



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

YURI LIMA MELO

**SUPLEMENTAÇÃO DE POTÁSSIO E CÁLCIO CONTRIBUI NA PROTEÇÃO
OSMÓTICA E IÔNICA EM *Jatropha curcas* L. EXPOSTA À SALINIDADE**

MOSSORÓ - RN
2016

YURI LIMA MELO

**SUPLEMENTAÇÃO DE POTÁSSIO E CÁLCIO CONTRIBUI NA PROTEÇÃO
OSMÓTICA E IÔNICA EM *Jatropha curcas* L. EXPOSTA À SALINIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Fitotecnia/Agronomia.

Linha de Pesquisa: Práticas Culturais e Melhoramento Genético.

Orientador: Profa Dra. Cristiane Elizabeth Costa de Macêdo

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Alfonso Ortega Delgado

MOSSORÓ - RN
2016

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

M528s MELO, Yuri Lima.
 Suplementação de potássio e cálcio contribui na
 proteção osmótica e iônica em *Jatropha curcas* L.
 exposta à salinidade / Yuri Lima MELO. - 2016.
 144 f. : il.

 Orientadora: Cristiane Elizabeth Costa MACÊDO.
 Coorientadora: Eduardo Alfonso ORTEGA DELGADO.
 Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
 do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
 Fitotecnia, 2016.

 1. Pinhão-manso. 2. ajustamento osmótico. 3.
 estresse salino. 4. potássio. 5. cálcio. I.
 MACÊDO, Cristiane Elizabeth Costa, orient. II.
 ORTEGA DELGADO, Eduardo Alfonso, co-orient. III.
 Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

YURI LIMA MELO

**SUPLEMENTAÇÃO DE POTÁSSIO E CÁLCIO CONTRIBUI NA PROTEÇÃO
OSMÓTICA E IÔNICA EM *Jatropha curcas* L. EXPOSTA À SALINIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Fitotecnia/Agronomia.

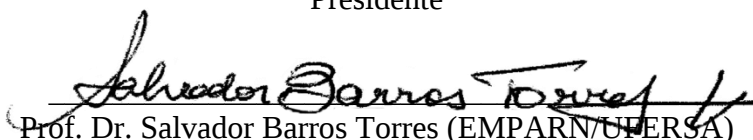
Linha de Pesquisa: Práticas Culturais e Melhoramento Genético.

DEFENDIDA EM: 07 / 04 / 2016

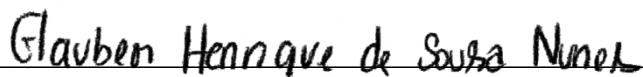
BANCA EXAMINADORA



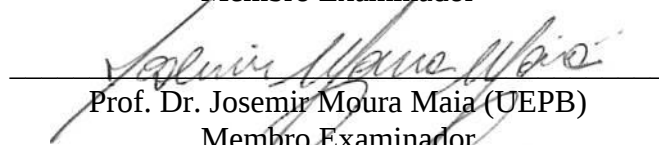
Profa. Dra. Cristiane Elizabeth Costa de Macêdo (UFRN/UFERSA)
Presidente



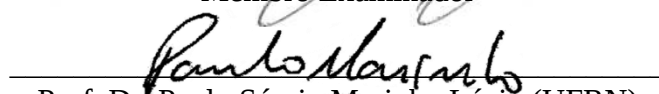
Prof. Dr. Salvador Barros Torres (EMPARN/UFERSA)
Membro Examinador



Prof. Dr. Glauber Henrique Sousa Nunes (UFERSA)
Membro Examinador



Prof. Dr. Josemir Moura Maia (UEPB)
Membro Examinador



Prof. Dr. Paulo Sérgio Marinho Lúcio (UFRN)
Membro Examinador

**Tese apresentada em sessão pública no mês de Abril de 2016, no Campus da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido.**

Aos meus pais por tudo o que tenho e o que sou

Aos meus irmãos pelo carinho e apoio

Aos meus avós maternos pelo afeto e incentivo,

Dedico

A minha esposa Camila Catarina e ao
nosso primogênito Gael que está por vir.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

À Deus, porque nada nos é possível se não for de Sua vontade.

À minha orientadora e madrinha Profa. Cristiane Macêdo, pela amizade, cumplicidade, incentivo, paciência e presteza no auxílio às atividades e discussões referentes a esta Tese. Obrigado pelas oportunidades concedidas e por sempre acreditar no meu potencial. Nossa parceria apenas se fortalece a cada etapa concluída.

À UFERSA pela oportunidade de cursar a tão concentrada pós-graduação em Fitotecnia e contribuir com a minha formação profissional. Aos professores e funcionários desta instituição pelos conselhos, conhecimentos e apoio concedidos. À CAPES pela bolsa concedida.

À UFRN pelas instalações, transporte e colaboração dos funcionários, especialmente do Departamento de Biologia Celular e Genética do Centro de Biociências. Aos professores da Base de Pesquisa de Estresses Ambientais em Plantas e Aplicações Biotecnológicas. Aos meus amigos e colegas do LabioTec, em especial: Cibelly, Lisiane, Monique e Ana Paula, pelos momentos de descontração e auxílio para conclusão deste trabalho.

À Universidad de La Habana - Cuba, através do Programa CAPES-Brasil/MES-Cuba, pela oportunidade de intercâmbio científico. Aos professores Eduardo Ortega, Rosa Rodés, Patrícia Ortega e Loiret García, pela paciência e valiosos ensinamentos que transpassaram o limite acadêmico, engrandecendo meu caráter cultural. Aos colegas e amigos cubanos, especialmente Leya e sua adorável família. Aos integrantes do Laboratorio de Fisiologia Vegetal.

Ao Prof. Josemir Maia (UEPB) pela amizade, companheirismo, conselhos e auxílio durante o desenvolvimento desta Tese. Ao Prof. Eduardo Voigt pelo auxílio intelectual. Aos professores Paulo Marinho (UFRN) e Apolino (EAJ/UFRN) que, muito gentilmente, ofereceram as instalações dos seus laboratórios, bem como contribuíram intelectualmente para o desenvolvimento desta pesquisa. Aos professores Glauber Nunes e Salvador Barros por terem aceitado participar como conselheiros e avaliadores deste estudo.

Aos meus pais, José Luiz e Lúcia Cristina, a quem devo a vida, pelo amor e apoio incondicional, educação e formação moral. Tudo o que for feito nesta vida em prol de orgulhá-los não será suficiente para retribuir a benção de ser seu filho. Aos meus irmãos Yugo e Yani, pelo companheirismo, carinho, amizade e auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho. Amo vocês!

Aos meus avós maternos, Vandete e Laelson, pelo amor, carinho e atenção, tudo por vocês. Aos meus avós paternos, Fernandina e Ildefonso, pelo exemplo de força e humildade; Cesarina e Vicente, pelo exemplo de bondade. Tios e primos que fazem parte da minha jornada.

À minha esposa Camila Catarina, pelo amor, paciência e apoio em todos os momentos. Saiba que se não fosse pela sua coragem, determinação e otimismo, parte deste doutorado não

seria possível. Agradeço todos os dias o momento em que você entrou na minha vida e, desde então, me incentiva a almejar voos mais altos. A consagração maior da nossa união está a caminho... Ao nosso filho Gael que, mesmo ainda dentro do ventre, nos inspira a sermos pessoas melhores e nos ensina o verdadeiro sentido da palavra “amor”.

Ao meu sogro e sogra, Gilson e Margareth, pelo respeito, afeto e sempre ter acreditado nos nossos sonhos.

Muito Obrigado!

"La disciplina es la parte más importante del éxito"

(Truman Capote)

“Grandes batalhas só são
dadas a grandes guerreiros”

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

MELO, Yuri Lima. **Suplementação de potássio e cálcio contribui na proteção osmótica e iônica em *Jatropha curcas* L. exposta à salinidade.** 2016. 144 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró - RN, 2016.

As suplementações com 9 mM de K^+ e 6 mM de Ca^{2+} na composição de três tratamentos salinos (controle; 75 e 150 mM de NaCl), foram avaliadas em folhas, caule e raízes de plantas *Jatropha curcas* durante 24 e 240 horas de exposição, baseando-se em indicadores de crescimento, *status* hídrico, integridade das membranas, indicadores de estresse iônico e de ajustamento osmótico. O sal reduziu o crescimento das plantas em todos os tratamentos, independente do tempo. O *status* hídrico das plantas, após 24 h, foi mantido em folhas (75 mM) e raízes (150 mM) e em todos os órgãos, após 240 h, independente da adição de K^+ ou Ca^{2+} . Não houve danos às membranas nos tratamentos 75 e 150 mM, em folhas e caule, após 24 h. Os níveis de sódio aumentaram independente do órgão e tratamento, porém tanto os níveis de K^+ quanto os de Ca^{2+} foram maiores que o Na^+ , auxiliando na minimização da toxicidade iônica (K^+/Na^+ ; Ca^{2+}/Na^+) em quase todos os órgãos da planta, independente do tempo de exposição. Observou-se maiores valores nas relações K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ nos tratamentos salinos suplementados com K^+ e Ca^{2+} , respectivamente. Observou-se em folhas (Sal1) e raízes (Sal2), 24 h DT, que a manutenção do *status* hídrico (CRA) sugere um ajustamento osmótico atribuído em parte ao aumento nos níveis de proteínas solúveis totais (PST) e prolina (PRO), e ainda, à manutenção da integridade das membranas em folhas e à manutenção nos níveis de aminoácidos livres totais (AALT), açúcares solúveis totais (AST) e amido em raízes de *J. curcas*. Aumentos nas concentrações de NaCl, reduziram o CRA em caules de *J. curcas*, contudo, a manutenção da integridade das membranas deste órgão aparentemente está associada ao aumento nos níveis de AALT, PRO e AST. Em folhas, adição de K^+ à solução salina aumentou os níveis de PST e amido no tratamento Sal1 + K^+ e AALT em Sal2 + K^+ , 24 h DT. Em raízes, o incremento de K^+ aumentou os níveis de PST, AALT e PRO no tratamento Sal1 + K^+ , bem como os níveis de AST no tratamento Sal2 + K^+ , 24 h DT. A adição de K^+ à solução salina promoveu um aumento nos níveis de PST, PRO e AST no tratamento Sal1 + K^+ , em caule 24 h DT. A manutenção no CRA que ocorreu em todos os órgãos da planta, 240 h DT, independente da concentração de NaCl, na maioria dos órgãos estudados, pode estar relacionado à manutenção nos níveis de PST, AALT e PRO. Em todos os órgãos, não ficou clara a relação dos carboidratos com o ajustamento osmótico de *J. curcas*, 240 h DT. A adição de K^+ à solução salina aumentou, em folhas, os níveis de AALT (Sal1 + K^+), PRO, AST (Sal2 + K^+) e amido (Sal1 + K^+); em caule, os níveis de PST, AALT (Sal1 + K^+) e AST (Sal1 + K^+); em raízes, os níveis de AALT, PRO e amido apenas no tratamento Sal1 + K^+ . Em todos os órgãos da planta, expostos ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} , 24h DT, a suplementação com o Ca^{2+} aumentou os níveis de PST. Neste mesmo período a suplementação com o Ca^{2+} incrementou os níveis de AALT principalmente em folhas. Após 240 h de exposição, a presença do Ca^{2+} incrementou os níveis de AALT em todos os órgãos expostos ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} . Os níveis de PRO foram incrementados com a suplementação de Ca^{2+} principalmente em folhas, 240 h DT. O caule de *J. curcas* foi o órgão que mais aumentou seus níveis de AST após o incremento de Ca^{2+} à solução salina, em ambos os períodos de exposição. Incrementos nos níveis de amido foram observados principalmente em folhas, em ambos os períodos de exposição. Conclui-se que tanto o incremento de K^+ quanto o de Ca^{2+} à solução salina auxiliou na manutenção da homeostase iônica e contribuiu para o aumento das relações K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ , reduzindo o efeito tóxico do sódio na maioria dos órgãos estudados, independente do tempo de exposição ao NaCl e dose utilizada. Ainda, o ajustamento osmótico, observado em *J. curcas* se deu principalmente por compostos

nitrogenados, estando tanto o incremento de K^+ quanto o de Ca^{2+} relacionados ao aumento da maioria dos solutos compatíveis estudados. A contribuição da suplementação de K^+ e Ca^{2+} no ajustamento osmótico, verificados em *J. curcas*, apresentam respostas distintas quanto ao tempo de exposição, dose de NaCl e órgãos da planta.

Palavras-chaves: Pinhão-manso, estresse iônico, ajustamento osmótico, estresse salino, potássio, cálcio.

ABSTRACT

MELO, Yuri Lima. **Potassium and calcium supplementation contributes to osmotic and ionic protection in *Jatropha curcas* L. exposed to salinity.** 2016. 144 p. Thesis (PhD in Plant Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró - RN, 2016.

The supplying of 9 mM K^+ and 6 mM Ca^{2+} in the composition of three salt treatments (control; 75 and 150 mM NaCl) were evaluated in leaves, stem and roots of *Jatropha curcas* plants for 24 and 240 hours of exposure, based on growth indicators, water status, membranes integrity and ion stress and osmotic adjustment indicators. Salt reduced plant growth in all treatments regardless of time of exposure. The water status after 24 h was kept in leaves (75 mM) and roots (150 mM) and in all plant parts after 240 h regardless of the addition K^+ or Ca^{2+} . There were no membrane damage in 75 and 150 mM treatments in leaves and stem after 24 h. The sodium levels increased regardless of the plant part and treatment, however both K^+ and Ca^{2+} levels were higher than Na^+ , helping in the ion toxicity mitigation (K^+/Na^+ ; Ca^{2+}/Na^+) in almost all the plant parts, regardless of exposure time. The highest values of K^+/Na^+ and Ca^{2+}/Na^+ ratios were observed in salt treatments supplied with K^+ and Ca^{2+} , respectively. It was observed in leaves (Sal1) and roots (Sal2), 24 h after treatment (DT), that the maintenance of water status (CRA) suggests an osmotic adjustment partially assigned to the increase of total soluble proteins (PST) and proline (PRO) levels and also to the membrane integrity maintenance in leaves and amino acids (AALT), total soluble sugars (AST) and starch levels maintenance in *J. curcas* roots. Increases in NaCl concentrations lowered the CRA in *J. curcas* stems, however the membrane integrity maintenance of this part seems to be associated to the increases of AALT, PRO and AST levels. In leaves, the addition of K^+ to the salt solution increased PST and starch levels in Sal1 + K^+ and AALT in Sal2 + K^+ 24 h after treatment. In roots, the addition of K^+ increased the PST, AALT and PRO levels in Sal1+ K^+ treatment, as well as the AST levels in treatment Sal2 + K^+ , 24 h after treatment. The addition of K^+ to the salt solution promoted an increase in PST, PRO and AST levels in Sal1 + K^+ treatment in stem 24 h after treatment. The maintenance of CRA happened in all plant parts, 240 h after treatment and regardless of the NaCl concentration in most of the plant parts evaluated may be related to the maintenance in the PST, AALT and PRO levels. For all plant parts, the relation between carbohydrates and osmotic adjustment in *J. curcas* 240 h after treatment is not clear. The addition of K^+ to the salt solution increased AALT (Sal1 + K^+), PRO, AST (Sal2 + K^+) and starch (Sal1 + K^+) levels in leaves; PST, AALT (Sal1 + K^+) and AST (Sal2 + K^+) levels in stem; and AALT, PRO and starch levels only in the Sal1+ K^+ treatment. For all the plant parts and when exposed to the Sal1 + Ca^{2+} treatment 24 h after treatment, the supplying with Ca^{2+} increased the PST levels. In the same period, the supplying with Ca^{2+} increased the AALT levels mainly in leaves. After 240 h exposure, the presence of Ca^{2+} increased the AALT levels in all plant parts exposed to the Sal1 + Ca^{2+} treatment. PRO levels were increased with the supplying of Ca^{2+} mainly in leaves, 240 h after treatment. Stem of *J. curcas* was the part that had the highest increase of AST levels after the addition of Ca^{2+} to the salt solution in both times of exposure. Increases of starch levels were observed mainly in leaves in both exposure times. In conclusion, both K^+ and Ca^{2+} individual additions to the salt solution supported the maintenance of ionic homeostasis and contributed to the increase of K^+/Na^+ and Ca^{2+}/Na^+ ratios, alleviating the toxicity effects by sodium in most of the evaluated plant parts, regardless of the exposure time and dosage of NaCl tested. Additionally, the osmotic adjustment observed in *J. curcas* occurred mainly by nitrogen compounds, being both K^+ and Ca^{2+} individual additions related to the increases of most of the compatible solutes studied. The contribution of K^+ and Ca^{2+} supplying in osmotic

adjustment verified in *J. curcas* showed distinct responses in terms of exposure time, NaCl dosage and plant organ.

Keywords: Physic nut, ionic toxicity, osmotic adjustment, salt stress, potassium, calcium.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1 Taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) (A e B) e taxa de crescimento relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) (C e D) de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24 h DT) (A e C) e 240 horas (240 h DT) (B e D) de exposição aos estresses.

48

CAPÍTULO IV

Figura 1 Taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) (A e B) e taxa de crescimento relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) (C e D) de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca²⁺), após 24 horas (24 h DT) (A e C) e 240 horas (240 h DT) (B e D) de exposição aos estresses.

98

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1	Concentrações salinas e suplemento de cálcio (Ca^{2+}) e potássio (K^+) para o cultivo hidropônico das plantas de <i>Jatropha curcas</i> em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950).	31
-----------------	---	----

CAPÍTULO II

Tabela 1	Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K^+ – 75 mM + 9 mM de K^+ ; Sal2 + K^+ – 150 mM + 9 mM de K^+), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	50
Tabela 2	Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K^+ – 75 mM + 9 mM de K^+ ; Sal2 + K^+ – 150 mM + 9 mM de K^+), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	51
Tabela 3	Concentrações de sódio (Na^+), potássio (K^+) e relação K^+/Na^+ em folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K^+ – 75 mM + 9 mM de K^+ ; Sal2 + K^+ – 150 mM + 9 mM de K^+), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	52

CAPÍTULO III

Tabela 1	Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K^+ – 75 mM + 9 mM de K^+ ; Sal2 + K^+ – 150 mM + 9 mM de K^+), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	71
Tabela 2	Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K^+ – 75 mM + 9 mM de K^+ ; Sal2 + K^+ – 150 mM + 9 mM de K^+), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	73
Tabela 3	Concentrações de proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT), prolina (PRO) e relação PRO/AALT em folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K^+ – 75 mM + 9 mM de K^+ ; Sal2 + K^+ – 150 mM + 9 mM de K^+), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	74

Tabela 4	Concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), açúcares redutores (AR) e amido em folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K ⁺ – 75 mM + 9 mM de K ⁺ ; Sal2 + K ⁺ – 150 mM + 9 mM de K ⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	79
-----------------	---	-----------

CAPÍTULO IV

Tabela 1	Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca ²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca ²⁺ ; Sal2 + Ca ²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca ²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	99
Tabela 2	Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca ²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca ²⁺ ; Sal2 + Ca ²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca ²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	101
Tabela 3	Concentrações de sódio (Na ⁺), cálcio (Ca ²⁺) e relação Ca ²⁺ /Na ⁺ em folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca ²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca ²⁺ ; Sal2 + Ca ²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca ²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	104

CAPÍTULO V

Tabela 1	Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca ²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca ²⁺ ; Sal2 + Ca ²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca ²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	121
Tabela 2	Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca ²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca ²⁺ ; Sal2 + Ca ²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca ²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.	123
Tabela 3	Concentrações de proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT), prolina (PRO) e relação PRO/AALT de folhas, caule e raízes de plantas de <i>Jatropha curcas</i> L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca ²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca ²⁺ ; Sal2 + Ca ²⁺ – 150 mM	125

+ 6 mM de Ca^{2+}), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.

Tabela 4 Concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), açúcares redutores (AR) e amido em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca^{2+} – 75 mM + 6 mM de Ca^{2+} ; Sal2 + Ca^{2+} – 150 mM + 6 mM de Ca^{2+}), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AALT	Aminoácidos livres totais
ANR	Açúcares não redutores
AR	Açúcares redutores
AST	Açúcares solúveis totais
C	Controle
Ca ²⁺	Cálcio
Cl ⁻	Cloreto
CRA	Conteúdo relativo de água
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
h DT	Horas depois do tratamento
K ⁺	Potássio
L ₁	Altura inicial
L ₂	Altura final
ℓn	Logaritmo neperiano
MF	Massa fresca
MS	Massa seca
MT	Massa túrgida
Na ⁺	Sódio
PRO	Prolina
PST	Proteínas solúveis totais
Sal1	75 mM de NaCl
Sal2	150 mM de NaCl
t ₁	Tempo inicial
t ₂	Tempo final
TCRC	Taxa de crescimento relativo caular
TCRFFE	Taxa de crescimento relativo em fitomassa fresca epígea
UR	Umidade relativa
VE	Vazamento de eletrólitos

SUMÁRIO

Cap I	INFORMAÇÕES GERAIS	
	1. INTRODUÇÃO GERAL	21
	2. REFERENCIAL TEÓRICO	23
	2.1 O pinhão-manso como oleaginosa promissora	23
	2.2 O cenário do biodiesel no Brasil	23
	2.3 A seca e a salinização dos solos do Nordeste Brasileiro	24
	2.4 Efeitos da seca e salinidade sobre as plantas	25
	2.5 O ajustamento osmótico nas plantas	26
	2.6 A importância do potássio e do cálcio no ajuste osmótico	27
	2.7 Prospecção futura	28
	3. HIPÓTESES	29
	4. OBJETIVO GERAL	29
	4.1 Objetivos específicos	29
	5. MATERIAIS E MÉTODOS	29
	5.1 Caracterização da área experimental	30
	5.2 Material vegetal e condições experimentais	30
	5.3 Indicadores de crescimento	31
	5.4 Conteúdo relativo de água	31
	5.5 Vazamento de eletrólitos	32
	5.6 Determinações dos solutos inorgânicos	32
	5.7 Determinação dos solutos orgânicos	32
	Proteínas Solúveis Totais (PST)	32
	Aminoácidos Livres Totais (AALT)	33
	Prolina (PRO)	33
	Açúcares Solúveis Totais (AST)	34
	Açúcares Não Redutores (ANR) e Redutores (AR)	34
	Amido	35
	5.8 Delineamento experimental e análise estatística	35
	6. REFERÊNCIAS	36
Cap II	ALTERAÇÕES NA HOMEOSTASE IÔNICA PROVOCADAS PELO NaCl SÃO MINIMIZADAS PELO INCREMENTO DE POTÁSSIO EM DIFERENTES ÓRGÃOS DE <i>Jatropha curcas</i> L.	
	RESUMO	43
	ABSTRACT	43
	1. INTRODUÇÃO	43
	2. MATERIAL E MÉTODOS	45
	3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
	3.1 Indicadores de crescimento	47
	3.2 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas	49
	3.3 Indicadores iônicos	51
	4. CONCLUSÃO	58
	5. REFERÊNCIAS	59
Cap III	O INCREMENTO DE K⁺ NA SOLUÇÃO SALINA CONTRIBUI PARA A OSMORREGULAÇÃO EM DIFERENTES ÓRGÃOS DE <i>Jatropha curcas</i> L. POR MEIO DO ACÚMULO DE SOLUTOS ORGÂNICOS: ESTRATÉGIA MODULADA PELA DOSE E TEMPO DE EXPOSIÇÃO.	

	RESUMO	66
	ABSTRACT	66
	1. INTRODUÇÃO	67
	2. MATERIAL E MÉTODOS	69
	3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
	3.1 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas	71
	3.2 Ajustamento osmótico por compostos nitrogenados	73
	3.3 Ajustamento osmótico por carboidratos	78
	4. CONCLUSÃO	85
	5. REFERÊNCIAS	85
Cap IV	SUPLEMENTAÇÃO COM CÁLCIO AUXILIA O BALANÇO IÔNICO DE <i>Jatropha curcas</i> L. SUBMETIDAS A CONCENTRAÇÕES DE NaCl E MINIMIZA OS EFEITOS TÓXICOS DO SÓDIO	
	RESUMO	93
	ABSTRACT	93
	1. INTRODUÇÃO	93
	2. MATERIAL E MÉTODOS	95
	3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
	3.1 Indicadores de crescimento	97
	3.2 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas	99
	3.3 Indicadores iônicos	103
	4. CONCLUSÃO	109
	5. REFERÊNCIAS	109
Cap V	A SUPLEMENTAÇÃO COM CÁLCIO AUXILIA O AJUSTAMENTO OSMÓTICO DE <i>Jatropha curcas</i> L. SUBMETIDAS A CONDIÇÕES SALINAS	
	RESUMO	115
	ABSTRACT	115
	1. INTRODUÇÃO	116
	2. MATERIAL E MÉTODOS	118
	3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	120
	3.1 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas	120
	3.2 Ajustamento osmótico por compostos nitrogenados	124
	3.3 Ajustamento osmótico por carboidratos	130
	4. CONCLUSÃO	136
	5. REFERÊNCIAS	137
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	144

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

CAPÍTULO I

INFORMAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO GERAL

A seca e a salinidade são estresses abióticos com grande impacto no desenvolvimento das plantas, causando graves perdas no rendimento agrícola de inúmeras espécies (HA et al., 2014). Aproximadamente 7% da área terrestre total e 20% das terras agrícolas irrigadas são afetadas pela salinidade do solo que impõe maiores restrições para a sustentabilidade produtiva das culturas (AGARWAL et al., 2013). Neste cenário, a previsão é que a taxa de salinidade do solo aumente entre 20 e 25% e o crescimento agrícola reduza entre 10 a 15% em um futuro próximo (MIZYED, 2009; MISRA, 2011).

A presença de sais reduz o potencial osmótico da água, tornando mais difícil a absorção deste fluido por parte do sistema radicular das plantas, além de provocar perturbações na homeostase iônica e osmótica, gerando estresse oxidativo, prejuízos à fotossíntese e alteração no metabolismo do vegetal (ZHANG et al., 2011). Os principais íons salinos (Na^+ e Cl^-) afetam a absorção de nutrientes através da interação competitiva com o cálcio e o potássio, por exemplo, ou ainda, desestabilizam a estrutura e prejudicam a seletividade das membranas, pois elevados níveis de Na^+ frequentemente induzem a deficiência de íons importantes para a manutenção do metabolismo vegetal, como o Ca^{2+} e o K^+ (SILVA et al., 2015). Nestas condições, a composição mineral dos vegetais é alterada e o principal motivo é a interação entre os íons na rizosfera, o que interfere diretamente e principalmente nas relações $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ e Na^+/K^+ por meio da competição entre estes solutos (NING et al., 2015).

Para que a planta contorne os efeitos da salinidade e minimize a atuação dos componentes osmóticos e iônicos, mecanismos que garantam o aporte hídrico dos tecidos, aloquem e/ou acumulem o sódio nos vacúolos ou até mesmo que estimulem a exclusão de Na^+ do ambiente citosólico, são ferramentas de grande importância para garantir a tolerância ao estresse salino de algumas espécies (RENAULT et al., 2010).

Nas células expostas a ambientes salinos, o acúmulo de compostos orgânicos age como osmólitos citoplasmáticos, facilitando a absorção e retenção de água nos tecidos e ainda, protegendo e estabilizando macromoléculas (ex. proteínas) e estruturas celulares como membranas e cloroplastos (ZRIG et al., 2015). Além disto, o controle preciso do acúmulo seletivo de K^+ e Ca^{2+} em detrimento ao Na^+ nos tecidos vegetais torna-se também uma tarefa essencial para manter a homeostase celular na presença de altas concentrações de sais e alta osmolaridade externa (HAMAMOTO et al., 2015).

Algumas espécies apresentam mecanismos eficientes de controle da homeostase hídrica e iônica quando estão expostas a condições de salinidade, uma delas é *Jatropha curcas* L. (RODRIGUES et al., 2013; SILVA et al., 2015). *Jatropha curcas* L. é uma Euphorbiaceae promissora para a produção de biodiesel devido ao seu rápido crescimento, fácil propagação, baixo custo e alto teor de óleo em suas sementes (~40-60%) e ainda, por apresentar adaptabilidade a condições agroclimáticas adversas de salinidade e seca em terras marginais (YANG et al., 2009; ALENCAR et al., 2015), comuns em zonas áridas e semiáridas de regiões tropicais e subtropicais do Brasil (LAVIOLA et al., 2013). Contudo, a espécie encontra-se em fase de domesticação, e ainda não há cultivares e sistemas de cultivo validados, sobretudo em áreas salinizadas.

Neste sentido, pesquisas que possam ser aplicadas objetivando uma melhor compreensão dos complexos mecanismos adaptativos utilizados pelas plantas para combater os diferentes tipos de estresses abióticos são de extrema importância (PENG et al., 2009). Adicionalmente, a seleção de genótipos desta espécie baseou-se, sobretudo, em estudos da qualidade do óleo extraído de suas sementes (SAPETA et al., 2013), ao invés de estudos utilizando indicadores fisiológicos e bioquímicos relacionados à homeostase hídrica e/ou iônica. Estudos sobre a fisiologia desta espécie são de fundamental importância, pois podem apoiar programas de melhoramento genético, auxiliar a seleção de genótipos superiores e melhorar o manejo da cultura, garantindo formas econômicas e mais viáveis de aumentar a produtividade agrícola em regiões áridas e semiáridas.

Assim, dada à importância da *Jatropha curcas* L. para a produção de biocombustíveis e dos efeitos negativos do estresse salino na homeostase hídrica e iônica da espécie, este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho da planta quanto à resposta aos incrementos tanto de K^+ quanto de Ca^{2+} à solução salina. Para elucidar a ação destes dois solutos na mitigação dos efeitos osmóticos e iônicos da salinidade, foram estudadas as relações destes íons com o sódio e a síntese de osmólitos compatíveis e as suas consequentes relações com o crescimento, *status* hídrico e a manutenção da integridade das membranas celulares de *Jatropha curcas*. Espera-se identificar neste estudo se os incrementos de K^+ e Ca^{2+} na solução salina contribuem para a homeostase iônica e a osmorregulação em diferentes órgãos de *J. curcas*, por meio das relações entre K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ e acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos, identificando quais destes solutos contribuem de maneira mais efetiva para minimizar os efeitos deletérios do sal na espécie e se há modulação da resposta em função do tempo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O pinhão-manso como oleaginosa promissora

Pertencente à família das Euforbiáceas, o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), é um arbusto grande, de crescimento rápido, cuja altura varia frequentemente de dois a três metros, podendo alcançar até cinco metros (SATURNINO et al., 2005). A semente do pinhão-manso pesa de 0,48 a 0,72g e fornece de 50 a 52% de óleo extraído com solventes e 32 a 35% em caso de extração por trituração e aquecimento da amêndoa (LAVIOLA et al., 2013).

A espécie pode ser encontrada em quase todas as regiões intertropicais do planeta, estendendo sua ocorrência à América Central, Índia e Filipinas (ANDRÉO-SOUZA et al. 2010). No Brasil, é encontrado principalmente na região Nordeste, com distribuição vasta devido à sua rusticidade e fácil adaptação a diferentes condições edafoclimáticas, pois são consideradas resistentes à seca e se desenvolvem em vários tipos de solo, inclusive salino-sódicos, os quais restringem o pleno desenvolvimento do vegetal (ANDRÉO-SOUZA et al. 2010).

O interesse no conhecimento agrônômico da cultura é cada vez maior, visando à seleção e o aprimoramento de variedades mais produtivas e economicamente viáveis, principalmente devido ao alto potencial na produção de óleo para fabricar o biodiesel, que produz, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectare (CARNIELLI, 2003; NUNES, 2007). Com a possibilidade do uso do óleo do pinhão-manso para a produção do biodiesel, abrem-se amplas perspectivas para o crescimento das áreas de plantio com esta cultura no semiárido nordestino, pois além do seu uso para o biodiesel esta espécie auxilia no controle da erosão e recupera áreas degradadas (ARRUDA et al., 2004; JONGSCHAAP et al., 2007).

2.2 O cenário do biodiesel no Brasil

O Brasil destaca-se como um dos principais países exportadores de tecnologia e de matéria-prima para outras nações e assume a vanguarda do conhecimento e desenvolvimento tecnológico referente aos biocombustíveis (BRASIL, 2011). O incentivo à descoberta e ao desenvolvimento de fontes alternativas de energia, principalmente aquelas não derivadas de combustíveis fósseis, aumentam consideravelmente a prospecção por novas fontes sustentáveis e abrem enormes lacunas para o uso de derivados vegetais. A utilização da fitomassa como biocombustível consiste em uma fonte promissora de energia, pois são

renováveis e causam, portanto, menos danos ao meio ambiente (CORDEIRO E RAMOS, 2010).

Neste cenário, pesquisas referentes ao desenvolvimento e produção de biodiesel tem se intensificado tanto no Brasil como no mundo. O sucesso da implantação destes combustíveis no mercado depende, no entanto, da expansão das fronteiras agrícolas e do aumento da produtividade das lavouras, além do desenvolvimento de tecnologias que aumentem a eficiência da produção, do transporte e do uso destes combustíveis (SILVA et al, 2005).

Dentre as vantagens do uso do biodiesel, como o provável substituto do diesel, podemos destacar: (i) fonte de energia renovável; (ii) sua combustão não contribui para a emissão de CO₂; (iii) e produção total mais barata do que o petróleo (CARVALHO et al., 2012). No Brasil diversos tipos de oleaginosas podem ser utilizadas na produção de biodiesel. As mais populares são a soja, o girassol, algodão, dendê, amendoim e a mamona, além do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) (ARRUDA et al., 2004). Este último é uma espécie exótica, que não foi completamente domesticada e somente nas últimas décadas começou a ter alguns aspectos pesquisados (SATO et al., 2009; MATSUURA et al., 2010).

2.3 A seca e a salinização dos solos do Nordeste Brasileiro

Apesar de o Brasil apresentar um grande potencial para a produção de espécies que podem ser utilizadas na produção do biodiesel, como é o caso das oleaginosas, o país vem perdendo constantemente áreas consideradas agricultáveis (DANTAS et al., 2006). Na região Nordeste do Brasil, por exemplo, de aproximadamente 1.600.000 km² de terras, cerca de 90% são caracterizados como insuficientes em água, constituindo o chamado “polígono das secas”, onde 88,6% do território do Rio Grande do Norte está inserido (DANTAS et al., 2002).

Na região Nordeste do Brasil, onde a viabilidade de diversificação de cultivo agrícola é escassa, o mercado emergente de biodiesel pode auxiliar no desenvolvimento do setor agrícola local. Esta região do país possui imensa diversidade de plantas oleaginosas que na sua maioria ainda precisam ser estudadas, exploradas e, em alguns casos, domesticadas e preservadas (BELTRÃO E OLIVEIRA, 2007). Apesar disto, devido à aridez da região, a agricultura irrigada vem se expandindo e com ela, a salinidade dos solos vem crescendo e ocupando áreas cada vez mais extensas. A irrigação má conduzida com água contendo altos teores de sais, além da ausência de sistemas de drenagem, capazes de retirar o excesso de sais no solo, contribuem para o aumento da concentração dos sais atingindo níveis prejudiciais ao desenvolvimento das culturas (RIBEIRO, 2010).

O agravamento da salinização nos solos do nordeste, devido ao crescimento de áreas utilizadas com culturas irrigadas, pode ser reduzido ou controlado através de práticas de manejo que sejam capazes de reduzir a salinidade do solo, ou através da seleção de genótipos tolerantes às condições edafoclimáticas da região. Como o primeiro procedimento é dispendioso, demorado e, às vezes, impraticável, a segunda opção apresenta-se como a alternativa mais promissora (DANTAS et al., 2002).

2.4 Efeitos da seca e salinidade sobre as plantas

Os efeitos da seca e da salinidade sobre as plantas tem sido foco de pesquisas nos últimos 100 anos, em virtude dos dois processos, atuando de forma conjunta ou dissociada, inibirem o crescimento dos vegetais em diversas áreas do globo (MAEVSKAYA & NIKOLAEVA, 2013).

Para a maioria das plantas, o déficit hídrico afeta a absorção de água e nutrientes, a germinação da semente, o fechamento e abertura dos estômatos, a atividade fotossintética, a transpiração, a atividade enzimática e vários outros processos fisiológicos e metabólicos (FLEXAS et al., 2007). O efeito desse estresse na planta é caracterizado pelo componente osmótico, e um dos primeiros sintomas da falta de água nos tecidos vegetais é a perda de turgor, com consequente redução do crescimento e expansão celular (MUNNS E TESTER, 2008). Já no estresse salino, além do componente osmótico, causado por uma diminuição no potencial hídrico do solo, o componente iônico, gerado pela absorção e acumulação de íons como Na^+ e Cl^- nos diferentes órgãos da planta, ocasionam distúrbios em relação ao balanço iônico e também promovem distúrbios na síntese e atividades de proteínas, sobretudo enzimas, e provocam danos aos sistemas de membranas (NAVARRO, 2007).

Em ambos os estresses, as modificações mais representativas estão relacionadas à diminuição da síntese proteica e o aumento da concentração de aminoácidos livres (especialmente a prolina e a glicina betaína), poliaminas, açúcares, dentre outros; estando todas essas modificações associadas a atividades enzimáticas (ZHU et al., 2003).

Entretanto, o grau com que cada um destes agentes estressores afeta o crescimento e desenvolvimento da planta dependem de fatores intrínsecos do vegetal (genótipo e estágio de desenvolvimento), além de fatores relacionados com o estresse (tipo de salinidade, intensidade, duração e forma de aplicação do estresse) e fatores ambientais (luz, temperatura, umidade relativa do ar e sistema de cultivo), bem como da interação entre eles (DÍAZ-LÓPEZ, 2014).

2.5 O ajustamento osmótico nas plantas

Dentre os mecanismos utilizados pelas plantas para contornar os efeitos dos estresses, aqueles que envolvem o ajustamento osmótico e a exclusão ou compartimentalização dos íons tóxicos, constituem ferramentas para garantir o balanço homeostático dos tecidos vegetais, mantendo a sobrevivência da planta como um todo (SILVEIRA et al., 2010).

O ajustamento osmótico é caracterizado como o aumento líquido na concentração de solutos na célula. Esses incrementos ocorrem graças ao aumento na síntese de solutos orgânicos, mobilização desses solutos de outros tecidos e aumento na absorção e/ou migração de outros tecidos de solutos inorgânicos, especialmente K^+ e principalmente dos próprios íons salinos. Esse mecanismo permite a redução no potencial osmótico e aumento no potencial de turgescência da célula, facilitando a absorção de água e a manutenção do crescimento celular (WILLADINO E CAMARA, 2010).

Em halófitas, muitas vezes, a tolerância à salinidade correlaciona-se positivamente com a concentração de Na^+ e, quando relacionada com elevadas concentrações citoplasmáticas de K^+ , favorece o ajuste osmótico da planta em relação ao ambiente. Além de acumular K^+ , halófitas e glicófitas sintetizam solutos orgânicos no citoplasma para fazer frente ao baixo potencial osmótico do vacúolo, devido ao excesso de sais (WILLADINO E CAMARA, 2010). Dentre os solutos orgânicos compatíveis mais conhecidos na literatura destacam-se os açúcares solúveis, álcoois de açúcares, compostos quaternários de amônio (ex. glicina-betaína), aminoácidos livres (ex. prolina) e ácidos orgânicos (ASHRAF & HARRIS, 2004; MUNNS, 2005).

Uma das mais bem estudadas respostas das plantas ao déficit hídrico é a acumulação de prolina nas células. A acumulação desse aminoácido é resultado do aumento no fluxo de glutamato, que é metabolizado pela Pirrolina-5-Carboxilato Sintetase (P5CS), enzima que regula a taxa de biossíntese de prolina (HARE E CRESS, 1997), bem como de um decréscimo no catabolismo da prolina (STRIZHOV et al., 1997). Um decréscimo no potencial osmótico da célula leva a um aumento na síntese de Pirrolina-5-Carboxilato (P5C), composto predecessor à Prolina e, conseqüentemente, a um aumento na síntese de Prolina. A acumulação de prolina em células vegetais submetidas a estresse hídrico tem sido sugerida como um mecanismo de ajuste osmótico (DELAUNEY E VERMA, 1993).

2.6 A importância do potássio e do cálcio no ajuste osmótico

O potássio desempenha um papel fundamental na capacidade do ajustamento osmótico, mesmo sob condições de estresse (MARSCHNER, 2012). Concentrações adequadas de K^+ induzem o acúmulo de solutos compatíveis, diminuem o potencial osmótico, mantém a pressão de turgescência e o conteúdo relativo água, auxiliando no ajustamento osmótico e melhora a capacidade das plantas de tolerar tanto o estresse hídrico quanto o salino (PRADO et al., 2006).

Durante o estresse, o rápido fechamento dos estômatos e a preservação da umidade interna são essenciais para a adaptação das plantas. Neste sentido, o K^+ desempenha um papel crucial na regulação da turgescência dentro das células guarda durante o movimento estomático, controlando a perda de água pelas plantas através da transpiração (MARSCHNER, 2012). Deficiência nos níveis de K^+ , observada sob o estresse salino, por exemplo, podem induzir o fechamento estomático e inibir a fotossíntese em diferentes espécies (JIN et al., 2011; TSONEV et al., 2011). Altos níveis de sódio na solução do solo, não só interfere na translocação do K^+ pelas raízes (BOTELLA et. al., 1997), mas também compete com K^+ por locais de absorção na membrana plasmática, resultando em menor absorção de K^+ . Assim, o estresse salino reduz a integridade da membrana plasmática e favorece o efluxo de K^+ , resultando em um rápido declínio nas concentrações de K^+ do citosol (COSKUN et al, 2010).

