 (Fig. 8), o acesso 345 sofreu de estresse osmótico induzido pelo sal, evidenciado pela redução significativa do TRA nos tratamentos salinizados.

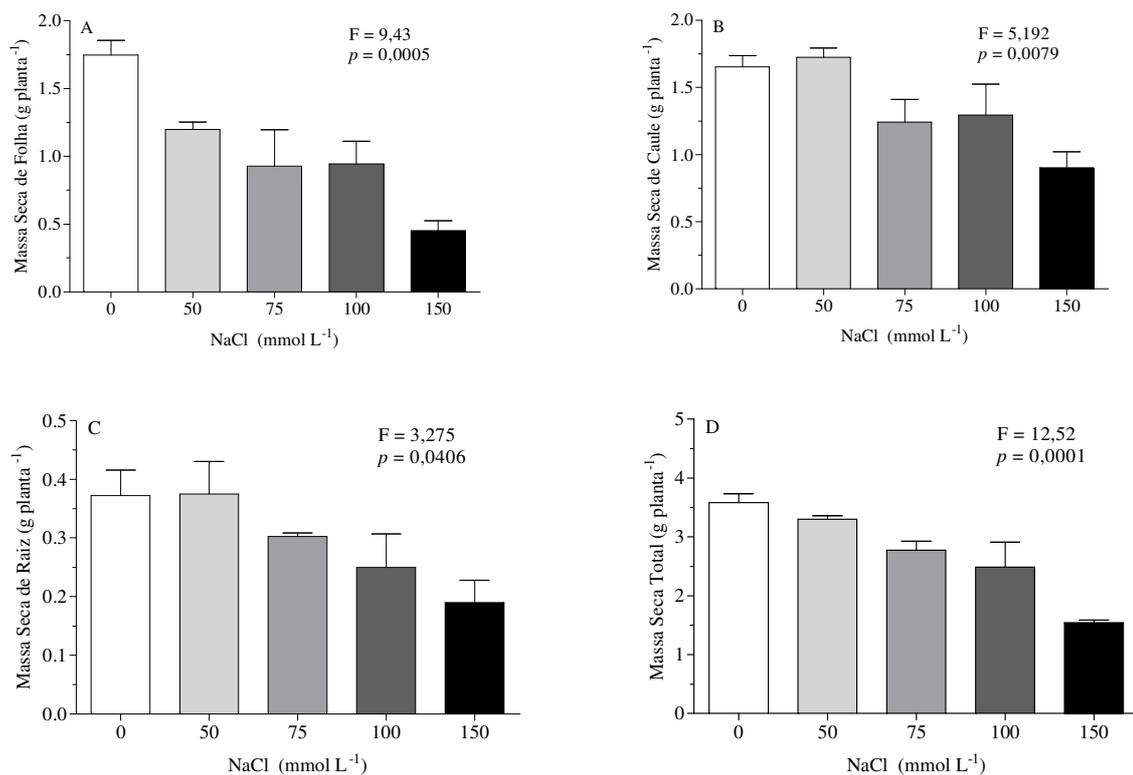


**Figura 25.** Teor Relativo de Água (TRA, %) de plantas do acesso 345, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon, na presença de doses crescentes de NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

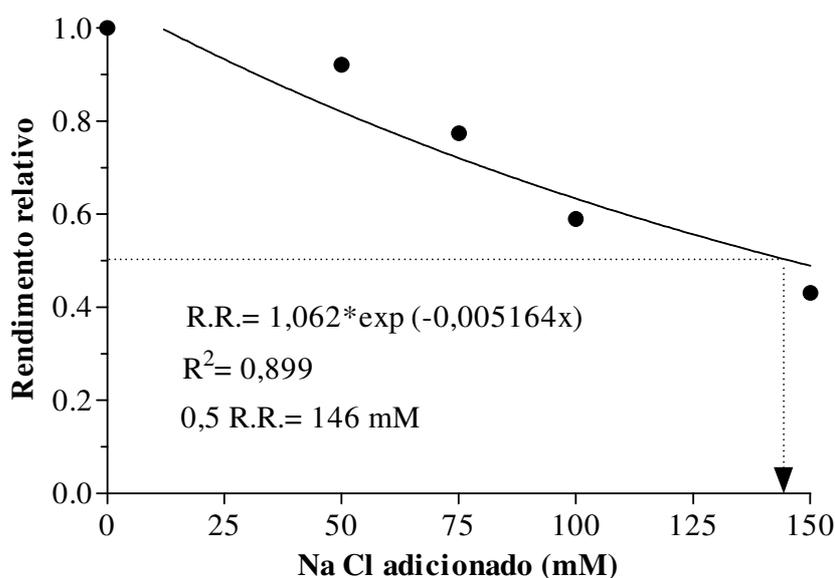
Como se indica na Figura 25, o TRA médio das folhas do controle foi de 94,8 %, enquanto que, o dos tratamentos que levaram NaCl oscilou, não significativamente, entre 83,3 e 86,5 %. No presente caso, o TRA pareceu se ajustar prontamente à presença do NaCl na solução nutritiva, sendo este um ponto de diferença com o acesso 305, onde a redução da hidratação foliar foi mais gradual (Fig .8).

Os dados relativos à produção de massa seca, e sua distribuição entre folhas, caule e raízes, são apresentados na figura 26A-D. Considerando-se a massa seca no maior nível de salinidade em relação ao tratamento controle (= 100%), a produção de massa seca foliar caiu para 26 % (Fig. 26A), a do caule para 55 % (Fig. 26B) e a das raízes para 30 % (Fig. 26C).

Esses percentuais indicam, portanto, neste acesso, menores efeitos globais da salinidade sobre o maquinário fotossintético, em relação ao acesso 356. Em relação à produção de matéria seca total (Fig. 26D) a mesma sofreu uma redução de 57 %, ou de outra forma, o seu R.R. foi de 0,43. Utilizando-se o mesmo processo de comparação, via função de resposta do R.R. (DIAZ-LÓPEZ et al, 2012a) é possível calcular, para este acesso, que o valor de R.R. = 0,5 foi atingido em 146 mM (Figura 27).



**Figura 26.** Produção de massa seca de folhas, caule, raiz e total para o acesso 345 submetido a doses crescentes de NaCl (0 – 150 mM) em cultura hidropônica. A: folha; B: caule; C: raízes; D: total. Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento.

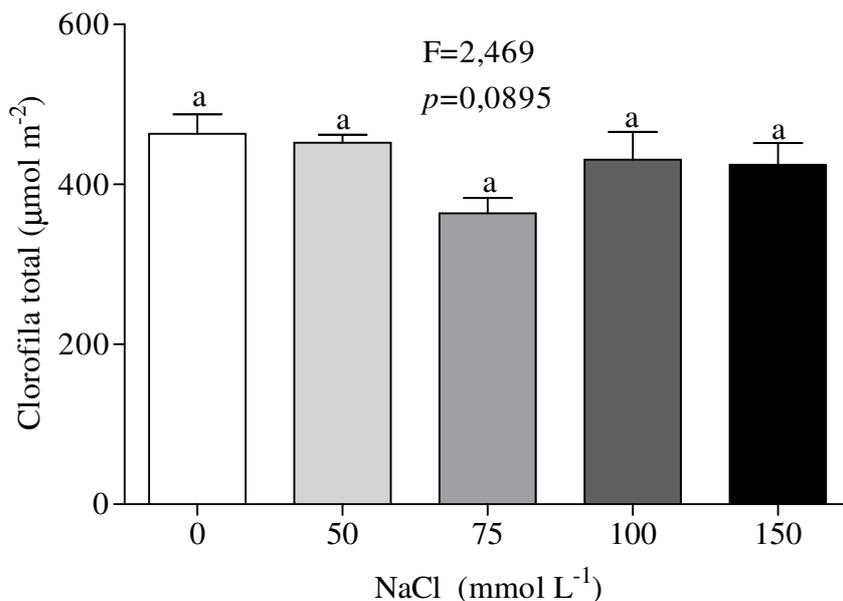


**Figura 27.** Rendimento Relativo (R.R., base massa seca total) do acesso 345 em função das doses de NaCl adicionadas à solução de Hoagland e Arnon (1950). A linha tracejada indica a [NaCl] correspondente a R.R. = 0,5.

