



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.

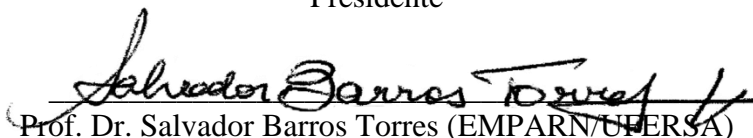
Linha de Pesquisa: Práticas Culturais e Melhoramento Genético.

DEFENDIDA EM: 07 / 04 / 2016

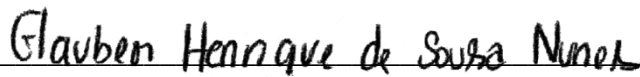
BANCA EXAMINADORA



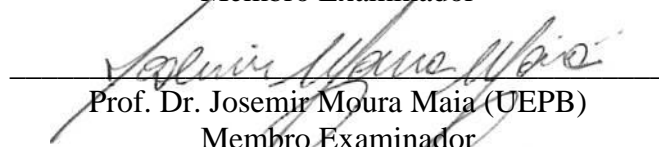
Profa. Dra. Cristiane Elizabeth Costa de Macêdo (UFRN/UFERSA)
Presidente



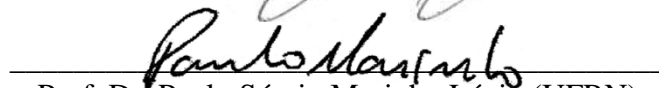
Prof. Dr. Salvador Barros Torres (EMPARN/UFERSA)
Membro Examinador



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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺. 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 Ca²⁺ levels were higher than Na⁺, helping in the ion toxicity mitigation (K⁺/Na⁺; Ca²⁺/Na⁺) in almost all the plant parts, regardless of exposure time. The highest values of K⁺/Na⁺ and Ca²⁺/Na⁺ ratios were observed in salt treatments supplied with K⁺ and Ca²⁺, 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, ALLT 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 + Ca²⁺ treatment 24 h after treatment, the supplying with Ca²⁺ increased the PST levels. In the same period, the supplying with Ca²⁺ increased the AALT levels mainly in leaves. After 240 h exposure, the presence of Ca²⁺ increased the AALT levels in all plant parts exposed to the Sal1 + Ca²⁺ treatment. PRO levels were increased with the supplying of Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺ individual additions to the salt solution supported the maintenance of ionic homeostasis and contributed to the increase of K⁺/Na⁺ and Ca²⁺/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 Ca²⁺ individual additions related to the increases of most of the compatible solutes studied. The contribution of K⁺ and Ca²⁺ 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 *Jatropha curcas* 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 *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) 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 *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) 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 *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) 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 *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) 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 *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) 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 *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) 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 *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) 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 *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.

99

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 (240 h DT) de exposição aos estresses.

101

Tabela 3 Concentrações de sódio (Na⁺), cálcio (Ca²⁺) e relação Ca²⁺/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 + 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.

104

CAPÍTULO V

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.

121

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 (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 *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

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 |
| <i>ln</i> | 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 caulinar |
| 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

34 1. INTRODUÇÃO GERAL

35 A seca e a salinidade são estresses abióticos com grande impacto no desenvolvimento
36 das plantas, causando graves perdas no rendimento agrícola de inúmeras espécies (HA et al.,
37 2014). Aproximadamente 7% da área terrestre total e 20% das terras agrícolas irrigadas são
38 afetadas pela salinidade do solo que impõe maiores restrições para a sustentabilidade
39 produtiva das culturas (AGARWAL et al., 2013). Neste cenário, a previsão é que a taxa de
40 salinidade do solo aumente entre 20 e 25% e o crescimento agrícola reduza entre 10 a 15% em
41 um futuro próximo (MIZYED, 2009; MISRA, 2011).

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

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

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

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

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

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

99 2. REFERENCIAL TEÓRICO

100

101 2.1 O pinhão-manso como oleaginosa promissora

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

107 A espécie pode ser encontrada em quase todas as regiões intertropicais do planeta,
108 estendendo sua ocorrência à América Central, Índia e Filipinas (ANDRÉO-SOUZA et al.
109 2010). No Brasil, é encontrado principalmente na região Nordeste, com distribuição vasta
110 devido à sua rusticidade e fácil adaptação a diferentes condições edafoclimáticas, pois são
111 consideradas resistentes à seca e se desenvolvem em vários tipos de solo, inclusive salino-
112 sódicos, os quais restringem o pleno desenvolvimento do vegetal (ANDRÉO-SOUZA et al.
113 2010).