O aumento da oferta de K^+ promove um maior acúmulo deste íon nos tecidos da planta, reduzindo a concentração de Na^+ , e resultando no aumento dos valores reais da relação K^+/Na^+ (MIAN et al., 2011). De maneira geral, não é a quantidade absoluta de Na^+ que influencia na resistência ao sal, mas sim a relação K^+/Na^+ que determina a tolerância ao sal do vegetal (SHABALA & POTTOSIN, 2010). Níveis adequados de K^+ melhoram a resistência da planta por meio das relações hídricas e garantem o crescimento do vegetal em condições salinas (EGILLA et al., 2005).

Da mesma maneira, os efeitos da suplementação com cálcio a ambientes salinos são amplamente relatados e estão associados à mitigação dos sintomas da toxicidade pelo sódio em várias espécies de plantas (SHORESH et al., 2011). O cálcio desempenha um papel essencial nos processos que preservam a integridade estrutural e funcional das membranas celulares dos vegetais, atuando na estabilização da parede celular, auxiliando o transporte e seletividade de íons, e ainda, regulando algumas atividades enzimáticas ou atuando na transdução de sinal (SUN et al., 2010).

Apesar da atuação do Ca^{2+} na mitigação dos danos à salinidade ainda não serem completamente compreendidos, estudos recentes sugerem alguns mecanismos de atuação, como por exemplo, a importante função do cálcio em suprimir diretamente a importação de sódio por canais de cátions não seletivos (RANADE-MALVI, 2011), e ainda, a sua atuação como cofator de enzimas da família SOS (*salt overly sensitive*), responsável pelo mecanismo de exclusão de Na^+ através de proteínas antiportadoras, localizadas na membrana plasmática (HASEGAWA, 2013).

2.7 Prospecção futura

Apesar da grande demanda por informações sobre o pinhão-manso, os trabalhos de pesquisa se encontram em fase inicial. Ainda não há material selecionado, sistema de produção e zoneamento agrícola definidos. Pouco se sabe do real potencial da planta. Assim, existe uma importante demanda por pesquisas na área da tecnologia de cultivo, sobretudo àquelas que garantam a domesticação e o melhoramento genético da espécie, para que assim seja possível apresentar níveis econômicos aceitáveis de produção de óleo de suas sementes em condições edafoclimáticas típicas do semiárido.

De maneira geral, o problema da salinidade e/ou déficit hídrico poderão ser amenizados através da seleção de genótipos tolerantes aos sais e a seca, baseados em critérios fisiológicos e bioquímicos. No entanto, apesar dos avanços da engenharia genética e de existência da variabilidade genética entre e dentre espécies e/ou cultivares, ainda não existe exemplares suficientes de cultivares de *Jatropha curcas* L. tolerantes a esses dois estresses.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa caracterizou a espécie através de mecanismos fisiológicos, morfológicos e bioquímicos. Ficou evidenciado, através dos resultados obtidos, que a *Jatropha curcas* L. utiliza-se fundamentalmente de mecanismos que evitam a perda de água e que os osmólitos compatíveis apresentam importante participação na osmorregulação dos diferentes tecidos vegetais. Contudo, pouco se sabe sobre a contribuição da suplementação de potássio e cálcio na minimização dos efeitos da salinidade ou ainda dos reais efeitos na variação dos níveis de osmólitos. Ainda, não está claro se alterações metabólicas dos osmoprotetores ocorrem em função dos estresses aos quais as plantas foram submetidas ou se as respostas obtidas são simplesmente uma consequência de distúrbios metabólicos. Neste sentido a compreensão destes mecanismos é de grande relevância para uma caracterização precisa da espécie em condições de salinidade.

3. HIPÓTESES

- a) Os efeitos da salinidade são mitigados por adaptações fisiológicas e bioquímicas em plantas de *Jatropha curcas* L.
- b) A suplementação de potássio e/ou cálcio na solução salina auxiliam na regulação da homeostase hídrica e iônica de plantas de *Jatropha curcas* L.

4. OBJETIVO GERAL

Caracterizar as respostas fisiológicas e bioquímicas de *J. curcas* em presença de NaCl e da suplementação de K^+ e Ca^{2+} às soluções salinas por meio das relações entre o K^+ e o Ca^{2+} com o Na^+ e da contribuição dos osmorreguladores na mitigação dos efeitos da salinidade nos diferentes órgãos de *J. curcas*.

4.1 Objetivos específicos

- a) Verificar a ação do NaCl no crescimento, *status* hídrico, integridade das membranas, balanço iônico e ajustamento osmótico de diferentes órgãos de *J. curcas*.
- b) Analisar a contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico e na homeostase iônica de folhas, caule e raízes de *J. curcas* submetidas a diferentes concentrações de NaCl.
- c) Determinar quais solutos orgânicos e inorgânicos participam nos processos de ajustamento osmótico e regulação da homeostase iônica dos diferentes órgãos de *J. curcas*.
- d) Verificar se a suplementação com K^+ e Ca^{2+} mitigam os efeitos osmóticos e iônicos da salinidade nos diferentes órgãos de *J. curcas* através do ajustamento osmótico e das relações K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ .
- e) Avaliar a modulação das respostas de *J. curcas* submetidas às soluções salinas suplementadas ou não com K^+ e Ca^{2+} de acordo com a dose e o tempo de exposição.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi dividido em quatro capítulos. O primeiro estudo verificou-se que alterações na homeostase iônica provocadas pelo NaCl são minimizadas pelo incremento de potássio em diferentes órgãos de *Jatropha curcas* L. No segundo, testamos a hipótese de que o incremento de K^+ na solução salina contribui para a osmorregulação em diferentes órgãos de *J. curcas* por meio do acúmulo de solutos orgânicos e se tal estratégia é modulada pelo

tempo de exposição. No terceiro, avaliou-se se a suplementação com o cálcio auxilia o balanço iônico de *J. curcas* submetidas a concentrações de NaCl e minimiza os efeitos tóxicos do sódio. No quarto capítulo, identificou-se que a suplementação com cálcio auxilia o ajustamento osmótico de *J. curcas* submetidas a condições salinas.

5.1 Caracterização da área experimental.

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal localizado no Departamento de Biologia Celular e Genética do Centro de Biociências, na Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal/RN (5°47' de latitude ao sul; 35°12' de longitude a oeste e altitude de 30,9 m).

5.2 Material vegetal e condições experimentais.

Plantas de *J. curcas* (acesso CNPAPM-XVIII) foram obtidas a partir da germinação em sistema de rolos de papel toalha do tipo Germitest® (BRASIL, 2009), o qual foram humedecidos com água destilada (1,5 vezes o peso do papel) e mantidos em sala de crescimento no escuro, a 27 °C. Oito dias após a germinação, as plantas foram transferidas para recipientes contendo 0,8 L de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), com ½ de força e pH ajustado para 6,0. As plantas foram cultivadas em sistema hidropônico sob aeração constante com bombas de aquarofilia, para manter a oxigenação do sistema radicular, iluminação natural, temperatura 30/25 °C (dia/noite), umidade relativa (UR) de 75%.

A solução nutritiva foi completada diariamente para compensar a perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para reposição dos macro e micronutrientes, e o pH foi ajustado (pH 6,0±0,5) a cada 2 dias com NaOH (1M) o HCl (1M). As plantas permaneceram nestas condições por 30 dias, para aclimação.

Após este período, as plantas com cinco folhas completamente expandidas foram selecionadas e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução nutritiva. A esta solução foram acrescidos ou não os tratamentos salinos: Controle (C); 75 (Sal1) e 150 mM (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 9 mM de potássio e 6 mM de cálcio, na forma de K₂SO₄ e Ca₂SO₄, respectivamente, duplicando-se suas concentrações na solução nutritiva, correspondendo aos tratamentos: 75 mM de NaCl + 9 mM de K⁺ (Sal1 + K⁺) e 150 mM de NaCl + 9 mM de K⁺ (Sal2 + K⁺); 75 mM de NaCl + 6 mM de Ca²⁺ (Sal1 + Ca²⁺) e 150 mM de NaCl + 6 mM de Ca²⁺ (Sal2 + Ca²⁺), conforme a Tabela 1.

Tabela 1: Concentrações salinas e suplemento de cálcio (Ca^{2+}) e potássio (K^+) para o cultivo hidropônico das plantas de *Jatropha curcas* em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950).

Tratamentos	Concentrações de NaCl (mM)	Ca^{2+} (mM)	K^+ (mM)
Controle (C)	0	0	0
Sal1	75	0	0
Sal2	150	0	0
Sal1 + K^+	75	0	9
Sal2 + K^+	150	0	9
Sal1 + Ca^{2+}	75	6	0
Sal2 + Ca^{2+}	150	6	0

O incremento das concentrações de NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50 mM por dia até atingir a concentração final pretendida, para evitar o choque osmótico. Após 24 e 240 horas de exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes foram coletados e analisados.

O material vegetal foi avaliado quanto a indicadores de crescimento vegetal; *status* hídrico da planta; integridade das membranas celulares, indicadores de estresse iônico e indicadores de ajustamento osmótico em todos os tratamentos.

5.3 Indicadores de crescimento.

Para a avaliação dos indicadores de crescimento, utilizou-se metodologias não destrutivas expressas por equações matemáticas conforme recomendação de Silva et al. (2000). A taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) foi calculada através da equação: $\text{TCRC} = (\ln L_2 - \ln L_1) / (t_2 - t_1) [\text{cm} \cdot (\text{cm} \cdot \text{dia})^{-1}]$, onde: L_1 corresponde a medida da altura da planta no tempo inicial t_1 e L_2 a altura da planta no tempo final t_2 . A taxa de crescimento relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) foi calculada através da equação: $\text{TCRFFE} = (\ln L_2 \cdot C_2^2 - \ln L_1 \cdot C_1^2) / (t_2 - t_1) [\text{cm}^3 \cdot \text{dia}^{-1}]$, onde: L_1 corresponde a medida da altura da planta no tempo inicial t_1 , L_2 a altura da planta no tempo final t_2 ; C_1 corresponde ao diâmetro caulinar no tempo t_1 e C_2 ao diâmetro caulinar no tempo t_2 .

5.4 Conteúdo relativo de água.

Para aferir o estado hídrico dos diferentes órgãos da planta, a determinação do conteúdo relativo de água (CRA) foi realizada segundo Irigoyen et al. (1992) utilizando a equação: $\text{CRA} = (\text{MF} - \text{MS} / \text{MT} - \text{MS}) \times 100$; onde os tecidos vegetais de cada plântula foram pesados para obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, embebidos em água

deionizada sob temperatura ambiente de 25 ± 5 °C durante seis horas para obtenção da massa túrgida (MT). A massa seca (MS) foi obtida pela desidratação da MT por 72 h a 75 °C.

5.5 Vazamento de eletrólitos.

A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times 100$, onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do frasco, realizada após 6 horas e L_2 representa a segunda leitura da CE realizada após o aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

5.6 Determinação dos solutos inorgânicos.

Os indicadores de estresse iônico foram representados pelas concentrações do íon salino sódio (Na^+) e das concentrações de potássio (K^+) e cálcio (Ca^{2+}). As extrações de Na^+ , K^+ e Ca^{2+} foram realizadas de acordo com Silva et al. (2009) e a leitura das concentrações foram realizadas em fotômetro de chama (Micronal B462). As concentrações de Na^+ , K^+ e Ca^{2+} foram determinadas com base em curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de cálcio, respectivamente. A relação K^+/Na^+ foi determinada segundo Maathuis e Amtmann (1999) e a relação Ca^{2+}/Na^+ foi determinada segundo Wyn Jones (1981), onde valores superiores a 1,0, em ambas as relações, sugerem um nível mínimo aceitável para o funcionamento normal das plantas sob condições de salinidade, sendo assim, requisitos para a determinação de um possível estresse iônico.

5.7 Determinação dos solutos orgânicos.

Proteínas Solúveis Totais (PST)

Para extração de PST foi utilizado 1g da massa fresca de folhas e raízes das plantas. O material vegetal foi macerado em nitrogênio líquido com o auxílio de gral e pistilo. Em seguida, foram adicionados 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 + EDTA 1 mM. O extrato foi então colocado em *ependorfs* e centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos em centrífuga refrigerada. Por fim, o precipitado foi descartado e o sobrenadante foi armazenado em *freezer* a -80 °C. A concentração de PST foi determinada segundo a metodologia de Bradford (1976). Alíquotas das amostras de raízes e das folhas foram colocadas em tubos de ensaio de vidro, acrescidos do reagente de Bradford. A proporção de

volume para a quantificação foi de 100 µL do extrato + 2,5 mL do reagente de Bradford. Em seguida a solução foi agitada manualmente e delicadamente para evitar a desnaturação de proteínas e realizou-se leitura em espectrofotômetro a 595 nm de absorbância.

Aminoácidos Livres Totais (AALT)

O extrato foi obtido a partir da massa seca de folhas, caules e raízes das plantas, utilizando 50 mg da massa seca para 5 mL de água destilada, em tubos hermeticamente fechados e aquecidos em banho-maria a 100 °C por 1 hora. A solução líquida restante no frasco foi filtrada e armazenada a -20°C em *freezer* para posterior dosagem de osmorreguladores. A concentração de AALT foi determinada segundo o método descrito por Peoples et al. (1989) com algumas modificações. Aliquotas de 100 µL do extrato foram colocadas em tubos de ensaio acrescidas de 400 µL de água destilada. Em seguida foram adicionados 250 µL de solução de Tampão Citrato a 200 mM (pH = 5,0) e 250 µL de reagente de ninhidrina (0,1 mmol L⁻¹ de KCN e 5% de ninhidrina em methoxy etanol). Os tubos foram hermeticamente fechados, agitados em vórtex e levados ao banho-maria a 100°C por 15 minutos. Logo após, a reação da solução foi interrompida imediatamente com banho de gelo. Por fim, foram adicionados à solução 1,5 mL de Etanol a 50% (v/v). Após nova agitação em vórtex, os tubos permaneceram por 20 minutos em temperatura ambiente para posterior leitura em espectrofotômetro a 570 nm de absorbância.

Prolina (PRO)

O extrato foi obtido a partir da massa seca de folhas e raízes das plantas, utilizando 50 mg da massa seca para 5 mL de água destilada, em tubos hermeticamente fechados e aquecidos em banho-maria a 100 °C por 1 hora. A solução líquida restante no frasco foi filtrada e armazenada a -20°C em *freezer* para posterior dosagem de osmorreguladores. A concentração de Prolina foi determinada segundo metodologia descrita por Bates (1973). Em tubos de ensaio foram colocadas alíquotas de 1 mL do extrato obtido e adicionado 1 mL do reagente de ninhidrina ácida (1 g de ninhidrina + 24 mL de ácido acético glacial 98% + 16 mL ácido fosfórico 6 M), mais 1 mL de ácido acético glacial (98%). Após homogeneização os tubos foram hermeticamente fechados, agitados em vórtex e levados ao banho-maria por 1 hora a 100°C. Logo após, a reação foi interrompida imediatamente com banho de gelo. Em seguida, foram adicionados à solução 2 mL de Tolueno (97%) e os tubos foram agitados em vórtex por 20 segundos. Após estabilização, duas fases foram formadas, sendo a fase aquosa

superior formada pelo Tolueno + Cromóforo de coloração avermelhada. Esta foi recuperada e submetida à leitura em espectrofotômetro a 520 nm de absorbância.

Açúcares Solúveis Totais (AST)

O extrato foi obtido a partir da massa seca de folhas, caules e raízes das plantas, utilizando 50 mg da massa seca para 5 mL de etanol 80% (v/v), em tubos hermeticamente fechados e aquecidos em banho-maria a 60 °C por 30 min. Após a coleta dos sobrenadantes, os resíduos foram re-extraídos com 5 mL de etanol 80% (v/v) sob as mesmas condições. Os sobrenadantes foram reunidos em tubos do tipo Falcon com capacidade para 15 mL, perfazendo 10 mL de extrato total por amostra. Os resíduos foram utilizados para a extração e a determinação do amido.

A concentração de AST foi realizada pelo método de “fenol-sulfúrico” descrito por Dubois et al. (1956). Alíquotas de 100 µL da amostra foram adicionadas a tubos de ensaio, completados com 400 µL de água destilada, acrescido de 500 µL de Fenol a 5% e agitados em vórtex. Para iniciar a reação, foi adicionado de uma única vez e no centro do tubo, 2500 µL de H₂SO₄ concentrado. Logo após, os tubos foram agitados em vórtex, para usar o calor da reação para uma melhor homogeneização. Posteriormente os tubos permaneceram por 20 minutos em temperatura ambiente para leitura em espectrofotômetro a 490 nm de absorbância.

Açúcares Não Redutores (ANR) e Redutores (AR)

A dosagem de ANR foi realizada com base no método proposto por Van Handel (1968), com algumas modificações, utilizando o reagente de antrona (MORRIS, 1948; YEMM E WILLIS, 1954). Para cada determinação, 100 µL da amostra, 800 µL de dH₂O e 100 µL de KOH 30% (m/v) foram pré-incubados a 100 °C durante 10 min. Após resfriamento em temperatura ambiente, 2,5 mL do reagente de antrona foram adicionados em cada amostra. A leitura foi realizada a 620 nm e o conteúdo de ANR foi calculado utilizando sacarose como padrão, sendo expresso em µmol·g⁻¹ MS.

Para estimar os açúcares redutores (AR) foi utilizada a equação matemática: AR = AST – ANR, expressos em mg . g⁻¹ de massa seca (SOUSA et al., 2012).

Amido

O amido foi extraído a partir dos resíduos sólidos do material vegetal, obtidos após a extração alcoólica dos açúcares solúveis. Estes resíduos foram macerados com 1,5 mL de HClO₄ 30% (v/v). Após centrifugação a 10.000 xg por 10 min, os sobrenadantes foram coletados e os precipitados foram re-extraídos com 1 mL de HClO₄ 30 % (v/v) por mais duas vezes. Ao final, os sobrenadantes foram reunidos, perfazendo 3,5 mL de extrato total por amostra.

A quantificação do amido foi realizada utilizando o reagente de antrona (MORRIS, 1948; YEMM E WILLIS, 1954). Para cada determinação, foram adicionados 100 µL de amostra, 900 µL de dH₂O e 2,5 mL do reagente de antrona. A leitura foi conduzida a 620 nm e o conteúdo de amido foi calculado de acordo com uma curva padrão de D-glicose. Os valores obtidos foram multiplicados pelo fator 0,9 para conversão em amido, segundo McCready et al. (1950), sendo expressos em mg·parte⁻¹.

5.8 Delineamento experimental e análise estatística.

O delineamento experimental foi dividido em dois experimentos onde; o primeiro correspondeu ao estudo do efeito da suplementação do potássio à solução salina (capítulos I e II) e o segundo, correspondeu ao efeito da suplementação do cálcio à solução salina (capítulos III e IV). Em ambos os estudos, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com esquema 5x3.

Para o experimento envolvendo a suplementação com potássio, o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com K⁺ (C; Sal1; Sal2; Sal1 + K⁺; Sal2 + K⁺) e três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo um total de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

Já para o experimento envolvendo a suplementação com cálcio, o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com Ca²⁺ (C; Sal1; Sal2; Sal1 + Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺) e três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo um total de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t-Student, que comparou os efeitos dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$ de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

6. REFERÊNCIAS

- AGARWAL, P. K.; SHUKLA, P. S.; GUPTA, K.; JHA, B. Bioengineering for Salinity Tolerance in Plants: State of the Art. **Molecular Biotechnology**, v. 54, p. 102–123, 2013.
- ALENCAR, N. L. M.; GADELHA, C. G.; GALLÃO, M. I.; DOLDER, M. A. H.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Ultrastructural and biochemical changes induced by salt stress in *Jatropha curcas* seeds during germination and seedling development. **Functional Plant Biology**, v. 42, p. 865–874, 2015.
- ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A. L.; SILVA, F. F. S.; RIEBEIRO-REIS, R. C.; EVANGELISTA, M. R. V.; CASTRO, R. D.; DANTAS, B. F. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 083-092, 2010.
- ARRUDA, F. P.; BELTRÃO, N. E. M. B.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Olericultura Fibrose**, 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, p. 3-16, 2004.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. Oleaginosa potencial do Nordeste para a produção de biodiesel. Campina Grande – PB. **Documentos** 177, 2007.
- BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
- BOTELLA, M.A.; MARTINEZ, V.; PARDINES, J.; CERDA, A. Salinity induced potassium deficiency in maize plants. **J. Plant Physiol.**, v.150, p.200–205, 1997.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.
- BRASIL. País revoluciona o uso e a produção de biocombustível. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/infraestrutura/2011/12/pais-revoluciona-o-uso-e-a-producao-de-biocombustivel>. Acesso em: Dezembro de 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- CARNIELLI, F. O combustível do futuro. 2003. Disponível em: <https://www.ufmg.br/boletim/bol1413/quarta.shtml>. Acessado em: Dezembro de 2015.

- CARVALHO, H. M.; RIBEIRO, A. B. Biodiesel: Vantagens e desvantagens numa comparação com o diesel convencional. Bolsista de Valor: **Revista de divulgação do Projeto Universidade Petrobras e IF Fluminense**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p. 49-53, 2012.
- CORDEIRO, C. S.; RAMOS, L. P. **Biodiesel in South America**; Knothe, G.; Krah, J.; Gerpen, J.V., eds.; AOCS Press: Lllinois, 2010, cap. 8.3.
- COSKUN, D.; BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Regulation and mechanism of potassium release from barley roots: an in planta $42K^+$ analysis. **New Phytol.**, v.188, p.1028–1038, 2010.
- DANTAS, J. P.; MARINHO, F. J. L.; FERREIRA, M. M. M.; AMORIM, M. DO S. N.; ANDRADE, S. I. DE O.; SALES, A. L. Avaliação de genótipos de feijão-de-corda sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 425-430, 2002.
- DANTAS, J. A. *et al.* Efeito da salinidade sobre o crescimento e composição mineral de seis clones de *Pennisetum*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 01, p. 97-101, 2006.
- DÍAZ-LÓPEZ, L. **Bases fisiológicas y morfológicas de la respuesta de *Jatropha curcas* L. al estrés hídrico y salino**. Tese 127 p. 2014.
- DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, v. 4, p. 215-223, 1993.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- EGILLA, J.N.; DAVIES, F.T.; BOUTTON, T.W. Drought stress influences leaf water content, photosynthesis, and water-use efficiency of hibiscus rosa-sinensis at three potassium concentrations. **Photosynthetica**, v.43, p.135–140, 2005.
- FLEXAS J.; DIAZ-ESPEJO A.; GÁLMÉS J.; KALDENHOFF R.; MEDRANO H.; RIBAS-CARBO M. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO_2 concentration around leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 1284-1298, 2007.
- HA, C. V.; LEYVA-GONZÁLEZ, M. A.; OSAKABED, Y.; TRANA, U. T.; NISHIYAMAA, R.; WATANABEA, Y.; TANAKAE, M.; SEKIE, M.; YAMAGUCHIF, S.; DONGB, N. V.; YAMAGUCHI-SHINOZAKIG, K.; SHINOZAKID, K.; HERRERA-ESTRELLAC, L.; TRAN, L. S. P. Positive regulatory role of strigolactone in plant responses to drought and salt stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 2, p. 851–856, 2014.
- HAMAMOTO, S.; HORIE, T.; HAUSER, F.; DEINLEIN, U.; SCHROEDER, J. I.; UOZUMI, N. HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and function to the field. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 113–120, 2015.
- HARE, P.; CRESS, W. Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 21, p. 79-102, 1997.

- HASEGAWA, P. M. Sodium (Na^+) homeostasis and salt tolerance of plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 92, p. 19–31, 2013.
- HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
- IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfafa (*Medicago sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.
- JIN, S.H.; HUANG, J.Q.; Li, X.Q.; ZHENG, B.S.; WU, J.S.; WANG, Z.J.; LIU, G.H.; CHEN, M. Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll diffusion conductance in *Carya cathayensis*. **Tree Physiol.** v.31, p.1142–1151, 2011.
- JONGSCHAAP, R. E. E.; CORRÉ, W.; BINDRABAN, P. S.; BRANDENBURG, W. A. Claims and Facts on *Jatropha curcas* L., Global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme; Report 158, 42 pages, **Plant Research International Wageningen UR**, 2007.
- LAVIOLA, B. G.; ALVES, A. A.; ROCHA, R. B.; DRUMOND, M. A. The importance of *Jatropha* for Brazil. In: CARELS, N.; SUJATHA, B.; BAHADUR, B. (Ed.). **Jatropha, challenges for a new energy crop. Volume 1: farming, economics and biofuel**. New York: Springer, 2013; p. 71–94.
- MAATHUIS, F. J. M. E AMTMANN, A. K^+ Nutrition and Na^+ Toxicity: The Basis of Cellular K^+/Na^+ Ratios. **Annals of Botany**, v. 84, n. 1, p. 123-133, 1999.
- MAEVSKAYA, S. N.; NIKOLAEVA, M. K. Response of Antioxidant and Osmoprotective Systems of Wheat Seedlings to Drought and Rehydration. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 60, n. 3, p. 343-350, 2013.
- MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**, 3rd ed.; Academic Press: London, p. 178–189, UK, 2012.
- MATSUURA, M. I. S. F.; SILVA, G. A.; KULAY, L. A.; LAVIOLA, B. G. Inventário do Ciclo de Vida do pinhão-mansão destinado à produção de Biodiesel. In: Congresso brasileiro em gestão de ciclo de vida em produtos e serviços, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2010.
- MCCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156–1158, 1950.
- MIAN, A.; OOMEN, R. J.; ISAYENKOV, S.; SENTENAC, H.; MAATHUIS, F. J.; VERY, A. A. Over-expression of an Na^+ and K^+ permeable HKT transporter in barley improves salt tolerance. **Plant Journal**, v. 68, p. 468–479, 2011.
- MISRA, A. K. Impact of Urbanization on the Hydrology of Ganga Basin (India). **Water Mesources Management**, v. 25, p. 705–719, 2011.

- MIZYED, N. Impact of climate change on water resources availability and agricultural water demand in the west bank. **Water Mesources Management**, v. 23, n. 10, p. 2015–2029, 2009.
- MORRIS, D. L. Quantitative determiantion of carbohydrates with Drywood's anthrone reagent. **Science**, v. 107, n. 1, p. 254–255, 1948.
- MUNNS, R. Genes and Salt Tolerance: Bringing Them Together, **New Phytologist**, v. 167, p. 645–663, 2005.
- MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.
- NAVARRO, A.; BAÑON, S.; OLMOS, E; SÁNCHEZ-BLANCO, M. J. Effects of sodium chloride on water potential components, hydraulic conductivity, gas exchange and leaf ultrastructure of *Arbutus unedo* plants. **Plant Science**, v. 172, p. 473-480, 2007.
- NING, J. F.; CUI, L. F.; YANG, S. H.; AI, S. Y.; LI, M. J.; SUN, L. L.; CHEN, Y.; WANG, R. H.; ZENG, Z. B. Basil ionic responses to seawater stress and the identification of gland salt secretion. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 25, n. 1, p. 131-138, 2015.
- NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2007. 78 p. Dissertação (Mestrado em fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- PENG, Z.; WANG, M.; LI, F.; LV, H.; LI, C.; XIA, G. A proteomic study of the response to salinity and drought stress in an introgression strain of bread wheat. **Molecular and Cellular Proteomics**, v. 8, p. 2676–2686, 2009
- PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian International Center of Agricultural Research, 1989. 76p.
- PRADO, R.M. & LEAL, R.M. Desordens nutricionais por deficiência em girassol var. Catissol-01. **Pesq. Agropec. Trop.**, v.36, p.187-193, 2006.
- RANADE-MALVI, U. Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 1, p. 106–109, 2011.
- RENAULT, H.; ROUSSEL, V.; EL AMRANI, A.; ARZEL, M.; RENAULT, D.; BOUCHEREAU, A.; DELEU, C. The *Arabidopsis pop2-1* mutant reveals the involvement of GABA transaminase in salt stress tolerance. **BMC Plant Biology**, v. 10, p. 1–16, 2010.
- RIBEIRO, M. R. Origem e classificação dos solos afetados por sais. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.12–19, Fortaleza, 2010.
- RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L. VOIGT, E. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. High K⁺ supply avoids Na⁺ toxicity and improves photosynthesis by allowing favorable K⁺ : Na⁺ ratios through the inhibition of Na⁺ uptake and transport to the

- shoots of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, p. 157–164, 2013.
- SAPETA, H.; MIGUEL COSTA, J.; LOURENÇO, T.; MAROCO, J.; VAN DER LINDE, P.; MARGARIDA OLIVEIRA, M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 76–84, 2013.
- SATO, M.; BUENO, O. C.; ESPERANCINI, M. S. T.; FRIGO, E. P. A cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.): uso para fins combustíveis e descrição agrônômica. **Revista Varia Scientia**, v. 7, n. 13, p. 47-62, 2009.
- SATURNINO, H. M. *et al.* Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.
- SHABALA, S.; POTTOSIN, I. I. Potassium and potassium-permeable channels in plant salt tolerance. **Signal. Commun. Plants**, p. 87–110, 2010.
- SHORESH, M.; SPIVAK, M.; BERNSTEIN, N. Involvement of calcium-mediated effects on ROS metabolism in the regulation of growth improvement under salinity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 51, p. 1221–1234, 2011.
- SILVA, L. C.; BELTERÃO, N. E. M.; AMORIM NETO, M. S. **Análise do Crescimento de Comunidades Vegetais**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2000. 18 p. (EMBRAPA Algodão. Circular técnica, 34).
- SILVA J. M. C.; RYLANDS, A. B.; FONSECA, G. A. B. O destino das áreas de endemismo da Amazônia. **Megadiversidade**, v. 1, p. 124-131, 2005.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-manso submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K⁺, osmotic adjustment and K⁺/Na⁺ homeostasis. **Plant Biology**, v. 17, p. 1023–1029, 2015.
- SILVEIRA, J.A.G.; SILVA, S.L.F.; SILVA, E.N.; VIÉGAS, R.A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino. **In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.161–180, Fortaleza, 2010.
- SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; LIMA NETO, M. C.; LACERDA, C. F.; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados em pinhão-manso irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 10, p. 1428–1435, 2012.
- TSONEV, T.; VELIKOVA, V.; YILDIZ-AKTAS, L.; GUREL, A.; EDREVA, A. Effect of water deficit and potassium fertilization on photosynthetic activity in cotton plants. **Plant Biosyst.**, v.145, p.841–847, 2011.

- STRIZHOV, N.; ABRAHAM, E.; OKRESZ, L.; BLICKLING, S.; ZILBERSTEIN, A.; SCHELL, J.; KONCZ, C.; SZABADOS, L. Differential expression of two *P5CS* genes controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1 and AXR2 in *Arabidopsis*. **Plant Journal**, v. 12, p. 557–569, 1997
- SUN, J.; WANG, M. J.; DING, M. Q.; DENG, S. R.; LIU, M. Q.; LU, C. F.; ZHOU, X. Y.; SHEN, X.; ZHENG, X. J.; ZHANG, Z. K.; SONG, J.; HU, Z. M.; XU, Y.; CHEN, S. L. H_2O_2 and cytosolic Ca^{2+} signals triggered by the PM H^+ -coupled transport system mediate K^+/Na^+ homeostasis in NaCl-stressed *Populus euphratica* cells. **Plant, Cell and Environment**, v. 33, p. 943–958, 2010
- VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22, 280p. 1968.
- WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: Aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, p. 1-23, 2010.
- WYN JONES, R. G. Salt tolerance. In: JOHNSON, C. B. (Ed.). **Physiological processes limiting plant productivity**. Butterworths, London, p. 271–292, 1981.
- ZHANG, J.; ZHANG, Y.; DU, Y.; CHEN, S.; TANG, H. Dynamic metabonomic responses of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants to salt stress. **Journal of Proteome Research**, v. 10, p. 1904–1914, 2011.
- ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, n. 5, p. 441–445, 2003.
- ZRIG, A.; BEN MOHAMED, H.; TOUNEKTI, T.; ENNAJEH, M.; VALERO, D.; KHEMIR, H. A comparative study of salt tolerance of three almond rootstocks: contribution of organic and inorganic solutes to osmotic adjustment. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, p. 675–689, 2015.
- YANG, M. F.; LIU, Y. J.; LIU, Y.; CHEN, H.; CHEN, F.; SHEN, S. H. Proteomic analysis of oil mobilization in seed germination and post-germination development of *Jatropha curcas*. **Journal of Proteome Research**, v. 8, p. 1441–1451, 2009.
- YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, p. 508–514, 1954.

816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848

CAPÍTULO II

ALTERAÇÕES NA HOMEOSTASE IÔNICA PROVOCADAS PELO NaCl SÃO MINIMIZADAS PELO INCREMENTO DE POTÁSSIO EM DIFERENTES ÓRGÃOS DE *Jatropha curcas* L.

RESUMO

O incremento de potássio na solução salina em plantas *Jatropha curcas*, submetidas a três tratamentos salinos (controle; 75 e 150 mM de NaCl) suplementados com 9 mM de K⁺ foi avaliado em folhas, caule e raízes durante 24 e 240 horas de exposição baseando-se em dados de crescimento, estado hídrico, integridade das membranas, potássio e sódio. O sal reduziu o crescimento das plantas em todos os tratamentos, independente do tempo. O *status* hídrico das plantas, após 24h, foi mantido em folhas (75 mM) e raízes (150 mM) e em todos os órgãos, após 240h, independente da adição de K⁺. Não houve danos às membranas nos tratamentos 75 e 150 mM, em folhas e caule, após 24h. Os níveis de sódio aumentaram independente do órgão e tratamento, porém os de K⁺ foram maiores que o Na⁺ minimizando a toxicidade iônica (K⁺/Na⁺) em quase todos os órgãos da planta, independente do tempo. Observou-se maiores valores K⁺/Na⁺ nos tratamentos salinos suplementados com K⁺. Conclui-se que o incremento de K⁺ à solução salina auxiliou na manutenção da homeostase iônica e contribuiu para o aumento da relação K⁺/Na⁺, reduzindo o efeito tóxico do sódio na maioria dos órgãos estudados, independente do tempo de exposição ao NaCl e dose utilizada.

Palavras-chaves: Pinhão-manso, toxicidade iônica, estresse salino, K⁺.

ABSTRACT

Potassium increase in the saline in *Jatropha curcas* plants were submitted to three saline treatments (control, 75 and 150 mM NaCl) supplemented with 9 mM K⁺ was measured in leaves, stems and roots for 24 and 240 hours of exposure based on data growth, water status, membrane integrity, potassium and sodium. The salt reduced the growth of plants in all treatments, regardless of time. The water potential of the plants, after 24 hours, was maintained in shoots (75 mM) and roots (150 mM) and all organs after 240 hours, regardless of the addition of K⁺. There was no damage to the membranes in the treatments 75 to 150 mM in leaf and stem after 24h. The sodium levels increased independent of the organ and treatment, but K⁺ were higher than the Na⁺ ion minimizing toxicity (K⁺/Na⁺) in almost all organs of the plant, independent of time. Higher values observed K⁺/Na⁺ in saline treatments supplemented with K⁺. It was concluded that increased K⁺ at saline aided in the maintenance of homeostasis and contribute to the increase of the K⁺/Na⁺, reducing the toxic effect of sodium in most of the organs studied, regardless of the time of exposure to NaCl and dose.

Keywords: Physic nut, ionic toxicity, salt stress, K⁺.

1. INTRODUÇÃO

A seca e a salinidade são estresses abióticos com grande impacto no desenvolvimento das plantas causando graves perdas no rendimento agrícola de inúmeras espécies (HA et al., 2014). Aproximadamente 7% da área terrestre total e 20% das terras agrícolas irrigadas são afetadas pela salinidade do solo que impõe maiores restrições para a sustentabilidade produtiva das culturas (AGARWAL et al., 2013).

Os efeitos da salinidade sob a planta são marcados pelo componente osmótico, que causa diminuição no potencial hídrico do solo levando a perda da homeostase hídrica; e o

componente iônico, causado pela acumulação de íons como sódio (Na^+) e cloreto (Cl^-) ocasionando um desbalanço iônico nos diferentes órgãos da planta (AGARWAL et al., 2013). Tais efeitos repercutem sobre a expansão e divisão das células, as relações hídricas, o funcionamento de enzimas, a nutrição mineral, a condutância estomática, a fotossíntese, a síntese de solutos compatíveis e provocam deficiência de cálcio (Ca^{2+}) e potássio (K^+), entre outros (FLOWERS et al., 2014; HAMAMOTO et al., 2015).

A sobrevivência das plantas sob condições ambientais adversas baseia-se na integração de adaptações metabólicas ao estresse e mudanças estruturais durante o desenvolvimento endógeno dos vegetais (GOLLDACK et al., 2014). A diminuição do influxo inicial do Na^+ via xilema, maximização do efluxo via floema, compartimentalização intracelular e até mesmo a sua secreção através da superfície foliar são alguns dos mecanismos utilizados para minimizar os danos causados pelo acúmulo de Na^+ (RAJENDRAN et al. 2009). Embora, o controle preciso do acúmulo seletivo de K^+/Na^+ nos tecidos vegetais seja uma tarefa essencial para manter a homeostase celular na presença de altas concentrações de sais e alta osmolaridade externa (HAMAMOTO et al., 2015).

O potássio e o sódio, apesar de serem metais alcalinos e possuírem propriedades químicas semelhantes, desempenham diferentes papéis fisiológicos sobre o metabolismo e crescimento de plantas (HAMAMOTO et al., 2015). Enquanto o excesso de Na^+ no protoplasma causa toxicidade e ocasiona distúrbios em relação ao balanço iônico, provocando consequentemente desequilíbrio nutricional (SHABALA et al., 2012), adequados níveis de K^+ , além de desempenhar função crucial na regulação da turgescência dentro das células guarda durante o movimento estomático, participa da ativação de enzimas, do ajustamento osmótico das células, da translocação de carboidratos nas plantas e aprimora a utilização de água pelas mesmas (MEURER, 2006).

Deste modo, a manutenção dos níveis de K^+ em detrimento ao Na^+ , principalmente em folhas de glicófitas, é considerada uma estratégia importante para a sobrevivência destas plantas em ambientes salinos, onde predominam elevados teores de Na^+ (HAUSER & HORIE, 2010; BADAR-UZ-ZAMAN et al., 2012). Diferentes estudos mostram que não é a quantidade absoluta de Na^+ que influencia na resistência ao sal, mas dentre outros fatores, a relação K^+/Na^+ que determina a tolerância ao sal do vegetal (SHABALA & POTTOSIN, 2010). Neste contexto e, sabendo-se que concentrações adequadas de K^+ mantém o conteúdo relativo de água e diminui o potencial osmótico, melhorando dessa forma a resistência das plantas ao estresse salino e ao déficit hídrico (PRADO et al., 2006), é fundamental a

viabilização de estratégias para melhorar a produção agrícola em regiões áridas e semiáridas, pois isto pode levar a um manejo adequado e aumento do rendimento da cultura.

Jatropha curcas L. tem sido considerada uma cultura agroenergética promissora, principalmente por ser uma oleaginosa muito resistente que cresce naturalmente em áreas não cultiváveis com características de déficit hídrico, altas temperaturas e solos com baixa fertilidade e excessivamente salinos (DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012; SAPETA et al., 2013).

No entanto, pouco se sabe sobre a fisiologia e a capacidade de adaptação de *Jatropha curcas* L. a condições climáticas adversas (SAPETA et al., 2013). Adicionalmente, a seleção de genótipos desta espécie baseou-se, sobretudo, em estudos da qualidade do óleo extraído de suas sementes (SAPETA et al., 2013), ao invés de estudos utilizando indicadores fisiológicos, bioquímicos e moleculares relacionados à homeostase hídrica e/ou iônica. Tais lacunas restringem a capacidade de avaliar e prever o desempenho agrônômico desta espécie em resposta a condições de estresse salino, especialmente em termos de crescimento. Diante disto, estudos sobre a fisiologia desta espécie para apoiar programas de melhoramento, a seleção de genótipos superiores e melhoria do manejo da cultura são de fundamental importância, pois são formas econômicas e mais viáveis de aumentar a produtividade agrícola em regiões áridas e semiáridas.

Assim, dada à importância da *Jatropha curcas* L. para a produção de biocombustíveis e dos efeitos negativos do estresse salino na atividade agrícola, este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho da espécie quanto à resposta ao incremento de K^+ em solução nutritiva, visando uma melhor compreensão da ação do K^+ na mitigação dos efeitos iônicos da salinidade sobre os indicadores de crescimento, de estado hídrico e de integridade das membranas. Espera-se identificar neste estudo se o incremento de K^+ na solução nutritiva contribui para a regulação da homeostase iônica em diferentes órgãos de *J. curcas* e se a aplicação deste soluto pode ser utilizada como uma estratégia para minimizar os efeitos deletérios do sal no crescimento das plantas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *Jatropha curcas* L. (acesso CNPAPM-XVIII) obtidas a partir da germinação em sistema de rolos (BRASIL, 2009) foram transferidas, oito dias após a germinação, para o sistema hidropônico em frascos contendo 0,8 L de solução Hoagland e Arnon (1950) com ½ de força, pH 6,0, sob aeração constante com bombas de aquariofilia para manter a oxigenação do sistema radicular das plantas. A solução nutritiva foi completada

diariamente para compensar a perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para reposição dos macro e micronutrientes. As plantas permaneceram nestas condições por 30 dias, para aclimação. Após este período, as plantas com cinco folhas completamente expandidas foram selecionadas e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução de Hoagland e Arnon. À solução nutritiva foram acrescidos ou não os tratamentos salinos: Controle (C); 75 (Sal1) e 150 mM (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 9 mM de potássio em forma de K₂SO₄, duplicando-se sua concentração na solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e correspondendo aos tratamentos: Controle + 9 mM de K⁺ (C + K⁺); 75 mM de NaCl + 9 mM de K⁺ (Sal1 + K⁺) e 150 mM de NaCl + 9 mM de K⁺ (Sal2 + K⁺). O incremento das concentrações de NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50 mM por dia até atingir a concentração final pretendida, para evitar o choque osmótico.