A partir desse resultado, é possível agora posicionar, relativamente, o comportamento produtivo dos três acessos estudados, onde o 356 aparece como o de maior sensibilidade, o 345 como um intermediário, porém mais próximo ao acesso 305, que resultou o de maior tolerância entre os abordados neste trabalho. .

#### 4.3.2 Teores de clorofila, N-amino livre, prolina e açúcares solúveis.

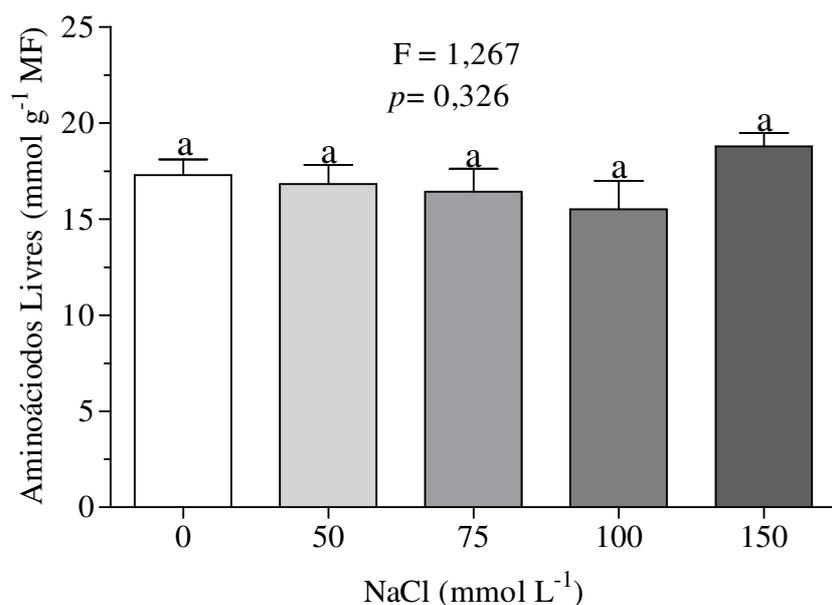
Os teores de clorofila total do acesso 345, em resposta às doses de NaCl adicionadas à solução nutritiva são apresentados na figura 28. Salvo por uma redução (não significativa), localizada na dose 75 mM, os níveis de NaCl não afetaram os teores de clorofilas *a + b*, um comportamento já evidenciado pelo acesso 305 (Fig. 11), no primeiro ensaio realizado.



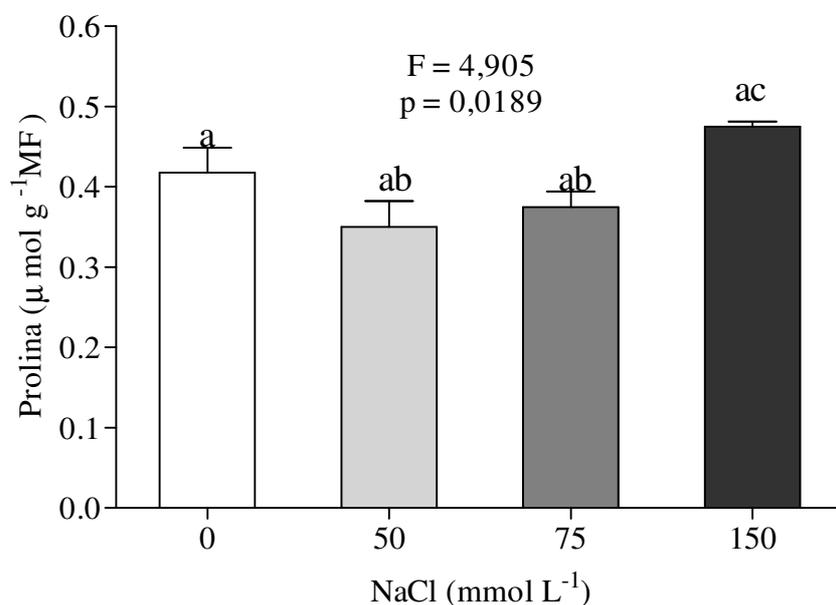
**Figura 28.** Teores de clorofila total (*a + b*) extraída com DMSO, de limbos foliares de plantas de pinhão manso, acesso 345, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), contendo doses crescentes de NaCl (0 – 150 mM). Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. . Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Constitutivamente, os teores de aminoácidos livres totais (AAL) no acesso 345 foram da mesma ordem dos determinados no acesso 305 (comparar Figs. 12 e 29), e em comum, em ambos os acessos a adição de doses crescentes de NaCl à solução não afetou significativamente os teores foliares de AAL. Entretanto, a forma da resposta mostrou maior estabilidade no acesso 345 (Fig. 29).

Em relação aos níveis de prolina livre (Figura 30), os dados mostraram que na ausência de NaCl no meio, este acesso teve níveis superiores aos dos outros dois acessos (Fig. 13 e 21). Todavia, de forma diversa, não foi observado neste acesso o processo de acúmulo de prolina, dependente de dose de NaCl, observados nos acessos anteriores. Repare-se que na figura 30, não consta o valor do tratamento 100 mM NaCl, já que, por acidente, as amostras resultaram danificadas, sendo portanto excluídas.



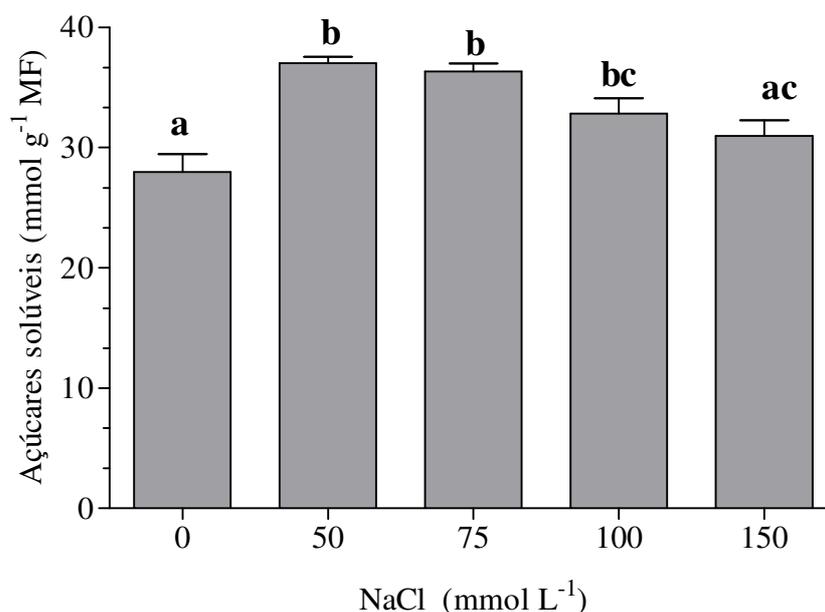
**Figura 29.** Teores de N-amino livre em folhas de pinhão manso, acesso 345, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), contendo doses crescentes de NaCl (0 – 150 mM). Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).



**Figura 30.** Teores de prolina em folhas de pinhão manso, acesso 345, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), contendo doses crescentes de NaCl (0 – 150 mM). Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Na figura 31 são mostrados os teores de açúcares solúveis totais determinados nas folhas do acesso 345. O padrão de resposta aqui incluiu aumentos significativos imediatos, entre 50-75 mM, declinando posteriormente, até que, na maior dose, o teor de AST não se diferencia estatisticamente do controle. Os aumentos foram moderados, com um máximo de

32 % em 50 mM e um mínimo de 17 % em 100 mM. Alguns estudos têm indicado que a acumulação de solutos orgânicos, em condições de estresse hídrico ou salino, pode estar mais relacionada a distúrbios metabólicos ocasionados pelo evento estressante, do que ao ajustamento osmótico ativo (MUNNS & TESTER, 2008). A redução no conteúdo de açúcares solúveis (Acesso 356, Fig. 23) , assim como a sua possível contribuição relativa no potencial osmótico em folhas de pinhão-manso, em condições de salinidade, deve estar relacionada à queda na fotossíntese ou mesmo à maior taxa de migração via floema para as raízes, como pode ser o caso no acesso 345, nas maiores doses de NaCl aplicadas ( Fig. 31). Essas reduções podem ser até benéficas, porque do contrario poderia acontecer inibição tipo “feedback” dos teores de carboidratos solúveis sobre as taxas de assimilação fotossintética (Sapeta et al., 2013).



**Figura 31.** Teores de açúcares solúveis em folhas de plantas do acesso 345, cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon, contendo doses crescentes de NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

#### 4.3.3 Acúmulo de íons inorgânicos

Na Tabela 10 estão referidas as concentrações de Na<sup>+</sup> observadas em folhas, caule e raízes do acesso 345. Utilizando-se o critério do R.A.R., previamente definido, esses acúmulos tiveram índice de 5,3; 17,7 e 32,4 para folhas, caules e raízes, respectivamente (Tabela 6). Os dados indicam, para o acesso 345, a existência de um patamar superior de acumulação, igual a 100 mM NaCl, nas três partes vegetativas (Tabela 10). Esse patamar pode ser atribuído parcialmente ao decréscimo na transpiração (DIAZ-LÓPEZ et al., 2012 b; SOUSA et al., 2012) responsável pelo fluxo de transporte, das raízes para a parte aérea. Já nas raízes, esse patamar pode representar a saturação dos processos de transporte alocados na membrana plasmáticas das células radiculares. Os dados de concentração bruta do íon não permitem avaliar a possibilidade da existência de processos de captura e transporte de Na<sup>+</sup> por via apoplástica, já descritos em outras espécies cultivadas (KRONZUCKER & BRITTO, 2011; BRINI & MASMOUDI, 2012).

Similarmente ao observado no acesso 356, os maiores gradientes de acumulação de Na<sup>+</sup> ocorreram com a menor dose de sal adicionada, tanto em folhas (> 4 x) como no caule e raízes (≈ 8 x), o que mostra a alta afinidade que esta espécie tem por Na<sup>+</sup>. De acordo com

Silva et al. (2009), as  $[\text{Na}^+]$  nas folhas de plantas jovens de pinhão manso aumentaram intensamente já a partir de 25  $\text{mmol Na L}^{-1}$  na solução.

**Tabela 10.** Concentrações de  $\text{Na}^+$  em folhas, caule e raízes de pinhão-manso (acesso 345) submetidas a diferentes doses de NaCl. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

[ NaCl ] mM	(mmol $\text{Na}^+$ $\text{kg}^{-1}$ MS)		
	Folha	Caule	Raiz
0	116,8 a	28,6 a	28,3 a
50	468,7 b	220,9 b	222,9 b
75	573,5 bc	364,6 c	593,4 c
100	609,6 c	488,6 d	878,5 d
150	614,8 c	505,2 d	916,8 d

Esses acúmulos são importantes porque certamente induziram um estresse osmótico nas plantas. No acesso 356, isto significou que o TRA declinasse de 91,6 % no controle para 86,1 % com 50 mM NaCl, ou seja, 5,5 pontos percentuais, uma magnitude importante em se tratando da hidratação foliar de espécies glicófitas (HSIAO et al, 1976) e que só não atingiu significação estatística por causa do relativamente baixo valor de TRA no controle (Fig. 16). Já no acesso 345, o seu TRA em 50 mM NaCl foi de 86,5 %, ou seja, ligeiramente superior ao correspondente em 356, mas como as folhas das plantas controle tinham um nível de turgidez maior (TRA = 94,7 %) isto gerou a significância estatística indicada na Figura 25. Incidentalmente, isto é um aspecto quase nunca abordado nos trabalhos, mais que conduz a conclusões nem sempre robustas. Por exemplo, no já mencionado trabalho de Gimeno et al.(2012), a sua figura 3 ilustra um aumento significativo do TRA em plântulas de pinhão manso submetidas a alagamento com água contendo 300 mM NaCl, em relação ao TRA do controle, normalmente drenado e irrigado com água não salinizada. Nesse estudo, o valor de TRA do controle foi de 86,2 %, aumentando para 91,3 % em 300 mM NaCl. Sem prejuízo de reconhecer que nesse, como no presente caso, possa ocorrer que plantas submetidas a elevados níveis de NaCl mostrem folhas tão o mais túrgidas que os seus respectivos controles ( p. ex. ver Fig. 16), o que chama a atenção, nesse caso, é um tratamento controle com TRA desse valor. No presente estudo, em todos os casos, o TRA dos controles esteve acima de 91 % (Fig. 8, 16 e 25), um valor mais aproximado de um ideal de folhas testemunhas livres de estresse atmosférico. Caso o TRA de nossos controles fosse da mesma ordem que o de Gimeno et al. (2012), o TRA das folhas salinizadas, muito provavelmente, não mostrariam reduções significativas, em nenhum dos três estudos, ou ainda poderiam incrementar.

Na tabela 11 estão indicadas as concentrações de K medidas em laminas foliares (+ pecíolos), caules e raízes do acesso 345, em resposta às doses de NaCl aplicadas. Os dados indicaram uma considerável retenção de  $\text{K}^+$  nos três compartimentos vegetativos. Dado o intenso efeito competitivo do  $\text{Na}^+$  sobre o  $\text{K}^+$  já referido no item anterior, essa alta retenção tissular de K neste acesso constitui outro indicativo de sua relativamente maior tolerância à salinidade em relação ao acesso 356.

**Tabela 11.** Concentrações de  $K^+$  em folhas, caule e raízes de pinhão-mansó (acesso 345) submetidas a diferentes doses de NaCl. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

(mmol $K^+$ $kg^{-1}$ MS)			
[ NaCl ] mM	Folha	Caule	Raiz
0	466,9 a	361,9 a	375,8 a
50	327,2 b	330,4 a	337,2 a
75	276,9 b	351,8 a	357,0 a
100	307,8 b	339,3 a	327,0 a
150	309,3 b	221,4 b	171,9 b

Na Tabela 12 constam as concentrações de  $Ca^{2+}$  em folhas, caules e raízes do acesso 345. De forma geral, a adição de NaCl teve por efeito reduzir os teores de cálcio, de forma diferenciada. Nas folhas, onde foram registradas as maiores concentrações do elemento, os teores se diferenciaram em apenas dois grupos: testemunha (464,7 mmol  $Ca^{2+}$   $kg^{-1}$ MS, ou 1,86 %) e tratamentos salinizados, os quais não diferiram entre si (média: 287,7 mmol  $kg^{-1}$ MS, ou 1,15 %), implicando em uma redução média de 38%. O mesmo aconteceu no caule, onde os teores passaram de 358,6 mmol  $kg^{-1}$ MS (1,43 %) no controle para 233,7 mmol  $kg^{-1}$ MS, (média nos tratamentos que levaram NaCl), implicando numa redução média de 35 %. Finalmente, os menores valores foram encontrados nas raízes, onde reduções significativas ocorrem a partir da dose de 75 mM NaCl. Considerando-se o teor na maior dose aplicada, a redução nas raízes foi de 47 %, maior, portanto, que a verificada nas raízes do acesso 356 (30 %, Tabela 8).