Após 24 e 240 horas de exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes foram coletados e analisados. O material vegetal foi avaliado quanto a indicadores de crescimento vegetal; o estado hídrico da planta; a integridade das membranas celulares e indicadores de estresse iônico de todos os tratamentos.

Para a avaliação dos indicadores de crescimento, utilizou-se metodologias não destrutivas expressas por equações matemáticas conforme recomendação de Silva et al. (2000). A taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) foi calculada através da equação: $TCRC = (\ln L_2 - \ln L_1) / (t_2 - t_1)$ [cm . (cm . dia)⁻¹], onde: L₁ corresponde a medida da altura da planta no tempo inicial t₁ e L₂ a altura da planta no tempo final t₂. A taxa de crescimento relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) foi calculada através da equação: $TCRFFE = (\ln L_2 \cdot C_2^2 - \ln L_1 \cdot C_1^2) / (t_2 - t_1)$ [cm³ . dia⁻¹], onde: L₁ corresponde a medida da altura da planta no tempo inicial t₁, L₂ a altura da planta no tempo final t₂; C₁ corresponde ao diâmetro caulinar no tempo t₁ e C₂ ao diâmetro caulinar no tempo t₂.

Para aferir o estado hídrico dos diferentes órgãos da planta, a determinação do conteúdo relativo de água (CRA) foi realizada segundo Irigoyen et al. (1992) utilizando a equação: $CRA = (MF - MS / MT - MS) \times 100$; onde os tecidos vegetais de cada plântula foram pesados para obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, embebidos em água deionizada sob temperatura ambiente de 25 ± 5 °C durante seis horas para obtenção da massa túrgida (MT). A massa seca (MS) foi obtida pela desidratação da MT por 72 h a 75 °C.

A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times 100$, onde: L₁ corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do

frasco, realizada após 6 horas e L₂ representa a segunda leitura da CE realizada após o aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

Os indicadores de estresse iônico foram representados pelas concentrações do íon salino sódio (Na⁺) e da concentração de potássio (K⁺). As extrações de Na⁺ e K⁺ foram realizadas de acordo com Silva et al. (2009) e a leitura das concentrações foram realizada em fotômetro de chama (Micronal B462). As concentrações de Na⁺ e K⁺ foram determinadas com base em curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de cloreto de sódio e cloreto de potássio, respectivamente. A relação K⁺/Na⁺ foi determinada segundo Maathuis e Amtmann (1999) como requisito para a determinação de um possível estresse iônico.

O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com K⁺ (C; Sal1; Sal2; Sal1 + K⁺; Sal2 + K⁺) e três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo um total de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t, que comparou os efeitos dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$ de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Indicadores de crescimento

Os processos de crescimento são particularmente sensíveis ao efeito dos sais, tornando análises de crescimento como altura média, números de folhas, área foliar, biomassa e outros, bons critérios para a avaliação da severidade do estresse e da capacidade da planta de superá-lo (ESTEVES & SUZUKI, 2008).

O estresse salino simulado pelo NaCl, afetou o crescimento das plantas de *Jatropha curcas* L. expressos pelas taxas de crescimento relativo caular (TCRC) e de crescimento relativo foliar da fitomassa epígea (TCRFFE). Os tratamentos salinos diminuíram a TCRC (Figura 1 – A e B), provocando reduções em torno de 36% (Sal1) e 60% (Sal2); e a TCRFFE (Figura 1 – C e D), reduzindo em 34% (Sal1) e 56% (Sal2) em relação aos seus respectivos controles, desde as primeiras 24 horas de exposição ao estresse. Tal efeito foi mais pronunciado na dose mais elevada de NaCl (150 mM), apenas para a TCRFFE e nos dois períodos de exposição ao estresse. A adição de potássio à solução nutritiva contendo NaCl

não minimizou os efeitos deletérios do sal, pois não houve efeito significativo entre os valores encontrados, independente do tempo de exposição (Figura 1 – A - D).

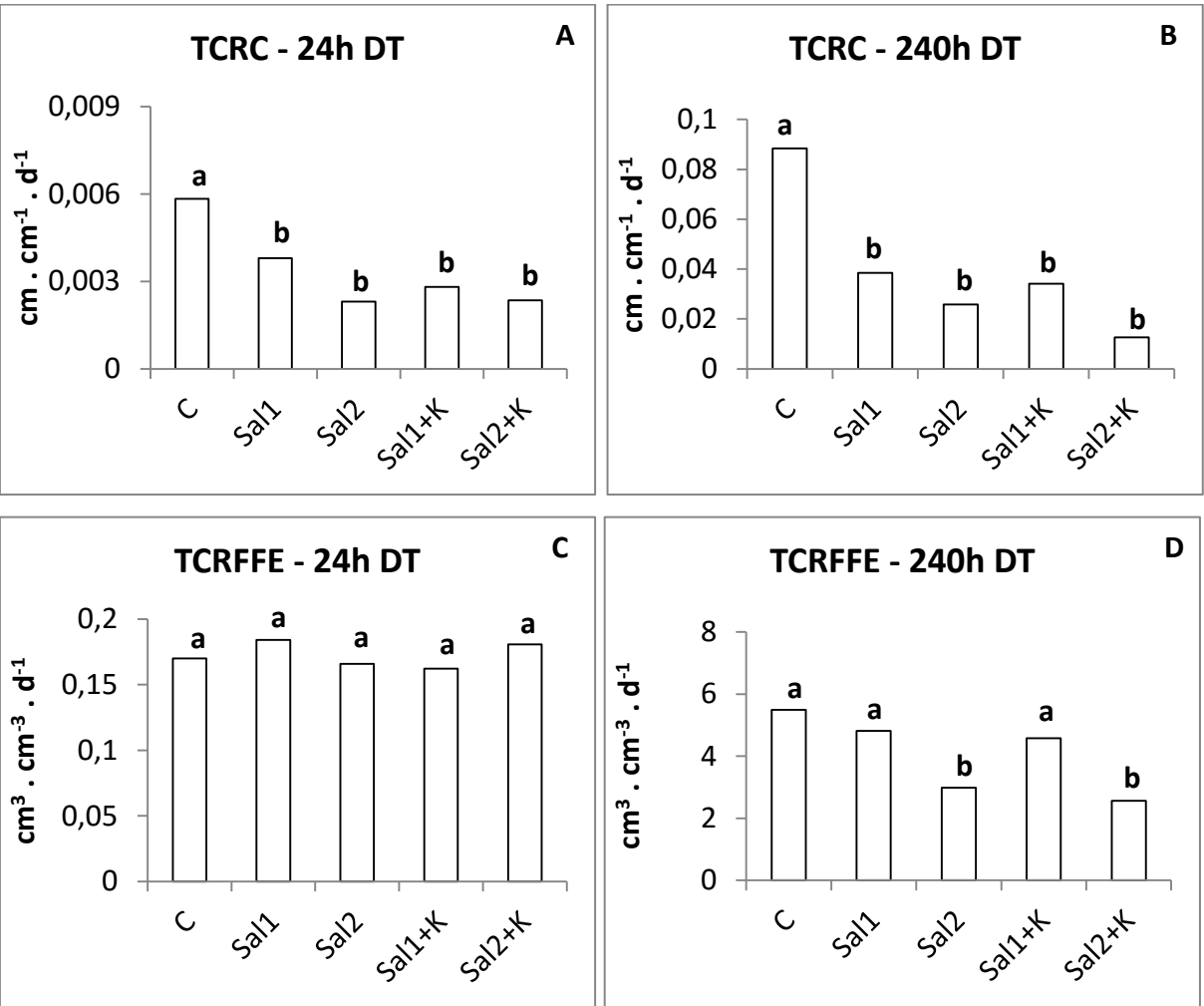


Figura 1: Taxa de Crescimento Relativo Caulinar (TCRC) (A e B) e Taxa de Crescimento Relativo em Fitomassa Fresca Epígea (TCRFFE) (C e D) de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementadas ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24h DT) (A e C) e 240 horas (240h DT) (B e D) de exposição aos estresses. Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de teste t-Student ($p \leq 0,05$).

Os efeitos deletérios da salinidade sob a redução e/ou inibição do crescimento em *J. curcas*, também foram observados em outros acessos da mesma espécie (SILVA et al., 2010; RODRIGUES et al., 2012; DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012), assim como em *Ricinus communis* L. (PINHEIRO et al., 2008), *Mentha pulegium* (OUSLATI et al., 2010) e *Cajanus cajan* (MONTEIRO et al., 2014). Tais efeitos podem ser devido ao componente osmótico e/ou componente iônico do estresse salino (ZENG et al., 2015). A redução na disponibilidade de

água para as plantas provoca diminuição de crescimento, de vigor e do ganho de massa devido ao suprimento de água se dar em quantidades inferiores às requeridas, baixando o componente de potencial de pressão do protoplasto sobre a parede da célula, resultando em diminuição de turgor e, por fim, afetando a elongação e a divisão celular (XIONG & ZHU, 2001; TAIZ & ZEIGER, 2010). Adicionalmente, a acumulação de íons tóxicos como Na^+ e/ou Cl^- no protoplasma provocam uma toxidez iônica interferindo em diferentes processos metabólicos no meio intracelular (AGARWAL et al., 2013). As reduções do crescimento em *J. curcas*, apresentadas neste estudo, podem ainda estar relacionadas a um desequilíbrio nutricional, como sugerido por Díaz-Lopez et al. (2012) estudando a mesma espécie sob condições salinas. Outra hipótese para explicar a redução nas TCRC e TCRFFE observadas em *J. curcas* é que possivelmente a energia destinada ao crescimento possa ter sido desviada para a manutenção de outros processos metabólicos (FLOWERS et al., 2014).

Uma quantidade suficiente de potássio é essencial para a sobrevivência das plantas em ambiente normal ou salino, pois a regulação estomática, fotossíntese, regulação osmótica, a síntese de proteínas, dentre outros, depende da disponibilidade de potássio para as plantas (ASHRAF & FOOLAD, 2007; MUNNS & TESTER, 2008). Contudo, no presente estudo, o incremento de K^+ na solução nutritiva adicionada de NaCl não promoveu efeitos positivos nas TCRC e TCRFFE em relação aos tratamentos salinos, o que sugere uma resposta dose e espécie dependente (LEGOCKA & KLUK, 2005). Trabalhos com algumas espécies (BARTAL & SPARKS, 2004; ABBASI et al., 2015) mostram que alguns vegetais respondem de forma diferente aos tratamentos com K^+ , reforçando, portanto, que a resposta aos tratamentos é espécie dependente e que a tolerância das culturas varia tanto entre espécies como entre cultivares de uma mesma espécie (SOUSA NETO et al., 2011).

3.2 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas

O conteúdo relativo de água (CRA) diz respeito à quantidade de água da planta em porcentagem levando em consideração a sua capacidade máxima de água presente na planta. Sendo assim, considerado um indicador indireto do status hídrico no vegetal (IRIGOYEN et al., 1992).

O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, interferiu na quantidade de água das folhas, do caule e das raízes de *J. curcas* L., expressa pelo CRA. Tal efeito foi mais acentuado nas folhas, na dose mais elevada de NaCl (150 mM). Nas raízes, o estresse salino diminuiu o CRA em aproximadamente 8%, no caule 7% e nas

folhas 15% em presença de 150 mM de NaCl (Tabela 1). A adição de K⁺ na solução nutritiva, contendo NaCl, não interferiu no CRA, pois não houve efeitos significativos quando comparados aos tratamentos com NaCl (Tabela 1). Curiosamente, independente da dose de sal, após 240 horas de exposição ao estresse salino, o CRA dos diferentes órgãos das plantas de *J. curcas* (folha, caule e raiz) não foi afetado pela salinidade (Tabela 1).

Tabela 1: Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	CRA (%) – 24h DT			CRA (%) – 240h DT		
	Partes da Planta			Partes da Planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
C	72,7 a	84,7 a	93,3 a	82,5 a	86,5 a	79,4 a
Sal 1	70,7 a	77,1 b	72,3 b	85,1 a	85,9 a	90,3 a
Sal 2	57,4 c	77,6 b	84,7 a	76,7 a	83,4 a	89,7 a
Sal 1 + K ⁺	69,7 ab	77,9 b	72,8 b	80,7 a	85,7 a	90,3 a
Sal 2 + K ⁺	63,0 bc	77,0 b	85,3 a	84,1 a	86,4 a	88,1 a

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de teste t-Student ($p \leq 0,05$).

Na primeira fase de alarme, o componente osmótico do estresse salino é preponderante sobre o iônico fazendo com que a planta absorva uma menor quantidade de água (ZENG et al., 2015). Contudo, passado a fase de alarme, a planta entra em fase de restituição buscando retomar a homeostase hídrica dos seus tecidos. É possível que, nas primeiras 24 horas de exposição ao sal, a planta tenha sofrido um estresse osmótico, mas que após 240 horas de exposição, o vegetal tenha recuperado seu *status* hídrico. Provavelmente, os íons salinos absorvidos tenham sido responsáveis por uma diminuição do potencial osmótico das plantas de *J. curcas* suficiente para manter o *status* hídrico, anulando parcialmente ou completamente os efeitos do estresse osmótico pela salinidade, como relatam Silva et al. (2015) estudando os efeitos da salinidade sob *J. curcas* e Rodrigues et al. (2014) estudando *R. communis* em condições salinas. Outra hipótese para a manutenção do CRA durante este período é a possibilidade de o ajustamento osmótico ter ocorrido através do acúmulo de solutos orgânicos e/ou inorgânicos que são alocados no citosol ou compartimentalizados dentro dos vacúolos (ZENG et al., 2015).

A condutividade elétrica mede o vazamento de eletrólitos (VE) para a solução, sendo utilizada como medida indireta para avaliar possíveis danos às membranas celulares, causadas pelo estresse salino (BAJJI et al., 2001).

O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, não causou danos às membranas dos tecidos foliares e caulinares de *J. curcas*, de acordo com o VE (Tabela 2). Entretanto nas raízes, o NaCl provocou aumento significativo do VE quando comparado ao controle (Tabela 2). Tal efeito foi mais acentuado na dose mais elevada de NaCl (150mM). Nas raízes, o estresse salino aumentou 17% na presença de 75 mM, e de 35% na presença de 150 mM de NaCl. A adição de K⁺ à solução nutritiva contendo NaCl não interferiu no VE das folhas e caule, quando comparados aos tratamentos salinos sem potássio. Contudo, na presença de 150 mM houve um aumento de 7% nas raízes (Tabela 2). Com a exposição prolongada ao NaCl (240 horas), observa-se um aumento significativo do VE em todas as partes da planta. Tal efeito foi proporcional à dose de NaCl e mais acentuado nas raízes, seguido do caule e por último das folhas (Tabela 2). Os maiores índices de VE observados em raízes, em comparação ao caule e as folhas, provavelmente pode ser devido a um contato direto deste órgão com a solução salina (LOPES & MACEDO, 2008). Adicionalmente, o aumento da condutividade elétrica em presença de NaCl, pode ser devido ao excesso de Na⁺ e Cl⁻ no protoplasma, causando assim, toxicidade e distúrbios no balanço iônico, o que traz como consequência alterações na estrutura das membranas e enzimas (YOKOI et al., 2002).

Tabela 2: Vazamento de Eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	VE (%) – 24h DT			VE (%) – 240h DT		
	Partes da Planta			Partes da Planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
C	10,9 a	21,4 a	29,2 d	4,2 d	15,1 c	28,8 c
Sal 1	10,5 a	20,3 a	46,9 c	7,9 c	21,7 b	60,8 b
Sal 2	9,7 a	21,5 a	64,2 b	10,4 b	25,1 a	74,6 a
Sal 1 + K ⁺	6,8 b	17,9 b	47,8 c	10,8 b	20,7 b	61,0 b
Sal 2 + K ⁺	9,7 a	20,2 a	71,4 a	17,0 a	27,6 a	73,9 a

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de teste t-Student ($p \leq 0,05$).

3.3 Indicadores iônicos

O estresse salino influenciou significativamente os conteúdos de sódio (Na⁺) e potássio (K⁺), interferindo também na relação potássio/sódio (K⁺/Na⁺) nas folhas, caule e raízes de *Jatropha curcas* L. (Tabela 3).

Tabela 3: Concentrações de sódio (Na^+), potássio (K^+) e relação K^+/Na^+ em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K^+ – 75 mM + 9 mM de K^+ ; Sal2 + K^+ – 150 mM + 9 mM de K^+), após 24 horas (24h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	24h DT			240h DT		
	Partes da Planta			Partes da Planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
Na^+ (mmol . Kg MS^{-1})						
C	71,1 d	55,9 c	49,1 e	53,3 c	24,0 d	69,4 d
Sal 1	479,9 b	239,8 ab	355,9 d	965,2 a	277,3 c	629,4 c
Sal 2	433,7 bc	239,9 ab	821,0 b	1015,9 a	439,9 b	1133,0 a
Sal 1 + K^+	359,9 c	210,6 b	534,8 c	554,6 b	296,5 c	739,7 b
Sal 2 + K^+	668,3 a	263,9 a	920,3 a	962,5 a	479,9 a	1098,3 a
K^+ (mmol . Kg MS^{-1})						
C	1924,2 a	1127,6 b	1429,3 c	1851,3 a	841,5 c	1482,5 c
Sal 1	1918,6 a	1144,4 b	1154,9 d	1161,2 b	1043,4 b	1608,9 c
Sal 2	1732,3 b	1279,1 ab	2155,5 b	1361,3 b	1155,6 ab	1827,2 b
Sal 1 + K^+	72,9 c	1431,6 a	2182,4 b	1234,2 b	1162,4 ab	2372,0 a
Sal 2 + K^+	1898,4 a	1228,6 ab	2758,1 a	1732,3 a	1265,6 a	2323,7 a
K^+/Na^+						
C	22,86	20,08	27,21	36,36	58,91	21,34
Sal 1	3,32	4,55	3,29	0,89	3,45	2,66
Sal 2	2,64	4,71	2,69	1,26	2,67	1,83
Sal 1 + K^+	0,21	6,73	4,20	1,46	3,95	3,18
Sal 2 + K^+	2,85	5,35	3,18	1,82	2,61	2,03

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de teste t-Student ($p \leq 0,05$).

O Na^+ pode entrar nas células de forma passiva ou por intermédio de carreadores de baixa ou alta afinidade, comuns ao K^+ (HASEGAWA et al., 2000; TESTER & DAVENPORT, 2003). Contudo, as plantas não toleram grandes concentrações de Na^+ no citoplasma, pois elevadas concentrações deste íon causa danos às membranas celulares e a estrutura de enzimas, interferindo diretamente na homeostase iônica e hídrica das plantas (YOKOI et. al., 2002; PRISCO & GOMES FILHO, 2010).

O tratamento salino provocou um acúmulo de Na^+ em níveis superiores aos observados no grupo controle, a partir das 24 horas de exposição ao estresse salino (Tabela 3).

Em folhas, o acúmulo de Na^+ , nas primeiras 24 horas de exposição, foi mais evidente na concentração moderada da NaCl (Sal1), com aproximadamente 6 vezes mais Na^+ que seu respectivo grupo controle (Tabela 3). Contudo, neste mesmo tratamento, o acúmulo de K^+ foi maior também neste órgão, com níveis semelhantes ao tratamento controle, o que manteve valores da relação K^+/Na^+ superiores a 3,0 (Tabela 3). No tratamento Sal2, o aumento de

sódio 6 vezes maior que o grupo controle foi acompanhado da redução de K^+ em quase 10% no mesmo tratamento (Tabela 3). Apesar disto, o valor referente à relação K^+/Na^+ neste tratamento, foi superior a 2,5 (Tabela 3). O tratamento salino moderado adicionado de K^+ (Sal1+K) diminuiu as concentrações de Na^+ em folhas em aproximadamente 25% em comparação a Sal1, no entanto reduziu os valores de K^+ no tratamento Sal1+K, repercutindo na relação K^+/Na^+ que atingiu valor inferior a 1,0 neste mesmo tratamento (Tabela 3). No tratamento Sal2+K, a adição de K^+ elevou os níveis de Na^+ em 54%, contudo os níveis de potássio também aumentaram em 9,5%, ambos comparados ao tratamento Sal2 (Tabela 3). O valor da relação K^+/Na^+ em folhas do tratamento Sal2+K⁺ foi igual a 2,8 (Tabela 3).

O aumento dos níveis de Na^+ juntamente com os níveis de K^+ , observados em folhas de *J. curcas* submetidas a concentrações moderadas de NaCl (Sal1), após 24 horas de exposição ao estresse, indica uma possível tolerância mediada pelo acúmulo de potássio, que pode ocorrer tanto no vacúolo quanto no citosol, ou em ambos (ZHANG et al., 2015). Proteínas transportadoras da superfamília NHX promovem o controle nos níveis tanto de sódio, por meio da compartimentalização celular (HASEGAWA, 2013), quanto da homeostase celular do potássio (LEIDI et al., 2010) em células vegetais submetidas à salinidade. Principalmente as proteínas NHX da classe I, alocadas no vacúolo, são as responsáveis pela manutenção do turgor celular (BASSIL et al., 2011; BARRAGÁN et al., 2012), explicando em parte, a manutenção do CRA em folhas de *J. curcas* submetidas a salinidade moderada após 24 horas de exposição ao estresse. Ainda, o acúmulo de Na^+ pode estar associado a um possível ajustamento osmótico em folhas de *J. curcas*. Recentemente Silva et al. (2015), estudando *J. curcas* e, Rodrigues et al., (2014), estudando *R. communis* em condições salinas, afirmam que as duas espécies apresentam eficiente ajustamento osmótico pelo acúmulo de íons salinos como o sódio e o cloreto.

A minimização dos efeitos da salinidade em folhas, em estresse moderado, pode ser confirmada pela relação K^+/Na^+ em folhas submetidas ao tratamento Sal1, pois segundo Rodrigues et al. (2013) valores entre 1,0 e 2,0, nesta relação, são suficientes para evitar a toxicidade pelo Na^+ , melhorando o desempenho fotossintético e o acúmulo de matéria seca em *J. curcas*.

A redução dos níveis de K^+ em folhas de *J. curcas*, no tratamento severo (Sal2), pode ter ocorrido em detrimento ao aumento dos níveis de Na^+ no mesmo órgão. Resultados semelhantes também foram obtidos por Sousa et al. (2012) estudando folhas de *J. curcas* irrigadas com água salinizada. Segundo Shabala et al. (2003) a indução do efluxo de K^+

1191 citosólico em condições salinas, prejudica a relação K^+/Na^+ , que reduz drasticamente. A
1192 redução nos níveis de K^+ é resultado da despolarização da membrana induzida pelo NaCl,
1193 conduzindo à ativação de canais inespecíficos de K^+ que acabam por incorporar Na^+ ao
1194 ambiente intercelular (CUIN et al., 2008). Neste estudo, apesar da redução nos níveis de K^+ e
1195 do aumento dos níveis de Na^+ , o valor de 2,6, referente à relação K^+/Na^+ do tratamento Sal2,
1196 não indica possível toxicidade pelo Na^+ , ao contrário do que foi observado por Silva et al.
1197 (2015) ao estudar a mesma relação em níveis moderados e severos de salinidade em *J. curcas*.

1198 A adição de K^+ à solução salina, após 24 horas, reduziu os níveis de Na^+ no tratamento
1199 Sal1 + K^+ e, apesar de promover o incremento dos níveis de Na^+ no tratamento Sal2 + K^+ , a
1200 relação K^+/Na^+ em folhas, nos dois tratamentos, não foi suficiente para determinar toxicidade
1201 iônica em folhas deste tratamento. O incremento de potássio pode atenuar os três principais
1202 efeitos prejudiciais da salinidade: 1) toxicidade do metabolismo celular pelo Na^+ ,
1203 representado pela redução dos níveis deste íon no tratamento Sal1 + K^+ ; 2) a
1204 hiperosmolaridade, representado pela relação K^+/Na^+ positiva no tratamento Sal2 + K^+ e
1205 ainda; 3) atenuar danos pelo estresse oxidativo (SHABALA & POTTOSIN, 2014).

1206 Ainda, durante as primeiras 24 horas de exposição ao estresse salino, o acúmulo de
1207 Na^+ no tratamento Sal2 foi 16 vezes maior em tecidos radiculares do que seu respectivo grupo
1208 controle (C) (Tabela 3). O aumento nos níveis de Na^+ nas raízes em Sal2 foi também
1209 acompanhado por um aumento de aproximadamente 50% nos níveis de K^+ , quando
1210 comparado ao tratamento controle (C) (Tabela 3). Adicionalmente, as raízes apresentaram
1211 níveis de potássio superiores a folhas e caule, no tratamento Sal2. A relação K^+/Na^+ em raízes
1212 atingiram valores superiores a 3,0 no tratamento Sal1 e superiores a 2,5 no tratamento Sal2
1213 (Tabela 3). Nas raízes, em todos os tratamentos salinos acrescidos de potássio, a presença
1214 deste soluto contribuiu para o aumento nos níveis tanto de K^+ (89% em Sal1 + K^+ comparado
1215 a Sal1 e; 27% em Sal2 + K^+ comparado a Sal2), como de Na^+ (50% em Sal1 + K^+ comparado
1216 a Sal1; 12% em Sal2 + K^+ comparado a Sal2) (Tabela 3). Apesar disto, a relação K^+/Na^+ para
1217 este órgão em condições de salinidade aumentou em relação aos seus correspondentes
1218 tratamentos salinos, atingindo valores maiores que 4,0 para o tratamento Sal1 + K^+ e 3,0 para
1219 o tratamento Sal2 + K^+ (Tabela 3).

1220 Em salinidade severa (Sal2) o acúmulo de Na^+ se deu, em maiores concentrações, no
1221 ambiente radicular. Tal fenômeno pode estar relacionado à retenção deste íon por proteínas
1222 antiporte Na^+/H^+ que sequestram o Na^+ nos vacúolos das raízes e evitam o transporte do sódio
1223 para a parte aérea, reduzindo a toxicidade nos demais órgãos da planta (ZHANG et al, 2015).

Contudo, o aumento de Na^+ nas raízes foi acompanhado também pelo aumento de K^+ , sendo este último encontrado em maiores concentrações em relação as folhas e caule no tratamento Sal2. Da mesma forma, a adição de potássio à solução salina contribuiu para aumento nos níveis de Na^+ e K^+ . Em todos os tratamentos, adicionados ou não de K^+ na solução salina, os valores da relação K^+/Na^+ em raízes foram positivos e não atribuem efeito tóxico pelo Na^+ . Altas concentrações de K^+ no ambiente externo às raízes são requeridas para restringir a absorção e o transporte de Na^+ , principalmente para a parte aérea das plantas (RODRIGUES et al., 2013). Para Rodrigues et al. (2013), altas concentrações de K^+ em tecidos radiculares representam eficiente absorção deste íon pelas raízes e confirmam a elevada afinidade pelo potássio em detrimento ao sódio em *J. curcas*.

Aparentemente, em condições de salinidade, o caule foi o órgão que menos sofreu a ação do efeito iônico do estresse salino nas primeiras 24 horas. Apesar do aumento nos níveis de Na^+ dos tratamentos Sal1 e Sal2 terem sido 4 vezes maior que o grupo controle; e os níveis K^+ não terem apresentado diferenças entre si, a manutenção no controle dos referidos solutos no caule foi bem representado pelas relações K^+/Na^+ em ambos os tratamentos salinos (Sal1 e Sal2), atingindo valores superiores a 4,5 (Tabela 3). A adição de K^+ a solução nutritiva contribuiu de forma significativa para o incremento desta relação, principalmente no tratamento Sal1 + K^+ , que reduziu em 13% o nível de Na^+ no caule e incrementou 25% o nível de K^+ no mesmo órgão, mantendo valores acima de 5,0 nos tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+ (Tabela 3).

Em estudo com *J. curcas*, Díaz-López et al. (2012) observaram um aumento nas concentrações de K^+ em caule quando a planta foi submetida a condições salinas, sendo este acúmulo atribuído à inibição na absorção de Na^+ por competição entre os dois íons, adicionado à capacidade de acumulação de K^+ por este órgão. Neste estudo, o acúmulo de K^+ em detrimento à redução de Na^+ em caule, somente foi observado após o incremento de K^+ na solução salina no tratamento Sal1 + K^+ , quando comparado ao tratamento Sal1. O acúmulo de Na^+ foi observado em caule e xilopódio de *C. phyllacanthus*, que também é uma Euphorbiaceae, destacando estes órgãos como responsáveis por evitar a translocação dos íons tóxicos para a parte aérea (OLIVEIRA et al, 2014). Para Oliveira et al. (2014) órgãos basais como o caule e o xilopódio servem como estruturas acumuladoras de Na^+ e atuam possivelmente compartimentalizando este íon nos vacúolos. Neste estudo, os níveis de K^+ no caule de *J. curcas* não apresentaram reduções, assim como observado por Oliveira et al. (2014), analisando os níveis de K^+ em caule de *C. phyllacanthus* submetido à salinidade.

Entretanto, ao contrário do observado em caule de *C. phyllacanthus* por Oliveira et al. (2014), as relações K^+/Na^+ apresentaram valores positivos, indicando que o referido órgão não sofreu toxicidade pelo íon Na^+ .

Após 240 horas de exposição ao estresse salino moderado (Sal1), as folhas continuaram sendo o órgão que mais acumularam Na^+ em seus tecidos (cerca de 18 vezes mais Na^+ do que seu respectivo grupo controle), seguido das raízes (9 vezes) e caule (11 vezes) (Tabela 3). No tratamento Sal2, tanto folhas quanto raízes apresentaram níveis semelhantes de Na^+ , cerca de 19 e 16 vezes mais sódio em folhas e raízes, respectivamente, comparados aos seus grupos controles. Em folhas, altas concentrações de Na^+ reduziram os níveis de K^+ em 37% no tratamento Sal1 e 27% em Sal2, provocando consequente diminuição na relação K^+/Na^+ , principalmente no tratamento Sal1, onde o valor desta relação ficou abaixo de 1,0 (Tabela 3). Neste mesmo órgão, a adição de K^+ à solução salina atenuou os efeitos do Na^+ , principalmente no tratamento Sal1 + K^+ , reduzindo a concentração de Na^+ em aproximadamente 42%, comparado ao tratamento Sal1 (Tabela 3). Adicionalmente, o incremento de K^+ à solução salina aumentou a concentração deste íon nos tecidos foliares, principalmente no tratamento Sal2 + K^+ , com aumento aproximado de 27% em relação ao tratamento Sal2 (Tabela 3). O incremento de K^+ à solução salina também influenciou a relação K^+/Na^+ em folhas nos dois tratamentos salinos, apresentando valores entre 1,4 e 1,8, para os tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+ , respectivamente (Tabela 3).

O efeito da salinidade em plantas, após longo período de exposição, pode estar relacionado ao influxo excessivo de sal por meio do fluxo transpiratório, o que amplifica a distribuição dos íons salinos entre o apoplasto e protoplasto e, podendo assim, prejudicar a condutância estomática, como visto por Yeo et al. (1991) em folhas de *Oryza sativa* L., após longo período de submissão ao estresse salino. Neste estudo, 240 horas após a exposição ao sal houve um aumento excessivo de Na^+ em folhas, repercutindo na redução dos níveis de K^+ no mesmo órgão, nos dois tratamentos salinos, apresentando efeitos tóxicos no tratamento Sal1. A absorção de K^+ geralmente é inibida quando os níveis de Na^+ são elevados em condições salinas, sendo esse fenômeno atribuído às muitas vias de absorção que são comuns aos dois íons. Neste caso, maiores concentrações de Na^+ no ambiente extracelular favorecem a maior absorção deste íon em detrimento ao K^+ (HISHIDA et al., 2013).

O incremento de K^+ à solução nutritiva não apenas minimizou a concentração de sódio no tecido (Sal1 + K^+), como também aumentou a concentração de K^+ em folhas de *J. curcas* no tratamento Sal2 + K^+ , minimizando o efeito tóxico do Na^+ através da relação K^+/Na^+ .

Reduções nas concentrações de Na^+ no apoplasto podem favorecer a incorporação de cátions essenciais como o K^+ e Ca^{2+} , que competem pelos mesmos sítios de entrada celular do sódio e evitam um possível desequilíbrio nutricional (HISHIDA et al., 2013). Para Kudo et al. (2010), o equilíbrio entre o sódio e outros cátions essenciais podem ser utilizados como indicadores de homeostase nutricional em plantas submetidas à condições salinas elevadas.

As raízes, que apresentaram valores de Na^+ semelhante às folhas no tratamento Sal2, tiveram suas concentrações de K^+ também aumentadas em 8% e 23% nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente, comparados ao controle (Tabela 3). O aumento de K^+ nos tecidos radiculares contribuiu para a manutenção da homeostase iônica neste órgão, pois os valores na relação K^+/Na^+ foram de 2,6 e 1,8 para os tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela 3). A adição de K^+ à solução salina mitigou os efeitos do Na^+ neste órgão. Embora não houve diferença nas concentrações de K^+ entre os tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+ , os valores foram superiores em 47% e 27% aos seus respectivos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2) (Tabela 3). Tais resultados repercutiram na relação K^+/Na^+ nos tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+ , que atingiram valores entre 3,0 e 2,0, respectivamente (Tabela 3).

Após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos, as raízes, juntamente com as folhas, apresentaram-se como os órgãos que mais acumularam Na^+ no tratamento Sal2. Nas raízes, os níveis de K^+ nos tecidos mantiveram os valores da relação K^+/Na^+ aceitáveis para evitar uma toxicidade iônica em todos os tratamentos salinos. O influxo de Na^+ na raiz pode ser mediado por transportadores de alta e baixa afinidade pelo K^+ (família HKT) (DREYER & BLATT, 2009; SZCZERBA et al., 2009) ou ainda através de canais catiónicos não selectivos (NSCC) (BRITTO et al., 2010). Neste sentido, é possível que o acúmulo de Na^+ neste órgão tenha favorecido à osmorregulação de raízes de *J. curcas* L., corroborando com dados encontrados por Silva et al. (2015) estudando a mesma espécie. De todas as formas o aumento nos níveis de K^+ são requeridos para atenuar os efeitos tóxicos do Na^+ (AKRAM et al., 2009) e que, altos valores na relação K^+/Na^+ no ambiente citosólico, são fundamentais para manter a homeostase iônica favorável em células vegetais e evitar a morte celular programada sob condições de salinidade (CUIN et al, 2003; SHABALA, 2009). Sobretudo, os dados encontrados neste estudo sugerem fortemente que as raízes, após 240 horas de exposição à salinidade, restringem o transporte de Na^+ para a parte aérea de *J. curcas*, assim como observado por Rodrigues et al. (2013).

Mesmo após 240 horas de exposição ao NaCl, o caule continuou sendo o órgão que menos sofreu interferência dos efeitos iônicos da salinidade. Apesar de o sal aumentar os

níveis de Na^+ no caule em 11 e 18 vezes nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente, um aumento nas concentrações de K^+ também foram observadas a medida que aumentou-se a concentração do sal na solução nutritiva (Tabela 3). Tal relação entre K^+ e Na^+ apresenta-se tão estável nos tecidos caulinares que, mesmo após o incremento de K^+ à solução salina, os valores não apresentaram modificações contundentes, deixando a relação K^+/Na^+ com valores entre 2,6 e 3,4 para os tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente e; 2,6 e 3,9 para os tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+ , respectivamente (Tabela 3).

Provavelmente, a estabilidade iônica observada principalmente na relação K^+/Na^+ do caule, em todos os tratamentos salinos mesmo após 240 horas, pode estar relacionada a outros mecanismos adaptativos envolvidos na resistência ao estresse salino. Segundo Díaz-López et al. (2012), o caule de *J. curcas* aparentemente possui importante função no ajustamento osmótico, pois concentra neste órgão elevados níveis de hidratos de carbono que podem servir como solutos compatíveis ou ainda suprir energeticamente os tecidos foliares. No mesmo sentido, Oliveira et al. (2014) sugerem que o xilopódio de *C. phyllacanthus* possivelmente desempenha papel importante na homeostase iônica.

4. CONCLUSÕES

1- O estresse salino simulado pelo cloreto de sódio (NaCl) induziu respostas distintas quanto ao tempo de exposição, dose de NaCl e aos órgãos de *Jatropha curcas* L. estudados, sendo o caule o órgão que menos sofreu com os efeitos da salinidade em todos os tratamentos e tempos avaliados.

2- A salinidade afetou o crescimento das plantas em ambos os períodos de exposição, não tendo o incremento de potássio efeito positivo sobre os indicadores de crescimento estudados.

3- Nas primeiras 24 horas de exposição ao estresse salino, o efeito do componente osmótico foi preponderante ao componente iônico, interferindo no *status* hídrico dos diferentes órgãos de *J. curcas*, sendo mais expressivo nas folhas, sem causar toxicidade iônica pelo sódio, embora danos às membranas tenham sido observado em raízes.

4- A partir de 240 horas as plantas recuperaram o *status* hídrico, mas o efeito iônico provocou as principais alterações fisiológicas do vegetal, causando danos às membranas celulares em todos os órgãos estudados. Ainda assim, na maioria dos órgãos, não foram observados efeitos tóxicos pelo sódio, pois a relação K^+/Na^+ atingiu valores superiores a 1,0.

5- O incremento de K^+ à solução salina minimizou os danos às membranas de folhas e caule nas primeiras 24 horas de exposição apenas no tratamento salino moderado, e ainda, auxiliou a manutenção da homeostase iônica e contribuindo para o aumento da relação K^+/Na^+ e reduzindo o efeito tóxico do sódio na maioria dos órgãos estudados, independente do tempo de exposição ao NaCl.

5. REFERÊNCIAS

- ABBASI, G. H.; AKHTA, J.; AHMAD, R.; JAMIL, M.; ANWAR-UL-HAQ, M.; ALI, S.; IJAZ, M. Potassium application mitigates salt stress differentially at different growth stages in tolerant and sensitive maize hybrids. **Plant Growth Regulation**, v. 76, p. 111–125, 2015.
- AGARWAL, P. K.; SHUKLA, P. S.; GUPTA, K.; JHA, B. Bioengineering for Salinity Tolerance in Plants: State of the Art. **Molecular Biotechnology**, v. 54, p. 102–123, 2013.
- AKRAM, M. S.; AKRAM, N. A.; AKRAM, N. A. Effectiveness of potassium sulfate in mitigating salt-induced adverse effects on different physio-biochemical attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Flora**, v. 204, p. 471–483, 2009.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycinebetaine and proline. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 206–216, 2007.
- BADAR-UZ-ZAMAN; ALI, A.; HYDER, S. I.; ARSHADULLAH, M.; BHATTI, S. U. Potassium chloride as a nutrient seed primer to enhance salt-tolerance in maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 8, p. 1181–1184, 2012.
- BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J.M. Water Deficit Effects on Solute Contribution to Osmotic Adjustment as a Function of Leaf Ageing in Three Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Cultivars Performing Differently in Arid Conditions. **Plant Science**, v. 160, p. 669–681, 2001.
- BARRAGÁN, V.; LEIDI, E. O.; ANDRES, Z.; RUBIO, L.; DE LUCA, A.; FERNÁNDEZ, J. A.; CUBERO, B.; PARDO, J. M. Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 24, p. 1127–1142, 2012.
- BAR-TAL, F. A. S.; SPARKS, D. L. Potassium-salinity interaction in irrigated corn. **Irrigation Science**, v. 12, p. 27–35, 2004.
- BASSIL, E.; TAJIMA, H.; LIANG, Y. C.; OHTO, M.; USHIJIMA, K.; NAKANO, R.; ESUMI, T.; COKU, A.; BELMONTE, M.; BLUMWALD, E. The *Arabidopsis* Na^+/H^+ antiporters NHX1 and NHX2 control vacuolar pH and K^+ homeostasis to regulate growth, flower development, and reproduction. **Plant Cell**, v. 23, p. 3482–3497, 2011.
- BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43–47, 1981.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- BRITTO, D. T.; EBRAHIMI-ARDEBILI, S.; HAMAM, A. M.; COSKUN, D.; KRONZUCKER, H. J. K analysis of sodium-induced potassium efflux in barley: mechanism and relevance to salt tolerance. **New Phytologist**, v. 186, p. 373-384, 2010.
- CUIN, T. A.; MILLER, A. J.; LAURIE, S. A.; LEIGH, R. A. Potassium activities in cell compartments of salt-grown barley leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 657–661, 2003.
- CUIN, T. A.; BETTS, S. A.; CHALMANDRIER, R.; SHABALA, S. A root's ability to retain K^+ correlates with salt tolerance in wheat. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p. 2697–2706, 2008.
- 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 Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 34–42, 2012.
- DREYER, I.; BLATT, M. R. What makes a gate? The ins and outs of Kv-like K^+ channels in plants. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 383-390, 2009.
- ESTEVEZ, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Australis**, v. 12, n. 4, p. 662-679, 2008.
- FLOWERS, T. J.; MUNNS, R.; COLMER, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany**, v. 115, p. 419–431, 2014.
- GOLLDACK, D.; LI, C.; MOHAN, H.; PROBST, N. Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 151, p. 1-10, 2014.
- HA, C. V.; LEYVA-GONZÁLEZ, M. A.; OSAKABED, Y.; TRANA, U. T.; NISHIYAMAA, R.; WATANABEA, Y.; TANAKAE, M.; SEKIE, M.; YAMAGUCHIF, S.; DONGB, N. V.; YAMAGUCHI-SHINOZAKIG, K.; SHINOZAKID, K.; HERRERA-ESTRELLAC, L.; TRAN, L. S. P. Positive regulatory role of strigolactone in plant responses to drought and salt stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 2, p. 851–856, 2014.
- HAMAMOTO, S.; HORIE, T.; HAUSER, F.; DEINLEIN, U.; SCHROEDER, J. I.; UOZUMI, N. HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and function to the field. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 113–120, 2015.
- HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, n. 1, p. 463-499, 2000.
- HASEGAWA, P. M. Sodium (Na^+) homeostasis and salt tolerance of plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 92, p. 19–31, 2013.