**Tabela 12.** Concentrações de  $Ca^{2+}$  em folhas, caule e raízes de pinhão-mansó (acesso 345) submetidas a diferentes doses de NaCl. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

(mmol $Ca^{2+}$ $kg^{-1}$ MS)			
[ NaCl ] mM	Folha	Caule	Raiz
0	464,7 a	358,6 a	165,0 a
50	308,5 b	231,5 b	164,4 a
75	280,1 b	224,0 b	120,2 b
100	280,7 b	250,6 b	111,8 bc
150	281,6 b	228,6 b	87,8 c

Na Tabela 13 são apresentadas as concentrações de  $Mg^{2+}$  em folhas, caules e raízes do acesso 345. De forma similar ao verificado com os teores de magnésio no acesso 356, o efeito das doses de NaCl teve um efeito menor sobre este macronutriente. Nas folhas, os teores praticamente se mantiveram constantes em todos os tratamentos, com uma média de  $285,7 \pm 5,35$  mmol  $kg^{-1}$ MS (0,69 %). Os teores de no caule só foram afetados significativamente na maior dose de NaCl aplicada, onde houve um aumento de 56 % em relação ao controle. Nas raízes, as concentrações de  $Mg^{2+}$  foram afetadas a partir de 50 mM NaCl, sem variações significativas em doses superiores, de forma que a redução foi de 37 %.

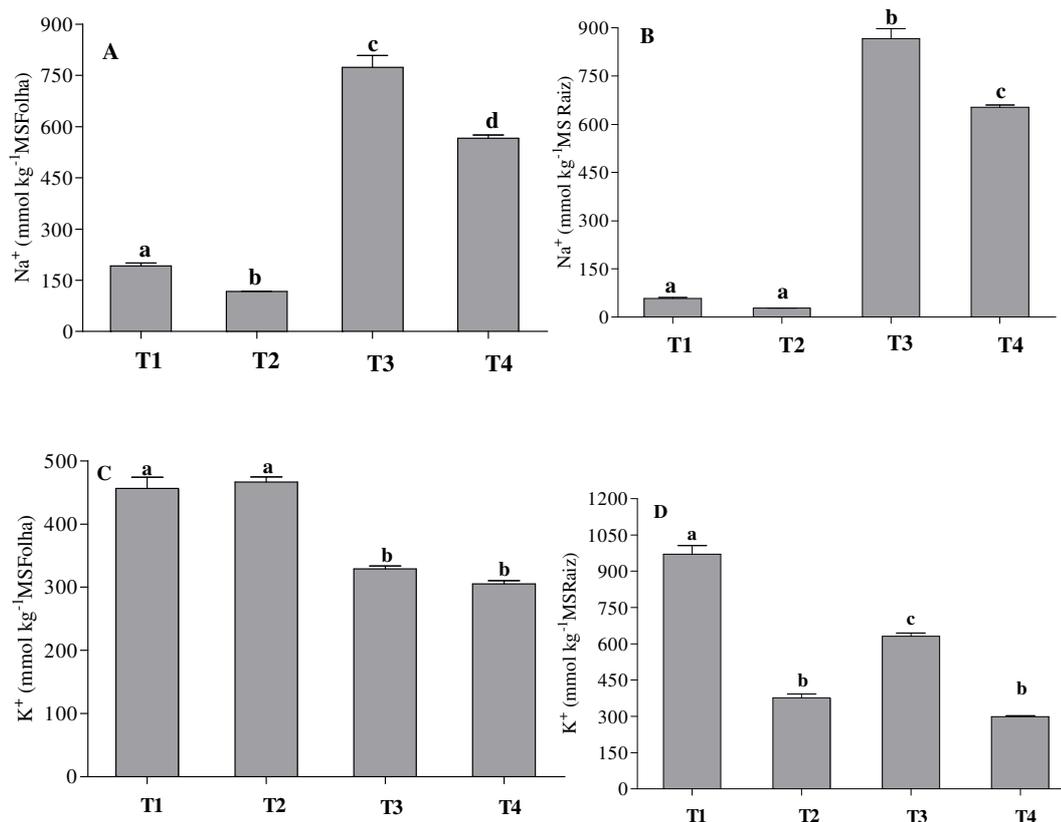
**Tabela 13.** Concentrações de  $Mg^{2+}$  em folhas, caules e raízes de pinhão-mansó (acesso 345) submetidas a diferentes doses de NaCl. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

(mmol $Mg^{2+}$ $kg^{-1}$ MS)			
[ NaCl ] mM	Folha	Caule	Raiz
0	296,7 a	123,9 a	282,9 a
50	269,4 a	123,6 a	184,4 b
75	284,2 a	127,8 a	180,1 b
100	280,0 a	129,5 a	179,9 b
150	298,0 a	193,4 b	176,6 b

Para melhor apreciar os efeitos globais da salinidade induzida por NaCl sobre o *status* iônico monovalente das plantas ( $Na^+$ ;  $K^+$  e Na/K) foi elaborada a figura 32. Para tal, os dados relativos às concentrações de  $Na^+$  e  $K^+$  dos acessos 356 e 345 foram considerados conjuntamente, definindo-se apenas dois contrastes: as concentrações dos tratamentos controle vs. as concentrações médias (50-150 mM) dos tratamentos que levaram NaCl. Dessa forma, foram definidos quatro tratamentos: T1 e T2, referem-se aos controles não salinizados de 356 e 345 respectivamente, e T3 e T4 são os tratamentos salinizados (50-150 mM NaCl) para os mesmos acessos.

Na figura 32A é possível verificar que, na ausência de NaCl na solução nutritiva, o acesso 356 apresenta maior concentração foliar de  $Na^+$  do que o 345, repetindo-se a situação quando as plantas foram submetidas à salinidade, quando os teores médios de sódio no 356 excederam os do 345 em 36, 5 % (Tukey,  $p < 0,05$ ). Nas raízes (Fig. 36 B) repete-se a situação, na média dos tratamentos salinizados, onde o teor radicular de  $Na^+$  do acesso 356 resultou significativamente maior do que o do acesso 345.

Com relação aos teores foliares de  $K^+$ , os mesmos não diferiram significativamente, nem em condição livre de estresse, nem em ambiente salino, onde, entretanto, houve uma redução média dos teores, de 31 % em relação aos tratamentos controle (Fig. 32C). Nas raízes ocorreram os maiores contrastes, uma vez que o acesso 356 apresentou um teor de  $K^+$  2,5 vezes superior ao do acesso 345, na ausência de NaCl na solução. Como previamente mencionado, este último acesso foi capaz de reter uma concentração média de  $K^+$  nas raízes expostas ao NaCl, estatisticamente similar ao de seu controle, provavelmente refletindo uma menor competição entre os seus influxos radiculares de Na e K. De acordo com Rodrigues et al. (2012), a semelhança do que acontece com outras espécies de glicófitas, no pinhão-mansó, concentrações adequadas de  $K^+$  podem atenuar parte dos efeitos adversos causados pelo excesso de  $Na^+$ . Esses autores observaram que, na presença de  $K^+$ , as taxas de acumulação de  $Na^+$  nas folhas foram diminuídas, indicando que a redução no carregamento desse íon no xilema radicular, exercida pelo  $K^+$ , foi essencial no processo de distribuição do íon  $Na^+$  na parte aérea.



**Figura 32.** Comparação múltipla para concentrações de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> em dois acessos de pinhão manso (356 e 345) cultivados em solução nutritiva de Hoagland e Arnon, na ausência ou presença de doses crescentes de NaCl (0-150 mM). Código dos tratamentos: T1 – 0 NaCl 356; T2– 0 NaCl 345; : T3 –50-150 NaCl 356; T4 –50-150 NaCl 345. A e C: folhas; B e D: raízes. Valores médios de cinco repetições por tratamento. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente (Tukey, p <0,05).

Como complemento dessas informações, na Tabela 14, apresenta-se as relações Na/K em folhas, caule e raízes de ambos os acessos estudados.

**Tabela 14.** Relações molares Na/K (mmol Na<sup>+</sup>/ mmol K<sup>+</sup>) de dois acessos de pinhão manso cultivados em solução nutritiva de Hoagland e Arnon, presença de doses crescentes de NaCl (50 a 150 mM).

Acesso	Na/K <sub>(50-150)</sub> <sup>(*)</sup>		
	Folha	Caule	Raiz
356	2,35	0,91	1,37
345	1,85	1,27	2,18

<sup>(\*)</sup> Representa o quociente entre a média das [Na<sup>+</sup>] / [K<sup>+</sup>], excluído o tratamento controle.

Dessas relações pode ser inferido que no acesso 356, houve um maior excesso de íons Na<sup>+</sup> (e naturalmente de íons Cl<sup>-</sup> acompanhantes) por unidade de K transportado às folhas do

que no acesso 345 (2,35 vs. 1,85, Tabela 14). Aparentemente, neste acesso, o  $\text{Na}^+$  foi o principal contribuinte ao ajuste osmótico, assumindo-se que, uma fração significativa do mesmo, tenha sido compartimentalizada nos vacúolos das células mesofílicas. Esse rápido influxo de íons  $\text{Na}^+$ , após a exposição ao  $\text{NaCl}$ , pode ter garantido as condições de turgidez necessárias a um mais rápido e completo fechamento estomático, garantindo a manutenção dos níveis de hidratação foliar praticamente constantes (Figura 16). Esse tipo de interpretação concorda com resultados similares onde o estresse salino não afetou negativamente o grau de hidratação das folhas, e o excesso de íons acumulados contribuiu para a retenção de água no tecido (SILVA et al., 2009b; DIAZ-LÓPEZ et al., 2010). Em contrapartida, o progressivo acúmulo de íons potencialmente tóxicos e os desbalanços nutricionais associados, seriam responsáveis pela ocorrência de distúrbios fisiológicos e bioquímicos e de estresse oxidativo, conducentes a uma rápida queda na produção de biomassa (DIAZ-LÓPEZ et al., 2010). Assim, em relação ao acúmulo de massa seca foliar, o acesso 356 sofreu uma redução de 54 % já em 50 mM (Fig. 17A), enquanto que, nas mesmas condições, a redução no acesso 345 foi de 32 % (Fig. 26A), o que pode estar associado a sua menor relação  $\text{Na/K}$  nas folhas (Tabela 14), atenuando os efeitos tóxicos do sódio (RODRIGUES et al., 2012). Em contrapartida, e em comparação com valores similares do acesso 356 (Tabela 7), pode ser verificado que o acesso 345 apresenta menores teores de  $\text{K}^+$  nas raízes (Tabela 11) explicando assim uma relação  $\text{Na/K}$  muito mais elevada nesse órgão (2,18 vs. 1,37, Tabela 14).

Como já discutido, nas folhas do acesso 356 os teores de  $\text{Ca}^{2+}$  não resultaram afetados pelos tratamentos impostos enquanto que no 345, a salinidade reduziu homogeneamente esses teores (Tabelas 8 e 12), enquanto que os influxos de  $\text{Na}^+$  aumentaram concomitantemente, em ambos os cultivares. Dessa forma, as relações molares  $\text{Na/Ca}$  sob salinidade diferiram entre os acessos. Nas folhas do acesso 356, essa relação variou entre 2,03 em 50 mM até um máximo de 2,78 em 100 mM, (média :2,49). Já para o acesso 345, os valores variaram entre 1,51 em 50 mM até 2,18 em 150 mM (média:1,98). Tomados em conjunto, esses dados sugerem que o acúmulo foliar de  $\text{Na}^+$  teve menos possibilidade de interferir com o  $\text{Ca}^{2+}$  e os seus papéis fisiológicos do no caso do acesso 345 do que no 356. A expressão da toxidez do íon  $\text{Na}^+$  no caso do estresse salino, é regulada pela concentração externa do íon  $\text{Ca}^{2+}$ , o qual exerce um efeito atenuante sobre a expressão desse estresse (KINRAIDE, 1998).

Outro aspecto focado neste trabalho foi o possível papel dos chamados solutos orgânicos compatíveis na expressão da tolerância diferencial de acessos de pinhão manso à salinidade induzida por  $\text{NaCl}$ . Nos termos como essa tolerância foi definida neste trabalho, no caso dos acessos mais tolerantes 305 e 345, as respostas dos teores de aminoácidos livres, e açúcares solúveis totais foram praticamente nulas ou muito baixas e ao acúmulos de prolina, de muita reduzida magnitude (305) ou inexistentes (345). Mesmo no caso do acesso 356, de menor tolerância em termos de produção relativa de biomassa, os acúmulos verificados de aminoácidos livres e prolina (mas não em açúcares solúveis), pela sua magnitude, poderiam ser simplesmente produtos de distúrbios metabólicos induzidos pelo sal, no metabolismo de aminoácidos e proteínas. Resultados da literatura corroboram essa possibilidade, ao menos no caso da prolina (SILVA et al., 2009b).

Em experimento similar, Silva et al. (2009b) cultivaram plântulas de pinhão manso em solução de Hoagland e Arnon (1950) na presença de doses crescentes de  $\text{NaCl}$  entre 25 e 100 mM, aplicadas em parcelas diárias de 25 mmol  $\text{L}^{-1}$ , durante 15 dias. Mesmo com essa aclimação prévia ao estresse salino, o acesso utilizado por esses autores pareceu bem mais sensível que os aqui testados. Com efeito, a produção de massa seca do acesso atingiu um valor de 50 % do máximo, com uma concentração de  $\text{NaCl}$  entre 75-100 mM, sendo essa redução acompanhada por intensos sintomas visuais de toxicidade causados pelo estresse salino, caracterizados por clorose seguida de necrose, em áreas localizadas de folhas em

expansão (SILVA et al., 2009b), manifestações essas não vistas nos presentes acessos. Entre os seus resultados, os autores destacaram acúmulos de aminoácidos solúveis e secundariamente de açúcares solúveis e de glicina betaína, os quais fizeram uma contribuição relativa de 6, 5 e 4 % para a osmolalidade total das folhas. Essas contribuições, o se bem inferiores às feitas pelos íons salinos  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , contribuintes maiores ao ajustamento osmótico, tiveram certa relevância no seu conjunto.

A consideração deste conjunto de dados e resultados experimentais permite concluir, preliminarmente, que o acúmulo de solutos orgânicos compatíveis, com propósitos osmorregulatórios, deve ter significância apenas naqueles acessos de pinhão manso com maior sensibilidade ao estresse salino. No outro extremo, os acessos mais tolerantes (caso do acesso 305) tendem a exibir um comportamento mais típico de certas espécies halofíticas, onde os ajustes osmóticos necessários são realizados exclusivamente com íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , naturalmente abundante no seu meio de crescimento, dispensando a síntese de solutos orgânicos compatíveis, energeticamente muito mais custosos (MUNNS, 2002; MUNNS & TESTER, 2008; RADÍC et al., 2013).

Com relação aos possíveis mecanismos de tolerância, cabe observar que este estudo abrangeu uma limitada amostra dos acessos disponíveis, e não considerou ainda todas as facetas das respostas ao estresse salino, particularmente aquelas ligadas ao estresse oxidativo e a expressão dos sistemas antioxidantes. Entretanto foi possível delinear algumas situações de contraste que indicam possível plasticidade fenotípica na espécie em relação aos mecanismos de tolerância.

Jongschaap et al. (2007) fizeram a observação, que muitas das feições positivas atribuídas à espécie, tais como baixo requerimento nutricional, tolerância à seca, bom crescimento sob condições salinas, altos rendimentos de óleo, estão baseadas em combinações incorretas de características, que não necessariamente estão presentes em todos os acessos de *J. curcas*. Por exemplo, baseados nos resultados de apenas um acesso, Silva et al. (2009b) afirmaram que *J. curcas* não possui mecanismos eficientes de redistribuição e exclusão de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  para atuar na redução do excesso de íons salinos, acumulados na parte aérea de plantas sob salinidade. Os presentes dados não se ajustam totalmente a esse modelo de tolerância, uma vez que ficou demonstrada, nos acessos 356 e 345, a participação das raízes como compartimento relevante de acúmulo, nos maiores níveis de  $\text{NaCl}$  adicionados, sugerindo a expressão de um mecanismo de exclusão. García-Sánchez et al. (2002) observaram que alta retenção dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nas raízes do porta enxerto de citrus “Cleópatra mandarin” reduziu os efeitos tóxicos destes na parte aérea das plantas. É possível que um modelo similar, baseado na inclusão (acúmulo) de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  a baixos níveis de  $\text{NaCl}$  na solução externa e na exclusão (via retenção radicular) a altos níveis de salinidade seja uma opção mais flexível nesta espécie. Um bom candidato para ter testado esta hipótese foi o acesso 305, onde, desafortunadamente não foi possível realizar as análises de composição iônica realizadas nos outros dois acessos.