- HAUSER, F.; HORIE, T. A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K^+/Na^+ ratio in leaves during salinity stress. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p. 552-565, 2010.
- HISHIDA, M.; ASCENCIO, F.; FUJIYAMA, H.; ORDUNO-CRUZ, A.; ENDO, T. Response to salt stress in growth water relations and ion content of *Jatropha curcas* and *J. cinerea* seedlings. **Interciencia Journal**, v. 38, p. 289-304, 2013.
- HOAGLAND, D. R. E. ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
- IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfafa (*Medicago sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.
- KUDO, N.; SUGINO, T.; OKA, M.; FUJIYAMA, H. Sodium tolerance of plants in relation to ionic balance and the absorption ability of microelements. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 56, p. 225-233, 2010.
- LEGOCKA, J. & KLUK, A. Effect of salt and osmotic stress on changes in polyamine content and arginine decarboxylase activity in *Lupinus luteus* seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 662-668, 2005.
- LEIDI, E. O.; BARRAGAN, V.; RUBIO, L.; EL-HAMDAOUI, A.; RUIZ, T.; CUBERO, B.; FERNÁNDEZ, J. A.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M.; QUINTERO, F. J.; PARDO, J. M. The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic tomato. **The Plant Journal**, v. 61, p. 495-506, 2010.
- LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 79-85, 2008.
- MAATHUIS, F. J. M. E. AMTMANN, A. K^+ Nutrition and Na^+ Toxicity: The Basis of Cellular K^+/Na^+ Ratios. **Annals of Botany**, v. 84, n. 1, p. 123-133, 1999.
- MEURER, E. J. Potássio. In: FERNANDES, M. S. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 281-298.
- MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 49, n. 1, p. 18-25, 2014.
- MUNNS, R. E. TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, n. 1, p. 651-681, 2008.
- OLIVEIRA, M. D. M.; BEZERRA, L. L.; DANTAS, C. V. S.; VOIGT, E. L.; MAIA, J. M.; MACÊDO, C. E. C. The role of xylopodium in Na^+ exclusion and osmolyte accumulation in faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 2871-2882, 2014.

- OUSLATI, S.; KARRAY-BOURAOUI, N.; ATIA, H.; RABHI, M.; KSOURI, R.; LACHASAL, M. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 289–296, 2010.
- PINHEIRO, H. A.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; FERREIRA, V. M.; CÂMARA, C. A.; CABRAL, F. F.; OLIVEIRA, J. F.; CARVALHO, L. W. T.; SANTOS, J. M.; FILHO, B. G. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 27, p. 385–392, 2008.
- PRADO, R. M.; LEAL, R. M. Desordens nutricionais por deficiência em girassol var. Catissol-01. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 36, p. 187–193, 2006.
- PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GREYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. In: **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.143–159, 2010.
- RAJENDRAN, K. A.; TESTER, M.; ROY, S. J. Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, p. 237–249, 2009.
- RODRIGUES, C. R. F.; SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, E. N.; DUTRA, A. T. B.; VIÉGAS, R. A. Potassium transport and partitioning alleviates toxic effects of sodium on young physic nut plants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 223–232, 2012.
- RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L. VOIGT, E. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. High K⁺ supply avoids Na⁺ toxicity and improves photosynthesis by allowing favorable K⁺ : Na⁺ ratios through the inhibition of Na⁺ uptake and transport to the shoots of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, p. 157–164, 2013.
- RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; MOURA, R. M.; ANJOS, D. C.; HERNANDEZ, F. F. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *R. communis* seedlings is associated with a probable mechanism of osmotic adjustment and a reduction in water lost by transpiration. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 233–239, 2014.
- SAPETA, H.; MIGUEL COSTA, J.; LOURENÇO, T.; MAROCO, J.; VAN DER LINDE, P.; MARGARIDA OLIVEIRA, M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 76–84, 2013.
- SHABALA, S. Salinity and programmed cell death: unravelling mechanisms for ion specific signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 709–712, 2009.
- SHABALA, S. N.; SHABALA, I.; VAN VOLKENBURGH, E. Effect of calcium on root development and root ion fluxes in salinised barley seedlings. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 507–514, 2003.
- SHABALA, S.; MUNNS, R. **Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms**. UK: CAB; 2012. 291 p.

- SHABALA, S.; POTTOSIN, I. I. Potassium and potassium-permeable channels in plant salt tolerance. **Signaling and Communication in Plants**, p. 87–110, 2010.
- SHABALA, S.; POTTOSIN, I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 151, p. 257–279, 2014.
- SILVA, L. C.; BELTERÃO, N. E. M.; AMORIM NETO, M. S. **Análise do Crescimento de Comunidades Vegetais**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2000. 18 p. (EMBRAPA Algodão. Circular técnica, 34).
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.
- SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1130–1137, 2010.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K^+ , osmotic adjustment and K^+/Na^+ homeostasis. **Plant Biology**, v. 17, p. 1023–1029, 2015.
- SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; LIMA NETO, M. C.; LACERDA, C. F.; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados em pinhão-mansão irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 10, p. 1428–1435, 2012.
- SOUSA NETO, O. N.; DIAS, N. S.; FERREIRA NETO, M.; LIRA, R. B.; REBOUCAS, J. R. Utilização do rejeito da dessalinização da água na produção de mudas de espécies da caatinga. **Revista Caatinga**, v. 24, p. 123–129, 2011.
- SZCZERBABA, M. W.; BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. K^+ transport in plants: Physiology and molecular biology. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, p. 447–466, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 5. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2010. 917p.
- TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, p. 503–527, 2003.
- XIONG, L. & ZHU, J. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. **Plant, Cell and Environment**, Nottingham, v. 25, n. 2, p. 131–139, 2001.
- YEO, A. R.; LEE, K.-S.; IZARD, P.; BOURSIER, P. J.; FLOWERS, T. J. Short- and long-term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 42, n. 240, p. 881–889, 1991.

1600 YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. **Salt stress tolerance of plants**, West
1601 Lafayette: JIRCAS Working Report, 2002. p. 25-33.

1602
1603 ZENG, Y.; LI, L.; YANG, R.; YI, X.; ZHANG, B. Contribution and distribution of inorganic
1604 ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to
1605 salt stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. 13639, 2015.

1606
1607 ZHANG, Y. M.; ZHANG, H. M.; LIU, Z. H.; LI, H. C.; GUO, X. L.; LI, G. L. The wheat
1608 NHX antiporter gene *TaNHX2* confers salt tolerance in transgenic alfalfa by increasing the
1609 retention capacity of intracellular potassium. **Plant Molecular Biology**, v. 87, p. 317–327,
1610 2015.

1637
1638
1639
1640
1641
1642
1643
1644
1645
1646
1647
1648
1649
1650
1651
1652
1653
1654
1655
1656
1657
1658
1659
1660
1661
1662
1663
1664
1665
1666
1667
1668
1669

CAPÍTULO III

**O INCREMENTO DE K^+ NA SOLUÇÃO SALINA CONTRIBUI PARA A
OSMORREGULAÇÃO EM DIFERENTES ÓRGÃOS DE *Jatropha curcas* L. POR
MEIO DO ACÚMULO DE SOLUTOS ORGÂNICOS: ESTRATÉGIA MODULADA
PELO TEMPO DE EXPOSIÇÃO.**

RESUMO

O incremento de potássio na solução salina em plantas *Jatropha curcas*, submetidas a três tratamentos salinos (controle; 75 e 150 mM de NaCl) suplementados com 9 mM de K⁺ foi avaliado em folhas, caule e raízes durante 24 e 240 horas de exposição baseando-se no *status* hídrico, integridade das membranas e indicadores de ajustamento osmótico. Observou-se em folhas (Sal1) e raízes (Sal2), 24 h DT, que a manutenção do *status* hídrico (CRA) sugere um ajustamento osmótico atribuído em parte ao aumento nos níveis de proteínas solúveis totais (PST) e prolina (PRO), e ainda, à manutenção da integridade das membranas em folhas e à manutenção nos níveis de aminoácidos livres totais (AALT), açúcares solúveis totais (AST) e amido em raízes de *J. curcas*. Aumentos nas concentrações de NaCl, reduziram o CRA em caules de *J. curcas*, contudo, a manutenção da integridade das membranas deste órgão aparentemente está associada ao aumento nos níveis de AALT, PRO e AST. Em folhas, adição de K⁺ à solução salina aumentou os níveis de PST e amido no tratamento Sal1 + K⁺ e AALT em Sal2 + K⁺, 24 h DT. Em raízes, o incremento de K⁺ aumentou os níveis de PST, AALT e PRO no tratamento Sal1 + K⁺, bem como os níveis de AST no tratamento Sal2 + K⁺, 24 h DT. A adição de K⁺ à solução salina promoveu um aumento nos níveis de PST, PRO e AST no tratamento Sal1 + K⁺, em caule 24 h DT. A manutenção no CRA que ocorreu em todos os órgãos da planta, 240 h DT, independente da concentração de NaCl, na maioria dos órgãos estudados, pode estar relacionado à manutenção nos níveis de PST, AALT e PRO. Em todos os órgãos, não ficou clara a relação dos carboidratos com o ajustamento osmótico de *J. curcas*, 240 h DT. A adição de K⁺ à solução salina aumentou, em folhas, os níveis de AALT (Sal1 + K⁺), PRO, AST (Sal2 + K⁺) e amido (Sal1 + K⁺); em caule, os níveis de PST, AALT (Sal1 + K⁺) e AST (Sal1 + K⁺); em raízes, os níveis de AALT, PRO e amido apenas no tratamento Sal1 + K⁺. Assim, o ajustamento osmótico observado em *J. curcas* se deu principalmente por compostos nitrogenados, estando o incremento de K⁺ relacionado ao aumento da maioria dos solutos compatíveis estudados. A contribuição da suplementação de K⁺ no ajustamento osmótico, verificados em *J. curcas*, apresentam respostas distintas quanto ao tempo de exposição, dose de NaCl e órgãos da planta.

Palavras-chaves: Pinhão-mansão, ajustamento osmótico, estresse salino, potássio.

ABSTRACT

Potassium addition in salt solution in *Jatropha curcas* plants treated with three saline conditions (control, 75 and 150 mM NaCl) supplemented with 9 mM K⁺ was measured in leaves, stem and roots for 24 and 240 hours of exposure based on water status, membrane integrity and osmotic adjustment indicators. It was observed in leaves (Sal1) and roots (Sal2), 24h after treatment, that the maintenance of water status (CRA) suggests an osmotic adjustment attributed in part to the increase total soluble proteins (PST) and proline (PRO) levels and also maintaining the integrity of the leaf membrane and maintaining free amino acids (AALT), soluble sugars (AST) and starch levels in *J. curcas* roots. Increases in NaCl concentration reduced the CRA in *J. curcas* stems, however the membranes integrity maintenance in this organ is apparently associated with increased levels of AALT, PRO and AST. In leaves the addition of K⁺ to the salt solution increased PST and starch levels under Sal1 + K⁺ treatment and AALT levels under Sal2 + K⁺ treatment, 24 h after treatment. In roots, K⁺ addition increased PST, PRO and AALT levels under Sal1 + K⁺ treatment as well as AST levels under Sal2 + K⁺ treatment, 24 h after treatment. The addition of K⁺ to the salt solution triggered an increase in PST, PRO and AST levels under Sal1 + K⁺ treatment in stem 24 h after treatment. The resulting CRA maintenance in all plant organs, 240 h DT, regardless

of the NaCl concentration of NaCl and in most of the evaluated organs, may be related to a maintenance of PST, AALT and PRO levels. The relation between carbohydrates and the osmotic adjustment in all organs of *J. curcas* and 240h after treatment is not clear. The addition of K^+ to the salt solution increased AALT ($Sal1 + K^+$), PRO, AST ($Sal2 + K^+$) and starch ($Sal1 + K^+$) levels in leaves; PST, AALT ($Sal1 + K^+$) and AST ($Sal1 + K^+$) levels in stem; and AAALT, PRO and starch levels in roots only for the $Sal1 + K^+$ treatment. Thus, the osmotic adjustment observed in *J. curcas* occurred mainly by nitrogenous compounds, being the K^+ addition related to an increase of most of the studied compatible solutes. The contribution of the supplement of K^+ for osmotic adjustment recorded in *J. curcas* has different responses regard to exposure time, NaCl concentration and plant organs.

Keywords: Physic nut, osmotic adjustment, salt stress, potassium.

1. INTRODUÇÃO

A salinidade é o estresse abiótico que afeta seriamente o crescimento das plantas e a produtividade das culturas (ZHANG et al., 2014). Com as atuais mudanças climáticas, a previsão é de um aumento de 2 a 6 °C na temperatura e uma diminuição da precipitação de até 16%, reduzindo a reposição das águas subterrâneas em até 50%. Desta forma, a taxa de salinidade do solo irá aumentar em 20 a 25% e o crescimento agrícola irá reduzir em 10 a 15% (MIZYED, 2009; MISRA, 2011).

Altas concentrações de sais no solo impõem tensões, tanto iônicas quanto osmóticas que podem gerar, sobretudo, estresses oxidativos, distúrbios hídricos e nutricionais na maioria das plantas (ZHANG et al., 2014). O ajustamento osmótico é uma estratégia comum das plantas a fim de manter a turgescência dos tecidos e proteger a maquinaria fotossintética dos efeitos da salinidade (D'SOUZA & DEVARAJ, 2010). Tal mecanismo envolve a síntese de solutos compatíveis, como aminoácidos ou açúcares solúveis e ainda, a absorção de íons como sódio (Na^+) e/ou potássio (K^+) do ambiente radicular (DICHIO et al., 2009; OUESLATI et al., 2010).

Nas células expostas a ambientes salinos, o acúmulo de compostos orgânicos age como osmólitos citoplasmáticos, facilitando a absorção e retenção de água nos tecidos e ainda, protegendo e estabilizando macromoléculas (ex. proteínas) e estruturas celulares como membranas e cloroplastos (ZRIG et al., 2015). Contudo, os agentes osmóticos que desempenham papéis cruciais no ajustamento osmótico é espécie dependente, e o grau deste ajustamento pode ser influenciado tanto pela duração e intensidade do estresse, idade do tecido e estágio de desenvolvimento da planta, quanto pelo genótipo (ZRIG et al., 2015).

O acúmulo de Na^+ e Cl^- pode ser tóxico para vários processos bioquímicos e fisiológicos da planta, reduzindo a absorção de nutrientes essenciais como o K^+ , que

desempenha importante função nos processos metabólicos (MARQUES et al., 2013). Neste sentido, estudos envolvendo a suplementação de potássio (K^+) no ambiente radicular têm mostrado bons resultados na mitigação dos efeitos adversos da salinidade, atuando, sobretudo, na homeostase hídrica (ASHRAF et al., 2010; WANG et al., 2013; RODRIGUES et al., 2013).

Plantas bem nutridas com K^+ são mais resistentes a condições de seca e salinidade, pois este íon além de agir como osmorregulador, aumentando a retenção de água, melhora a estabilidade da membrana celular, aumenta o alongamento celular, atua como cofator enzimático e ainda está envolvido na síntese de proteínas (WANG et al., 2013). Portanto, a manutenção dos níveis de K^+ no citoplasma é essencial para a sobrevivência das plantas em ambientes salinos, onde predominam elevados teores de sódio (Na^+) (ASHRAF et al., 2010).

Estudos com *Jatropha curcas* L. observaram que tanto a manutenção da homeostase hídrica quanto os efeitos deletérios do Na^+ sobre o metabolismo desta espécie são influenciados pelas relações K^+/Na^+ (RODRIGUES et al., 2013) e também por um possível ajuste osmótico mediado por osmólitos compatíveis como açúcares, aminoácidos e proteínas (SILVA et al., 2010; ZHANG et al., 2014; SILVA et al., 2015). No entanto, a contribuição do K^+ e o seu envolvimento com solutos orgânicos compatíveis ao ajustamento osmótico, como ferramentas de tolerância ao estresse salino ainda é pouco compreendido, principalmente as respostas com relação à dose limite e o tempo de exposição, e ainda, os efeitos do NaCl sobre cada órgão especificamente.

Jatropha curcas L. é uma Euphorbiaceae promissora para a produção de biodiesel devido ao seu rápido crescimento, fácil propagação, baixo custo e alto teor de óleo em suas sementes (~40-60%) e ainda, por apresentar adaptabilidade a condições agroclimáticas adversas de salinidade e seca em terras marginais (GAO et al., 2008; YANG et al., 2009; ALENCAR et al., 2015), comuns em zonas áridas e semiáridas de regiões tropicais e subtropicais do Brasil (LAVIOLA et al., 2013). Contudo, a espécie encontra-se em fase de domesticação, e ainda não há cultivares e sistemas de cultivo validados, sobretudo em áreas salinizadas. Neste sentido, pesquisas que possam ser aplicadas objetivando uma melhor compreensão dos complexos mecanismos adaptativos utilizados pelas plantas para combater os diferentes tipos de estresses abióticos são de extrema importância (PENG et al., 2009).

Assim, dada à importância da *Jatropha curcas* L. para a produção de biocombustíveis e dos efeitos negativos do estresse salino na homeostase hídrica da espécie, este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho da planta quanto à resposta ao incremento de K^+ à

solução salina. Para elucidar a ação do K^+ na mitigação dos efeitos osmóticos da salinidade, foi estudada a relação deste íon com a síntese de osmólitos compatíveis e consequente relação com o *status* hídrico da planta e a manutenção da integridade das membranas celulares. Espera-se identificar neste estudo se o incremento de K^+ na solução nutritiva contribui para a osmorregulação em diferentes órgãos de *J. curcas* por meio do acúmulo de solutos orgânicos, identificando quais destes solutos contribuem de maneira mais efetiva para minimizar os efeitos deletérios do sal na espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *Jatropha curcas* L. germinadas em sistema de rolos (BRASIL, 2009) foram transferidas, oito dias após a germinação, para o sistema hidropônico em frascos contendo 0,8 L de solução Hoagland e Arnon (1950) com $\frac{1}{2}$ de força, pH 6,0, sob aeração constante com bombas de aquariofilia. A solução nutritiva foi completada diariamente para compensar a perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para reposição dos macro e micronutrientes. As plantas permaneceram nestas condições por 30 dias, para aclimação. Após este período, as plantas com cinco folhas completamente expandidas foram selecionadas e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução. À solução nutritiva foram acrescidos ou não os tratamentos salinos: Controle - 0 mM (C); 75 mM (Sal1) e 150 mM (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 9 mM de potássio em forma de K_2SO_4 , duplicando-se sua concentração na solução nutritiva e correspondendo aos tratamentos: 75 mM de NaCl + 9 mM de K^+ (Sal1 + K^+) e 150 mM de NaCl + 9 mM de K^+ (Sal2 + K^+). O incremento das concentrações de NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50 mM por dia até atingir a concentração final pretendida, para evitar o choque osmótico.

Posteriormente à exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes foram coletados e analisados após dois períodos, 24 e 240 horas. O material vegetal foi avaliado quanto a indicadores de *status* hídrico da planta; a integridade das membranas celulares e indicadores de ajustamento osmótico.

Para aferir o *status* hídrico da planta, a determinação do conteúdo relativo de água (CRA) foi realizada segundo Irigoyen et al. (1992) utilizando a equação: $CRA = (MF - MS / MT - MS) \times 100$; onde os tecidos vegetais de cada plântula foram pesados para obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, embebidos em água deionizada sob temperatura ambiente de 25 ± 5 °C durante seis horas para obtenção da massa túrgida (MT). A massa seca (MS) foi obtida pela desidratação da MT por 72 h a 60 °C.

A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times 100$, onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do frasco, realizada após 6 horas e L_2 representa a segunda leitura da CE realizada após o aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

A concentração de proteínas solúveis totais (PST) foi determinada segundo método descrito por Bradford (1976), com base em curva padrão obtida a partir de albumina bovina (BSA) e os resultados expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca.

A concentração de aminoácidos livres totais (AALT) foi determinada segundo o método descrito por Peoples et al. (1989), onde os AALT foram determinados com base em uma curva padrão de L-Glutamina, sendo os resultados expressos em $\mu mol \cdot g^{-1}$ de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm de absorbância.

A concentração de prolina (PRO) foi determinada segundo metodologia descrita por Bates (1973), onde a PRO foi determinada com base em curva padrão de L-Prolina, com seus resultados expressos em $\mu mol \cdot g^{-1}$ de massa seca e a leitura realizada em espectrofotômetro a 520 nm de absorbância.

A aferição da concentração de açúcares solúveis totais (AST) foi realizada pelo método “fenol-sulfúrico” descrito por Dubois et al. (1956), onde os AST foram determinados com base na curva padrão de D-Glicose, com seus resultados expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm de absorbância.

A concentração de açúcares não redutores (ANR) foi determinada conforme o método “antrona” descrito por Morris (1948), adaptado por Van Handel (1968), onde os ANR foram obtidos por comparação com curva-padrão de sacarose, com seus resultados expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm de absorbância.

Para estimar os açúcares redutores (AR) foi utilizada a equação matemática: $AR = AST - ANR$, expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca (SOUSA et al., 2012).

A dosagem do amido foi realizada utilizando o reagente antrona (MORRIS, 1948; YEMM & WILLIS, 1954). Os extratos utilizados foram submetidos anteriormente a extração alcoólica e seu precipitado foi re-extraído com $HClO_4$ 30%. A concentração de amido foi calculada com base em uma curva padrão de D-glicose e sua leitura realizada em espectrofotômetro a 620 nm. Para a conversão em amido, os resultados obtidos foram multiplicados pelo fator 0,9, segundo proposto por McCready et al. (1950), onde os resultados foram expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca.

O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com K⁺ (C; Sal1; Sal2; Sal1 + K⁺; Sal2 + K⁺) e três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo um total de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t, que comparou os efeitos dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$ de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas

O conteúdo relativo de água (CRA) diz respeito à quantidade de água da planta em porcentagem levando em consideração a sua capacidade máxima de água presente nos tecidos. Sendo, portanto, considerado um indicador indireto do *status* hídrico do vegetal (IRIGOYEN et al., 1992).

O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, interferiu na quantidade de água das folhas, do caule e das raízes de *J. curcas*, expressa pelo CRA (Tabela 1). Tal efeito foi mais acentuado nas folhas, na dose mais elevada de NaCl (150 mM). Nas folhas, o estresse salino diminuiu o CRA em aproximadamente 15%, seguido das raízes (8%) e do caule (7%) em presença de 150 mM de NaCl (Tabela 1). A adição de K⁺ na solução nutritiva contendo NaCl, não interferiu no CRA, pois não houve efeitos significativos quando comparados aos tratamentos com NaCl (Tabela 1). Curiosamente, independente da dose de sal, após 240 horas de exposição ao estresse salino, o CRA dos diferentes órgãos das plantas de *J. curcas* (folha, caule e raiz) não foi afetado pela salinidade (Tabela 1).

Tabela 1: Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	CRA (%) – 24h DT			CRA (%) – 240h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
C	72,7 a	84,7 a	93,3 a	82,5 a	86,5 a	79,4 a
Sal 1	70,7 a	77,1 b	72,3 b	85,1 a	85,9 a	90,3 a
Sal 2	57,4 c	77,6 b	84,7 a	76,7 a	83,4 a	89,7 a
Sal 1 + K ⁺	69,7 ab	77,9 b	72,8 b	80,7 a	85,7 a	90,3 a
Sal 2 + K ⁺	63,0 bc	77,0 b	85,3 a	84,1 a	86,4 a	88,1 a

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student ($p \leq 0,05$).

Na primeira fase de alarme, o componente osmótico do estresse salino é preponderante sobre o iônico fazendo com que a planta absorva uma menor quantidade de água (ZENG et al., 2015). Contudo, passado a fase de alarme, a planta entra em fase de restituição buscando retomar a homeostase hídrica dos seus tecidos. No presente estudo, é possível que nas primeiras 24 horas de exposição ao sal, a planta tenha sofrido um estresse osmótico, mas que após 240 horas de exposição, ela tenha recuperado seu *status* hídrico. Provavelmente, a manutenção da turgescência celular após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos pode ter ocorrido por meio de um ajustamento osmótico, decorrente da redução no potencial osmótico celular (HESSINI et al., 2009).

Em *J. curcas*, o acúmulo de solutos orgânicos (açúcares solúveis, aminoácidos livres, e prolina) e inorgânicos (potássio, sódio e cloreto), que são alocados no citosol ou compartimentalizados dentro dos vacúolos, parecem desempenhar um papel importante no processo de ajustamento osmótico nesta espécie quando submetida à salinidade (RODRIGUES et al., 2013; SILVA et al., 2015; ZENG et al., 2015).

A condutividade elétrica mede o vazamento de eletrólitos (VE) para a solução, sendo utilizada como medida indireta para avaliar possíveis danos às membranas celulares, causadas pelo estresse salino (BAJJI et al., 2001).

O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, não causou danos às membranas dos tecidos foliares e caulinares de *J. curcas*, de acordo com o VE (Tabela 2). Entretanto nas raízes, o NaCl provocou aumento significativo do VE quando comparado ao controle (Tabela 2). Tal efeito foi mais acentuado na dose mais elevada de NaCl (150mM). Nas raízes, o estresse salino aumentou 17% na presença de 75 mM, e de 35% na presença de 150 mM de NaCl. A adição de K⁺ à solução nutritiva contendo NaCl não interferiu no VE das folhas e caule, quando comparados aos tratamentos salinos sem potássio. Contudo, na presença de 150 mM houve um aumento de 7% nas raízes (Tabela 2). Com a exposição prolongada ao NaCl (240 horas), observa-se um aumento significativo do VE em todas as partes da planta. Tal efeito foi proporcional à dose de NaCl e mais acentuado nas raízes, seguido do caule e por último das folhas (Tabela 2).

Os maiores índices de VE observados em raízes, em comparação ao caule e folhas, provavelmente pode ser devido a um contato direto deste órgão com a solução salina (LOPES & MACEDO, 2008) ou ainda, que as raízes atuaram na retenção dos íons salinos em seus tecidos e preveniram, no primeiro momento, o acúmulo de Na⁺ e/ou Cl⁻ nos órgãos apicais como caule e folhas (OLIVEIRA et al., 2014). Após 240 horas, o aumento da condutividade

elétrica em presença de NaCl, pode ser devido ao excesso de Na⁺ e Cl⁻ no protoplasma que, com o passar do tempo, causa toxicidade e distúrbios no balanço iônico, o que traz como consequência alterações na estrutura das membranas e enzimas (YOKOI et al., 2002).

Tabela 2: Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	VE (%) – 24h DT			VE (%) – 240h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
C	10,9 a	21,4 a	29,2 d	4,2 d	15,1 c	28,8 c
Sal 1	10,5 a	20,3 a	46,9 c	7,9 c	21,7 b	60,8 b
Sal 2	9,7 a	21,5 a	64,2 b	10,4 b	25,1 a	74,6 a
Sal 1 + K ⁺	6,8 b	17,9 b	47,8 c	10,8 b	20,7 b	61,0 b
Sal 2 + K ⁺	9,7 a	20,2 a	71,4 a	17,0 a	27,6 a	73,9 a

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de teste t-Student (p≤0,05).

3.2 Ajustamento osmótico por compostos nitrogenados

As concentrações de proteínas solúveis totais (PST) aumentaram apenas em raízes, com o incremento de NaCl na solução nutritiva (Sal1 – 77%; Sal2 – 106%), após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos (Tabela 3). Após 240 horas de exposição ao tratamento salino, apenas as folhas do tratamento Sal1 tiveram seus níveis de PST duplicados com a adição de NaCl à solução nutritiva, comparado ao grupo controle (Tabela 3). Os demais órgãos não apresentaram alterações nos níveis de PST, após 240 horas de exposição à salinidade.

O acúmulo de PST tanto em raízes, em ambos os tratamentos salinos (24 h DT), quanto em folhas, após 240 horas de exposição ao tratamento salino moderado (Sal1), pode estar relacionado à síntese de proteínas específicas que, em condições adversas, contribuem para a tolerância ao estresse salino (MOHAMMADKHANI & HEIDARI, 2008). Adicionalmente, em raízes expostas ao tratamento Sal2 (24 h DT) e em folhas expostas ao tratamento Sal1 (240 h DT), o aumento nos níveis de PST pode estar associado à manutenção do CRA nestes dois órgãos. Para Zhang et al. (2014), o aumento da síntese de proteínas da família LEA (*late embryogenesis abundant*) estão associadas a manutenção do turgor celular, bem como a estabilização de proteínas e estruturas celulares em *J. curcas*, o que pode aumentar a tolerância da espécie ao sal.

Tabela 3: Concentrações de proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT), prolina (PRO) e relação PRO/AALT em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	24h DT			240h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
PST (mg PST . g MF⁻¹)						
C	4,59 b	7,29 bc	4,16 d	5,82 c	1,22 b	0,53 a
Sal 1	5,01 b	6,39 c	7,37 b	11,78 a	1,45 ab	0,55 a
Sal 2	6,45 ab	6,35 c	8,59 b	4,98 cd	1,28 ab	0,44 ab
Sal 1 + K ⁺	7,63 a	8,79 a	11,62 a	10,00 b	1,53 a	0,43 ab
Sal 2 + K ⁺	5,76 b	7,86 ab	5,31 c	3,72 d	1,44 ab	0,29 b
AALT (μmol AALT . gMS⁻¹)						
C	89,9 a	112,0 b	76,9 b	68,6 c	89,7 d	55,2 d
Sal 1	66,8 bc	145,3 a	58,0 c	139,6 b	87,1 d	99,2 c
Sal 2	51,4 d	155,0 a	89,4 ab	157,1 b	234,5 a	167,8 a
Sal 1 + K ⁺	60,1 c	145,2 a	104,2 a	235,2 a	138,6 c	124,7 b
Sal 2 + K ⁺	75,2 b	116,7 b	86,5 b	145,2 b	187,9 b	161,9 a
PRO (μmol PRO . gMS⁻¹)						
C	4,00 c	2,85 b	1,52 bc	6,05 c	2,60 c	1,57 c
Sal 1	6,40 b	2,84 b	1,28 c	6,04 c	4,77 b	1,79 bc
Sal 2	7,72 a	3,60 a	1,96 a	9,25 b	10,40 a	3,01 a
Sal 1 + K ⁺	4,30 c	3,69 a	2,23 a	10,18ab	4,42 b	2,96 a
Sal 2 + K ⁺	6,94 ab	2,96 b	1,90 ab	11,47 a	10,57 a	2,64 a
PRO/AALT						
C	4,44	2,56	1,97	8,81	2,90	2,84
Sal 1	9,57	1,96	2,20	4,32	5,47	1,80
Sal 2	15,01	2,33	2,19	5,89	4,44	1,79
Sal 1 + K ⁺	7,15	2,54	2,14	4,33	3,19	2,37
Sal 2 + K ⁺	9,22	2,54	2,19	7,90	5,62	1,63

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

O incremento de K⁺ à solução salina, 24 h DT, aumentou os níveis de PST em todos os órgãos das plantas submetidas ao tratamento Sal1 + K⁺ (folhas – 52%; caule – 37%; raiz – 57%), comparado às suas respectivas concentrações de PST no grupo Sal1 (Tabela 3). Na concentração mais elevada de NaCl, suplementada com K⁺ (Sal2 + K⁺), observou-se um aumento nos níveis de PST em caule (23%) e uma redução de aproximadamente 38% em raízes, comparados ao tratamento Sal2 (Tabela 3). Após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos, o incremento de K⁺ à solução nutritiva reduziu as concentrações de PST apenas em folhas no tratamento Sal1 + K⁺ (15%) (Tabela 3). Os demais órgãos, submetidos

aos diferentes tratamentos salinos, não apresentaram diferenças nas concentrações de PST após 240 horas de exposição ao NaCl. O aumento nos níveis de PST, 24 h DT, em todos os órgãos das plantas submetidas ao tratamento salino moderado, suplementado com K⁺ (Sal1 + K⁺), sugere a forte relação do potássio como cofator enzimático e a sua importante função na síntese de proteínas (MARSCHNER, 2012).

A adição moderada de NaCl à solução nutritiva (Sal1), reduziu os níveis de AALT em folhas (25%) e raízes (24%), após 24 horas de exposição ao sal (Tabela 3). No caule, houve um aumento de aproximadamente 30% nos níveis de AALT quando a planta foi submetida à 75 mM de NaCl (Sal1) (Tabela 3). As plantas que foram submetidas ao tratamento mais severo de NaCl (Sal2) apresentaram reduções nos níveis de AALT apenas em folhas (42%) e um aumento apenas no caule (38%) (Tabela 3). Após 240 horas de exposição ao NaCl, o aumento nas concentrações de AALT foi observado em todos os órgãos e em todos os tratamentos salinos, exceto no caule quando submetido à 75 mM de NaCl (Tabela 3). Em folhas, tal aumento foi de aproximadamente 2 vezes nos tratamentos Sal1 e Sal2; no caule, houve incremento de quase 3 vezes em Sal2 e; nas raízes, um aumento de 79% em Sal1 e 3 vezes mais AALT em Sal2, comparados aos seus respectivos grupos controles (Tabela 3).

Em folhas submetidas aos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2) e em raízes no tratamento Sal1, após 24 horas de exposição ao NaCl, a redução observada nos níveis de AALT pode estar relacionada a manutenção da concentração de PST, pois nestes órgãos, 24h DT, não houve diferença nos níveis deste último soluto quando foram comparados os grupos controles com os tratamentos salinos. Neste caso, é possível que as plantas tenham alterado o metabolismo dos aminoácidos com intuito de estabilizar ou ainda sintetizar novas proteínas em resposta ao estresse, como sugere Székely et al. (2008) em plantas de *Arabidopsis* sob estresse.

O aumento nos níveis de AALT em caule (Sal1 e Sal2 – 24 h DT; Sal2 – 240 h DT), folhas e raízes (Sal1 e Sal2 – 240 h DT), podem estar relacionados à limitação na síntese proteica que favorece o aumento nos níveis de AALT, indicando que há um rearranjo do metabolismo do nitrogênio sob estresse salino, possibilitando o acúmulo de aminoácidos como solutos compatíveis, através do mecanismo de síntese “*de novo*” no ambiente intracelular (SILVA et al., 2009). O acúmulo de aminoácidos solúveis foi também observado em *J. curcas* submetidas ao déficit hídrico, sendo tal resposta parte do mecanismo de ajustamento osmótico que impede a perda de água pela planta (SANTOS et al., 2013). Tal mecanismo também pode ser utilizado por *J. curcas* em condições de salinidade, pois o déficit

hídrico gerado pelo componente osmótico do estresse salino pode aumentar os níveis de AALT (SILVA et al., 2009). De acordo com Zhou e Yu (2010), o acúmulo de AALT na planta pode agir como osmólitos compatíveis, mantendo o turgor celular a potenciais hídricos inferiores ao do ambiente externo, justificando a manutenção do CRA em todos os órgãos após exposição aos diferentes tratamentos salinos, 240 h DT, do presente estudo.

O incremento de K^+ à solução nutritiva, após 24 horas de exposição ao NaCl, aumentou os níveis de AALT apenas em raízes no tratamento Sal1 + K^+ e apenas em folhas no tratamento Sal2 + K^+ , comparados aos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela 3). No caule, quando a planta foi submetida a condições severas de NaCl, suplementada com K^+ , houve uma redução nos níveis de AALT no tratamento Sal2 + K^+ , comparado ao tratamento Sal2 (Tabela 3). Após 240 horas de exposição ao NaCl, o tratamento Sal1 + K^+ aumentou os níveis de AALT em todos os órgãos da planta (folha – 68%; caule – 59%; raiz – 25%), comparados ao tratamento Sal1 (Tabela 3). No tratamento Sal2 + K^+ , 240h DT, o caule foi o único órgão que apresentou redução nos níveis de AALT (20%), comparado ao tratamento Sal2, não havendo diferenças entre folhas e raízes do tratamento Sal2 + K^+ com seus respectivos controles salinos (Sal2) (Tabela 3).

O acúmulo de AALT observado em raízes (Sal1 + K^+) e folhas (Sal2 + K^+) após 24 horas de exposição ao NaCl e também em todos os órgãos no tratamento Sal1 + K^+ , 240 h DT, podem estar relacionadas a alterações nas concentrações de potássio intracelular (SLAMA et al., 2007). Segundo Cuin e Shabala (2007), os aminoácidos podem atenuar substancialmente os efeitos do estresse salino através da homeostase iônica mediada pelo K^+ e, em última análise, aumentar a adaptação das plantas à salinidade, diminuindo o efluxo de K^+ em detrimento à indução de NaCl e contribuindo indiretamente para o ajustamento osmótico celular, através de retenções de potássio intracelular.

Após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos, houve um aumento nas concentrações de PRO somente em folhas após exposição moderada ao NaCl (Sal1 – 60%) (Tabela 3). Após exposição severa (Sal2), todos os órgãos apresentaram aumento nos níveis de PRO (folhas – 93%; caule – 26%; raízes – 29%). Contudo, após 240 horas de exposição à salinidade, apenas o caule apresentou aumento de aproximadamente 83% nos níveis de PRO quando as plantas foram submetidas à concentração moderada de NaCl (Sal1) (Tabela 3). Na concentração mais elevada de NaCl (Sal2), todos os órgãos aumentaram seus níveis de PRO (folhas – 52%; caule – 4 vezes mais PRO; raízes – 91%), comparado aos seus respectivos controles (Tabela 3).

A prolina é um dos aminoácidos que comumente estão associados à resposta da planta frente a um fator de estresse, podendo seus níveis aumentar em até 80% da reserva de aminoácidos totais (JOSEPH et al., 2015). Na maioria dos órgãos analisados no presente estudo, independente da concentração salina, observou-se um aumento nos níveis de PRO, principalmente 240 h DT. Tal elevação nas concentrações de PRO foi acompanhada do aumento nos níveis de AALT, e os valores encontrados na relação PRO/AALT, principalmente em folhas, sugerem uma relativa contribuição deste aminoácido no ajustamento osmótico de *J. curcas*. Adicionalmente, a prolina pode estar relacionada diretamente com a estabilidade da membrana (BABU et al., 2012), representado pelo percentual de VE (folhas e caule – 24 h DT), e ainda à manutenção do *status* hídrico da planta (ZENG et al., 2015), representado pelos níveis de CRA em folhas (Sal1) e raízes (Sal2), 24 h DT, e em todos os órgãos independente do tratamento salino, 240 h DT.

No tratamento salino moderado incrementado com K^+ (Sal1 + K^+), 24 h DT, apenas caule e raízes apresentaram aumentos de 30% e 74%, respectivamente, nos níveis de PRO, comparados aos seus respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 3). As folhas reduziram seus níveis de PRO em aproximadamente 32% no tratamento Sal1 + K^+ . O incremento de K^+ na concentração severa de NaCl reduziu os níveis de PRO, apenas nos caules das plantas em aproximadamente 17%, comparado ao tratamento Sal2 (24 h DT) (Tabela 3). Após 24 horas de exposição ao tratamento, tanto em folhas quanto em raízes, o incremento e K^+ à solução salina não alterou os níveis de PRO após comparação com o tratamento Sal2. Contudo, após 240 horas de exposição ao tratamento salino, o incremento de K^+ à solução salina moderada (Sal1 + K^+) aumentou a concentração de PRO em folhas (68%) e raízes (65%), comparados aos seus respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 3). A suplementação da solução salina com o K^+ aumentou os níveis de PRO apenas de folhas (aproximadamente 24%) na concentração mais severa de NaCl (Sal2 + K^+), comparado ao tratamento Sal2, não apresentando efeito nos demais órgãos, 240 h DT (Tabela 3).

O aumento nos níveis de prolina, nos tratamentos onde houve um incremento de potássio, observados em caule e raízes (Sal1 + K^+), 24 h DT, e em folhas (Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+) e raízes (Sal1 + K^+), 240 h DT, sugere uma interação entre o soluto orgânico e o soluto inorgânico. Hamdia e Shaddad (2010), discutindo a resposta de *C. dactylon* submetidas a condições salinas, concluem que a relativa tolerância desta espécie ao sal está relacionada, dentre outros fatores, ao aumento nos níveis de prolina associado ao aumento na captação de K^+ e Ca^{2+} pelo ambiente radicular, auxiliando na restrição da absorção de Na^+ . A interação

entre a suplementação de K^+ com aumento nos níveis de prolina em condições de estresse também foram observadas por Moh Zain e Ismail (2016) em *Oryza sativa*, Khan et al. (2015) em *Hibiscus esculenus* e Ahanger et al. (2015) em *Avena sativa*.

3.3 Ajustamento osmótico por carboidratos

Os AST tiveram seus níveis reduzidos em folhas com o aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao estresse (Tabela 4). Nestas folhas, o tratamento Sal1 reduziu em aproximadamente 35% os níveis de AST, 24 h DT e 48% após 240 horas de exposição ao estresse, comparados aos respectivos grupos controles (Tabela 4). Neste mesmo tratamento salino, 24 h DT, observou-se um aumento de 20% nos níveis de amido em folhas, entretanto, 240 h DT, os níveis de amido reduziram em folhas cerca de 58%. No tratamento Sal2 a redução na concentração de AST foi de 49% e 65%, após 24 e 240 horas de exposição ao NaCl, respectivamente (Tabela 4). Em Sal2, a redução observada nos AST de folhas apenas 240 h DT, foi acompanhada de reduções de 54% nos níveis de amido. Neste órgão, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao NaCl, os AR contribuíram com a maior parcela nas concentrações de AST observadas, independente do tratamento salino (Tabela 4).

No caule, após 24 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST aumentaram de acordo com o aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva (Sal1 – 73%; Sal2 – 3 vezes mais AST), comparado ao grupo controle (Tabela 4). Neste caso, após 24 horas de exposição ao NaCl, os ANR contribuem com a maior parcela nas concentrações de AST no tratamento salino moderado (Sal1) e os AR contribuem com a maior parcela nas concentrações de AST no tratamento salino severo (Sal2). Neste mesmo período, reduções de 11% e 25% foram observadas nos níveis de amido em caules expostos aos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela 4). Após 240 horas de exposição ao NaCl, observou-se no caule uma redução nos níveis de AST de acordo com o aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva (Sal1 – 44%; Sal2 – 55%), comparado ao grupo controle (Tabela 4). Contudo, no referido período, observou-se que a maior parcela na concentração de AST em caule se deu pelos AR no tratamento Sal1 e pelos ANR no tratamento Sal2. Os níveis de amido em caule, 240 h DT, não apresentaram diferença entre os tratamentos salinos e seus respectivos grupos controle (Tabela 4).

Tabela 4: Concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), açúcares redutores (AR) e amido em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	24h DT			240h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
AST (mg AST . gMS⁻¹)						
C	95,7 a	78,5 d	14,3 b	201,2 a	130,7 a	33,9 b
Sal 1	61,6 b	135,7 c	20,4 a	104,0 b	72,7 b	16,8 c
Sal 2	48,5 c	255,9 a	14,5 b	68,9 c	58,8 bc	53,2 a
Sal 1 + K ⁺	60,6 b	209,8 b	19,7 a	39,4 d	112,8 a	19,9 c
Sal 2 + K ⁺	36,3 d	247,6 a	20,6 a	96,2 b	46,6 c	63,1 a
ANR (mg ANR . gMS⁻¹)						
C	16,2 a	24,3 d	6,1 bc	13,2 a	51,5 b	4,0 c
Sal 1	14,7 a	86,7 b	15,4 a	13,2 a	28,8 c	4,5 c
Sal 2	11,8 b	104,9 a	6,8 bc	9,0 b	31,1 c	7,9 a
Sal 1 + K ⁺	14,7 a	36,8 d	7,4 b	7,8 bc	81,0 a	5,7 b
Sal 2 + K ⁺	10,7 b	92,1 ab	5,8 c	6,5 c	32,7 c	6,3 b
AR (mg AR . gMS⁻¹)						
C	79,4 a	54,1 b	8,2 b	192,6 a	67,8 a	29,9 c
Sal 1	46,8 b	54,2 b	5,6 c	90,7 b	42,9 b	12,3 d
Sal 2	36,7 b	151,0 a	8,1 b	61,2 c	27,7 c	45,2 b
Sal 1 + K ⁺	45,9 b	173,0 a	12,2 ab	33,3 d	23,6 c	14,2 d
Sal 2 + K ⁺	25,6 c	151,4 a	14,7 a	89,6 b	8,8 d	56,7 a
AMIDO (mg Amido . gMS⁻¹)						
C	23,4 c	336,0 a	14,6 ab	24,5 a	363,5 a	10,8 a
Sal 1	28,3 b	296,6 b	10,9 cd	10,1 c	352,6 a	10,4 a
Sal 2	19,0 c	249,0 cd	14,9 a	11,1 c	362,9 a	11,4 a
Sal 1 + K ⁺	35,2 a	235,7 d	10,5 d	16,2 b	348,7 a	11,8 a
Sal 2 + K ⁺	19,9 c	270,0 bc	12,7 bc	8,9 c	356,2 a	11,3 a

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student ($p \leq 0,05$).

Após 24 horas de exposição ao estresse salino, observou-se em raízes um aumento de 42% nas concentrações de AST apenas no tratamento Sal1 (Tabela 4). Durante a exposição ao estresse salino moderado (Sal1), observou-se uma maior contribuição dos ANR no aumento da concentração de AST em raízes. Neste mesmo órgão e tratamento salino, observou-se uma redução de aproximadamente 25% nos níveis de amido, 24 h DT (Tabela 4). Os níveis de AST e amido em raízes, quando expostas ao tratamento Sal2, não apresentam diferenças em relação ao grupo controle, 24h DT. Neste órgão, 240 h DT, o tratamento salino moderado (Sal1) reduziu em 50% os níveis de AST (Tabela 4). Entretanto, as raízes submetidas à

concentração mais severa de NaCl (Sal2) aumentaram em 56% os níveis de AST. Nas raízes, em ambos os tratamentos salinos, 240 h DT, os AR contribuíram com a maior parcela nas concentrações de AST (Tabela 4). Neste órgão, 240 h DT, os níveis de amido não sofreram alterações em nenhum dos tratamentos salinos.

Altas concentrações de NaCl podem causar desbalanço no perfil de carboidratos podendo aumentar ou reduzir os níveis deste soluto orgânico em todo o vegetal (SILVA et al., 2010). Em folhas de *J. curcas*, tanto 24 h DT quanto 240 h DT, é possível que as reduções observadas nos níveis de AST estejam associadas a uma redução intensa na taxa de assimilação de CO₂ acompanhada de forte decréscimo dos conteúdos de sacarose em folhas (SOUSA et al., 2012) e/ou pelo aumento na intensidade de translocação dos fotoassimilados das folhas para outros órgãos da planta (ALBACETE et al., 2014). Alterações no metabolismo fotossintético de *J. curcas* foram relacionadas a exposição desta espécie à salinidade e ao déficit hídrico por Silva et al. (2010), Díaz-López et al. (2012) e Garcia-Almodovar et al. (2014).

As reduções nos níveis de AST e ANR em folhas podem ser relacionadas ao aumento nos níveis de AST em caule (Sal1 e Sal2) e em raízes apenas no tratamento salino moderado (Sal1), quando expostas a 24 horas de exposição aos tratamentos salinos. Já após 240 horas de exposição, as reduções observadas nos AST e ANR estão associadas ao aumento nos níveis de AST em raízes apenas no tratamento salino severo (Sal2). Em ambos os casos, pode-se inferir que o aumento na translocação destes solutos das folhas (órgão fonte) para tecidos não fotossintetizantes (órgãos dreno) ocorreu na tentativa de suprir a demanda por açúcares nos órgãos basais do vegetal, estratégia comum utilizada por plantas expostas à salinidade (ALBACETE et al., 2014).

Especificamente no tratamento Sal1 em folhas (24 h DT) e em ambos os tratamentos salinos em caule (240 h DT), as reduções nos níveis de AST nestes dois órgãos podem estar relacionadas ao aumento ou manutenção nos níveis de amido. O acúmulo de amido pode ser resultado da síntese deste polissacarídeo a partir da hidrólise da sacarose, quando as plantas são submetidas à salinidade (PATTANAGUL & THITISAKSAKUL, 2008). As plantas acumulam e armazenam carboidratos na forma de amido, podendo este ser mobilizado em períodos de fornecimento limitado ou aumento das demandas energéticas, comuns durante o estresse salino (KRÁSENSKÝ et al., 2012).

Provavelmente, o acúmulo de AST (24 h DT) e amido (240 h DT) em caules de *J. curcas*, sugerem a ocorrência tanto de um aumento na intensidade de drenagem dos

2147 fotoassimilados das folhas para o caule (ALBACETE et al., 2009), quanto pela função de
2148 estrutura armazenadora de carboidratos exercida por este órgão, sendo responsável por
2149 transportar tais solutos para os demais órgãos da planta sob condições de estresse (GARCIA-
2150 ALMODOVAR et al., 2014).

2151 Especificamente após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos, o acúmulo de
2152 AST observados tanto em caule (Sal1 e Sal2) quanto em raízes (Sal1), aparentemente não
2153 estão relacionados à uma manutenção do *status* hídrico destes órgãos em condições de
2154 salinidade. Contudo, é possível que tal incremento nos valores deste soluto esteja relacionado
2155 ao aumento da hidrólise de amido, representado pelas reduções nas concentrações deste soluto
2156 nos mesmos tratamentos do presente trabalho, ou ainda, sugere a diminuição da sua utilização
2157 como fonte de esqueletos de carbono para a biossíntese e crescimento da planta (SILVA et al.,
2158 2010).

2159 Curiosamente, após 240 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST em caule
2160 reduziram, sugerindo uma mudança de estratégia da planta em função do tempo de exposição
2161 aos tratamentos salinos. As reduções nos níveis de ANR no caule, 240 h DT, principalmente
2162 no tratamento Sal1, podem estar associados à frequente redução na migração destes açúcares
2163 das folhas para o caule, comuns em plantas submetidas à salinidade (McCORMICK et al.,
2164 2008). No estudo de Díaz-López et al. (2012), as concentrações de AST em caules de *J.*
2165 *curcas* também foram reduzidas com o incremento de NaCl na solução nutritiva.

2166 O acúmulo de AST observado em caule de *J. curcas* em ambos tratamentos com NaCl,
2167 24 h DT, não foram suficientes para manter o *status* hídrico deste órgão em ambiente salino,
2168 porém podem ter contribuído para a manutenção da integridade das membranas celulares
2169 neste órgão, como representado pela manutenção da taxa de VE. Aumentos nos níveis de
2170 ANR em caule, como observados no presente estudo, sugerem a contribuição da sacarose na
2171 proteção e estabilização das membranas celulares de tecidos desidratados (HASSINE &
2172 LUTTS, 2010).

2173 Após 240 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST em raízes aumentaram no
2174 tratamento Sal2. A capacidade de acúmulo de AST em células radiculares pode estar
2175 relacionada a um mecanismo de resistência ao sal (FLOWERS, 2004). O acúmulo
2176 principalmente de AR no presente estudo sugere a contribuição das hexoses na osmoproteção
2177 e ajustamento osmótico principalmente nas regiões de crescimento, como ocorre em algumas
2178 espécies (ASHRAF & HARRIS, 2004). O aumento nos níveis de AST em raízes expostas ao
2179 estresse salino severo (Sal2) parece contribuir para a manutenção do CRA deste órgão. Em

plantas jovens de *J. curcas* o aumento nos níveis de AST estão relacionados à manutenção do ajustamento osmótico de raízes quando expostas a condições de restrição hídrica (SILVA et al., 2010).

A suplementação com K^+ após 24 horas de exposição à solução salina reduziu em 25% os níveis de AST em folhas apenas no tratamento salino severo (Sal2 + K^+), comparado ao tratamento Sal2 (Tabela 4). A redução nos níveis de AST se deu principalmente devido a reduções de 30% nos níveis de AR. Em folhas submetidas ao tratamento Sal2 + K^+ , 24 h DT, os níveis de amido não foram alterados. Da mesma forma, 240 h DT, observou-se uma redução de aproximadamente 62% nos níveis de AST, neste mesmo órgão, após exposição ao tratamento Sal1 + K^+ , comparado ao tratamento Sal1 (Tabela 4). Tal redução foi acompanhada da diminuição nos níveis de ANR (40%) e AR (63%), porém os níveis de amido aumentaram em aproximadamente 60%, neste mesmo tratamento após 240 horas de exposição. Em folhas expostas ao tratamento Sal2 + K^+ , 240 h DT, o aumento de 39% nos níveis de AST foi acompanhado do incremento de 31% nos níveis de AR que se deu provavelmente em detrimento à redução de 27% nos níveis de ANR (Tabela 4).

No caule, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao tratamento Sal1 + K^+ , observou-se que o incremento de K^+ à solução salina aumentou os níveis de AST em aproximadamente 55%, em ambos os períodos de exposição e comparados ao tratamento Sal1 (Tabela 4). Após 24 horas de exposição ao tratamento Sal1 + K^+ , observou-se uma redução de 20% nos níveis de amido, comparado ao tratamento Sal1, enquanto que após 240 h de exposição ao tratamento Sal1 + K^+ , os níveis de amido permaneceram semelhantes ao controle salino (Sal1). Caules expostos aos tratamentos Sal2 + K^+ , tanto 24 quanto 240 h DT, não apresentaram alterações nos níveis de AST e amido após a suplementação de K^+ à solução salina (Tabela 4). Contudo, 24h DT, verificou-se que os AR contribui com a maior parcela dos AST encontrados nos caules expostos ao tratamento Sal1 + K^+ , enquanto que, 240 h DT, são os ANR que contribuem com a maior parcela dos AST neste mesmo órgão e tratamento salino (Tabela 4).

O aumento nos níveis de AST em raízes, 24 h DT, apenas foi observado no tratamento Sal2 + K^+ (41%), comparado ao tratamento Sal2 (Tabela 4). Após 24 horas de exposição, observou-se um aumento apenas nos níveis de AR (81%), comparado ao tratamento Sal2, contribuindo assim com a maior parcela na concentração de AST em raízes submetidas ao tratamento Sal2 + K^+ (Tabela 4). Neste mesmo tratamento e período de exposição, uma redução de 14% nos níveis de amido foi observada em raízes. Após 240 horas de exposição ao

NaCl, os tratamentos Sal1 + K⁺ e Sal2 + K⁺ não apresentaram diferenças nos níveis de AST e amido comparados aos seus respectivos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2) (Tabela 4).

As concentrações de AST em folhas, 24 h DT, reduziram após exposição ao tratamento Sal2 + K⁺, acompanhado de reduções principalmente nos níveis de AR. Neste mesmo tratamento e período de exposição, observou-se também um aumento nos níveis de AST em raízes, acompanhados do incremento de AR neste mesmo órgão. Tal evento sugere a participação do potássio na translocação de hexoses das folhas para as raízes em condições de salinidade. Especificamente após 240 h DT, a redução de AST acompanhadas da diminuição de ANR, observada em folhas no tratamento Sal1 + K⁺, pode estar relacionada ao aumento de AST e ANR em caule de *J. curcas* neste mesmo tratamento. Neste caso, a adição de K⁺ à solução salina facilitou o transporte de sacarose das folhas para o caule, pois o potássio pode ativar enzimas que estão envolvidas no processo de transporte de sacarose, havendo assim uma relação de co-transporte entre estes dois solutos (YUAN et al., 2015). Adicionalmente, o aumento nos níveis de amido em detrimento à redução dos AST no tratamento Sal1+K⁺ sugere a atuação do potássio como cofator enzimático de enzimas responsáveis pela síntese deste polissacarídeo (RANADE-MALVI, 2011).

O acúmulo de AST, especialmente dos AR, observado em folhas de *J. curcas* submetidas ao tratamento Sal2 + K⁺, 240 h DT, pode estar relacionado à contribuição na manutenção dos níveis de CRA de ambos os órgãos submetidos a condição de estresse. Para Saglam et al. (2010), os açúcares e especialmente a glicose são os solutos orgânicos preferencialmente utilizados no ajustamento osmótico das células, permitindo que a planta continue a absorção de água em condições de deficiência hídrica, como observados no presente estudo.

O aumento nos níveis de AST em caule 24 horas após exposição ao tratamento Sal1 + K⁺ pode ter ocorrido por meio da redução nos níveis de amido. Em condições salinas, a similaridade entre os íons K⁺ e Na⁺ pode dificultar a absorção do primeiro e afetar a taxa de conversão dos açúcares solúveis em amido, pois baixos níveis de K⁺ nos tecidos vegetais reduzem a atividade catalítica de enzimas que dependem deste íon para a sua síntese (DKHIL & DENDEN, 2010; RANADE-MALVI, 2011). Adicionalmente, o acúmulo nos níveis de AST no tratamento Sal1 + K⁺, 240 h DT, pode ter contribuído para um acúmulo maior de amido, comparado à 24 h DT em caules de *J. curcas*. Neste caso, a suplementação com potássio pode ter aumentado a atividade das enzimas envolvidas na síntese de amido, pois concentrações adequadas de K⁺ favorecem a ativação destas enzimas (WAKEEL et al., 2011).

Um aumento nas concentrações de carboidratos no caule também foi observado por Díaz-López et al. (2012) e Silva et al. (2010) estudando *J. curcas* em ambiente salino, estando este efeito associado à função de estrutura acumuladora de açúcares solúveis e amido que podem auxiliar no ajustamento osmótico de plantas desta espécie.

Em raízes, alterações nos níveis de AST e amido foram percebidos apenas no tratamento Sal2 + K⁺ e após 24 horas de exposição. O aumento nos níveis de AST em raízes (Sal2 + K⁺), 24 h DT, foi estimulado pelo incremento do potássio à solução salina que, neste caso, pode ter contribuído para a manutenção dos níveis de CRA observados neste mesmo tratamento e período de exposição. Para Shabala e Cuin (2007) e Pérez-Peréz et al. (2009), alterações nos níveis de potássio associados a mudanças nos níveis de açúcares podem contribuir substancialmente para a osmorregulação de espécies vegetais sob salinidade, como observados no presente estudo. O aumento na síntese e acúmulo de açúcares solúveis totais associados à importância de concentrações ideais de potássio para o cultivo de plantas em condições de estresse foram reportados por Ahanger et al. (2015) e Khan et al. (2015) estudando *A. sativa* e *H. esculenus*, respectivamente.

A maior contribuição dos AR no *pool* total de AST, na maioria dos órgãos estudados, independente do tratamento salino, incrementado ou não com potássio, pode estar relacionado, possivelmente, ao predomínio da glicose e frutose na parcela de AST, sendo assim os mais importantes para o metabolismo das plantas (McCORMICK et al., 2008). É possível também que ocorra a liberação de hexoses a partir da hidrólise da sacarose, favorecendo a utilização de seus produtos em processos anabólicos ou catabólicos favorecendo a manutenção do crescimento e/ou armazenamento nos diferentes órgãos (CHAVES FILHO & STACCIARINI-SERAPHIN, 2001). Para Fougere et al. (1991) e Zhu (2002), solutos compatíveis como sacarose e glicose são importantes para minimizar o estresse osmótico induzido pela salinidade. Entretanto, no presente estudo, as contribuições destes compostos para a manutenção nas taxas de CRA não ficaram claras.

De forma geral, as variações observadas nos níveis dos principais representantes do metabolismo de carboidratos não permitem afirmar a real contribuição de açúcares no ajustamento osmótico durante o estresse salino em *J. curcas*. Para Sánchez et al. (1998) a contribuição dos carboidratos no efetivo ajustamento osmótico só é possível a partir do conhecimento da proporção entre monossacarídeos, dissacarídeos e oligossacarídeos. Para Khelil et al. (2007) e Dkhil & Denden (2010), variações nos níveis de AST podem ainda

sugerir distúrbios no metabolismo de carboidratos, sendo os esqueletos de carbono utilizados como fonte de energia facilmente disponível para células sob condições de estresse.

4. CONCLUSÕES

1- Plantas de *Jatropha curcas* submetidas a condições de salinidade e suplementadas com potássio apresentam respostas complexas e moduladas de acordo com o órgão, a dose e o tempo de exposição.

2- O NaCl causou danos as membranas celulares e foi responsável por reduções no *status* hídrico da planta evidenciando assim o efeito do componente osmótico do estresse salino após 24 horas de estresse.

3- Após 240 horas de exposição, a planta recupera seu *status* hídrico devido à acumulação de solutos orgânicos, utilizando, portanto, a estratégia de ajustamento osmótico.

4- Em ambos os períodos de exposição, a osmorregulação se dá em cada órgão especificamente de acordo com a dose de NaCl aplicada à solução, estando as proteínas solúveis, os aminoácidos livres, a prolina e os carboidratos totais agindo como osmólitos compatíveis e atuando de forma conjunta ou não na mitigação dos efeitos osmóticos da salinidade.

5- A complexidade e a modulação da estratégia de resistência foram influenciadas pela suplementação de potássio à solução salina, estando este íon atuando no incremento das concentrações dos osmóticos em cada órgão especificamente.

5. REFERÊNCIAS

AHANGER, M. A.; AGARWAL, R. M.; TOMAR, N. S.; SHRIVASTAVA, M. Potassium induces positive changes in nitrogen metabolism and antioxidant system of oat (*Avena sativa* L cultivar Kent). **Journal of Plant Interactions**, v. 10, n. 1, p. 211-223, 2015.

ALBACETE, A.; MARTINEZ-ANDUJAR, C.; GHANEM, M. E.; ACOSTA, M.; SANCHEZ-BRAVO, J.; ASINS, M. J.; CUARTERO, J.; LUTTS, S.; DODD, I. C.; PEREZ-ALFOCEA, F. Rootstock-mediated changes in xylem ionic and hormonal status are correlated with delayed leaf senescence and increased leaf area and crop productivity in salinised tomato. **Plant Cell Environ**, v. 32, p. 928–938, 2009.

ALBACETE, A. A.; MARTINEZ-ANDUJAR, C.; PEREZ-ALFOCEA, F. Hormonal and metabolic regulation of source–sink relations under salinity and drought: from plant survival to crop yield stability. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 12–30, 2014.

ALENCAR, N. L. M.; GADELHA, C. G.; GALLÃO, M. I.; DOLDER, M. A. H.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Ultrastructural and biochemical changes induced by salt stress in

- Jatropha curcas seeds during germination and seedling development. **Functional Plant Biology**, v. 42, p. 865–874, 2015.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.
- ASHRAF, M.; RAHMATULLAH, R.; AHMAD, A. S.; BHATTI, M.; AFZAL, A.; SARWAR, M. A.; MAQSOOD; S. KANWAL. Amelioration of Salt Stress in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) by Supplying Potassium and Silicon in Hydroponics. **Pedosphere**, v. 20, n. 2, p. 153–162, 2010.
- BABU, M. A.; SINGH, D.; GOTHANDAM, K. M. The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 22, n. 1, p. 159-164, 2012.
- BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J.M. Water Deficit Effects on Solute Contribution to Osmotic Adjustment as a Function of Leaf Ageing in Three Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Cultivars Performing Differently in Arid Conditions. **Plant Science**, v. 160, p. 669–681, 2001.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- CHAVES FILHO, J.T. & STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.
- CUIN, T. A.; SHABALA, S. Amino acids regulate salinity-induced potassium efflux in barley root epidermis. **Planta**, v. 225, p. 753–761, 2007.
- 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 Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 34–42, 2012.
- DICHIO, B.; MARGIOTTA, G.; XILOYANNIS, C.; BUFO, S. A.; SOFO, A.; CATALDI, T. R. I. Changes in water status and osmolyte contents in leaves and roots of olive plants (*Olea europaea* L.) subjected to water deficit. **Trees**, v. 23, p. 247–256, 2009.

- DKHIL, B. B.; DENDEN, M. Salt stress induced changes in germination, sugars, starch and enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. (Moench.) seeds. **African Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 12, p. 1412–1418, 2010.
- D’SOUZA, M. R. D.; DEVARAJ, V. R. Biochemical responses of Hyacinth bean (*Lablab purpureus*) to salinity stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 341–353, 2010.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 307-319, 2004.
- FOUGERE, F.; LE RUDULIER, D.; STREETER, J. G. Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant Physiology**, v. 96, p. 1228–1236, 1991.
- GARCIA-ALMODOVAR, C.; GIMENO, V.; NIEVES, M.; DIAZ-LOPEZ, L.; SIMON, I.; GARCIA-SANCHEZ, F. Improving the tolerance of *Jatropha curcas* L. plants to abiotic stresses. **CAB Reviews**, v. 9, n. 4. p. 1-10, 2014.
- GAO, S.; OUYANG, C.; WANG, S.; XU, L. Y.; CHEN, T. F. Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. **Plant, Soil and Environment**, v. 54, p. 374–381, 2008.
- HAMDIA, M. A.; SHADDAD, M. A. K. Salt tolerance of crop plants. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 6, n. 3, p. 64-90, 2010.
- HESSINI, K.; MARTÍNEZ, J. P.; GANDOUR, M.; ALBOUCHI, A.; SOLTANI, A.; ABDELLY, C. Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and water-use efficiency in *Spartina alterniflora*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 2, p. 312–319, 2009.
- HASSINE, A. B.; LUTTS, S. Differential responses of saltbush *Atriplex halimus* L. exposed to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p. 1448–1456, 2010.
- HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
- IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.
- JOSEPH, E. A.; RADHAKRISHNAN, V. V.; MOHANAN, K. V. A Study on the accumulation of proline - an osmoprotectant amino acid under salt stress in some native rice cultivars of North Kerala, India. **Universal Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 1, p. 15-22, 2015.

- KHAN, A.; SHAHEEN, F.; AHMAD, K.; KHAN, Z. I.; SHAH, A.; NAWAZ, H. Amelioration of adverse effects of salt stress in okra (*Hibiscus esculentus* L.) by foliar application of proline. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 15, n. 11, p. 2170–2179, 2015.
- KHELIL, A.; MENU, T.; RICARD, B. Adaptive response to salt involving carbohydrate metabolism in leaves of a salt-sensitive tomato cultivar. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 45, n. 8, p. 551–559, 2007.
- KRÁSENSKÝ, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p. 1593–1608, 2012.
- LAVIOLA, B. G.; ALVES, A. A.; ROCHA, R. B.; DRUMOND, M. A. The importance of *Jatropha* for Brazil. In: CARELS, N.; SUJATHA, B.; BAHADUR, B. (Ed.). **Jatropha, challenges for a new energy crop. Volume 1: farming, economics and biofuel**. New York: Springer, 2013; p. 71–94.
- LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 79-85, 2008.
- MARQUES, E. C.; FREITAS, P. A. F.; ALENCAR, N. L. M.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Increased Na⁺ and Cl⁻ accumulation induced by NaCl salinity inhibits cotyledonary reserve mobilization and alters the source-sink relationship in establishing dwarf cashew seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 2171–2182, 2013.
- MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3.ed. London, UK: Academic Press, 2012; p. 178–189.
- MCCORMICK, A. J.; CRAMER, M. D.; WATT, D. A. Differential expression of genes in the leaves of sugarcane in response to sugar accumulation. **Tropical Plant Biology**, v. 1, p. 142–158, 2008.
- MCCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156–1158, 1950.
- MISRA, A. K. Impact of Urbanization on the Hydrology of Ganga Basin (India). **Water Mesources Management**, v. 25, p. 705–719, 2011.
- MIZYED, N. Impact of climate change on water resources availability and agricultural water demand in the west bank. **Water Mesources Management**, v. 23, n. 10, p. 2015–2029, 2009.
- MOH ZAIN, N. A.; ISMAIL, M. R. Effects of potassium rates and types on growth, leaf gas exchange and biochemical changes in rice (*Oryza sativa*) planted under cyclic water stress. **Agricultural Water Management**, v. 164, p. 83–90, 2016.
- MOHAMMDKANI, N.; HEIDARI, R. Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. **Turkish Journal of Biology**, v. 32, p. 23–30, 2008.

- MORRIS, D. L. Quantitative determination of carbohydrates with Drywood's anthrone reagent. **Science**, v. 107, n. 1, p. 254–255, 1948.
- OLIVEIRA, M. D. M.; BEZERRA, L. L.; DANTAS, C. V. S.; VOIGT, E. L.; MAIA, J. M.; MACÊDO, C. E. C. The role of xylopodium in Na⁺ exclusion and osmolyte accumulation in faveleira [*Cnidioscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 2871–2882, 2014.
- OUSLATI, S.; KARRAY-BOURAOUI, N.; ATIA, H.; RABHI, M.; KSOURI, R.; LACHASAL, M. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 289–296, 2010.
- PATTANAGUL, W.; THITISAKSAKUL, M. Effect of salinity stress on growth and carbohydrate metabolism in three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity tolerance. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 46, p. 736–742, 2008.
- PENG, Z.; WANG, M.; LI, F.; LV, H.; LI, C.; XIA, G. A proteomic study of the response to salinity and drought stress in an introgression strain of bread wheat. **Molecular and Cellular Proteomics**, v. 8, p. 2676–2686, 2009.
- PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian International Center of Agricultural Research, 1989. 76p.
- PÉREZ-PÉREZ, J. G.; ROBLES, J. M.; TOVAR, J. C.; BOTÍA, P. Response to drought and salt stress of lemon ‘Fino 49’ under field conditions: water relations, osmotic adjustment and gas exchange. **Scientia Horticulturae**, v. 122, p. 83–90, 2009.
- RANADE-MALVI, U. Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 1, p. 106–109, 2011.
- RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L. VOIGT, E. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. High K⁺ supply avoids Na⁺ toxicity and improves photosynthesis by allowing favorable K⁺ : Na⁺ ratios through the inhibition of Na⁺ uptake and transport to the shoots of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, p. 157–164, 2013.
- SAGLAM, A.; TERZI, R.; NAR, H.; SARUHAN, N.; AYAZ, F. A.; KADIOGLU, A. Inorganic and organic solutes in apoplastic and symplastic spaces contribute to osmotic adjustment during leaf rolling in *Ctenanthe setosa*. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 52, n. 1, p. 37–44, 2010.
- SÁNCHEZ, F. J.; MANZANARES, M.; ANDRES, E. F. de; TENÓRIO, J. L.; AYERBE, L. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. **Field Crops Research**, v. 59, p. 225–235, 1998.
- SANTOS, C. M. DOS.; VERISSIMO, V.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; FERREIRA, F. M.; CAVALCANTE, P. G. S.; ROLIM, E. V.; ENDRES, L. Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical

- responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water stress. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 203–213, 2013.
- SHABALA, S.; CUIN, T. A. Potassium transport and plant salt tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 133, p. 651–669, 2007.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.
- SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1130–1137, 2010.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K^+ , osmotic adjustment and K^+/Na^+ homeostasis. **Plant Biology**, v. 17, p. 1023–1029, 2015.
- SLAMA, I.; GHNAYA, T.; HESSINE, K.; MESSEDI, D.; SAVOURÉ, A.; ABDELLY, C. Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 61, p. 10–17, 2007.
- SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; LIMA NETO, M. C.; LACERDA, C. F.; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados em pinhão-mansão irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 10, p. 1428–1435, 2012.
- SZÉKELY, G.; ÁBRAHÁM, E.; CSÉPLŐ, Á.; RIGÓ, G.; ZSIGMOND, L.; CSISZÁR, J.; AYAYDIN, F.; STRIZHOV, N.; JÁSIK, J.; SCHMELZER, E.; KONCZ, C.; SZABADOS, L. Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. **The Plant Journal**, v. 53, p. 11–28, 2008.
- VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22, 1968. 280p.
- WAKEEL, A.; FAROOQ, M.; QADIR, M.; SCHUBERT, S. Potassium substitution by sodium in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 30, n. 4, p. 401–413, 2011.
- WANG, M.; ZHENG, Q.; SHEN, Q.; GUO, S. The critical role of potassium in plant stress response. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 7370–7390, 2013.
- YANG, M. F.; LIU, Y. J.; LIU, Y.; CHEN, H.; CHEN, F.; SHEN, S. H. Proteomic analysis of oil mobilization in seed germination and post-germination development of *Jatropha curcas*. **Journal of Proteome Research**, v. 8, p. 1441–1451, 2009.
- YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, p. 508–514, 1954.

- YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. **Salt stress tolerance of plants.**, West Lafayette: JIRCAS Working Report, 2002. p. 25-33.
- YUAN, H.; WU, Y.; LIU, W.; LIU, Y.; GAO, X.; LIN, J.; ZHAO, Y. Mass spectrometry-based method to investigate the natural selectivity of sucrose as the sugar transport form for plants. **Carbohydrate Research**, v. 407, p. 5-9, 2015.
- ZENG, Y.; LI, L.; YANG, R.; YI, X.; ZHANG, B. Contribution and distribution of inorganic ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to salt stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. 13639, 2015.
- ZHANG, L.; ZHANG, C.; WU, P.; CHEN, Y.; LI, M.; JIANG, H.; WU, G. Global analysis of gene expression profiles in physic nut (*Jatropha curcas* L.) seedlings exposed to salt stress. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, 2014.
- ZHOU, Q.; YU, B. Changes in content of free, conjugated and bound polyamines and osmotic adjustment in adaptation of vetiver grass to water deficit. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 417–425, 2010.
- ZHU J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, v. 53, p. 247-273, 2002.
- ZRIG, A.; BEN MOHAMED, H.; TOUNEKTİ, T.; ENNAJEH, M.; VALERO, D.; KHEMIR, H. A comparative study of salt tolerance of three almond rootstocks: contribution of organic and inorganic solutes to osmotic adjustment. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, p. 675–689, 2015.

2606
2607
2608
2609
2610
2611
2612
2613
2614
2615
2616
2617
2618
2619
2620
2621
2622
2623
2624
2625
2626
2627
2628
2629
2630
2631
2632
2633
2634
2635
2636
2637
2638

CAPÍTULO IV

**SUPLEMENTAÇÃO COM CÁLCIO AUXILIA O BALANÇO IÔNICO DE *Jatropha*
curcas L. SUBMETIDAS A CONCENTRAÇÕES DE NaCl E MINIMIZA OS
EFEITOS TÓXICOS DO SÓDIO**

RESUMO

O incremento de cálcio na solução salina em plantas *Jatropha curcas*, submetidas a três tratamentos salinos (controle; 75 e 150 mM de NaCl) suplementados com 6 mM de Ca^{2+} foi avaliado em folhas, caule e raízes durante 24 e 240 horas de exposição baseando-se em dados de crescimento, *status* hídrico, integridade das membranas, cálcio e sódio. O sal reduziu o crescimento das plantas em todos os tratamentos, independente do tempo de exposição. O *status* hídrico das plantas, após 24 h, foi mantido em folhas (75 mM) e raízes (150 mM) e em todos os órgãos, após 240 h, independente da adição de Ca^{2+} . Não houve danos às membranas nos tratamentos 75 e 150 mM, em folhas e caule, após 24h. Os níveis de sódio aumentaram independente do órgão e tratamento, porém os de Ca^{2+} foram maiores que o Na^+ minimizando a toxicidade iônica ($\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$) em quase todos os órgãos da planta, independente do tempo. Observou-se maiores valores $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ nos tratamentos salinos suplementados com Ca^{2+} . Conclui-se que o incremento de Ca^{2+} à solução salina auxiliou na manutenção da homeostase iônica e contribuiu para o aumento da relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$, reduzindo o efeito tóxico do sódio na maioria dos órgãos estudados, independente do tempo de exposição ao NaCl e dose utilizada.

Palavras-chaves: Pinhão-mansão, toxicidade iônica, estresse salino, Ca^{2+} .

ABSTRACT

Calcium increase in the saline in *Jatropha curcas* plants were submitted to three saline treatments (control, 75 and 150 mM NaCl) supplemented with 6 mM Ca^{2+} was measured in leaves, stems and roots for 24 and 240 hours of exposure based on data growth, water status, membrane integrity, potassium and sodium. The salt reduced the growth of plants in all treatments, regardless of time. The water potential of the plants, after 24 hours, was maintained in shoots (75 mM) and roots (150 mM) and all organs after 240 hours, regardless of the addition of Ca^{2+} . There was no damage to the membranes in the treatments 75 to 150 mM in leaf and stem after 24 h. The sodium levels increased independent of the organ and treatment, but Ca^{2+} were higher than the Na^+ ion minimizing toxicity ($\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$) in almost all organs of the plant, independent of time. Higher values observed $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ in saline treatments supplemented with Ca^{2+} . It was concluded that increased Ca^{2+} at saline aided in the maintenance of homeostasis and contribute to the increase of the $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$, reducing the toxic effect of sodium in most of the organs studied, regardless of the time of exposure to NaCl and dose.

Keywords: Physic nut, ionic toxicity, salt stress, Ca^{2+} .

1. INTRODUÇÃO

A alta concentração de sais é um problema agrícola e eco-ambiental mundial que não somente reduz a produtividade e a qualidade da cultura pela diminuição do potencial hídrico do solo e por provocar a toxicidade iônica em diferentes culturas, mas também limita a escolha destas culturas (ROY et al., 2014; NING et al., 2015). Estimasse que a eficiência dos sistemas de irrigação, na maioria das áreas irrigadas do mundo, atinja aproximadamente 50% (DAGAR & MINHAS, 2016). Tal cenário sugere um relativo grau de salinização da água

utilizada para este fim e levanta a suspeita do uso indiscriminado de águas salinas devido à ausência de estratégias adequadas de manejo do solo, da água e dos sistemas de cultivo, gerando um alerta sobre graves riscos à saúde do solo e do meio ambiente (MINHAS et al., 2015).

Os efeitos negativos da salinidade sobre o crescimento e os processos metabólicos das plantas estão, sobretudo, associados com a perda da homeostase hídrica, a toxicidade por íons e a deficiência nutricional (SEDAY et al., 2014). Nestas condições, a composição mineral dos vegetais é alterada e o principal motivo é a interação entre os íons na rizosfera, o que interfere diretamente e principalmente nas relações $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ e Na^+/K^+ por meio da competição entre estes solutos (NING et al., 2015). O desbalanço iônico a nível celular, gerado pelo excesso de NaCl, não somente reduz a disponibilidade de cálcio, mas também prejudica o seu transporte e mobilidade para órgãos vegetativos e reprodutivos das plantas (SHORESH et al., 2011).

Os efeitos da suplementação com cálcio a ambientes salinos são amplamente relatados e estão associados à mitigação dos sintomas da toxicidade pelo sódio em várias espécies de plantas (SHORESH et al., 2011). O cálcio desempenha um papel essencial nos processos que preservam a integridade estrutural e funcional das membranas celulares dos vegetais, atuando na estabilização da parede celular, auxiliando o transporte e seletividade de íons, e ainda, regulando algumas atividades enzimáticas ou atuando na transdução de sinal (SUN et al., 2010). Apesar da atuação do Ca^{2+} na mitigação dos danos à salinidade ainda não serem completamente compreendidos, estudos recentes sugerem alguns mecanismos de atuação, como por exemplo, a importante função do cálcio em suprimir diretamente a importação de sódio por canais de cátions não seletivos (RANADE-MALVI, 2011), e ainda, a sua atuação como cofator de enzimas da família SOS (*salt overly sensitive*), responsável pelo mecanismo de exclusão de Na^+ através de proteínas antiportadoras, localizadas na membrana plasmática (HASEGAWA, 2013).

Algumas espécies apresentam mecanismos eficientes de controle da homeostase iônica quando estão expostas a condições de salinidade, uma delas é *J. curcas* (SILVA et al., 2015). Está espécie, pertencente à família das Euforbiáceas, é um arbusto grande, de crescimento rápido, encontrado principalmente na região nordeste do Brasil, mas com vasta distribuição devido à sua rusticidade e fácil adaptação a diferentes condições edafoclimáticas (ANDRÉO-SOUZA et al., 2010). A espécie é considerada resistente à seca e não somente se desenvolve em vários tipos de solos, como os salino-sódicos, mas também, o plantio de *J. curcas* melhora a fertilidade e diminui a sodicidade do solo (ANDRÉO-SOUZA et al., 2010; SINGH et al.

2013). A espécie apresenta muitos valores comerciais, dentre eles, destacam-se a utilização do óleo obtido a partir de suas sementes como matéria-prima para a produção de biodiesel (KOH & MOHD GHAZI, 2011), e ainda, a sua utilização nos processos de reflorestamento de áreas em processo de desertificação (MAKKAR & BECKER, 2009).

Apesar da grande demanda por informações sobre *J. curcas*, os trabalhos de pesquisa se encontram em fase inicial. Ainda não há material selecionado, sistema de produção e zoneamentos agrícolas definidos, o que restringe a ciência do real potencial da planta. Assim, existe uma importante demanda por pesquisas na área da tecnologia de cultivo, sobretudo àquelas que garantam a domesticação e o melhoramento genético da espécie, para que assim seja possível apresentar níveis econômicos aceitáveis de produção de óleo de suas sementes em condições edafoclimáticas típicas do semiárido.

A resposta dos vegetais ao estresse salino é considerada complexa, pois depende da espécie, do nível de sal no meio de crescimento, do período de exposição ao estresse, do genótipo e do estágio de desenvolvimento da planta (BAHRANI & JOO, 2011; ASHRAF & ASHRAF, 2012). Contudo os problemas da salinidade e/ou déficit hídrico poderão ser amenizados através da seleção de genótipos, ou ainda, do aprimoramento genético de espécies tolerantes a ambos os estresses. Em ambos os casos, estudos que envolvam critérios fisiológicos e bioquímicos podem fornecer ferramentas que garantam avanços na seleção ou melhoramento desta espécie.

Assim, dada à importância da *Jatropha curcas* L. para a produção de biocombustíveis e dos efeitos negativos do estresse salino na atividade agrícola, este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho da espécie quanto à resposta ao suplemento de Ca^{2+} à solução salina, visando uma melhor compreensão da ação deste íon na mitigação dos efeitos iônicos da salinidade através de indicadores de crescimento, de *status* hídrico e de integridade das membranas. Espera-se identificar neste estudo se a suplementação com o Ca^{2+} contribui para a regulação da homeostase iônica em diferentes órgãos de *J. curcas* e se a aplicação deste soluto pode ser utilizada como uma estratégia para minimizar os efeitos deletérios do sal no crescimento das plantas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de *J. curcas* (acesso CNPAPM-XVIII) obtidas a partir da germinação em sistema de rolos de papel toalha (BRASIL, 2009) foram transferidas, oito dias após a germinação, para o sistema hidropônico em frascos contendo 0,8 L de solução Hoagland e

Arnon (1950) com ½ de força, pH 6,0, sob aeração constante com bombas de aquariofilia para manter a oxigenação do sistema radicular das plantas. A solução nutritiva foi completada diariamente para compensar a perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para reposição dos macro e micronutrientes. As plantas permaneceram nestas condições por 30 dias, para aclimação. Após este período, as plantas com cinco folhas completamente expandidas foram selecionadas e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução de Hoagland e Arnon. À solução nutritiva foram acrescidos ou não os tratamentos salinos: Controle (C); 75 (Sal1) e 150 mM (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 6 mM de cálcio em forma de CaSO₄, duplicando-se sua concentração na solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e correspondendo aos tratamentos: 75 mM de NaCl + 6 mM de Ca²⁺ (Sal1 + Ca²⁺) e 150 mM de NaCl + 6 mM de Ca²⁺ (Sal2 + Ca²⁺). O incremento das concentrações de NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50 mM por dia até atingir a concentração final pretendida, para evitar o choque osmótico.

Após 24 e 240 horas de exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes foram coletados e analisados. O material vegetal foi avaliado quanto a indicadores de crescimento vegetal; o estado hídrico da planta; a integridade das membranas celulares e indicadores de estresse iônico de todos os tratamentos.