Finalmente, em vista dos resultados obtidos nestes experimentos, novos estudos parecem garantidos. Eles deverão considerar desde aspectos como forma de aplicação do estresse (*shock* osmótico vs. aplicação gradual, segundo Schavrukov (2012), passando por uma descrição mais detalhada das relações hídricas das plantas, uma mais completa caracterização dos possíveis solutos osmorregulatórios, principalmente inorgânicos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ) e sua distribuição nos diversos órgãos das plantas, e o possível rol de diversos metabólitos nos sistemas de proteção celular contra estresse oxidativo induzido por alta salinidade.

## 5 CONCLUSÕES

Em confirmação da hipótese inicialmente formulada, foi possível verificar neste experimento, a existência de comportamentos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos diferenciados entre três acessos de pinhão manso, em resposta ao estresse salino induzido por doses crescentes de NaCl na solução nutritiva.

No relativo à eficiência desses comportamentos responsivos, foi concluído que:

O indicador mais simples foi a consideração da magnitude da redução em matéria seca total, expressa sob a forma de rendimento relativo (% do controle). Aplicando-se esse critério, o acesso 356 foi o mais sensível e o 305, o mais tolerante;

Em segundo lugar, a composição iônica sob estresse, com destaque para a concentração de Na<sup>+</sup> e a relação Na/K em folhas, e a concentração de Na<sup>+</sup> em raízes. As concentrações dos íons divalentes (cálcio e magnésio) não são de valia na discriminação de graus de tolerância ao estresse salino em pinhão manso;

Em relação ao acúmulo de solutos compatíveis foi concluído que a maior sensibilidade foi associada com maior acúmulo de aminoácidos livres totais e prolina, enquanto a maior tolerância à ausência de acumulação;

Os teores relativos de água e de clorofila em lâminas foliares de acessos de pinhão manso servem apenas como indicadores complementares, devido a sua baixa sensibilidade aos aumentos de salinidade na solução induzidos pelo NaCl.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKOM, E. K., ERTEL, J. An alternative energy approach to combating desertification and promotion of sustainable development in drought regions. In: FORUM DER FORSCHUNG, 18, 2005, Eigenverlag. Anais... Eigenverlag: BTU Cottbus, 2005, p. 74-78.
- ALIAN, A.; ALTMAN, A.; HEUER, B. Genotypic difference in salinity and water stress tolerance of fresh market tomato cultivars. **Plant Science**, v.152, n.1, p.59-65, 2000.
- ARRUDA, F. O.; BELTRÃO, N. E. M.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, n. 1, p. 3-16, 2004.
- AUGUSTUS, G. D. P. S.; JAYUBALAN, M.; SEILER, G. J. Evaluation and bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. **Biomass Bioenergy**, v. 23, p. 161–164, 2002.
- ÁVILA FILHO, S.; DUARTE, F.; JESUS, D. S.; MACHADOR, A.; RIBEIRO, N. M. VELOSO, M. C. C. Métodos para desintoxicação de tortas de oleaginosas. In: Congresso da rede brasileira de tecnologia de biodiesel, 1, 2006, Brasília. Anais... Brasília: MCT/ ABIPTI, v. 2, p. 34-37, 2006.
- AYERS, R. S.; WESTCOT D. W. A qualidade da água na agricultura. Campina Grande: UFPB, 1991. 218 p.
- BABITA, M.; MAHESWARIB, M.; RAO, L.M. .; SHANKER, A.K.; RAO, G.D. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. **Environmental and Experimental Botany**, v.69, p. 243-249, 2010.
- BAJJI, M.; KINET, J. M.; LUTTS, S. The use of electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regul.*, v. 36, 61–70, 2002.
- BARRS, H.D. Determination of water deficits in plant tissues. In: T.T. KOZLOWSKI (Ed.) **Water deficits and plant growth**, v. 1. London: Academic Press, 1968.
- BATES, L. S.; WALDREW, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n.1, p. 205-207, 1973.
- BELTRÃO, N. E. M. Considerações gerais sobre o pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) e a necessidade urgente de pesquisas, desenvolvimento e inovações tecnológicas para esta planta nas condições brasileiras. Campina Grande: EMBRAPA. 4 p. 2006.
- BLUMWALD, E.; AHARON G. S.; APSE M. P. Sodium transport in plant cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1465, p. 40-151, 2000.

BRINI, F.; MASMOUDI, K. Ion transporters and abiotic stress tolerance in plants. *ISRN Molecular Biology*, v. 2012, Article ID 927436, 13 p. 2012. doi:10.5402/2012/927436

BYBORDI, A. Effect of ammonium/nitrate nitrogen ratio on photosynthesis, respiration and some vegetative traits of canola grown under salinity stress. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.10, n.1, p. 372-375, 2012.

CARNIELLI, F. O combustível do futuro. 2003. Disponível em: [www.ufmg.br/boletim/bul1413](http://www.ufmg.br/boletim/bul1413). Acesso em: 17 de março de 2008.

CARVALHO, L.M.; CASALI, V.W.D.; SOUZA, M.A.; CECON, P.R. Disponibilidade de água no solo e crescimento de artemísia. **Horticultura brasileira**, v. 21, n. 4, p. 726-730, 2003.

CHEN, J.; LIU, Z.; SHAO, H.; QIN, S.; ZHENG, Q.; LIU, L; MAO, Y. Changes in ATP-ase activity of plasma-membrane enriched vesicles isolated from physic nut roots and levels of energy and medicinal plant, *Jathropa curcas* L., as an adaptation mechanism to salinity. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.6., n.16, p. 3129-3142, 2012.

CHEN, T.N.N.; MURATA, N. Enhancement of tolerance of abiotic stresses by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, p. 250-257, 2002.

CHEN, Z.; CUIN, T.A.; ZHOU, M.; TWOMEY, A.; NAIDU, B.P.; SHABALA, S. Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 15/16, pp. 4245–4255, 2007.

CHU, T.M. ; ASPINALL, D. PALEG, L.G. Stress metabolism. VII. Salinity and proline accumulation in barley. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 3, n.1, p. 219-228, 1976.

CLAUSSEN, W. Proline as a measure of stress in tomato plants. **Plant Science**, v. 168, p. 241–248, 2005.

DELAUNEY, A.J.; VERMA, D.P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*, v.4, n.2., p. 215-223, 1993.

DÍAZ-LÓPEZ, L.; GIMENO, V.; LIDÓN, V.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: an ecophysiological analysis. **Plant Physiol. Biochem.**, v.54, p.34-42, 2012a.

DÍAZ-LÓPEZ, L.; GIMENO, V.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ, V.; RODRÍGUEZ-ORTEGA, W.M.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. **Agricultural Water Management**, v. 105, p. 48-56, 2012b.

DOURADO, F. W. N. Avaliação da qualidade de sementes e plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Vitória da Conquista: UESB, 2009. 90 p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia: Área de Concentração em Fitotecnia).

DOWNTON, W.J.S.; LOVEYS, B.R. Abscisic acid content and osmotic relations of salt-stressed grapevine leaves. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.8, n.5, 443-452, 1981.

DUKE, J. A. Handbook of energy crops. 1983. Disponível em <[http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke\\_energy/Jatropha\\_curcas.html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Jatropha_curcas.html)>. Acesso em: 17 de Dezembro, 2012.

FERNANDES, M.S. Effects of light and temperature on the nitrogen metabolism of tropical rice. 1974. (Tese Doutorado) Michigan State University, Michigan.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T.D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C-3 plants. **Plant Biology**, v. 6, n.1, p. 269–279, 2004.

FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 3, p. 307-319, 2004.