Para a avaliação dos indicadores de crescimento, utilizou-se metodologias não destrutivas expressas por equações matemáticas conforme recomendação de Silva et al. (2000). A taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) foi calculada através da equação: $TCRC = (\ln L_2 - \ln L_1) / (t_2 - t_1)$ [cm . (cm . dia)⁻¹], onde: L₁ corresponde a medida da altura da planta no tempo inicial t₁ e L₂ a altura da planta no tempo final t₂. A taxa de crescimento relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) foi calculada através da equação: $TCRFFE = (\ln L_2 \cdot C_2^2 - \ln L_1 \cdot C_1^2) / (t_2 - t_1)$ [cm³ . dia⁻¹], onde: L₁ corresponde a medida da altura da planta no tempo inicial t₁, L₂ a altura da planta no tempo final t₂; C₁ corresponde ao diâmetro caulinar no tempo t₁ e C₂ ao diâmetro caulinar no tempo t₂.

Para aferir o estado hídrico dos diferentes órgãos da planta, a determinação do conteúdo relativo de água (CRA) foi realizada segundo Irigoyen et al. (1992) utilizando a equação: $CRA = (MF - MS / MT - MS) \times 100$; onde os tecidos vegetais de cada plântula foram pesados para obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, embebidos em água deionizada sob temperatura ambiente de 25 ± 5 °C durante seis horas para obtenção da massa túrgida (MT). A massa seca (MS) foi obtida pela desidratação da MT por 72 h a 75 °C.

A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times 100$, onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do frasco, realizada após 6 horas e L_2 representa a segunda leitura da CE realizada após o aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

Os indicadores de estresse iônico foram representados pelas concentrações do íon salino sódio (Na^+) e da concentração de cálcio (Ca^{2+}). As extrações de Na^+ e Ca^{2+} foram realizadas de acordo com Silva et al. (2009) e a leitura das concentrações foram realizada em fotômetro de chama (Micronal B462). As concentrações de Na^+ e Ca^{2+} foram determinadas com base em curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de cloreto de sódio e cloreto de potássio, respectivamente. A relação Ca^{2+}/Na^+ foi determinada segundo Wyn Jones (1981), onde valores superiores a 1,0 sugerem um nível mínimo aceitável para o funcionamento normal das plantas sob condições de salinidade.

O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com Ca^{2+} (C; Sal1; Sal2; Sal1 + Ca^{2+} ; Sal2 + Ca^{2+}) e três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo um total de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t-Student, que comparou os efeitos dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$ de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

3. RESULTADOS E DUSCUSSÃO

3.1 Indicadores de crescimento

A adição de NaCl à solução nutritiva reduziu a taxa de crescimento relativa caulinar (TCRC) de *J. curcas* nos dois períodos de exposição aos tratamentos salinos (Figura 1 - A e B). Após 24 horas de exposição ao NaCl, as reduções foram de aproximadamente 35% no tratamento Sal1 e 56% no tratamento Sal2, comparados ao grupo controle. Já após 240 horas de exposição ao sal, as reduções na TCRC nesta espécie foram mais evidentes, com reduções de aproximadamente 56% no tratamento Sal1 e de 70% em Sal2, ambos comparados ao grupo controle. O estresse salino induzido pelo NaCl não provocou alterações na taxa de crescimento relativo da fitomassa fresca epígea (TCRFFE) de plantas de *J. curcas*, 24 h DT. Contudo, 240 horas após a exposição aos tratamentos salinos, houve reduções de aproximadamente 12% em Sal1 e 45% em Sal2, ambos comparados ao grupo controle. A

adição de cálcio na solução salina não interferiu nos indicadores de crescimento avaliados, independente da dose de NaCl e do tempo de exposição estudados.

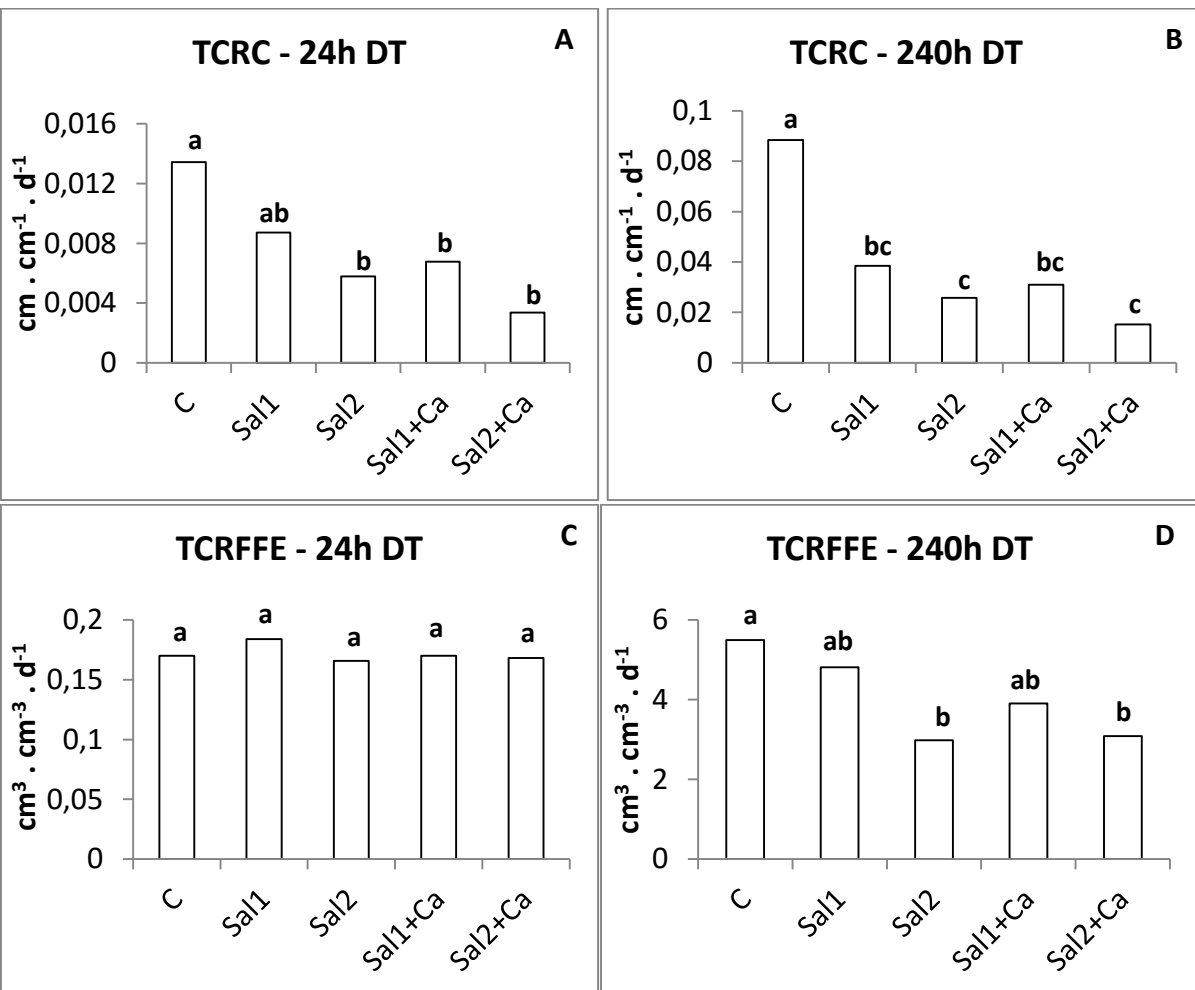


Figura 1: Taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) (A e B) e taxa de crescimento relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) (C e D) de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca^{2+} – 75 mM + 6 mM de Ca^{2+} ; Sal2 + Ca^{2+} – 150 mM + 6 mM de Ca^{2+}), após 24 horas (24 h DT) (A e C) e 240 horas (240 h DT) (B e D) de exposição aos estresses. Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student ($p \leq 0,05$).

As reduções observadas nos indicadores de crescimento em ambos os tempos de exposição, independente da concentração de NaCl, podem estar relacionadas a alterações metabólicas associadas provavelmente a perda da homeostase hídrica nas primeiras 24 horas, seguida de uma toxicidade iônica e deficiência nutricional com o passar do tempo de exposição ao estresse (SEDAY et al., 2014). Os efeitos negativos da salinidade sobre os processos de crescimento de plantas podem ser causados pela competição de Na^+ e Cl^- com íons inorgânicos tais como K^+ e o Ca^{2+} (NING et al., 2015). Outro fator importante na

manutenção do crescimento de plantas é a capacidade de absorção e utilização da água em condições de salinidade (MUNNS, 2002). Outra hipótese que justifique a redução nos indicadores de crescimento de *J. curcas* é o desvio de energia destinada ao crescimento para a manutenção de outros processos metabólicos, como a compartimentalização iônica e o ajustamento osmótico (FLOWERS et al., 2014). Em *Jatropha curcas*, todos estes fatores parecem contribuir para a redução no crescimento da planta, sendo cada órgão afetado de forma diferenciada.

Apesar dos efeitos benéficos da suplementação de Ca^{2+} sobre o crescimento de plantas terem sido observados em algumas espécies como *Sorghum bicolor* (BERNSTEIN et al., 1993), *Nicotiana tobacum* (MADEA et al., 2005) e *Zea mays* (SHORESH et al., 2011), no presente estudo, o crescimento de plantas de *J. curcas* submetidas aos tratamentos salinos não sofreu influência do incremento de cálcio na solução nutritiva. Tal divergência de resultados reforça a ideia de que a resposta das plantas é espécie dependente.

3.2 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas

Alterações no *status* hídrico de *J. curcas* foram observados após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos através do conteúdo relativo de água (CRA). Neste período, observou-se reduções significativas nos níveis de CRA de aproximadamente 21% em folhas expostas a 150 mM de NaCl, 8% em caule em ambos tratamentos (75 e 150 mM) e, 22% em raízes submetidas a 75 mM de NaCl (Tabela 1). Após 240 horas de exposição ao NaCl, também não foram observadas alterações no CRA dos diferentes órgãos de *J. curcas* (folhas, caule e raízes), independente da dose de sal utilizada (Tabela 1).

Tabela 1: Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca^{2+} – 75 mM + 6 mM de Ca^{2+} ; Sal2 + Ca^{2+} – 150 mM + 6 mM de Ca^{2+}), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	CRA (%) – 24 h DT			CRA (%) – 240 h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
C	72,72 a	84,72 a	93,35 a	82,51 a	86,52 a	79,45 b
Sal 1	70,72 a	77,16 b	72,32 c	85,17 a	85,92 a	90,35 ab
Sal 2	57,41 b	77,68 b	84,71 ab	76,72 a	83,47 a	89,73 ab
Sal 1 + Ca^{2+}	71,02 a	81,71 ab	79,42 bc	78,21 a	86,30 a	93,95 a
Sal 2 + Ca^{2+}	69,70 a	79,10 b	80,75 bc	85,74 a	84,42 a	84,23 ab

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste t-Student ($p \leq 0,05$).

As reduções observadas no CRA de folhas (Sal2), caule (Sal1 e Sal2) e raízes (Sal1) indicam a forte restrição do aporte hídrico destes tecidos, podendo estar associadas às altas pressões osmóticas provocadas pelas elevadas concentrações de sais solúveis na solução nutritiva, o que limita a absorção de água pelas raízes (JOUYBAN, 2012; ROY et al., 2014). Como resultado da restrição hídrica, as células vegetais perdem turgor, o alongamento celular é inibido, há fechamento dos estômatos e diminuição na eficiência fotossintética, prejudicando assim o crescimento das plantas, como representado no presente estudo pela TCRC (MUNNS & TESTER, 2008; CASSANITI et al., 2012).

A manutenção do *status* hídrico observada em todos os órgãos e, sobretudo, após exposição prolongada (240 h DT) ao NaCl pode estar relacionada a um possível ajustamento osmótico por meio do acúmulo de solutos orgânicos e/ou inorgânicos que são alocados no citosol ou compartimentalizados dentro dos vacúolos (ZENG et al., 2015). Tal capacidade para manter a turgescência celular, observada no presente estudo, em diferentes órgãos de *J. curcas*, provavelmente resultou da acumulação de Na^+ bem como de Ca^{2+} e outros íons nestes tecidos. Em plantas submetidas a altas concentrações de NaCl, devido à semelhança entre estes íons, canais de potássio e cálcio podem servir como sítios para a entrada de Na^+ (TAVAKOLI et al., 2010).

Frequentemente, o transporte de Na^+ e Cl^- da raiz para a parte aérea das plantas e seu acúmulo nos vacúolos são considerados mecanismos importantes de tolerância à salinidade (ROY et al., 2014), podendo reduzir o potencial hídrico das células e manter a osmorregulação entre as células vegetais e o baixo potencial osmótico extracelular causado por sal (BREŠ et al., 2016). O acúmulo de íons salinos nos tecidos vegetais e sua contribuição na mitigação parcialmente ou completa dos efeitos do estresse osmótico da salinidade foi reportado por Silva et al. (2015) e Rodrigues et al. (2014) estudando plantas de *J. curcas* e *R. communis*, respectivamente, em condições de salinidade. Apesar do Na^+ aparentemente contribuir para a manutenção de turgor em *J. curcas*, este íon é incapaz de substituir o Ca^{2+} em funções específicas, como a sua atuação na expansão celular, como cofator enzimático e na transdução de sinais envolvidos no ajustamento osmótico (CHEN & JIANG, 2010; HISHIDA et al., 2013).

A suplementação de cálcio à solução salina manteve os níveis do CRA semelhantes ao do grupo controle em praticamente todos os órgãos avaliados, independente da concentração de NaCl e do tempo de exposição. Após 24 horas, a adição de Ca^{2+} à solução salina severa (Sal2 + Ca^{2+}) aumentou os níveis de CRA em aproximadamente 17% em folhas. Após 240

horas de exposição, o incremento de Ca^{2+} à solução salina não interferiu estatisticamente nos níveis de CRA dos diferentes órgãos da planta.

O aumento no CRA de folhas no tratamento Sal2 + Ca^{2+} , 24h DT, comparado ao tratamento Sal2, e a manutenção do *status* hídrico nos demais órgãos e tratamentos salinos suplementados com Ca^{2+} , em ambos os períodos de exposição, sugerem que o aporte adequado de cálcio pode minimizar os efeitos osmóticos do estresse salino através, por exemplo, da sua atuação sobre os canais de água, aumentando a abundância das proteínas aquaporinas e restaurando a permeabilidade hídrica das membranas celulares (MARTINEZ-BALLESTA et al., 2008). O acúmulo de Ca^{2+} em tecidos foliares pode ainda estar relacionado ao controle do fechamento estomático, evitando assim a perda de água por transpiração quando a planta está submetida a condições de estresse (SAGLAM et al., 2010). De acordo com Shores et al., (2011), diferentes mecanismos para contornar os efeitos do estresse salino são ativados por Ca^{2+} em diferentes órgãos das plantas, o que provavelmente pode ter ocorrido em folhas, caule e raízes de *J. curcas*.

O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, não causou danos às membranas dos tecidos foliares e caulinares de *J. curcas*, de acordo com o VE (Tabela 2). Entretanto nas raízes, o NaCl provocou aumento significativo do VE quando comparado ao controle (Tabela 2). Tal efeito foi mais acentuado na dose mais elevada de NaCl (150mM), onde o aumento foi de 35% quando comparado ao grupo controle. Com a exposição prolongada ao NaCl (240 horas), observou-se um aumento do VE em todas as partes da planta, sendo proporcional à dose de NaCl e mais acentuado nas raízes (Sal1 – 110% e Sal2 – 158%), seguido das folhas (Sal1 – 85% e Sal2 – 143%) e por último do caule (Sal1 – 49% e Sal2 – 65%) (Tabela 2).

Tabela 2: Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca^{2+} – 75 mM + 6 mM de Ca^{2+} ; Sal2 + Ca^{2+} – 150 mM + 6 mM de Ca^{2+}), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	VE (%) – 24h DT			VE (%) – 240h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
C	10,92 a	21,43 a	29,29 c	4,29 c	15,16 c	28,86 d
Sal 1	10,59 a	20,36 a	46,91 b	7,94 b	21,72 b	60,82 b
Sal 2	9,70 ab	21,58 a	64,29 a	10,46 a	25,15 a	74,66 a
Sal 1 + Ca^{2+}	7,91 bc	21,71 a	59,23 a	11,90 a	22,75 ab	69,58 a
Sal 2 + Ca^{2+}	6,44 c	20,54 a	49,78 b	12,02 a	22,99 ab	69,38 a

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste t-Student ($p \leq 0,05$).

A manutenção das membranas celulares, representada pela não alteração nos valores do VE em folhas e caules de plantas durante as 24 de exposição ao NaCl, pode estar relacionada ao aumento nos níveis de VE observados em raízes, pois devido a um contato direto deste órgão com a solução salina é provável que esta estrutura tenha funcionado como órgão protetor, acumulando os sais em seus tecidos e prevenindo seu deslocamento em níveis tóxicos para as partes aéreas (LOPES & MACEDO, 2008). Oliveira et al. (2014) observaram que em *C. phyllacanthus*, espécie da mesma família de *J. curcas*, as raízes foram eficientes em atuar na retenção dos íons salinos em seus tecidos e assim prevenir, no primeiro momento, o acúmulo de Na^+ e/ou Cl^- nos órgãos apicais, pois não houve interferência dos tratamentos salinos sob o vazamento de eletrólitos em folhas e caule, após 24 horas de exposição ao estresse.

O aumento da condutividade elétrica em raízes (24h DT) e em todos os órgãos após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos sugere um acúmulo excessivo de Na^+ e Cl^- no protoplasma, o que pode causar toxicidade, distúrbios no balanço iônico e por consequência alterações na estrutura das membranas (YOKOI et al., 2002). Os efeitos da salinidade relacionados ao aumento nos danos às membranas já foram observados e discutidos por Silva et al. (2015) em *J. curcas*, Shores et al. (2011) e Bernstein et al. (2010) em *Zea mays*, Tuna et al. (2007) em *Solanum lycopersicum*.

Mesmo não havendo efeito do NaCl sobre as folhas de *J. curcas*, 24h DT, observou-se que a adição de Ca^{2+} à solução salina reduziu o nível de VE neste órgão em aproximadamente 25% no tratamento Sal1 + Ca^{2+} e 33% no tratamento Sal2+ Ca^{2+} , comparados aos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2, respectivamente). Em raízes, 24 h DT, o incremento de Ca^{2+} à solução salina reduziu os níveis de VE em aproximadamente 22% no tratamento Sal2 + Ca^{2+} , quando comparado ao tratamento Sal2. Após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos, o incremento de cálcio à solução salina não apresentou efeitos benéficos sobre a redução dos níveis de VE, independente do órgão e tratamento avaliado.

Apesar de não estar clara a relação direta entre a suplementação de Ca^{2+} e a redução nos danos às membranas encontrados em folhas (Sal1 + Ca^{2+} e Sal2 + Ca^{2+}) e em raízes (Sal2 + Ca^{2+}), é provável que o cálcio exerça função na manutenção da integridade das membranas celulares, pois além de estabilizar as estruturas da parede celular, regular o transporte e seletividade de íons, uma quantidade razoável de Ca^{2+} regula a atividade enzimática de plantas cultivadas sob estresse salino (KADER & LINDBERG, 2010; SHORESH et al., 2011). O cálcio pode atuar como estabilizador das membranas celulares através de ligações

com fosfolipídios e proteínas, contudo, nestes locais de ligação, pode haver uma troca entre Ca^{2+} e o Na^+ , quando as plantas estão submetidas a condições de salinidade (CRAMER, 2002). No presente estudo, é possível que altas concentrações externas de Na^+ , principalmente 240 h DT, tenham desestabilizado e lesionado as membranas dos órgãos de *J. curcas* devido a troca do Ca^{2+} pelo Na^+ na estrutura das membranas e a suplementação de Ca^{2+} não tenha sido suficiente para inibir a entrada de Na^+ através de canais não seletivos de cátions (NSCCs) (DEMIDCHIK et al., 2007).

3.3 Indicadores iônicos

O estresse salino influenciou significativamente os conteúdos de sódio (Na^+) e cálcio (Ca^{2+}), interferindo também na relação cálcio/sódio ($\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$) nas folhas, caule e raízes de *J. curcas* (Tabela 3).

A adição de NaCl na solução nutritiva promoveu um aumento nos níveis de sódio nos diferentes tecidos de *J. curcas*. Tanto no tratamento salino moderado (Sal1) quanto no severo (Sal2), 24 h DT, o acúmulo de Na^+ foi de aproximadamente 8 vezes em folhas (Tabela 3). Nos mesmos tratamentos salinos e no mesmo órgão avaliado, a adição de NaCl reduziu os níveis de Ca^{2+} em aproximadamente 8 e 9 vezes nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente. O aumento nos níveis de Na^+ e a redução nos níveis de Ca^{2+} , reduziram os valores observados na relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ para 1,17 e 0,82 nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela 3). Após 240 horas de exposição à salinidade, os níveis de Na^+ em folhas continuaram altos, com aproximadamente 25 e 30 vezes mais Na^+ nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente, quando comparados ao grupo controle. Neste mesmo órgão, 240h DT, os níveis de Ca^{2+} reduziram em aproximadamente 45% e 18% nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente, quando comparados ao grupo controle (Tabela 3). Apesar do aumento nos níveis de Na^+ terem sido acompanhados por reduções nos níveis de Ca^{2+} , 240 h DT, a relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ apresentou valores positivos entre 3,3 e 3,7 em ambos os tratamentos salinos (Tabela 3).

Os tratamentos salinos simulados pelo NaCl aumentaram os níveis de Na^+ em caules de *J. curcas* após 24 horas de exposição ao estresse. Nos tratamentos Sal1 e Sal2, observou-se aumentos de 5 e 4 vezes após comparação com o grupo controle, respectivamente. Curiosamente, o aumento nos níveis de Na^+ foi acompanhado também por elevações nos níveis de Ca^{2+} de aproximadamente 17% e 19% nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente, comparados ao controle (Tabela 3). O aumento nos níveis de cálcio no caule de *J. curcas* submetidas aos tratamentos salinos permitiram que a relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ alcançassem valores

superiores a 11,0 em ambos tratamentos com NaCl (Tabela 3). Neste mesmo órgão, 240 h DT, os níveis de sódio continuaram aumentando em ambos os tratamentos salinos. A elevação nos teores de Na^+ em caule, no tratamento Sal1 foi de 14 vezes o valor atingido no grupo controle, enquanto que no tratamento Sal2 este valor foi de 19 vezes. Neste mesmo período, não foram observadas alterações nos níveis de cálcio em caules de *J. curcas*, contudo, as relações $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ atingiram valores superiores a 6,5 em ambos os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3: Concentrações de sódio (Na^+), cálcio (Ca^{2+}) e relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca^{2+} – 75 mM + 6 mM de Ca^{2+} ; Sal2 + Ca^{2+} – 150 mM + 6 mM de Ca^{2+}), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	24 h DT			240 h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
Na^+ (mmol . Kg MS^{-1})						
C	63,3 c	58,0 c	21,1 c	21,1 c	26,4 d	7,9 c
Sal 1	548,7 a	284,9 a	337,7 b	528,1 ab	371,7 c	332,7 b
Sal 2	532,9 a	279,6 a	543,4 a	633,7 a	506,9 b	571,6 a
Sal 1 + Ca^{2+}	401,0 b	226,8 b	316,5 b	480,5 b	414,0 c	345,0 b
Sal 2 + Ca^{2+}	601,5 a	278,6 a	543,4 a	542,1 ab	554,5 a	521,0 a
Ca^{2+} (mmol . Kg MS^{-1})						
C	5791,9 a	2806,8 b	579,2 a	2855,9 a	2985,1 a	3920,7 a
Sal 1	705,8 b	3386,0 a	430,4 b	1546,9 c	2940,5 a	2495,0 d
Sal 2	608,4 b	3495,5 a	454,1 b	2316,7 b	3207,8 a	3445,4 b
Sal 1 + Ca^{2+}	612,8 b	3475,1 a	459,6 b	1189,9 c	2495,0 b	3029,6 c
Sal 2 + Ca^{2+}	629,2 b	3386,0 a	541,6 a	2501,9 ab	3314,8 a	3074,2 c
$\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$						
C	53,85 a	46,18 a	27,44 a	128,66 a	149,04 a	524,9 a
Sal 1	1,17 b	11,40 b	1,27 b	3,79 b	7,27 b	7,31 b
Sal 2	0,82 b	11,09 b	0,76 b	3,39 b	6,54 b	5,47 b
Sal 1 + Ca^{2+}	1,24 b	13,81 b	1,49 b	2,01 b	6,64 b	8,72 b
Sal 2 + Ca^{2+}	1,06 b	12,41 b	1,03 b	4,51 b	6,27 b	5,05 b

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student ($p \leq 0,05$).

Os níveis de sódio no tecido radicular de *J. curcas*, 24 h DT, aumentaram de acordo com o aumento nas concentrações de NaCl na solução nutritiva. No tratamento Sal1 o aumento foi de 16 vezes, enquanto que em Sal2, o aumento foi de 25 vezes, comparados aos valores observados no grupo controle (Tabela 3). Acompanhado ao aumento nos níveis de Na^+ , as concentrações de cálcio no tecido radicular sofreram reduções de aproximadamente 25% e 21% após exposição aos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela 3). Neste

3015 órgão, as relações $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ apresentaram valores de 1,27 para o tratamento Sal1 e 0,76 para
3016 Sal2. Após 240 horas de exposição ao estresse salino, os níveis de sódio aumentaram 41 vezes
3017 após exposição ao tratamento Sal1 e 71 vezes em Sal2 (Tabela 3). O aumento nos níveis de
3018 sódio no tecido radicular, 240h DT, foram acompanhados de reduções nos níveis de Ca^{2+} em
3019 aproximadamente 36% e 12% após exposição aos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente,
3020 neste mesmo órgão. Contudo, as relações $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ apresentaram valores superiores a 5,0, em
3021 ambos os tratamentos salinos (Tabela 3).

3022 O aumento nos níveis de Na^{+} em detrimento à redução nos níveis de Ca^{2+} , observado
3023 em folhas e raízes em todos os tratamentos salinos, independente do tempo de exposição,
3024 pode estar relacionado à deficiência de cálcio provocada por elevadas concentrações de sódio
3025 (GENC et al., 2010). Em condições salinas o referido antagonismo está associado à
3026 competição entre os dois íons por ligações em sítios essenciais ao adequado funcionamento
3027 celular (TAÏBI et al., 2012). Além disto, o acúmulo de NaCl pode prejudicar o transporte e a
3028 mobilidade do Ca^{2+} para os diferentes órgãos da planta (SHORESH et al., 2011). Reduções
3029 nos níveis de Ca^{2+} em plantas submetidas a condições de salinidade também foram
3030 observados por Kanwal et al. (2013) estudando *T. aestivum* e Zeng et al. (2015) estudando *H.*
3031 *caspica*, ambos em condições salinas.

3032 Apenas em folhas e raízes expostas à concentração severa de NaCl (Sal2), 24 h DT,
3033 observou-se possível toxicidade pelo íon Na^{+} , representados por valores inferiores a 1,0 na
3034 relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$. Em folhas, é possível que tal toxicidade tenha contribuído para a redução
3035 nos níveis de CRA, enquanto que em raízes o excesso de Na^{+} tenha contribuído para o
3036 aumento do VE. Em ambos os casos, os valores da relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ abaixo de 1,0 podem
3037 representar relativa desestabilidade da membrana plasmática, o que ocasiona uma deficiência
3038 hídrica nas células, ou ainda, possíveis lesões relacionadas ao estresse salino (SHORESH et
3039 al., 2011).

3040 Especificamente em folhas submetidas ao tratamento Sal1 e em raízes no tratamento
3041 Sal2, 24 h DT, e em todos os órgãos e tratamentos salinos 240 h DT, o acúmulo de Na^{+} como
3042 soluto inorgânico, pode ter contribuído para o possível ajustamento osmótico de *J. curcas*,
3043 representado pela manutenção do CRA destes órgãos. Para Silva et al. (2015) e Rodrigues et
3044 al. (2014), o acúmulo de íons salinos como o sódio e o cloreto em tecidos de *J. curcas* e *R.*
3045 *communis*, respectivamente, podem estar associados a um possível ajustamento osmótico das
3046 espécies em condições salinas.

Os maiores índices de VE observados em raízes, comparados ao caule e as folhas, em ambos os períodos de exposição aos tratamentos salinos, provavelmente pode ser devido a um contato direto deste órgão com a solução salina (LOPES & MACEDO, 2008). Após 240 horas, o aumento da condutividade elétrica em presença de NaCl, pode ser devido ao excesso de Na^+ e Cl^- no protoplasma que, com o passar do tempo, causa toxicidade e distúrbios no balanço iônico, o que traz como consequência alterações na estrutura das membranas e enzimas (YOKOI et al., 2002).

O aumento nos níveis de Na^+ em caules de *J. curcas* foi acompanhando de um aumento nos níveis de Ca^{2+} , principalmente após 24 horas de exposição ao estresse salino. Neste caso, é possível que o acúmulo de cálcio em caule de *J. curcas* seja um indicador importante da regulação metabólica para a manutenção da homeostase iônica na planta como um todo, minimizando os efeitos tóxicos do NaCl neste órgão e regulando a concentração de sódio na planta, como representado pelos maiores valores da relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$.

O incremento de cálcio à solução salina, 24 h DT, mitigou os efeitos da salinidade em folhas de *J. curcas* apenas no tratamento salino moderado ($\text{Sal1} + \text{Ca}^{2+}$), reduzindo a concentração de Na^+ em 27%, comparado ao seu controle salino (Sal1) (Tabela 3). Contudo, a redução nos níveis de Na^+ neste tratamento não foi acompanhada do aumento nos níveis de Ca^{2+} no tecido foliar o que manteve a relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ em valores próximos a 1,0. Apesar disto, o incremento de Ca^{2+} minimizou os efeitos tóxicos do Na^+ , pois principalmente no tratamento $\text{Sal2} + \text{Ca}^{2+}$, o valor encontrado na relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ passou de 0,82 (Sal2) para 1,06 ($\text{Sal2} + \text{Ca}^{2+}$) (Tabela 3). Após 240 horas de exposição à salinidade, o incremento de Ca^{2+} não influenciou os níveis de Na^+ em folhas de *J. curcas*, mas apesar de não haver diferença estatística, observou-se reduções de 9% e 14% nos tratamentos $\text{Sal1} + \text{Ca}^{2+}$ e $\text{Sal2} + \text{Ca}^{2+}$, respectivamente, quando comparados aos tratamentos Sal1 e Sal2 (Tabela 3). Em folhas, 240 h DT, os níveis de cálcio no tecido vegetal não sofreram alterações com o incremento de Ca^{2+} na solução salina, contudo, apesar de não haver diferença estatística, observou-se um aumento de 7% nos níveis de Ca^{2+} no tratamento $\text{Sal2} + \text{Ca}^{2+}$, comparado ao tratamento Sal2 . A relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ neste período manteve seus valores superiores a 2,0, com destaque para o tratamento salino severo suplementado com cálcio, que aumentou os valores desta relação de 3,39 (Sal2) para 4,51 ($\text{Sal2} + \text{Ca}^{2+}$) (Tabela 3).

Após curto período de exposição ao estresse salino (24 h DT), o incremento de cálcio à solução contendo NaCl reduziu os níveis de sódio em tecidos caulinares em aproximadamente 20% apenas no tratamento salino moderado ($\text{Sal1} + \text{Ca}^{2+}$) (Tabela 3). Neste

3080 órgão, em ambos os tratamentos salinos acrescidos de Ca^{2+} , não foram observadas alterações
3081 nos níveis de cálcio no tecido caulinar. Entretanto, as relações $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ aumentaram seus
3082 valores de 11,4 (Sal1) para 13,8 (Sal1 + Ca^{2+}) e 11,0 (Sal2) para 12,4 (Sal2 + Ca^{2+}) (Tabela
3083 3). Os níveis de Na^+ em caules de *J. curcas*, após 240 horas de exposição ao estresse salino,
3084 não apresentaram reduções com o incremento de cálcio à solução nutritiva adicionada de
3085 NaCl. O nível de cálcio no tecido caulinar reduziu em 15% apenas no tratamento salino
3086 moderado suplementado com cálcio (Sal1 + Ca^{2+}). Apesar disto, as relações $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$
3087 atingiram valores superiores a 6,0 em ambos os tratamentos salinos suplementados com cálcio
3088 (Sal1 + Ca^{2+} e Sal2 + Ca^{2+}) (Tabela 3).

3089 Em raízes, o incremento de cálcio à solução salina não interferiu nos níveis de Na^+
3090 acumulados nos tecidos deste órgão, 24 h DT. Porém, os níveis de Ca^{2+} no tecido radicular
3091 apresentaram um incremento de 6% e 19% para os tratamentos Sal1 + Ca^{2+} e Sal2 + Ca^{2+} ,
3092 respectivamente, comparados aos respectivos controles salinos (Sal1 e Sal2) (Tabela 3). O
3093 aumento nos níveis de Ca^{2+} nas raízes, 24 h DT, aumentaram as relações $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ de 1,27
3094 (Sal1) para 1,49 (Sal1 + Ca^{2+}) e de 0,76 (Sal2) para 1,03 (Sal2 + Ca^{2+}) (Tabela 3). Após
3095 exposição prolongada ao estresse salino (240 h DT), o incremento de cálcio à solução não
3096 influenciou os níveis de Na^+ em raízes, em nenhum dos tratamentos avaliados. Contudo,
3097 especificamente no tratamento salino moderado, a suplementação de Ca^{2+} aumentou os níveis
3098 deste íon nos tecidos radiculares em aproximadamente 21% (Sal1 + Ca^{2+}), comparado ao
3099 tratamento Sal1. Após adição de cálcio na solução salina as relações $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ mantiveram
3100 seus valores superiores a 5,0 (Tabela 3).

3101 A redução nos níveis de Na^+ observada principalmente em folhas (24 e 240 h DT) e
3102 em caule (24 h DT) submetidas ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} , sugerem a importante função do
3103 cálcio em suprimir diretamente a importação de sódio por canais de cátions não seletivos
3104 (RANADE-MALVI, 2011). Ainda, concentrações ideais de cálcio no ambiente citosólico
3105 funcionam como cofator de enzimas da família SOS (*salt overly sensitive*), responsáveis por
3106 mecanismos de exclusão de Na^+ através de proteínas antiportadoras, localizadas na membrana
3107 plasmática (HASEGAWA, 2013).

3108 A suplementação de cálcio na solução salina favoreceu o aumento nas concentrações
3109 deste soluto no ambiente intracelular, principalmente em caules (24h DT) e raízes (240 h DT).
3110 Aumentos na concentração de Ca^{2+} em órgãos basais sugere a importante função de
3111 mensageiro do Ca^{2+} nos processos de sinalização contra o estresse salino, principalmente em
3112 folhas (CHOI et al., 2014).

Apesar do incremento de cálcio em caules após 24 horas de exposição ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} , após 240 horas de exposição, observou-se uma redução nos níveis de Ca^{2+} . Tal redução foi acompanhada pelo aumento de Na^+ neste mesmo tratamento 240 h DT. Neste caso, a competitividade entre o Na^+ e o Ca^{2+} pelos mesmos sítios de absorção podem ter prejudicado a importação de cálcio para o ambiente intracelular, reduzindo suas concentrações nos tecidos (SALAH et al., 2009).

A suplementação de Ca^{2+} reduziu a toxicidade iônica, representada pela relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$, principalmente de folhas e raízes submetidas ao tratamento Sal2 + Ca^{2+} (24 h DT), bem como na maioria dos demais órgãos em ambos os períodos de exposição. O papel do Ca^{2+} no transporte seletivo e na exclusão de Na^+ através das membranas celulares (IMADA et al., 2009) foi bem representado, em nosso estudo, pelos valores acima de 1,0 atingidos na relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ em todos os tratamentos suplementados com Ca^{2+} . Para Hashi et al. (2015), relativos altos valores na relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ podem ser considerados importantes mecanismos de tolerância a salinidade. A intensa atividade de proteínas antiportadores situadas na membrana plasmática exclui o Na^+ em detrimento à importação de Ca^{2+} e facilita a adaptação das plantas em ambientes salinos (KARIMOVA et al., 2000).

Especificamente em folhas e raízes, 24 horas após a exposição aos tratamentos, pode-se relacionar a redução dos danos às membranas celulares, representados pelo VE, aos valores encontrados na relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$. Em folhas expostas ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} , a manutenção nos sistemas de membranas se deu devido à redução nos níveis de Na^+ intracelular, enquanto que tanto em folhas quanto em raízes expostas ao tratamento Sal2 + Ca^{2+} , a manutenção se deu devido ao aumento nos níveis de Ca^{2+} . Em ambos os tratamentos salinos suplementados com Ca^{2+} , fica clara a importante função do cálcio na estabilização das membranas celulares (ZENG et al., 2015).

A manutenção da relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$, principalmente em folhas (Sal1 + Ca^{2+} – 24 h DT; Sal2 + Ca^{2+} – 24 e 240 h DT), caule (Sal1 + Ca^{2+} – 24 h DT) e raízes (Sal1 + Ca^{2+} – 24 e 240 h DT), estão diretamente relacionadas à manutenção do *status* hídrico de plantas de *J. curcas*, representado pelo CRA. Para Cabañero et al. (2004), a suplementação com cálcio favorece a manutenção das relações hídricas de plantas submetidas a condições salinas por meio do controle da abertura de aquaporinas, permitindo assim um aporte hídrico adequado aos tecidos de plantas submetidas ao NaCl.

4. CONCLUSÕES

1- O estresse salino simulado pelo cloreto de sódio (NaCl) induziu respostas distintas quanto ao tempo de exposição, a dose de NaCl e aos órgãos de *J. curcas* estudados independente da suplementação de cálcio à solução.

2- A salinidade afetou o crescimento das plantas em ambos os períodos de exposição e o incremento de cálcio não minimizou os efeitos do NaCl sobre o crescimento.

3- Após 24 horas de exposição ao estresse salino, ocorreu uma perda da homeostase hídrica em todos os órgãos analisados, evidenciando, portanto, o efeito preponderante do componente osmótico sobre o componente iônico.

4- A partir das 240 horas de exposição ao NaCl as plantas recuperaram o *status* hídrico, mas o efeito iônico provocado, sobretudo pelo sódio, causou danos às membranas celulares, representado pelo aumento do vazamento de eletrólitos, em todos os órgãos e de forma mais pronunciada nas raízes, com o aumento da concentração de NaCl.

5- As diferentes respostas observadas nos dois períodos de exposição ao NaCl mostraram claramente que as plantas possuem estratégias complexas de defesa que foram moduladas pelo tempo.

6- A suplementação de Ca^{2+} à solução salina atuou reduzindo os níveis de Na^+ e/ou aumentando os níveis de Ca^{2+} e como consequência, minimizou os efeitos tóxicos, observados pela relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$, sobretudo em folhas e raízes nas primeiras 24 horas de exposição ao estresse.

7- No presente estudo, sugerimos a atuação do caule como estrutura de armazenamento de Ca^{2+} devido ao acúmulo expressivo deste íon.

5. REFERÊNCIAS

ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A. L.; SILVA, F. F. S.; RIEBEIRO-REIS, R. C.; EVANGELISTA, M. R. V.; CASTRO, R. D.; DANTAS, B. F. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 083-092, 2010.

ASHRAF, M. A.; ASHRAF, M. Salt-induced variation in some potential physiochemical attributes of two genetically diverse wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars: photosynthesis and photosystem II efficiency. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 1, p. 53-64, 2012.

BAHRANI, A.; JOO, M. H. Response of some wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes to salinity at germination and early seedling growth stages. **World Applied Sciences Journal**, v. 13, p. 887-897, 2011.

- BERNSTEIN, N.; LÄUCHLI, A.; SILK, W. Kinematics and dynamics of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) leaf development at various Na/Ca salinities. **Plant Physiology**, v. 103, p. 1107–1114, 1993.
- BERNSTEIN, N.; KRAVCHIK, M.; DUDAI, N. Salinity induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum Basilicum*) in relation to alterations of morphological development. **Annals of Applied Biology**, v. 156, p. 167-177, 2010.
- BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- BREŚ, W.; BANDURSKA, N.; KUPSKA, A.; NIEDZIELA, J.; FRĄSZCZAK, B. Responses of pelargonium (*Pelargonium X hortorum* L.H. Bailey) to long-term salinity stress induced by treatment with different NaCl doses. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 26, p. 1-11, 2016.
- CABAÑERO, F. J.; MARTÍNEZ, V.; CARVAJAL, M. Does calcium determine water uptake under saline conditions in pepper plants, or is it water flux which determines calcium uptake? **Plant Science**, v. 166. p. 443–450, 2004.
- CASSANITI, C.; ROMANO, D.; FLOWERS, T. J. The response of ornamental plants to saline irrigation water. In: Garcia Garizabal I (Ed.). **Irrigation-water management, pollution and alternative strategies**. In Tech, Croatia, p. 131–139, 2012.
- CHEN, H.; JIANG, J-G. Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. **Environmental Reviews**, v. 18, 2010.
- CHOI, W-G.; TOYOTA, M.; KIM, S-H.; HILLEARY, R.; GILROY, S. Salt stress-induced Ca^{2+} waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, p. 6497–6502, 2014.
- CRAMER, G. R. Sodium–calcium interactions under salinity stress. **Salinity: Environment–Plants–Molecules**, p. 205–228; 2002.
- DAGAR, J. C.; MINHAS, P. S. **Advances in agroforestry: Agroforestry for management of waterlogged saline soils and poor-quality waters**. v. 13, Gainesville, USA, 2016. 214 p.
- DEMIDCHIK, V.; MAATHUIS, F. J. M. Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. **New Phytologist**, v. 175, p. 387–404, 2007.
- FLOWERS, T. J.; MUNNS, R.; COLMER, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany**, v. 115, p. 419–431, 2014.
- GENC, Y.; TESTER, M.; McDONALD, G. K. Calcium requirement of wheat in saline and non-saline conditions. **Plant Soil**, v. 327, p. 331–345, 2010.