FRANCIS, G.; EDINGER, R.; BECKER, K. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socioeconomic development in degraded areas in India: Need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. **Natural Resources Forum**, v. 29, p.12-24, 2005.

GARCÍA-SANCHEZ, F., JIFON, J.L.; CARVAJAL, M.; SYVERTSEN, J.P. Gas exchange, chlorophyll and nutrient contents in relation to Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> accumulation in “Sunburst” mandarin grafted on different rootstocks. **Plant Science**, v. 162, n.5, p. 705-712, 2002.

GIERTH, M.; MASER, P. Potassium transporters in plants - Involvement in K<sup>+</sup> acquisition, redistribution and homeostasis. **FEBS Letters**, v. 581, p. 2348-2356, 2007.

GIMENO, V., SYVERTSEN, J.P.; SIMÓN, I.; NIEVES, M.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47-55, 2012.

GREENWAY, H.; MUNNS, R. (1980) Mechanisms of salt tolerance in non halophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, v.31, p. 149-190, 1980.

HALL, D.O.; LONG, S.P. Photosynthesis and the changing environment. In: D. O. HALL, J. M. O. SCURLOCK, H. R. BOLHÁR -NORDENKAMPF, R. C. LEEGOOD & S. P. LONG (Eds.) Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual. London: Chapman & Hall, 1993. p. xxii –xxvii.

HEALTH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast, I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal Botany**, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley: University of California, 1950. (Circular, 347).

HORIE, T.; SCHROEDER, J. I. Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. **Plant Physiology**, v. 136, p. 2457-2462, 2004.

HSIAO, T. C.; ACEVEDO, E.; FERERES, E.; HENDERSON, D.W. Water stress, growth, and osmotic adjustment. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B.**, v. 273, n. 927, p. 479-500, 1976.

HSIAO, T.C. Plant responses to water stress. **Annual Review of Plant Physiology**, v.24, p. 519-570, 1973.

HU, Y.; SCHMIDHALTER, U. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 168, p. 541-549, 2005.

JAMIL, M.; REHMAN, S.; LEE, K.J.; KIM, J.M.; KIM, H-S.; RHA, E.S. Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish. **Scientia Agricola**, v.64, n.2, p.111-118, 2007.

JONGSCHAAP, R. E. E.; CORRE, W. J.; BINDRABAN, P. S.; BRANDENBURG, W.A. Claims and facts on *Jatropha curcas*. **Plant Research International**. B.V., Wageningen. Stichting Het Groene Woudt, Laren, p. 1-37. 2007.

KACPERSKA, A. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? **Physiologia Plantarum**, v. 122, p. 159-168, 2004.

KAWASAKI, S.; BORCHERT, C.; DEYHOLOS, M.; WANG, H.; BRAZILLE, S.; KAWAI, K.; DAVID GALBRAITH, D.; BOHNERT, H. J. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. **The Plant Cell**, v. 13, p.889-905, 2001.

KINRAIDE, T.B. Three mechanisms for the calcium alleviation of mineral toxicities. **Plant Physiology**, v.118, p.513-520, 1998.

KRISHNAMURTHY, P.; RANATHUNGE, K.; NAYAK, S.; SCHREIBER, L.; MATHEW, M.K. Root apoplastic barriers block Na<sup>+</sup> transport to shoots in rice (*Oryza sativa* L.) **Journal of Experimental Botany**, Vol. 62, No. 12, pp. 4215-4228, 2011.

KRONZUCKER, H.J.; BRITTO, D.T. Sodium transport in plants: a critical review. **New Phytologist**, v. 189, p. 54-81, 2011.

LACERDA, C.F. de; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M.A.; RUIZ, H.A.; PRISCO, J.P. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.49, p.107-120, 2003.

LAROSA, P.C.; RHODES, D.; RHODES, J.C.; BRESSAN, R.A.; CSONKA, L.N. Elevated accumulation of proline in NaCl-adapted tobacco cells is not due to altered  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate reductase. **Plant Physiology**, v. 96, n.2, p. 245-250, 1991.

LEAL, I.G.; ACCIOLY, A.M. de A.; NASCIMENTO, C. W. A.; FREIRE, M.B. G. S.; MONTENEGRO, A.A. A.; FERREIRA, F. de L. Fitorremediação de solo salino sódico por *Atriplex nummularia* e gesso de jazida. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.3, p. 1065-1072, 2008.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987.

LIU, F.; JENSEN, C.R.; SHAHANZARI, A.; ANDERSEN, M.N.; JACOBSEN, S.E. ABA regulated stomata control and photosynthetic water use efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.) during progressive soil drying. **Plant Science**, v.168, p. 831–836, 2005.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa do Potássio e do Fósforo, 201p. 1989.

MARANVILLE, J.W.; PAULSEN, G.M. Alteration of carbohydrate composition of corn (*Zea mays* L.) seedlings during moisture stress. **Agronomy Journal**, v. 62, p. 605-608, 1970.

MARTÍ, M.C.; FLOREZ-SARASA, I.; CAMEJO, D.; RIBAS-CARBÓ, M.; LÁZARO, J.J.; SEVILLA, F.; JIMÉNEZ, A. Response of mitochondrial thioredoxin PsTrxo1, antioxidant enzymes, and respiration to salinity in pea (*Pisum sativum* L.) leaves. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.11, p. 3863-3874, 2011.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant Cell and Environment**, v.33, n. 3 , p. 453-467, 2010.

MUHLING, K.H.; LAUCHLI, A. Effect of salt stress on growth and compartmentation in leaves of two plants species differing in salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 159, p. 137-146, 2002.

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

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

NETTING, A. G. pH, abscisic acid and the integration of metabolism in plant under stressed and non-stressed conditions: cellular responses to stress and their implication for plant water relations. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p 147-158, 2000.

NOFTAH, A.E.; MICHEL, B.E. The effect of sodium chloride on solute potential and proline accumulation in soybean leaves. **Plant Physiology**, v.83, p. 238-240, 1987.

NUNES, C. F.; PASQUAL, M.; SANTOS, D. N.; CUSTÓDIO, T. N.; ARAUJO, A. G. Diferentes suplementos no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-mansão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n.1, p. 9-14, 2008.

NUNES, C.F. Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Lavras, 78 p, 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, M. Gênese, classificação e extensão de solos afetados por sais. In: GHEYI, H.R.; QUEIROZ, J.E.; MEDEIROS, J.F. **Manejo e controle da salinidade na agricultura irrigada**. Campina Grande: UFPB; SBEA, p.1-35. 1997.

OZFIDAN, C.; TURKAN, I.; SEKMEN, A.H.; SECKIN, B. Time course analysis of ABA and non-ionic osmotic stress-induced changes in water status, chlorophyll fluorescence and osmotic adjustment in *Arabidopsis thaliana* wild-type (Columbia) and ABA-deficient mutant (*aba2*). **Environmental and Experimental Botany**, v.86, n.1, p. 44-51, 2013.

PANTIN, F.; SIMONNEAU, T.; MULLER, B. Coming of leaf age: control of growth by hydraulics and metabolics during leaf ontogeny. **New Phytologist**, v. 212. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2012.04273.x

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, n. 03, p. 324-349, 2005.

PASTORI, G.M.; FOYER, C. Common components, networks, and pathways of cross tolerance to stress. The central role of “redox” and acid abscisic-mediated controls. **Plant Physiology**, v. 129, p. 460-468, 2002.

PAUL, M.J.; FOYER, C.H. Sink regulation for photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v.52, p.1383 -1400, 2001.

PENG,Z.; LU, Q.; VERMA, D.P.S. Reciprocal regulation of  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthase and proline dehydrogenase genes proline levels during and after osmotic stress in plants. **Molecular & General Genetics**, v. 253, p. 334-341, 1996.

PESCI, P.; BEFFAGNA, N. Influence of exogenously supplied potassium and sodium salts on the abscisic acid-induced proline accumulation in barley leaf segments. **Physiologia Plantarum**, v.67, n.2, p. 123-128, 1986.