- HASEGAWA, P. M. Sodium (Na^+) homeostasis and salt tolerance of plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 92, p. 19–31, 2013.
- HASHI, U. S.; KARIM, A.; SAIKAT, H. M.; ISLAM, R.; ISLAM, M. A. Effect of salinity and potassium levels on different morpho-physiological characters of two soybean (*Glycine max* L.) genotypes. **Journal of Rice Research**, v. 3, n. 3, p. 1-5, 2015.
- HISHIDA, M.; ASCENCIO, F.; FUJIYAMA, H.; ORDUNO-CRUZ, A.; ENDO, T. Response to salt stress in growth water relations and ion content of *Jatropha curcas* and *J. cinerea* seedlings. **Interciencia Journal**, v. 38, p. 289-304, 2013.
- HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
- IMADA, S.; YAMANAKA, N.; TAMAI, S. Effects of salinity on the growth, Na partitioning, and Na dynamics of a salt-tolerant tree, *Populus alba* L. **Journal of Arid Environments**, v. 73, p. 245–251, 2009.
- JOUYBAN, Z. The Effects of Salt stress on plant growth. **Journal of Applied Science & Engineering Technology**, v. 2, n. 1, p. 7-10, 2012.
- KADER, M. A.; LINDBERG, S. Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 3, p. 233-238, 2010.
- KANWAL, H.; ASHRAF, M.; HAMEED, M. Water relations and ionic composition in the seedlings of some newly developed and candidate cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline conditions. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 4, p. 1221-1227, 2013.
- KARIMOVA, F. G.; KORTCHOUGANOVA, E. E.; TARCHEVSKY, I. A.; IAGOUCHEVA, M. R. The oppositely directed Ca^{2+} and Na^+ transmembrane transport in algal cells. **Protoplasma**, v. 213, n. 1-2, p. 93–98, 2000.
- KOH, M. Y.; MOHD GHAZI, T. I. A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L. oil. **Journal Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 2240-2251, 2011.
- LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 79-85, 2008
- MADEA, Y.; YOSHIBA, M.; TADANO, T. Comparison of Ca effect on the salt tolerance of suspension cells and intact plants of tobacco (*Nicotiana tabacum* L., cv. Bright Yellow-2). **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 51, p. 313–318, 2005.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of biodiesel and value-added coproducts. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p. 773-778, 2009.
- MARTINEZ-BALLESTA, M. C.; CABANERO, F.; OLMOS, E.; PERIAGO, P. M.; MAUREL, C.; CARVAJAL, M. Two different effects of calcium on aquaporins in salinity-stressed pepper plants. **Planta**, v. 228, p. 15–25, 2008.

- MINHAS, P. S.; YADAV, R. K.; LAL, K.; CHATURVEDI, R. K. Effect of long-term irrigation with wastewater on growth, biomass production and water use by *Eucalyptus tereticornis* planted at variable stocking density. **Agricultural Water Management**, v. 152, p. 151–160, 2015.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v.25. p. 239-250, 2002.
- MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.
- NING, J. F.; CUI, L. F.; YANG, S. H.; AI, S. Y.; LI, M. J.; SUN, L. L.; CHEN, Y.; WANG, R. H.; ZENG, Z. B. Basil ionic responses to seawater stress and the identification of gland salt secretion. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 25, n. 1, p. 131-138, 2015.
- OLIVEIRA, M. D. M.; BEZERRA, L. L.; DANTAS, C. V. S.; VOIGT, E. L.; MAIA, J. M.; MACÊDO, C. E. C. The role of xylopodium in Na⁺ exclusion and osmolyte accumulation in faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 2871–2882, 2014.
- RANADE-MALVI, U. Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 1, p. 106–109, 2011.
- RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; MOURA, R. M.; ANJOS, D. C.; HERNANDEZ, F. F. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *R. communis* seedlings is associated with a probable mechanism of osmotic adjustment and a reduction in water lost by transpiration. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 233–239, 2014.
- ROY, S. J.; NEGRÃO, S.; TESTER, M. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 115–124, 2014.
- SAGLAM, A.; TERZI, R.; NAR, H.; SARUHAN, N.; AYAZ, F. A.; KADIOGLU, A. Inorganic and organic solutes in apoplastic and symplastic spaces contribute to osmotic adjustment during leaf rolling in *Ctenanthe setosa*. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 52, n. 1, p. 37–44, 2010.
- SALAH, I. B.; ALBACETE, A.; ANDÚJAR, C. M.; HAOUALA, R.; LABIDI, N.; ZRIBI, F.; MARTINEZ, V.; PÉREZ-ALFOCEA, F.; ABDELLY, C. Response of nitrogen fixation in relation to nodule carbohydrate metabolism in *Medicago ciliaris* lines subjected to salt stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, p. 477-488, 2009.
- SEDAY, U.; GULSEN, O.; UZUN, A.; TOPRAK, G. Response of citrus rootstocks to different salinity levels for morphological and antioxidative enzyme activities. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 24, p. 512-520, 2014.
- SHORESH, M.; SPIVAK, M.; BERNSTEIN, N. Involvement of calcium-mediated effects on ROS metabolism in the regulation of growth improvement under salinity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 51, p. 1221–1234, 2011.

- SILVA, L. C.; BELTERÃO, N. E. M.; AMORIM NETO, M. S. **Análise do Crescimento de Comunidades Vegetais**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2000. 18 p. (EMBRAPA Algodão. Circular técnica, 34).
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K^+ , osmotic adjustment and K^+/Na^+ homeostasis. **Plant Biology**, v. 17, p. 1023–1029, 2015.
- SINGH, K.; SINGH, B.; TULI, R. Sodic soil reclamation potential of *Jatropha curcas*: a long-term study. **Ecological Engineering**, v. 58, p. 434–440, 2013.
- SUN, J.; WANG, M.-J.; DING, M.-Q.; DENG, S.-R.; LIU, M.-Q.; LU, C.-F.; ZHOU, X.-Y.; SHEN, X.; ZHENG, X.-J.; ZHANG, Z.-K.; SONG, J.; HU, Z.-M.; XU, Y.; CHEN, S.-L. H_2O_2 and cytosolic Ca^{2+} signals triggered by the PM H^+ -coupled transport system mediate K^+/Na^+ homeostasis in NaCl-stressed *Populus euphratica* cells. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p. 943–958, 2010.
- TAÏBI, KH.; TAÏBI, F.; BELKHODJA, M. Effects of external calcium supply on the physiological response of salt stressed bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Genetics & Plant Physiology**, v. 2, p. 3–4, 2012.
- TAVAKOLI, F.; VAZAN, S.; MORADI, F.; SHIRAN, B.; SORKHEH, K. Differential response of salt-tolerant and susceptible barley genotypes to salinity stress. **Journal of Crop Improvement**, v. 24, p. 244–260, 2010.
- TUNA, A. L.; KAYA, C.; ASHRAF, M.; ALTUNLU, H.; YOKAS, I.; YAGMUR, B. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 173–178, 2007.
- WYN JONES, R. G. Salt tolerance. In: JOHNSON, C. B. (Ed.). **Physiological processes limiting plant productivity**. Butterworths, London, p. 271–292, 1981.
- YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. **Salt stress tolerance of plants.**, West Lafayette: JIRCAS Working Report, 2002. p. 25–33.
- ZENG, Y.; LI, L.; YANG, R.; YI, X.; ZHANG, B. Contribution and distribution of inorganic ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to salt stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. 13639, 2015.

3381
3382
3383
3384
3385
3386
3387
3388
3389
3390
3391
3392
3393
3394
3395
3396
3397
3398
3399
3400
3401
3402
3403
3404
3405
3406
3407
3408
3409
3410
3411
3412
3413

CAPÍTULO V

A SUPLEMENTAÇÃO COM CÁLCIO AUXILIA O AJUSTAMENTO OSMÓTICO DE *Jatropha curcas* L. SUBMETIDAS A CONDIÇÕES SALINAS

RESUMO

A suplementação com 6 mM de Ca^{2+} na solução salina em plantas *Jatropha curcas*, submetidas a três tratamentos salinos (controle; 75 e 150 mM de NaCl), foi avaliada em folhas, caule e raízes durante 24 e 240 horas de exposição baseando-se no *status* hídrico, integridade das membranas e indicadores de ajustamento osmótico. Observou-se em folhas (Sal1) e raízes (Sal2), 24 h DT, que a manutenção do *status* hídrico (CRA) sugere um ajustamento osmótico atribuído em parte ao aumento nos níveis de proteínas solúveis totais (PST) e prolina (PRO), e ainda, à manutenção da integridade das membranas em folhas e à manutenção nos níveis de aminoácidos livres totais (AALT), açúcares solúveis totais (AST) e amido em raízes de *J. curcas*. Aumentos nas concentrações de NaCl, reduziram o CRA em caules de *J. curcas*, contudo, a manutenção da integridade das membranas deste órgão aparentemente está associada ao aumento nos níveis de AALT, PRO e AST. Em todos os órgãos da planta, expostos ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} , 24 h DT, a suplementação com o Ca^{2+} aumentou os níveis de PST. Neste mesmo período a suplementação com o Ca^{2+} incrementou os níveis de AALT principalmente em folhas. Após 240 h de exposição, a presença do Ca^{2+} incrementou os níveis de AALT em todos os órgãos expostos ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} . Os níveis de PRO foram incrementados com a suplementação de Ca^{2+} principalmente em folhas, 240 h DT. O caule de *J. curcas* foi o órgão que mais aumentou seus níveis de AST após o incremento de Ca^{2+} à solução salina, em ambos os períodos de exposição. Incrementos nos níveis de amido foram observados principalmente em folhas, em ambos os períodos de exposição. Assim, o ajustamento osmótico, observado em *J. curcas* se deu principalmente por compostos nitrogenados, estando o incremento de Ca^{2+} relacionado ao aumento da maioria dos solutos compatíveis estudados. A contribuição da suplementação de Ca^{2+} no ajustamento osmótico, verificados em *J. curcas*, apresentam respostas distintas quanto ao tempo de exposição, dose de NaCl e órgãos da planta.

Palavras-chaves: Pinhão-manso, ajustamento osmótico, estresse salino, cálcio.

ABSTRACT

The supplying of 6 mM Ca^{2+} in salt solution in *Jatropha curcas* subjected to three salt treatments (control; 75 and 150 mM NaCl) was evaluated in leaves, stem and roots for 24 and 240 hours of exposure based on water status, membranes integrity and osmotic adjustment indicators. It was observed in leaves (Sal1) and roots (Sal2), 24 h after treatment, that the water status maintenance (CRA) suggests an osmotic adjustment partially assigned to increases in total soluble proteins (PST) and proline (PRO) levels and also to the maintenance of the membrane integrity in leaves and to the maintenance of total free amino acids (AALT), total soluble sugars (AST) and starch levels in *J. curcas* roots. Increases in NaCl concentrations reduced CRA in *J. curcas* stems, however the maintenance of the membranes integrity in this organ seems to be associated to the increases of AALT, PRO and AST. In all plant parts and after exposure to Sal1 + Ca^{2+} treatment, 24 h after treatment, the supplying with Ca^{2+} increased the PST levels. For the same exposure time, the supplying with Ca^{2+} increased the AALT levels mainly in leaves. After 240 h exposure, the presence of Ca^{2+} increased the AALT levels in all plant parts exposed to the Sal1 + Ca^{2+} treatment. The levels of PRO were increased with the supplying of Ca^{2+} mainly in leaves, 240 h after treatment. The stem in *J. curcas* was the part with higher increases in AST levels after Ca^{2+} addition to the salt solution in both exposure times. Increases of starch levels were observed mainly in leaves in both exposure times. Thus, the osmotic adjustment observed in *J. curcas* occurred

mainly by nitrogen compounds being the Ca^{2+} supplying related to the increases of most of the compatible solutes studied. The contribution of Ca^{2+} supplying in the osmotic adjustment observed in *J. curcas* showed different responses in terms of exposure time, NaCl dosage and plant organ.

Keywords: Physic nut, osmotic adjustment, salt stress, calcium.

1. INTRODUÇÃO

A salinidade dos solos, que resulta de processos naturais e/ou antrópicos, afeta mais de 20% das terras irrigadas e tem impactado negativamente o desenvolvimento e a produtividade de espécies agrícolas mundialmente. Particularmente em regiões áridas e semiáridas, os componentes salinos no solo se intensificam devido à taxa de evaporação que excede a precipitação e, sobretudo, a utilização de água com elevados teores de sais para a irrigação das lavouras (SWANHART et al., 2014).

A presença de sais reduz o potencial osmótico da água, tornando mais difícil a absorção deste fluido por parte do sistema radicular das plantas, além de provocar perturbações na homeostase iônica e osmótica, gerando estresse oxidativo, prejuízos à fotossíntese e alteração no metabolismo do vegetal (ZHANG et al., 2011). Os principais íons salinos (Na^+ e Cl^-) podem afetar a absorção de nutrientes através da interação competitiva com o cálcio e o potássio, por exemplo, ou ainda, desestabilizam a estrutura e prejudicam a seletividade das membranas, pois elevados níveis de Na^+ frequentemente induzem a deficiência de íons importantes para a manutenção do metabolismo vegetal, como o Ca^{2+} e o K^+ (SILVA et al., 2015).

Para que a planta contorne os efeitos da salinidade e minimize a atuação dos componentes osmóticos e iônicos, mecanismos que garantam o aporte hídrico dos tecidos, aloquem e/ou acumulem o sódio nos vacúolos ou até mesmo que estimulem a exclusão de Na^+ do ambiente citosólico, são ferramentas de grande importância para garantir a tolerância ao estresse salino de algumas espécies (RENAULT et al., 2010). Somados a estes mecanismos, o fornecimento de cálcio reduz os sintomas de toxicidade gerada pelo Na^+ em diferentes espécies e estimula o crescimento da planta (SOUALEM et al., 2014). Adequados níveis de Ca^{2+} minimizam os efeitos do estresse salino através da estabilização da membrana e parede celular, controlando o pH das células, evitando a extrusão de solutos compatíveis a partir de citoplasma, neutralizando íons no vacúolo e atuando como mensageiro secundário nos processos de sinalização celular, que resultaram em cascatas de eventos que culminaram na tolerância aos estresses abióticos (SIDDIQUI et al., 2012).

O Ca^{2+} é um íon de sinalização versátil que pode integrar diferentes vias em resposta ao estresse salino, tendo influência direta ou indireta sobre a expressão gênica e/ou a fisiologia celular (DODD et al., 2010). Ma et al. (2009) demonstraram que o Ca^{2+} participa em muitos processos bioquímicos das plantas, e a alteração da concentração de cálcio bem como a sua distribuição em diferentes órgãos da planta podem ser consideradas respostas de adaptação a condições de estresse. Para Nayyar, (2003), concentrações adequadas de Ca^{2+} podem auxiliar no ajustamento osmótico de plantas por meio do acúmulo de osmólitos compatíveis em resposta ao déficit hídrico, comumente relacionado à salinidade.

Nas plantas, os efeitos do déficit hídrico e da salinidade são minimizados pelo ajustamento osmótico que dentre outros fatores ocorre principalmente pelo acúmulo de compostos orgânicos osmoticamente compatíveis (ADEM et al., 2014). O acúmulo de osmorreguladores, tais como açúcares solúveis, aminoácidos (ex. prolina), íons inorgânicos (ex. cálcio e potássio), proteínas e outros (JOSEPH et al., 2015), impede a perda de água e mantem o turgor vegetal, balanceando assim, os potenciais osmóticos entre o citoplasma e o vacúolo, o que facilita a retenção de água no citoplasma e permite o sequestro de Na^+ para o vacúolo ou apoplasto (MUNNS & TESTER, 2008; SHABALA & MUNNS, 2012).

Muitos estudos ressaltam o acúmulo de osmorreguladores e o seu papel fisiológico em plantas submetidas ao estresse salino e embora seja amplamente estudado, paradoxalmente ainda é um fenômeno pouco conhecido e bastante controverso, sobretudo em espécies que, recentemente, despertaram interesses da comunidade agrícola, como é o caso da *Jatropha curcas* L.

J. curcas é um arbusto suculento pertence à família Euphorbiaceae resistente à seca e salinidade que se desenvolve bem em regiões tropicais e subtropicais, capaz de crescer sob uma vasta gama de regimes de chuva, de 200 a mais de 1500 mm por ano (HSU et al., 2015). A espécie apresenta muitos valores comerciais, mas, sobretudo, o óleo obtido de suas sementes é talvez o principal produto desta planta devido a sua utilização como matéria-prima para a produção de biodiesel (KOH et al., 2011). Somada a esta característica, *J. curcas* pode também ser utilizada para a restauração de ecossistemas afetados por processos de desertificação (MAKKAR & BECKER, 2009). Apesar da alta resistência da espécie, a seca e a salinidade são fatores que limitam o desenvolvimento, o cultivo e a distribuição da planta em áreas potencialmente agricultáveis (MAES et al., 2009; DIVAKARA et al 2010).

Estudos não somente demonstram os efeitos da salinidade sobre alterações no crescimento, na fotossíntese, nas relações hídricas e na toxicidade por íons salinos, mas

também como o ajustamento osmótico pelo acúmulo de osmólitos pode minimizar a ação dos sais sobre plantas de *J. curcas* (DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012; SOUSA et al., 2012; SILVA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2016). Contudo, a espécie carece de estudos que envolvam a suplementação de componentes como o Ca^{2+} que possam mitigar os efeitos osmóticos da salinidade atuando principalmente no incremento de osmólitos e na manutenção da integridade das membranas celulares. Neste contexto, torna-se necessário encontrar critérios mais específicos que possam fornecer informações sobre as diferentes estratégias de adaptação para lidar com o estresse salino, sobretudo a sua atuação nos diferentes órgãos em períodos críticos ao desenvolvimento do vegetal.

Assim, dada à importância da *J. curcas* no cenário para a produção de biocombustíveis e dos efeitos negativos do estresse salino na homeostase hídrica da espécie, este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho da planta quanto à resposta ao incremento de Ca^{2+} à solução salina. Para elucidar a ação do Ca^{2+} na mitigação dos efeitos osmóticos da salinidade, foi estudada a relação deste íon com a síntese de osmólitos compatíveis e consequente relação com o *status* hídrico da planta e a manutenção da integridade das membranas celulares. Espera-se identificar neste estudo se o incremento de Ca^{2+} na solução nutritiva contribui para a osmorregulação em diferentes órgãos de *J. curcas* por meio do acúmulo de solutos orgânicos, identificando quais destes solutos contribuem de maneira mais efetiva para minimizar os efeitos deletérios do sal na espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de *J. curcas* (acesso CNPAPM-XVIII) obtidas a partir da germinação em sistema de rolos de papel toalha (BRASIL, 2009) foram transferidas, oito dias após a germinação, para o sistema hidropônico em frascos contendo 0,8 L de solução Hoagland e Arnon (1950) com ½ de força, pH 6,0, sob aeração constante com bombas de aquarofilia para manter a oxigenação do sistema radicular das plantas. A solução nutritiva foi completada diariamente para compensar a perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para reposição dos macro e micronutrientes. As plantas permaneceram nestas condições por 30 dias, para aclimação. Após este período, as plantas com cinco folhas completamente expandidas foram selecionadas e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução nutritiva. À solução foram acrescidos ou não os tratamentos salinos: Controle (C); 75 (Sal1) e 150 mM (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 6 mM de cálcio em forma de CaSO_4 , duplicando-se sua concentração na solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e

correspondendo aos tratamentos: 75 mM de NaCl + 6 mM de Ca^{2+} (Sal1 + Ca^{2+}) e 150 mM de NaCl + 6 mM de Ca^{2+} (Sal2 + Ca^{2+}). O incremento das concentrações de NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50 mM por dia até atingir a concentração final pretendida, para evitar o choque osmótico.

Posteriormente à exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes foram coletados e analisados após dois períodos, 24 e 240 horas. O material vegetal foi avaliado quanto a indicadores de *status* hídrico da planta; a integridade das membranas celulares e indicadores de ajustamento osmótico.

Para aferir o *status* hídrico da planta, a determinação do conteúdo relativo de água (CRA) foi realizada segundo Irigoyen et al. (1992) utilizando a equação: $\text{CRA} = (\text{MF} - \text{MS} / \text{MT} - \text{MS}) \times 100$; onde os tecidos vegetais de cada plântula foram pesados para obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, embebidos em água deionizada sob temperatura ambiente de $25 \pm 5^\circ\text{C}$ durante seis horas para obtenção da massa túrgida (MT). A massa seca (MS) foi obtida pela desidratação da MT por 72 h a 60°C .

A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $\text{VE} = (\text{L}_1 / \text{L}_2) \times 100$, onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do frasco, realizada após 6 horas e L_2 representa a segunda leitura da CE realizada após o aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100°C .

A concentração de proteínas solúveis totais (PST) foi determinada segundo método descrito por Bradford (1976), com base em curva padrão obtida a partir de albumina bovina (BSA) e os resultados expressos em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa seca.

A concentração de aminoácidos livres totais (AALT) foi determinada segundo o método descrito por Peoples et al. (1989), onde os AALT foram determinados com base em uma curva padrão de L-Glutamina, sendo os resultados expressos em $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm de absorbância.

A concentração de prolina (PRO) foi determinada segundo metodologia descrita por Bates (1973), onde a PRO foi determinada com base em curva padrão de L-Prolina, com seus resultados expressos em $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa seca e a leitura realizada em espectrofotômetro a 520 nm de absorbância.

A aferição da concentração de açúcares solúveis totais (AST) foi realizada pelo método “fenol-sulfúrico” descrito por Dubois et al. (1956), onde os AST foram determinados

com base na curva padrão de D-Glicose, com seus resultados expressos em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm de absorbância.

A concentração de açúcares não redutores (ANR) foi determinada conforme o método “antrona” descrito por Morris (1948), adaptado por Van Handel (1968), onde os ANR foram obtidos por comparação com curva-padrão de sacarose, com seus resultados expressos em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm de absorbância.

Para estimar os açúcares redutores (AR) foi utilizada a equação matemática: $\text{AR} = \text{AST} - \text{ANR}$, expressos em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa seca (SOUSA et al., 2012).

A dosagem do amido foi realizada utilizando o reagente antrona (MORRIS, 1948; YEMM & WILLIS, 1954). Os extratos utilizados foram submetidos anteriormente a extração alcoólica e seu precipitado foi re-extraído com HClO_4 30%. A concentração de amido foi calculada com base em uma curva padrão de D-glicose e sua leitura realizada em espectrofotômetro a 620 nm. Para a conversão em amido, os resultados obtidos foram multiplicados pelo fator 0,9, segundo proposto por McCready et al. (1950), onde os resultados foram expressos em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa seca.

O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com Ca^{2+} (C; Sal1; Sal2; Sal1 + Ca^{2+} ; Sal2 + Ca^{2+}) e três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo um total de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t-Student, que comparou os efeitos dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$ de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas

O conteúdo relativo de água (CRA) diz respeito à quantidade de água da planta em porcentagem levando em consideração a sua capacidade máxima de água presente na planta. Sendo, portanto, considerado um indicador indireto do *status* hídrico do vegetal (IRIGOYEN et al., 1992).

Alterações no *status* hídrico de *J. curcas* foram observados em ambos os períodos de exposição aos tratamentos salinos através do conteúdo relativo de água (CRA). Após 24 horas de exposição, observou-se reduções nos níveis de CRA de aproximadamente 21% em folhas expostas a 150 mM de NaCl (Sal2), 8% em caule nos tratamentos Sal1 e Sal2 e, 22% em

raízes submetidas ao tratamento Sal1. Após 240 horas de exposição ao NaCl, não houve diferenças significativas entre os níveis de CRA avaliados nos três órgãos de *J. curcas* (Tabela 1).

Tabela 1: Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos (NaCl)	CRA (%) – 24 h DT			CRA (%) – 240 h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
C	72,7 a	84,7 a	93,3 a	82,5 a	86,5 a	79,4 b
Sal1	70,7 a	77,1 b	72,3 c	85,1 a	85,9 a	90,3 ab
Sal2	57,4 b	77,6 b	84,7 ab	76,7 a	83,4 a	89,7 ab
Sal1 + Ca ²⁺	71,0 a	81,7 ab	79,4 bc	78,2 a	86,3 a	93,9 a
Sal2 + Ca ²⁺	69,7 a	79,1 b	80,7 bc	85,7 a	84,4 a	84,2 ab

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

Na primeira fase de alarme, o componente osmótico do estresse salino é preponderante sobre o iônico fazendo com que a planta absorva uma menor quantidade de água (ZENG et al., 2015). Contudo, passado a fase de alarme, a planta entra em fase de restituição buscando retomar a homeostase hídrica dos seus tecidos. No presente estudo, é possível que nas primeiras 24 horas de exposição ao sal, a planta tenha sofrido um estresse osmótico, mas que após 240 horas de exposição, ela tenha recuperado seu *status* hídrico. Provavelmente, a manutenção da turgescência celular após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos pode ter ocorrido por meio de um ajustamento osmótico, decorrente da redução no potencial osmótico celular (HESSINI et al., 2009).

Em *J. curcas*, o acúmulo de solutos orgânicos (açúcares solúveis, aminoácidos livres, e prolina) e inorgânicos (potássio, sódio e cloreto), que são alocados no citosol ou compartimentalizados dentro dos vacúolos, parecem desempenhar um papel importante no processo de ajustamento osmótico nesta espécie quando submetida à salinidade (GARCIA-ALMODOVAR et al., 2014; SILVA et al., 2015; ZENG et al., 2015).

O incremento de Ca²⁺ à solução salina aumentou o CRA de folhas em aproximadamente 21% no tratamento Sal2 + Ca²⁺, comparado ao tratamento Sal2, 24h DT (Tabela 1). Neste mesmo período, caules e raízes expostos ao tratamento Sal1 + Ca²⁺, aumentaram seus níveis de CRA em 5,8% e 9,8%, respectivamente, comparados ao tratamento Sal1 (Tabela 1). Após 240 horas de exposição, o incremento Ca²⁺ à solução salina

aumentou o CRA apenas de folhas expostas ao tratamento Sal2 + Ca^{2+} (11%), comparado ao tratamento Sal2 (Tabela 1).

A suplementação de Ca^{2+} na solução salina proporcionou um aumento no CRA de folhas no tratamento Sal2 + Ca^{2+} , tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao tratamento. Contudo, o incremento de Ca^{2+} à solução salina não teve qualquer efeito sobre a manutenção do CRA de folhas submetidas ao tratamento moderado com NaCl (Sal1 + Ca^{2+}), tanto após 24 quanto 240 horas de exposição, nem mesmo em caule e raízes submetidos ao tratamento salino severo (Sal2 + Ca^{2+}), 24h DT, e em todos os tratamentos salinos acrescidos de Ca^{2+} , 240h DT (Tabela 1). Tal evento sugere que diferentes mecanismos para contornar os efeitos do estresse salino são ativados por Ca^{2+} em diferentes órgãos das plantas (SHORESH et al., 2011), como observado em folhas, caule e raízes e de acordo com o tempo de exposição da espécie aos tratamentos do presente estudo.

O aumento no CRA de folhas no tratamento Sal2 + Ca^{2+} , 24h DT, comparado ao tratamento Sal2, e a manutenção do *status* hídrico nos demais órgãos e tratamentos salinos suplementados com Ca^{2+} , em ambos os períodos de exposição, sugerem que o aporte adequado de cálcio pode minimizar os efeitos osmóticos do estresse salino através, por exemplo, da sua atuação sobre os canais de água, aumentando a abundância das proteínas aquaporinas e restaurando a permeabilidade hídrica das membranas celulares (MARTINEZ-BALLESTA et al., 2008). O acúmulo de Ca^{2+} em tecidos foliares pode ainda estar relacionado ao controle do fechamento estomático, evitando assim a perda de água por transpiração quando a planta está submetida a condições de estresse (SAGLAM et al., 2010).

Apesar do Na^+ aparentemente contribuir a manutenção de turgor em *J. curcas* (SILVA et al., 2015), este íon é incapaz de substituir o Ca^{2+} em funções específicas, como a sua atuação na expansão celular, como cofator enzimático e na transdução de sinais envolvidos no ajustamento osmótico (CHEN & JIANG, 2010; HISHIDA et al., 2013).

A condutividade elétrica mede o vazamento de eletrólitos (VE) para a solução, sendo utilizada como medida indireta para avaliar possíveis danos às membranas celulares, causadas pelo estresse salino (BAJJI et al., 2001).

O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, não causou danos às membranas dos tecidos foliares e caulinares de *J. curcas*, de acordo com o VE (Tabela 2). Entretanto nas raízes, o estresse salino aumentou 17% na presença de 75 mM, e de 35% na presença de 150 mM de NaCl, comparados ao controle (Tabela 2). Após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos, observou-se um aumento no VE em todos os

órgãos estudados, independente da concentração de NaCl. Os aumentos nos VE após exposição ao tratamento salino moderado (Sal1) foram de aproximadamente 85%, 43% e 110%, em folhas, caules e raízes, respectivamente. Após exposição ao tratamento salino severo (Sal2), os aumentos nos VE foram de aproximadamente 143%, 65% e 158%, em folhas, caules e raízes, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2: Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos (NaCl)	VE (%) – 24 h DT			VE (%) – 240 h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
C	10,9 a	21,4 a	29,2 c	4,2 c	15,1 c	28,8 c
Sal1	10,5 a	20,3 a	46,9 b	7,9 b	21,7 b	60,8 b
Sal2	9,7 ab	21,5 a	64,2 a	10,4 a	25,1 a	74,6 a
Sal1 + Ca ²⁺	7,9 bc	21,7 a	59,2 a	11,9 a	22,7 ab	69,5 a
Sal2 + Ca ²⁺	6,4 c	20,5 a	49,7 b	12,0 a	22,9 ab	69,3 a

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

Os maiores índices de VE observados em raízes, em comparação ao caule e folhas, provavelmente pode ser devido a um contato direto deste órgão com a solução salina (LOPES & MACEDO, 2008) ou ainda, que as raízes atuaram na retenção dos íons salinos em seus tecidos e preveniram, no primeiro momento, o acúmulo de Na⁺ e/ou Cl⁻ nos órgãos apicais como caule e folhas (OLIVEIRA et al., 2014). Após 240 horas, o aumento da condutividade elétrica em presença de NaCl, pode ser devido ao excesso de Na⁺ e Cl⁻ no protoplasma que, com o passar do tempo, causa toxicidade e distúrbios no balanço iônico, o que traz como consequência alterações na estrutura das membranas e enzimas (YOKOI et al., 2002).

A suplementação com o Ca²⁺ no tratamento salino moderado (Sal1 + Ca²⁺) reduziu em 25% o VE em folhas, contudo, aumentou o VE de raízes em aproximadamente 26% (Tabela 2). Já no tratamento Sal2 + Ca²⁺, a redução no VE se deu tanto em folhas (33%) quanto em raízes (22%), comparados aos seus respectivos controles salinos (Sal2). Após 240 horas de exposição ao tratamento salino moderado suplementado com Ca²⁺ (Sal1 + Ca²⁺), observou-se aumentos nos VE tanto de folhas (49%) quando de raízes (14%), comparados aos seus respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 2).

As reduções nos danos às membranas encontrados em folhas (Sal1 + Ca²⁺ e Sal2 + Ca²⁺) e em raízes (Sal2 + Ca²⁺) sugerem a importante atuação do cálcio na manutenção da

integridade das membranas celulares, pois além de estabilizar as estruturas da parede celular, regular o transporte e seletividade de íons, quantidades adequadas de Ca^{2+} regulam a atividade enzimática de plantas cultivadas sob estresse salino (KADER & LINDBERG, 2010; SHORESH et al., 2011). O cálcio pode atuar como estabilizador das membranas celulares através de ligações com fosfolipídios e proteínas, além de minimizar a peroxidação dos lipídeos da membrana (SU et al., 2012). Contudo, nos locais de ligação entre o cálcio e a membrana, pode haver uma troca entre Ca^{2+} e o Na^+ , quando as plantas estão submetidas a condições de salinidade (CRAMER, 2002). No presente estudo, é possível que altas concentrações externas de Na^+ , principalmente 240h DT, tenham desestabilizado e lesionado as membranas dos órgãos de *J. curcas* devido a troca do Ca^{2+} pelo Na^+ na estrutura das membranas e a suplementação de Ca^{2+} não tenha sido suficiente para inibir a entrada de Na^+ através de canais não seletivos de cátions (NSCCs) (DEMIDCHIK et al., 2007).

3.2 Ajustamento osmótico por compostos nitrogenados

As concentrações de proteínas solúveis totais (PST) em folhas de *J. curcas*, após 24 horas de exposição ao tratamento Sal1, não apresentaram aumento significativo, contudo os níveis de AALT neste órgão reduziram em aproximadamente 25% neste mesmo tratamento (Tabela 3). Ainda em folhas, 24 h DT, expostas ao tratamento Sal1, observou-se um aumento de 60% nos níveis de PRO. Neste mesmo período, em folhas de *J. curcas* expostas ao tratamento salino severo (Sal2), observou-se um aumento de 40% nos níveis de PST (Tabela 3). Tal aumento foi acompanhado de uma redução na concentração de AALT, de aproximadamente 42%. Neste mesmo tratamento, 24 h DT, o nível de PRO aumentou em 93% em folhas de *J. curcas*. Após 240 horas de exposição ao tratamento salino moderado (Sal1), observou-se um incremento de 102% nos níveis de PST em folhas de *J. curcas* (Tabela 3). Tal aumento foi acompanhado também da elevação de aproximadamente 103% nos níveis de AALT, após 240 horas de exposição ao tratamento Sal1. Contudo, não foi observada alteração no nível de PRO neste mesmo período e tratamento salino. Após exposição ao tratamento salino severo (Sal2), a concentração de PST em folhas não foi alterada. No entanto, tanto os níveis de AALT quanto os níveis de PRO, aumentaram 128% e 52%, respectivamente, após 240 horas de exposição ao tratamento salino severo (Sal2) (Tabela 3).

Tabela 3: Concentrações de proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT), prolina (PRO) e relação PRO/AALT de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	24 h DT			240 h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
PST (mg PST . g MF⁻¹)						
C	4,59 c	7,29 ab	4,16 d	5,82 b	1,22 a	0,53 a
Sal 1	5,01 bc	6,39 bc	7,37 b	11,78 a	1,45 a	0,55 a
Sal 2	6,45 b	6,35 bc	8,59 ab	4,98 b	1,28 a	0,44 a
Sal 1 + Ca ²⁺	9,25 a	8,18 a	10,16 a	12,31 a	1,31 a	0,62 a
Sal 2 + Ca ²⁺	4,13 c	5,75 c	5,80 c	3,82 c	1,19 a	0,60 a
AALT (μmol AALT . gMS⁻¹)						
C	89,9 a	112,0 c	76,9 ab	68,6 d	89,7 d	55,2 d
Sal 1	66,8 b	145,3 ab	58,0 c	139,6 c	87,1 d	99,2 c
Sal 2	51,4 c	155,0 a	89,4 a	157,1 bc	234,5 a	167,8 a
Sal 1 + Ca ²⁺	82,7 a	119,5 bc	67,0 bc	246,4 a	137,4 c	131,4 b
Sal 2 + Ca ²⁺	78,5 a	142,1 ab	75,7 b	171,4 b	186,7 b	136,2 b
PRO (μmol PRO . gMS⁻¹)						
C	4,00 b	2,87 b	1,52 b	6,05 c	2,60 c	1,57 b
Sal 1	6,40 a	2,84 b	1,28 b	6,04 c	4,77 b	1,79 b
Sal 2	7,72 a	3,60 a	1,96 a	9,25 b	10,40 a	3,01 a
Sal 1 + Ca ²⁺	6,98 a	2,42 b	2,33 a	12,04 a	4,74 b	1,64 b
Sal 2 + Ca ²⁺	6,57 a	2,82 b	1,96 a	12,33 a	9,87 a	3,23 a
PRO/AALT						
C	4,44	2,56	1,97	8,81	2,90	2,84
Sal 1	9,57	1,96	2,20	4,32	5,47	1,80
Sal 2	15,01	2,33	2,19	5,89	4,44	1,79
Sal 1 + Ca ²⁺	8,44	2,02	3,48	4,89	3,45	1,25
Sal 2 + Ca ²⁺	8,36	1,99	2,58	7,19	5,28	2,37

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

Após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2), não foram observadas alterações nos níveis de PST em caules (Tabela 3). Entretanto, os níveis de AALT em ambos os tratamentos salinos aumentaram em aproximadamente 29% (Sal1) e 38% (Sal2) em caules de *J. curcas*. Ao avaliar a concentração de PRO neste mesmo órgão e período de exposição, observou-se que apenas no tratamento salino severo (Sal2) os níveis deste osmólito aumentou em aproximadamente 25%, comparado ao grupo controle (Tabela 3). Em caules de *J. curcas*, 240 h DT, as concentrações de PST não sofreram alterações em nenhum dos tratamentos salinos estudados. Entretanto, aumentos de 161% nos níveis de AALT em

Sal2 e de 83% e 300% nos níveis de PRO em Sal1 e Sal2, respectivamente, foram observados em caules de *J. curcas*, 240 h DT (Tabela 3).

Em raízes, 24 h DT, o aumento nos níveis de PST foi observado em ambos os tratamentos salinos (Sal1 – 77%; Sal2 – 106%) (Tabela 3). Neste mesmo período de exposição, os níveis de AALT reduziram 24% apenas no tratamento salino moderado (Sal1), contudo, após exposição ao tratamento Sal2, observou-se um aumento de aproximadamente 16% (Tabela 3). O aumento nos níveis de AALT, em raízes expostas ao tratamento Sal2, foi acompanhando também do aumento nos níveis de PRO (29%). Os níveis de PST em raízes de *J. curcas* não foram alterados após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos. Neste mesmo período, foram observados aumentos nos níveis de AALT em ambos os tratamentos salinos (Sal1 – 79%; Sal2 – 203%). Apenas no tratamento salino severo (Sal2), observou-se um aumento de 91% nos níveis de PRO em raízes de *J. curcas* (Tabela 3).

O acúmulo de PST tanto em folhas (Sal2 – 24 h DT; Sal1 – 240 h DT) quanto em raízes (Sal1 e Sal2 – 24 h DT), pode estar relacionado à síntese de proteínas específicas que, em condições adversas, contribuem para a tolerância ao estresse salino (MOHAMMADKANI & HEIDARI, 2008). Adicionalmente, em raízes expostas ao tratamento Sal2 (24 h DT) e em folhas expostas ao tratamento Sal1 (240 h DT), o aumento nos níveis de PST pode estar associado à manutenção do CRA nestes dois órgãos. Para Zhang et al. (2014), o aumento da síntese de proteínas da família LEA (*late embryogenesis abundant*) estão associadas a manutenção do turgor celular, bem como a estabilização de proteínas e estruturas celulares em *J. curcas*, o que pode aumentar a tolerância da espécie ao sal.

O aumento ou manutenção nos níveis de PST em detrimento a reduções nas concentrações de AALT, observados em folhas (Sal1 e Sal2) e raízes (Sal1), após 24 horas de exposição, sugerem que plantas de *J. curcas* tenham alterado o metabolismo dos aminoácidos com intuito de estabilizar ou ainda sintetizar novas proteínas em resposta ao estresse, como sugerido por Székely et al. (2008) em plantas de *Arabidopsis*.

As alterações no metabolismo de aminoácidos em plantas de *J. curcas* submetidas a condições salinas ficam evidentes com o aumento nos níveis de AALT em folhas (Sal2 – 240 h DT), caule (Sal1 e Sal2 – 24 h DT; Sal2 – 240 h DT) e raízes (Sal1 e Sal2 – 240 h DT). Nestes casos, o acúmulo de AALT pode estar relacionado à limitação na síntese proteica que favorece o aumento nos níveis de AALT, indicando que há um rearranjo do metabolismo do nitrogênio sob estresse salino, possibilitando o acúmulo de aminoácidos como solutos

compatíveis, através do mecanismo de síntese “*de novo*” no ambiente intracelular (ALVES & SETTER, 2004; SILVA et al., 2009).

O acúmulo de aminoácidos solúveis foi também observado em *J. curcas* submetidas ao déficit hídrico, sendo tal resposta parte do mecanismo de ajustamento osmótico que impede a perda de água pela planta (SANTOS et al., 2013). Tal mecanismo também pode ser utilizado por *J. curcas* em condições de salinidade, pois o déficit hídrico gerado pelo componente osmótico do estresse salino pode aumentar os níveis de AALT e controlar o *status* hídrico da espécie (SILVA et al., 2009), assim como observado em raízes (Sal2 – 24 h DT; Sal1 e Sal2 – 240 h DT) e folhas (Sal1 – 240 h DT) que mantiveram ou até mesmo aumentaram o CRA de *J. curcas* no presente estudo. De acordo com Zhou e Yu (2010), o acúmulo de AALT na planta pode agir como osmólitos compatíveis, mantendo o turgor celular a potenciais hídricos inferiores ao do ambiente externo, estando os AALT contribuindo para a manutenção do CRA na maioria dos órgãos após exposição aos diferentes tratamentos salinos do presente estudo, principalmente 240h DT.

Na maioria dos órgãos analisados no presente estudo, observou-se um aumento nos níveis de PRO, principalmente na concentração salina severa (Sal2). Tal elevação nas concentrações deste osmólito foi acompanhada do aumento nos níveis de AALT, com exceção de folhas expostas aos tratamentos salinos 24 h DT. Contudo, de forma geral, os valores encontrados na relação PRO/AALT, principalmente em folhas, sugerem uma relativa contribuição deste aminoácido no ajustamento osmótico de *J. curcas*. A prolina é um dos aminoácidos que comumente estão associados à resposta da planta frente a um fator de estresse, podendo seus níveis aumentar em até 80% da reserva de aminoácidos totais (JOSEPH et al., 2015). Adicionalmente, a prolina pode estar relacionada diretamente com a estabilidade da membrana (BABU et al., 2012), representado pelo percentual de VE (folhas e caule – 24 h DT), e ainda à manutenção do *status* hídrico da planta (ZENG et al., 2015), representado pelos níveis de CRA em folhas (Sal1) e raízes (Sal2), 24 h DT, e em todos os órgãos e tratamentos salinos, 240 h DT.

A suplementação de Ca^{2+} à solução salina incrementou em 84% os níveis de PST de folhas de *J. curcas*, após 24 horas de exposição ao tratamento salino moderado (Sal1 + Ca^{2+}), comparado ao tratamento Sal1 (Tabela 3). Tal aumento foi acompanhado pelo incremento de aproximadamente 23% nos níveis de AALT, no mesmo período e tratamento de exposição. A exposição de folhas ao tratamento Sal2 + Ca^{2+} , durante 24 horas, reduziu em 36% os níveis de PST, comparado ao tratamento Sal2 (Tabela 3). Contudo, observou-se um aumento de 52%

nos níveis de AALT, após 24 horas de exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺, comparado ao tratamento Sal2. Em ambos os tratamentos salinos suplementados com Ca²⁺, os níveis de PRO em folhas, 24h DT, não sofreram alterações após a suplementação do Ca²⁺ na solução salina (Tabela 3). A suplementação com o Ca²⁺ à solução salina, 240 h DT, reduziu os níveis de PST de folhas apenas no tratamento salino severo (Sal2 + Ca²⁺). Entretanto, os níveis de AALT em folhas de *J. curcas* aumentaram em aproximadamente 76% e 9%, tanto no tratamento Sal1 quanto em Sal2, respectivamente, comparados aos seus tratamentos salinos (Sal1 e Sal2), assim como os níveis de PRO que também foram incrementados com a suplementação de Ca²⁺ aos tratamentos salinos em aproximadamente 100% e 33% em Sal1 + Ca²⁺ e Sal2 + Ca²⁺, respectivamente (Tabela 3).

A exposição do caule ao tratamento Sal1 + Ca²⁺ durante 24 horas, incrementou em 28% a concentração de PST, comparado ao tratamento Sal1. Este incremento foi acompanhado pela redução de 17% nos níveis de AALT, no mesmo tratamento e tempo de exposição, bem como a manutenção nos níveis de PRO (Tabela 3). Caules de *J. curcas* não modificaram suas concentrações de PST após o incremento de Ca²⁺ à solução salina severa (Sal2 + Ca²⁺). Contudo, observou-se uma redução nos níveis de AALT neste mesmo tratamento (8%), 24 h DT (Tabela 3). No referido órgão, 24 h DT, observou-se uma redução de 21% também nos níveis de PRO, após exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺. Em caule, 240 h DT, a suplementação de Ca²⁺ aos tratamentos salinos não provocou alterações na concentração de PST. Tanto no tratamento Sal1 + Ca²⁺ quanto no Sal2 + Ca²⁺ observaram-se aumentos de 9% e 57%, respectivamente, nos níveis de AALT, 240 h DT (Tabela 3). No tratamento Sal2 + Ca²⁺, os níveis de AALT no caule reduziram em aproximadamente 20%, no mesmo período de exposição. Os níveis de PRO não apresentaram alterações após a suplementação de Ca²⁺ aos tratamentos salinos, 240 h DT, comparados aos seus respectivos tratamentos salinos (Tabela 3).

As raízes tiveram suas concentrações de PST incrementadas em 37% com a suplementação de Ca²⁺ à solução salina moderada (Sal1 + Ca²⁺), 24 h DT (Tabela 3). Neste mesmo tratamento e período de exposição, observou-se aumentos de 15% nos níveis de AALT e de 29% nos níveis de PRO, ambos comparados aos seus respectivos controles salinos (Sal1). Após 24 horas de exposição ao tratamento salino severo suplementado com Ca²⁺ (Sal2 + Ca²⁺), as concentrações de PST reduziram em aproximadamente 32%, comparado ao controle salino Sal1 (Tabela 3). As reduções nos níveis de PST, foram acompanhadas também de reduções de aproximadamente 15% nas concentrações de AALT, no mesmo tratamento e

período de exposição. Em raízes, não houve alteração na concentração de PRO após a suplementação de Ca^{2+} à solução salina severa (Sal2 + Ca^{2+}) (Tabela 3). Após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos suplementados com Ca^{2+} , os níveis de PST em raízes não sofreram alterações. A suplementação com Ca^{2+} aumentou em 32% os níveis de AALT após exposição ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} , contudo, reduziu a concentração deste osmólito em 18% no tratamento Sal2 + Ca^{2+} . As concentrações de PRO em raízes não sofreram influência da suplementação de Ca^{2+} à solução salina, independente da dose de NaCl, 240 h DT (Tabela 3).

No presente estudo, a suplementação com Ca^{2+} aumentou os níveis de PST em todos os órgãos expostos ao tratamento salino moderado (Sal1 + Ca^{2+}), somente após 24 horas. Tal aumento pode estar relacionado à função de sinalização do Ca^{2+} que, em condições de salinidade, ativam cascatas de eventos que induzem à expressão de genes que codificam proteínas atuantes nos inúmeros processos de tolerância à salinidade (DODD et al., 2010). A suplementação de Ca^{2+} ainda pode promover a estabilização de proteínas, evitando a sua proteólise em condições de estresse salino, o que mantém ou aumenta os níveis deste osmólito no ambiente intracelular (AURISANO et al., 1995; LÄUCHLI & GRATTAN, 2007). A estabilização das proteínas e a inibição da sua proteólise podem justificar, em parte, as reduções nos níveis de AALT em caules (Sal1+ Ca^{2+} - 24 h DT e Sal2 + Ca^{2+} - 240 h DT) e em raízes (Sal2 + Ca^{2+} - 24 e 240 h DT), pois reduções nos níveis de aminoácidos em condições de estresse podem estar relacionadas à inibição da proteólise e/ou incorporação de aminoácidos às proteínas (MEREWITZ et al., 2013).

O cálcio também aumentou os níveis de AALT na maioria dos órgãos estudados, principalmente em folhas expostas a ambos os períodos de exposição e nos demais órgãos após 240 horas de exposição ao tratamento salino moderado (Sal1 + Ca^{2+}). No presente estudo, sugere-se fortemente a ocorrência de uma relação direta entre o cálcio e o aumento nos níveis de aminoácidos totais principalmente após exposição a 75 mM de NaCl. Aurisano et al. (1995) relacionaram o aumento de Ca^{2+} citosólico à manutenção dos níveis de aminoácidos totais e seu papel específico na síntese de ácido γ -aminobutírico (GaBa), um aminoácido que participa dos processos de resistência das plantas à salinidade (AKÇAY et al., 2012). Jaleel et al. (2007) relacionaram o incremento de Ca^{2+} na solução nutritiva à mitigação dos efeitos gerados pelo déficit hídrico através do aumento nas concentrações de aminoácidos como a prolina e glicina betaina em plantas de *Catharanthus roseus*. Já Nayyar (2003) ressalta a importância da suplementação de Ca^{2+} no incremento de compostos quaternários de amônio derivados de aminoácidos, auxiliando no ajustamento osmótico de *Triticum aestivum*

e *Zea mays* submetidas ao estresse salino. A relação entre os aminoácidos e o cálcio também foram relatadas por Girija et al. (2002) e Dodd et al. (2010) em *Arachis hypogaea* L. e *Arabidopsis*, respectivamente.

A suplementação com o Ca^{2+} às concentrações de NaCl provocou efeitos positivos às concentrações de prolina apenas em folhas após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos. O cálcio interage com proteínas quinase que modulam os níveis de prolina, regulando positivamente a tolerância da espécie por meio do aumento nas concentrações citosólicas deste osmólito (XU et al., 2010; KRÁSENSKÝ et al., 2012). Segundo Nayyar (2003) o cálcio tem papel importante na via de biossíntese de prolina, ativando a enzima *Δ1-pyrroline-5-carboxylate synthetase* (P5CS) que converte o glutamato em pirrolina-5-carboxilato (P5C), molécula predecessora à prolina. Aumentos nos níveis de prolina associados à aplicação de Ca^{2+} em plantas de *Halocnemum strobilaceum*, *Vicia faba* L. e *Atriplex halimus* L. submetidas a concentrações de NaCl também foram discutidos por Su et al. (2011), Siddiqui et al. (2012) e Soualem et al. (2014), respectivamente.

Os resultados observados nos diferentes órgãos de *J. curcas*, independente do tratamento ou tempo de exposição, sugerem uma relativa contribuição do cálcio na mitigação dos efeitos da salinidade através da sua participação no incremento do acúmulo de compostos nitrogenados, mecanismo este utilizado para garantir o aporte hídrico dos tecidos por meio de um ajustamento osmótico celular em condições de salinidade (SOUALEM et al., 2012).

3.3 Ajustamento osmótico por carboidratos

Os AST tiveram seus níveis reduzidos em folhas com o aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao estresse (Tabela 4). Nestas folhas, o tratamento Sal1 reduziu em aproximadamente 35% os níveis de AST, 24h DT e 48% após 240 horas de exposição ao estresse, comparados aos respectivos grupos controles (Tabela 4). Neste mesmo tratamento salino, 24 h DT, observou-se um aumento de 20% nos níveis de amido em folhas, entretanto, 240h DT, os níveis de amido reduziram cerca de 58%. No tratamento Sal2 a redução na concentração de AST foi de 49% e 65%, após 24 e 240 horas de exposição ao NaCl, respectivamente (Tabela 4). Em Sal2, a redução observada nos AST de folhas apenas 240 h DT, foi acompanhada de reduções de 54% nos níveis de amido. Neste órgão, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao NaCl, os AR contribuíram com a maior parcela nas concentrações de AST observadas, independente do tratamento salino (Tabela 4).

Tabela 4: Concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), açúcares redutores (AR) e amido em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos estresses.

Tratamentos	24 h DT			240 h DT		
	Partes da planta			Partes da planta		
	Folhas	Caule	Raízes	Folhas	Caule	Raízes
AST (mg AST . gMS⁻¹)						
C	95,7 a	78,5 d	14,3 c	201,2 a	130,7 b	33,9 c
Sal 1	61,6 b	135,7 c	20,4 b	104,0 b	72,7 cd	16,8 d
Sal 2	48,5 c	255,9 a	14,5 c	68,9 d	58,8 d	53,2 a
Sal 1 + Ca ²⁺	40,5 c	163,9 b	8,0 d	59,2 d	150,3 a	12,1 d
Sal 2 + Ca ²⁺	46,2 c	256,7 a	33,0 a	82,7 c	87,71 c	48,2 b
ANR (mg ANR . gMS⁻¹)						
C	16,2 a	24,3 b	6,1 c	13,2 a	51,5 b	4,0 d
Sal 1	14,7 a	86,7 a	15,4 a	13,2 a	28,8 d	4,5 cd
Sal 2	11,8 b	104,9 a	6,8 c	9,0 b	31,1 cd	7,9 a
Sal 1 + Ca ²⁺	13,9 ab	83,0 a	6,3 c	6,2 c	84,4 a	4,7 c
Sal 2 + Ca ²⁺	14,4 ab	103,8 a	9,4 b	6,5 c	40,3 bc	6,1 b
AR (mg AR . gMS⁻¹)						
C	79,4 a	54,1 c	8,2 b	192,6 a	67,8 a	29,9 b
Sal 1	46,8 b	54,2 c	5,6 b	90,7 b	42,9 bc	12,3 c
Sal 2	36,7 bc	151,0 a	8,1 b	61,2 d	27,7 c	45,2 a
Sal 1 + Ca ²⁺	26,5 d	80,8 b	1,8 c	52,9 d	65,8 ab	7,3 d
Sal 2 + Ca ²⁺	32,2 cd	148,7 a	23,4 a	76,2 c	48,0 bc	42,1 a
AMIDO (mg Amido . gMS⁻¹)						
C	23,4 bc	336,0 a	14,6 a	24,5 a	363,5 a	10,8 a
Sal 1	28,3 b	296,6 b	10,9 b	10,1 d	352,6 a	10,4 ab
Sal 2	19,0 d	249,1 c	14,9 a	11,1 cd	362,9 a	11,4 a
Sal 1 + Ca ²⁺	47,1 a	257,3 c	10,9 b	15,4 b	220,1 b	9,6 b
Sal 2 + Ca ²⁺	20,6 cd	251,7 c	14,7 a	11,6 c	344,9 a	10,7 ab

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

No caule, após 24 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST aumentaram de acordo com o aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva (Sal1 – 73%; Sal2 – 3 vezes mais AST), comparado ao grupo controle (Tabela 4). Neste caso, após 24 horas de exposição ao NaCl, os ANR contribuem com a maior parcela nas concentrações de AST no tratamento salino moderado (Sal1) e os AR contribuem com a maior parcela nas concentrações de AST no tratamento salino severo (Sal2). Neste mesmo período, reduções de 11% e 25% foram observadas nos níveis de amido em caules expostos aos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela 4). Após 240 horas de exposição ao NaCl, observou-se no

caule uma redução nos níveis de AST de acordo com o aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva (Sal1 – 44%; Sal2 – 55%), comparado ao grupo controle (Tabela 4). Contudo, no referido período, observou-se que a maior parcela na concentração de AST em caule se deu pelos AR no tratamento Sal1 e pelos ANR no tratamento Sal2. Os níveis de amido em caule, 240h DT, não apresentaram diferença entre os tratamentos salinos e seus respectivos grupos controle (Tabela 4).

Após 24 horas de exposição ao estresse salino, observou-se em raízes um aumento de 42% nas concentrações de AST apenas no tratamento Sal1 (Tabela 4). Durante a exposição ao estresse salino moderado (Sal1), observou-se uma maior contribuição dos ANR no aumento da concentração de AST em raízes. Neste mesmo órgão e tratamento salino, observou-se uma redução de aproximadamente 25% nos níveis de amido, 24 h DT (Tabela 4). Os níveis de AST e amido em raízes, quando expostas ao tratamento Sal2, não apresentam diferenças em relação ao grupo controle, 24 h DT. Neste órgão, 240h DT, o tratamento salino moderado (Sal1) reduziu em 50% os níveis de AST (Tabela 4). Entretanto, as raízes submetidas à concentração mais severa de NaCl (Sal2) aumentaram em 56% os níveis de AST. Nas raízes, em ambos os tratamentos salinos, 240 h DT, os AR contribuíram com a maior parcela nas concentrações de AST (Tabela 4). Neste órgão, 240 h DT, os níveis de amido não sofreram alterações em nenhum dos tratamentos salinos.

Altas concentrações de NaCl podem causar desbalanço no perfil de carboidratos podendo aumentar ou reduzir os níveis deste soluto orgânico em todo o vegetal (SILVA et al., 2010). Em folhas de *J. curcas*, tanto 24 h DT quanto 240 h DT, é possível que as reduções observadas nos níveis de AST estejam associadas a uma redução intensa na taxa de assimilação de CO₂ acompanhada de forte decréscimo dos conteúdos de sacarose em folhas (SOUSA et al., 2012) e/ou pelo aumento na intensidade de translocação dos fotoassimilados das folhas para outros órgãos da planta (ALBACETE et al., 2014). Alterações no metabolismo fotossintético de *J. curcas* foram relacionadas a exposição desta espécie à salinidade e ao déficit hídrico por Silva et al. (2010), Díaz-López et al. (2012) e Garcia-Almodovar et al. (2014).

As reduções nos níveis de AST e ANR em folhas podem estar relacionadas ao aumento nos níveis de AST em caule (Sal1 e Sal2) e em raízes (Sal1), quando expostas a 24 horas de exposição aos tratamentos salinos. Já após 240 horas de exposição, as reduções observadas nos AST e ANR estão associadas ao aumento nos níveis de AST em raízes apenas no tratamento salino severo (Sal2). Em ambos os casos, pode-se inferir que o aumento na

translocação destes solutos das folhas (órgão fonte) para tecidos não fotossintetizantes (órgãos dreno) ocorreu na tentativa de suprir a demanda por açúcares nos órgãos basais do vegetal, estratégia comum utilizada por plantas expostas à salinidade (FOYER & PAUL, 2001; ALBACETE et al., 2014).

Especificamente no tratamento Sal1 em folhas (24 h DT) e em ambos os tratamentos salinos em caule (240h DT), as reduções nos níveis de AST nestes dois órgãos podem estar relacionadas ao aumento ou manutenção nos níveis de amido. O acúmulo de amido pode ser resultado da síntese deste polissacarídeo a partir da hidrólise da sacarose, quando as plantas são submetidas à salinidade (PATTANAGUL & THITISAKSAKUL, 2008). As plantas acumulam e armazenam carboidratos na forma de amido, podendo este ser mobilizado em períodos de fornecimento limitado ou aumento das demandas energéticas, comuns durante o estresse salino (KRÁSENSKÝ et al., 2012).

Provavelmente, o acúmulo de AST (24 h DT) e amido (240 h DT) em caules de *J. curcas*, sugerem a ocorrência tanto de um aumento na intensidade de drenagem dos fotoassimilados das folhas para o caule (ALBACETE et al., 2009), quanto pela função de estrutura armazenadora de carboidratos exercida por este órgão, sendo responsável por transportar tais solutos para os demais órgãos da planta sob condições de estresse (GARCIA-ALMODOVAR et al., 2014).

Especificamente após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos, o acúmulo de AST observados tanto em caule (Sal1 e Sal2) quanto em raízes (Sal1), aparentemente não estão relacionados a uma manutenção do *status* hídrico destes órgãos em condições de salinidade. Contudo, é possível que tal incremento nos valores deste soluto esteja relacionado ao aumento da hidrólise de amido, representado pelas reduções nas concentrações deste soluto nos mesmos tratamentos do presente trabalho, ou ainda, sugere a diminuição da sua utilização como fonte de esqueletos de carbono para a biossíntese e crescimento da planta (SILVA et al., 2010).

Após 240 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST em caule reduziram, sugerindo uma mudança de estratégia da planta em função do tempo de exposição aos tratamentos salinos. As reduções nos níveis de ANR no caule, 240 h DT, principalmente no tratamento Sal1, podem estar associados à frequente redução na migração destes açúcares das folhas para o caule, comuns em plantas submetidas à salinidade (McCORMICK et al., 2008). No estudo de Díaz-López et al. (2012), as concentrações de AST em caules de *J. curcas* também foram reduzidas com o incremento de NaCl na solução nutritiva.

O acúmulo de AST observado em caule de *J. curcas* em ambos tratamentos com NaCl, 24h DT, não foram suficientes para manter o *status* hídrico deste órgão em ambiente salino, porém podem ter contribuído para a manutenção da integridade das membranas celulares neste órgão, como representado pela manutenção da taxa de VE. Aumentos nos níveis de ANR em caule, como observados no presente estudo, sugerem a contribuição da sacarose na proteção e estabilização das membranas celulares de tecidos desidratados (HASSINE & LUTTS, 2010).

Após 240 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST em raízes aumentaram no tratamento Sal2. A capacidade de acúmulo de AST em células radiculares pode estar relacionada a um mecanismo de resistência ao sal (FLOWERS, 2004). O acúmulo principalmente de AR no presente estudo sugere a contribuição das hexoses na osmoproteção e ajustamento osmótico principalmente nas regiões de crescimento, como ocorre em algumas espécies (ASHRAF & HARRIS, 2004). O aumento nos níveis de AST em raízes expostas ao estresse salino severo (Sal2) parece contribuir para a manutenção do CRA deste órgão. Em plantas jovens de *J. curcas* o aumento no níveis de AST estão relacionados à manutenção do ajustamento osmótico de raízes quando expostas a condições de restrição hídrica (SILVA et al., 2010).

O incremento de Ca^{2+} à solução salina moderada (Sal1 + Ca^{2+}) reduziu os níveis de AST em folhas de *J. curcas* tanto após 24 horas (16%) quanto 240 horas (43%) de exposição ao tratamento, comparados aos respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 4). Neste mesmo tratamento (Sal1 + Ca^{2+}), os níveis de amido incrementaram tanto após 24 horas (66%) quanto após 240 horas (52%) de exposição ao tratamento, comparados aos seus respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 4). Após exposição ao tratamento Sal2 + Ca^{2+} , os níveis de AST de folhas não sofreram alterações após 24 horas de exposição, contudo, 240 h DT, observou-se um aumento de aproximadamente 20% nos níveis de AST, comparado ao tratamento Sal2. O referido tratamento não alterou os níveis de amido em folhas após 240 horas de exposição (Tabela 4). Observou-se que em folhas de *J. curcas* expostas aos tratamentos salinos suplementados com Ca^{2+} , a maior parcela dos AST foi constituída por açúcares redutores, independente do tratamento ou tempo de exposição aos tratamentos.

Em caule de *J. curcas*, observou-se incrementos nos níveis de AST em ambos os períodos de exposição ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} (24 h DT – 20%; 240 h DT – 106%) (Tabela 4). Em ambos os períodos de exposição ao referido tratamento, observou-se reduções nos níveis de amido de aproximadamente 13% e 37% após 24 e 240 horas de exposição,

respectivamente. Após 24 horas de exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺, os níveis de AST não sofreram alterações, contudo, 240 h DT, observou-se um incremento de 50% nos níveis de AST (Tabela 4). Em ambos os períodos de exposição, as concentrações de amido não apresentaram alterações após exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺. Em ambos os períodos de exposição, os ANR contribuem com a maior parcela dos AST em caules expostos ao tratamento Sal1 + Ca²⁺, enquanto que os AR contribuem com a maior parcela dos AST em Sal2 + Ca²⁺ (Tabela 4).

Raízes expostas ao tratamento salino moderado, suplementado com Ca²⁺ (Sal1 + Ca²⁺), apresentaram reduções nos níveis de AST apenas após 24 horas de exposição (60%) (Tabela 4). Neste mesmo período, a suplementação com Ca²⁺ incrementou os níveis de AST em 127% no tratamento Sal2 + Ca²⁺. Após 240 horas de exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺, os níveis de AST de raízes reduziram 9%, comparado ao tratamento Sal2. Em ambos os períodos de exposição, independente do tratamento salino acrescido de Ca²⁺, os níveis de amido não sofreram alterações (Tabela 4). Em ambos os períodos de exposição aos diferentes tratamentos salinos suplementados com Ca²⁺, observou-se que os AR contribuem com a maior parcela dos AST em praticamente todos os órgãos de *J. curcas* avaliados (Tabela 4).

A suplementação com o cálcio reduziu os níveis de AST principalmente em folhas submetidas à concentração moderada de NaCl (Sal1 + Ca²⁺) em ambos os períodos de exposição. Tal redução foi acompanhada do aumento nos níveis de AST também em caules no mesmo tratamento e períodos de exposição, o que sugere a translocação de açúcares das folhas (órgão fonte) para o caule (órgão dreno). Aparentemente o cálcio não participa diretamente do processo de translocação de açúcares, contudo, um aporte adequado de Ca²⁺ facilita o fluxo de K⁺ através da membrana plasmática e garante concentrações adequadas de potássio pelo aumento na seletividade por este íon (SHORESH et al., 2011). Neste caso, com aportes adequados de K⁺, o transporte de sacarose das folhas para o caule é facilitado, pois o potássio pode ativar enzimas que estão envolvidas no processo de transporte de sacarose (YUAN et al., 2015). Uma relação direta entre suplementação de cálcio e uma redução nos níveis de AST, principalmente glicose e frutose, foi encontrada por Rubio et al. (2009) estudando plantas de *Capsicum annuum* L.

No presente estudo, o acúmulo de AST nos tecidos caulinares sugere a contribuição do Ca²⁺ na importação de açúcares e fortalece a importante contribuição deste órgão como estrutura de armazenamento de carboidratos. Concentrações adequadas de Ca²⁺ em órgãos de armazenamento induzem uma permeabilidade elevada da membrana e facilita a difusão e

acúmulo de açúcares nos tecidos via floema (GREGER & BERTELL, 1992). Por outro lado, a relação de aumento nos níveis de AST em detrimento à redução nos níveis de amido, observada em caules, tanto após 24 como 240 horas de exposição ao tratamento Sal1 + Ca²⁺ sugere a atuação do cálcio como molécula sinalizadora na indução da expressão de genes envolvidos na síntese de amilases, responsáveis pela degradação do amido em açúcares solúveis (SMEEKENS, 2000). Além disto, os processos de sinalização mediados pelo acúmulo de Ca²⁺ citosólico podem levar à expressão de genes relacionados com a biossíntese de carboidratos complexos (FURUICHI et al., 2001), justificando em parte o aumento nos níveis de AST em folhas (Sal2 + Ca²⁺ - 240 h DT), caules (Sal1 + Ca²⁺ - 24 h DT; Sal1 + Ca²⁺ e Sal2 + Ca²⁺ - 240 h DT) e raízes (Sal2+Ca²⁺).

Já o aumento nos níveis de amido observados em folhas de *J. curcas*, em ambos os períodos de exposição aos tratamentos salinos suplementados com Ca²⁺, podem estar relacionados à redução ou mesmo a inibição da sua degradação. Para Appenroth e Gabrys (2003) a degradação do amido é parcialmente inibida com a suplementação de Ca²⁺ na solução nutritiva.

Observando os resultados obtidos, ficou evidente que as alterações nos níveis de Ca²⁺ citosólico após exposição de *J. curcas* aos tratamentos salinos influenciaram no acúmulo de carboidratos e que tal acúmulo depende da duração e intensidade do estresse, além do tipo de célula ou tecido avaliado (SOUALEM et al., 2012; KADER & LINDBERG, 2014).

4. CONCLUSÕES

1- Plantas de *J. curcas* submetidas a condições de salinidade e suplementadas com cálcio apresentam respostas complexas e moduladas de acordo com o órgão, a dose e o tempo de exposição.

2- O NaCl causou danos as membranas celulares e foi responsável por reduções no *status* hídrico da planta evidenciando assim o efeito do componente osmótico do estresse salino nas primeiras 24 horas.

3- Após 240 horas de exposição, a planta recupera seu *status* hídrico devido ao acúmulo de solutos orgânicos, utilizando, portanto, a estratégia de ajustamento osmótico.

4- Em ambos os períodos de exposição, a osmorregulação se dá em cada órgão especificamente de acordo com a dose de NaCl aplicada à solução, estando as proteínas solúveis, os aminoácidos livres, a prolina e os carboidratos totais agindo como osmólitos

compatíveis e atuando de forma conjunta ou não na mitigação dos efeitos osmóticos da salinidade.

5- A complexidade e a modulação desta estratégia de resistência foram influenciadas pela suplementação de cálcio à solução salina, estando este íon atuando no incremento das concentrações dos osmólitos em cada órgão especificamente.

5. REFERÊNCIAS

ADEM, G. D.; ROY, S. J.; ZHOU M.; BOWMAN, J. P.; SHABALA, S. B. M. C. Evaluating contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in barley. **Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 113, 2014.

AKÇAY, N.; BOR, M.; KARABUDAK, T.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, İ. Contribution of Gamma amino butyric acid (GABA) to salt stress responses of *Nicotiana sylvestris* CMSII mutant and wild type plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p. 452–458, 2012.

ALBACETE, A. A.; MARTINEZ-ANDUJAR, C.; PEREZ-ALFOCEA, F. Hormonal and metabolic regulation of source–sink relations under salinity and drought: from plant survival to crop yield stability. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 12–30, 2014.

ALVES, A. A. C.; SETTER, T. L. Absciscic acid accumulation and osmotic adjustment in cassava under water deficit. **Environmental and Experimental Botany**, v. 51, n. 3, p. 259–271, 2004.

APPENROTH, K-J.; GABRYS, H. Ion antagonism between calcium and magnesium in phytochrome-mediated degradation of storage starch in *Spirodela polyrhiza*. **Plant Science**, v. 165 p. 1261–1265, 2003.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.

AURISANO, N.; BERTANI, A.; REGGIANI, R. Involvement of calcium and calmodulin in protein and amino acid metabolism in rice roots under anoxia. **Giornale Botanico Italiano**, v. 129, n. 4, p. 1087-1088, 1995.

BABU, M. A.; SINGH, D.; GOTHANDAM, K. M. The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 22, n. 1, p. 159-164, 2012.

BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J.M. Water Deficit Effects on Solute Contribution to Osmotic Adjustment as a Function of Leaf Ageing in Three Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Cultivars Performing Differently in Arid Conditions. **Plant Science**, v. 160, p. 669–681, 2001.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

- BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- CHEN, H.; JIANG, J-G. Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. **Environmental Reviews**, v. 18, 2010.
- CRAMER, G. R. Sodium–calcium interactions under salinity stress. **Salinity: Environment–Plants–Molecules**, p. 205–228; 2002.
- DEMIDCHIK, V.; MAATHUIS, F. J. M. Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. **New Phytologist**, v. 175, p. 387–404, 2007.
- 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 Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 34–42, 2012.
- DIVAKARA, B. N.; UPADHYAYA, H. D.; WANI, S. P.; GOWDA, C. L. L. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. **Applied Energy**, v. 87, p. 732-742, 2010.
- DODD, A. N.; KUDLA, J.; SANDERS, D. The Language of Calcium Signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 593-620, 2010.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 307-319, 2004.
- FOYER, C. H.; PAUL, M. J. Sink regulation of photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 360, n. 52, p. 1383–1400, 2001.
- FURUICHI, T.; MORI, I. C.; TAKAHASHI, K.; MUTO, S. Sugar-induced increase in cytosolic Ca^{2+} in *Arabidopsis thaliana* whole plants. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, n. 10, p. 1149–1155, 2001.
- GARCIA-ALMODOVAR, C.; GIMENO, V.; NIEVES, M.; DIAZ-LOPEZ, L.; SIMON, I.; GARCIA-SANCHEZ, F. Improving the tolerance of *Jatropha curcas* L. plants to abiotic stresses. **CAB Reviews**, v. 9, n. 4. p. 1-10, 2014.

- GIRIJA, C.; SMITH, B. N.; SWAMY, P. M. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, p. 1–10, 2002.
- GREGER, M.; BERTELL, G. Effects of Ca^{2+} and Cd^{2+} on the carbohydrate metabolism in sugar beet (*Beta vulgaris*). **Journal of Experimental Botany**, v. 43, n. 247, p. 167-173, 1992.
- HISHIDA, M.; ASCENCIO, F.; FUJIYAMA, H.; ORDUNO-CRUZ, A.; ENDO, T. Response to salt stress in growth water relations and ion content of *Jatropha curcas* and *J. cinerea* seedlings. **Interciencia Journal**, v. 38, p. 289-304, 2013.
- HASSINE, A. B.; LUTTS, S. Differential responses of saltbush *Atriplex halimus* L. exposed to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p. 1448–1456, 2010.
- HESSINI, K.; MARTÍNEZ, J. P.; GANDOUR, M.; ALBOUCHI, A.; SOLTANI, A.; ABDELLY, C. Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and water-use efficiency in *Spartina alterniflora*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 2, p. 312–319, 2009.
- HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
- HSU, M-H.; CHEN, C-C.; LIN, K-H.; HUANG, C-M.; YANG; HUANG, W-D. Photosynthetic responses of *Jatropha curcas* to spider mite injury. **Photosynthetica**, v. 53, n. 3, p. 349-355, 2015.
- IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.
- JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, p. 110–116, 2007.
- JOSEPH, E. A.; RADHAKRISHNAN, V. V.; MOHANAN, K. V. A Study on the accumulation of proline - an osmoprotectant amino acid under salt stress in some native rice cultivars of North Kerala, India. **Universal Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 1, p. 15-22, 2015.
- KADER, M. A.; LINDBERG, S. Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 3, p. 233-238, 2010.
- KOH, M. Y.; MOHD GHAZI, T. I. A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L. oil. **Journal Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 2240-2251, 2011.
- KRÁSENSKÝ, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p. 1593–1608, 2012.

- LÄUCHLI, A.; GRATTAN, S. R. Plant growth and development under salinity stress. *In*: Jenks M.A., Hasegawa, P. M.; Jain, S. M., eds. **Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops**, Netherlands: Springer, p. 1-32, 2007.
- LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 79-85, 2008.
- MA, Y. Y.; SONG, W. Y.; LIU, Z. H.; ZHANG, H. M.; GUO, X. L.; SHAO, H. B.; NI, F. T. The dynamic changing of Ca^{2+} cellular localization in maize leaflets under drought stress. **Comptes Rendus Biologies**, v. 332, n. 4, p. 351–362, 2009.
- MAES, W. H.; ACHTEN, W. M. J.; REUBENS, B.; RAES, D.; SAMSON, R.; MUYS, B. Plant-water relationships and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. **Journal of Arid Environments**, v. 73, p. 877-884, 2009.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of biodiesel and value-added coproducts. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p. 773-778, 2009.
- MARTINEZ-BALLESTA, M. C.; CABANERO, F.; OLMOS, E.; PERIAGO, P. M.; MAUREL, C.; CARVAJAL, M. Two different effects of calcium on aquaporins in salinity-stressed pepper plants. **Planta**, v. 228, p. 15–25, 2008.
- MCCORMICK, A. J.; CRAMER, M. D.; WATT, D. A. Differential expression of genes in the leaves of sugarcane in response to sugar accumulation. **Tropical Plant Biology**, v. 1, p. 142–158, 2008.
- MCCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156–1158, 1950.
- MEREWITZ, E. B.; GIANFAGNA, T.; HUANG, B. Protein accumulation in leaves and roots associated with improved drought tolerance in creeping bentgrass expression an *ipt* gene for cytokinins synthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 5311-5333, 2011.
- MOHAMMDKANI, N.; HEIDARI, R. Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. **Turkish Journal of Biology**, v. 32, p. 23–30, 2008.
- MORRIS, D. L. Quantitative determination of carbohydrates with Drywood's anthrone reagent. **Science**, v. 107, n. 1, p. 254–255, 1948.
- MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.
- NAYYAR, H. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. **Environmental and Experimental Botany**, v. 50, p. 253-264, 2003.
- OLIVEIRA, M. D. M.; BEZERRA, L. L.; DANTAS, C. V. S.; VOIGT, E. L.; MAIA, J. M.; MACÊDO, C. E. C. The role of xylpodium in Na^+ exclusion and osmolyte accumulation in

- faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 2871–2882, 2014.
- PATTANAGUL, W.; THITISAKSAKUL, M. Effect of salinity stress on growth and carbohydrate metabolism in three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity tolerance. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 46, p. 736–742, 2008.
- PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian International Center of Agricultural Research, 1989. 76p.
- RENAULT, H.; ROUSSEL, V.; EL AMRANI, A.; ARZEL, M.; RENAULT, D.; BOUCHEREAU, A.; DELEU, C. The *Arabidopsis pop2-1* mutant reveals the involvement of GABA transaminase in salt stress tolerance. **BMC Plant Biology**, v. 10, p. 1–16, 2010.
- RODRIGUES, C. R. F.; SILVEIRA, J. A. G.; VIÉGAS, R. A.; MOURAD, R. M.; ARAGÃO, R. M.; SILVA, E. N. Combined effects of high relative humidity and K⁺ supply mitigates damage caused by salt stress on growth, photosynthesis and ion homeostasis in *J. curcas* plants. **Agricultural Water Management**, v. 163, p. 255–262, 2016.
- RUBIO, J. S.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; RUBIO, F.; MARTÍNEZ, V. Yield, blossom-end rot incidence, and fruit quality in pepper plants under moderate salinity are affected by K⁺ and Ca²⁺ fertilization. **Scientia Horticulturae**, v. 119, p. 79–87, 2009.
- SAGLAM, A.; TERZI, R.; NAR, H.; SARUHAN, N.; AYAZ, F. A.; KADIOGLU, A. Inorganic and organic solutes in apoplastic and symplastic spaces contribute to osmotic adjustment during leaf rolling in *Ctenanthe setosa*. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 52, n. 1, p. 37–44, 2010.
- SANTOS, C. M. DOS.; VERISSIMO, V.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; FERREIRA, F. M.; CAVALCANTE, P. G. S.; ROLIM, E. V.; ENDRES, L. Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water stress. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 203–213, 2013.
- SHABALA, S.; MUNNS, R. **Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms**. UK: CAB; 2012. 291 p.
- SHORESH, M.; SPIVAK, M.; BERNSTEIN, N. Involvement of calcium-mediated effects on ROS metabolism in the regulation of growth improvement under salinity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 51, p. 1221–1234, 2011.
- SIDDIQUI, M. H.; AL-WHAIBI, M. H.; SAKRAN, A. M.; BASALAH, M. O.; ALI, H. M. Effect of calcium and potassium on antioxidant system of *Vicia faba* L. under cadmium stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 6604–6619, 2012.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.

- SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1130–1137, 2010.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K^+ , osmotic adjustment and K^+/Na^+ homeostasis. **Plant Biology**, v. 17, p. 1023–1029, 2015.
- SMEEKENS, S. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology, Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 49–81, 2000.
- SOUALEM, S.; ADDA, A.; BELKHODJA, M.; MERAH, O. Calcium supply reduced effect of salinity on growth in the Mediterranean shrub (*Atriplex halimus* L.). **Life Science Journal**, v. 11, n. 2, p. 278-284, 2014.
- SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; LIMA NETO, M. C.; LACERDA, C. F.; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados em pinhão-mansão irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 10, p. 1428–1435, 2012.
- SU, D.; CHEN, N.; GAO, T.; WANG, C. Effects of Si^+ , K^+ , and Ca^{2+} on antioxidant enzyme activities and osmolytes in *Halocnemum strobilaceum* under salt stress. **Advanced Materials Research**, v. 356-360, p. 2542-2550, 2012.
- SWANHART, S.; WEINDORF, D. C.; CHAKRABORTY, S.; BAKR, N.; ZHU, Y.; NELSON, C.; SHOOK, K.; ACREE, A. Soil salinity measurement via portable X-ray fluorescence spectrometry. **Soil Science**, v. 179, n. 9, p. 417-423, 2014.
- SZÉKELY, G.; ÁBRAHÁM, E.; CSÉPLŐ, Á.; RIGÓ, G.; ZSIGMOND, L.; CSISZÁR, J.; AYAYDIN, F.; STRIZHOV, N.; JÁSIK, J.; SCHMELZER, E.; KONCZ, C.; SZABADOS, L. Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. **The Plant Journal**, v. 53, p. 11–28, 2008.
- VAN HANDEL, E. Direct microdetermination os sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22, 280p. 1968.
- XU, J.; TIAN, Y. S.; PENG, R. H.; XIONG, A. S.; ZHU, B.; JIN, X. F.; GAO, F.; FU, X. Y.; HOU, X. L.; YAO, Q. H. AtCPK6, a functionally redundant and positive regulator involved in salt/drought stress tolerance in *Arabidopsis*. **Planta**, v. 231, p. 1251–1260, 2010.
- YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, p. 508–514, 1954.
- YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. **Salt stress tolerance of plants.**, West Lafayette: JIRCAS Working Report, 2002. p. 25-33.

YUAN, H.; WU, Y.; LIU, W.; LIU, Y.; GAO, X.; LIN, J.; ZHAO, Y. Mass spectrometry-based method to investigate the natural selectivity of sucrose as the sugar transport form for plants. **Carbohydrate Research**, v. 407, p. 5-9, 2015.

ZENG, Y.; LI, L.; YANG, R.; YI, X.; ZHANG, B. Contribution and distribution of inorganic ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to salt stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. 13639, 2015.

ZHANG, J.; ZHANG, Y.; DU, Y.; CHEN, S.; TANG, H. Dynamic metabonomic responses of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants to salt stress. **Journal of Proteome Research**, v. 10, p. 1904–1914, 2011.

ZHOU, Q.; YU, B. Changes in content of free, conjugated and bound polyamines and osmotic adjustment in adaptation of vetiver grass to water deficit. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 417–425, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

SUPLEMENTAÇÃO DE POTÁSSIO E CÁLCIO CONTRIBUI NA PROTEÇÃO OSMÓTICA E IÔNICA EM *Jatropha curcas* L. EXPOSTA À SALINIDADE

O estresse salino simulado pelo cloreto de sódio (NaCl) induziu respostas distintas quanto ao tempo de exposição, dose de NaCl e aos órgãos de *J. curcas* estudados. A salinidade afetou o crescimento das plantas em ambos os períodos de exposição, não tendo as suplementações de potássio e cálcio efeitos positivos sobre os indicadores de crescimento. Após 24 horas de exposição ao estresse salino, a perda da homeostase hídrica evidencia o efeito preponderante do componente osmótico sobre o iônico. A partir das 240 horas de exposição ao NaCl as plantas recuperaram o *status* hídrico, mas o efeito iônico provocado, sobretudo pelo sódio, causou danos às membranas celulares em todos os órgãos e de forma mais pronunciada nas raízes. Ainda assim, na maioria dos órgãos, não foram observados efeitos tóxicos pelo sódio, pois as relações K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ atingiram valores superiores a 1,0. Tanto a suplementação com o potássio quanto com o cálcio à solução salina, minimizaram os danos às membranas de folhas e caule nas primeiras 24 horas de exposição ao tratamento salino moderado, e ainda, auxiliaram na manutenção da homeostase iônica, contribuindo para o aumento das relações K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ e reduzindo o efeito tóxico do sódio na maioria dos órgãos estudados em todos os tempos de exposição. Em ambos os períodos de exposição, a osmorregulação se dá em cada órgão especificamente de acordo com a dose de NaCl aplicada à solução, estando as proteínas solúveis, os aminoácidos livres, a prolina e os carboidratos totais agindo como osmólitos compatíveis e atuando de forma conjunta, ou não, na mitigação dos efeitos osmóticos da salinidade. A complexidade e a modulação desta estratégia de resistência foram influenciadas tanto pela suplementação de potássio quanto de cálcio à solução salina, estando estes solutos inorgânicos atuando no incremento das concentrações dos osmorreguladores em cada órgão especificamente e de acordo com o tempo de exposição.