PIMENTEL, C.; ROSSIELLO, R.O.P. Entendimento sobre relações hídricas na cultura do milho. In: Machado, A.T.; Magnavaca, R.; Pandey, S.; Silva, A.F. (Eds.) Simpósio internacional sobre estresse ambiental: o milho em perspectiva. Anais. Sete Lagoas: Embrapa CNPMS. México: CYMMYT/UNDP. p. 131-146, 1995.

PURCINO, A. A. C.; DRUMMOND, O. A. Pinhão manso. Belo Horizonte: Epamig, 7 p. 1986.

RADÍĆ, S.; STEFANIĆ, P.P.; LEPEDUŠ, H.; ROJE, V.; PEVALEK-KOZLINA, B. Salt tolerance of *Centaurea ragusina* L. is associated with efficient osmotic adjustment and increased antioxidative capacity. **Environmental and Experimental Botany**, v.87, p. 39-48, 2013.

RAMOS, L. P.; KUCEK, K.T.; DOMINGOS A. K.; WILHELM H. M. Biodiesel: Um Projeto de sustentabilidade econômica e sócio ambiental para o Brasil. **Revista Biotecnologia & Desenvolvimento**, v. 31, 16 p, 2003.

RENGASAMY, P. World salinization with emphasis on Australia. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 1017-1023, 2006.

RENGEL, Z.; ZHANG, W.H. Role of dynamics of intracellular calcium in aluminium-toxicity syndrome. **New Phytologist**, v. 159, p. 295-314, 2003.

RIBEIRO, J. S.; LIMA, A. B.; CUNHA, P. C.; WILLADINO, L.; CÂMARA, T. R. O estresse abiótico em regiões semi-áridas: respostas metabólicas das plantas. IN: MOURA, A. N.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. (Orgs.). Biodiversidade, potencial econômico e processos eco-fisiológicos em ecossistemas nordestinos, Recife: Comunigraf, 2007. 361 p.

ROBBINS, C.N.; GARLAK, R.G. Salt- and sodium-affected soils. University of Idaho. Cooperative Extension Service Bulletin, n. 703, 12 p. 1989.

RODRIGUES, C. R. F.; SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, E. N.; DUTRA, A. T. B.; VIÉGAS, R. A. Transporte e distribuição de potássio atenuam os efeitos tóxicos do sódio em plantas jovens de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n.1, p. 223-232, 2012.

RONDE, J. A.; SPREETH, M. H.; CRESS, W. A. Effect of antisense  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate reductase transgenic soybean plants subjected to osmotic and drought stress. **Plant Growth Regulation**, v.32, p. 13-26, 2000.

ROSSIELLO, R. O. P.; FERNANDES, M. S.; FLORES, J. P. O. Efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento e acumulação de carboidratos solúveis de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 16, p. 561-566, 1981a.

ROSSIELLO, R.O.P.; FERREIRA, W.A.; FERNANDES, M.S. Respostas do milho (*Zea mays* L.) á salinidade do solo induzida por aplicação de vinhaça. II. Produção de carboidratos solúveis e absorção de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 5, n. 1, p. 176-181, 1981b.

RUIZ, H.A SAMPAIO, R.A.; OLIVEIRA, M.; ALVAREZ VENEGAS, V.H.. Características químicas de solos salino-sódicos submetidos a parcelamento da lâmina de lixiviação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.11, p.1119-1126, 2004.

SAPETA, H.; COSTA, J.M.; LOURENÇO, T.; MAROCO, J.; LINDE, P. V.; OLIVEIRA, M.M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: growth and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, n.1, p. 76-84, 2013.

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). In: Produção de oleaginosas para biodiesel. **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SCHAVRUKOV, Y. Salt stress or salt shock: which genes are we studying? **Journal of Experimental Botany**. Advance Access, November 2012, doi:10.1093/jxb/ers316

SHABALA, L.; MACKAY, A.; TIAN, Y.; JACOBSEN, S.-E.; ZHOU, D.; SHABALA, S. (2012), Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia Plantarum**, v. 146, n.1, p. 26–38, 2012.

SILVA, E.N. da; SILVEIRA, J.A.G.; FERNANDES, C. R.R.; DUTRA, A.T.B.; ARAGÃO, R.M. Acúmulo de íons e crescimento do pinhão-mansô sob diferentes níveis de salinidade. **Ciência Agrônômica**, v. 40, n.2, p. 240-246, 2009a.

SILVA, E.N. da; SILVEIRA, J.A.G.; RODRIGUES, C.R.F.; LIMA, C.S. ; VIÉGAS, R.M. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansô submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.5, p.437-445, 2009b.

SILVA, E.N.; FERREIRA-SILVA, F.N.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. The role of organic and inorganic solutes in the osmotic adjustment of drought-stressed *Jatropha curcas* plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.69, n.3, p. 279-285, 2010.

SLUSZZ, T.; MACHADO, J. A. D. Características das potenciais culturas matérias primas do biodiesel e sua adoção pela agricultura familiar. In: ANAIS AGRENER. Campinas. Anais da Agrener 6. Campinas: Unicamp, p. 1-10, 2006.

SOUSA, A. E. C.; LACERDA, C. F.; GHEYI, H. R.; SOARES, F. A. L.; UYEDA, C. A.. Teores de nutrientes foliares e respostas fisiológicas em pinhão mansô submetido a estresse salino e adubação fosfatada. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 2, p. 144-152, 2012.

SOUSA, A.E.C.; GHEYI, H.R.; CORREIA, K,G.; SOARES, F. A. L.; NOBRE, R.C. Crescimento e consumo hídrico do pinhão mansô sob estresse salino e doses de fósforo. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, n.2, p. 310-318, 2011.

STEPIEN, P.; KLOBUS. G. Antioxidant defense in the leaves of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants under salinity stress. **Physiologia Plantarum** , v. 125, n.1, p. 31-40, 2005.

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

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEM, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 174 p. 1995. (Boletim técnico, 5)

TEIXEIRA, C. T. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. In: Produção de oleaginosas para biodiesel. **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 229, p. 18-27, 2005.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, n. 3, p.503-527, 2003.

TURNER, N.C.; JONES, M.M. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: Turner, N.C. & Kramer, P.J. (Eds.) Adaptation of plants to water and high temperature stress. New York: Wiley Interscience, p. 87-103, 1980.

VALENZUELA, A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. **Life Science**, v.48, n. 4, p.301-309, 1991.

VERSLUES, P.E.; BRAY, E.A. Role of abscisic acid (ABA) and *Arabidopsis thaliana* ABA-insensitive loci in low water potential-induced ABA and proline accumulation. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 201–212. 2006.

VETTERLEIN, D.; KUHN, K.; SCHUBERT, S.; JAHN, R. Consequences of sodium exclusion on the osmotic potential in the rhizosphere –comparison of two maize cultivars differing in Na<sup>+</sup> uptake. **Plant Nutrition and Soil Science**, v. 167, p. 337–344, 2004.

VIANA, S. B. A.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; SOARES, F. A.; CARNEIRO, P. T. Índices morfofisiológicos e de produção de alface sob estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.8, n.1, p.23-30, 2004.

VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G.; LIMA JR, A. R.; QUEIROZ, J. E.; FAUSTO, M. J. M. Effect of NaCl-salinity on growth and inorganic solute accumulation in young cashew plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, v. 5, n. 2, p. 216-222, 2001.

WATSON, R.; PRITCHARD, J.; MALONE, M. Direct measurement of sodium and potassium in the transpiration stream of salt-excluding and non-excluding varieties of wheat. **Journal Experimental Botany**, 52:1873-1881, 2001.

WEATHERLEY, P.E. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurements of water deficits in leaves. **New Phytologist**, v.49, n.1, p.81-97, 1950.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal Plant Physiology**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.

WILLADINO, L.; CAMARA, T.R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos. Enciclopédia **BIOSFERA**, V. 6, n.1, p. 1-23, 2010.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209-214, 1955.

YEMM, E.W. ;WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v.57, p.508-514, 1954.