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

122

123 2.2 O cenário do biodiesel no Brasil

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

131 renováveis e causam, portanto, menos danos ao meio ambiente (CORDEIRO E RAMOS,
132 2010).

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

138 Dentre as vantagens do uso do biodiesel, como o provável substituto do diesel,
139 podemos destacar: (i) fonte de energia renovável; (ii) sua combustão não contribui para a
140 emissão de CO₂; (iii) e produção total mais barata do que o petróleo (CARVALHO et al.,
141 2012). No Brasil diversos tipos de oleaginosas podem ser utilizadas na produção de biodiesel.
142 As mais populares são a soja, o girassol, algodão, dendê, amendoim e a mamona, além do
143 pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) (ARRUDA et al., 2004). Este último é uma espécie
144 exótica, que não foi completamente domesticada e somente nas últimas décadas começou a
145 ter alguns aspectos pesquisados (SATO et al., 2009; MATSUURA et al., 2010).

146

147 **2.3 A seca e a salinização dos solos do Nordeste Brasileiro**

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

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

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

170

171 **2.4 Efeitos da seca e salinidade sobre as plantas**

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

176 Para a maioria das plantas, o déficit hídrico afeta a absorção de água e nutrientes, a
177 germinação da semente, o fechamento e abertura dos estômatos, a atividade fotossintética, a
178 transpiração, a atividade enzimática e vários outros processos fisiológicos e metabólicos
179 (FLEXAS et al., 2007). O efeito desse estresse na planta é caracterizado pelo componente
180 osmótico, e um dos primeiros sintomas da falta de água nos tecidos vegetais é a perda de
181 turgor, com conseqüente redução do crescimento e expansão celular (MUNNS E TESTER,
182 2008). Já no estresse salino, além do componente osmótico, causado por uma diminuição no
183 potencial hídrico do solo, o componente iônico, gerado pela absorção e acumulação de íons
184 como Na^+ e Cl^- nos diferentes órgãos da planta, ocasionam distúrbios em relação ao balanço
185 iônico e também promovem distúrbios na síntese e atividades de proteínas, sobretudo
186 enzimas, e provocam danos aos sistemas de membranas (NAVARRO, 2007).

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

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

197 **2.5 O ajustamento osmótico nas plantas**

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

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

209 Em halófitas, muitas vezes, a tolerância à salinidade correlaciona-se positivamente
210 com a concentração de Na^+ e, quando relacionada com elevadas concentrações
211 citoplasmáticas de K^+ , favorece o ajuste osmótico da planta em relação ao ambiente. Além de
212 acumular K^+ , halófitas e glicófitas sintetizam solutos orgânicos no citoplasma para fazer
213 frente ao baixo potencial osmótico do vacúolo, devido ao excesso de sais (WILLADINO E
214 CAMARA, 2010). Dentre os solutos orgânicos compatíveis mais conhecidos na literatura
215 destacam-se os açúcares solúveis, álcoois de açúcares, compostos quaternários de amônio (ex.
216 glicina-betaína), aminoácidos livres (ex. prolina) e ácidos orgânicos (ASHRAF & HARRIS,
217 2004; MUNNS, 2005).

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

227

228

229

230 **2.6 A importância do potássio e do cálcio no ajuste osmótico**

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

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

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

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

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

270

271 **2.7 Prospecção futura**

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

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

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

295

296 3. HIPÓTESES

297 a) Os efeitos da salinidade são mitigados por adaptações fisiológicas e bioquímicas em
298 plantas de *Jatropha curcas* L.

299 b) A suplementação de potássio e/ou cálcio na solução salina auxiliam na regulação da
300 homeostase hídrica e iônica de plantas de *Jatropha curcas* L.

301

302 4. OBJETIVO GERAL

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

307

308 4.1 Objetivos específicos

309 a) Verificar a ação do NaCl no crescimento, *status* hídrico, integridade das membranas,
310 balanço iônico e ajustamento osmótico de diferentes órgãos de *J. curcas*.

311 b) Analisar a contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico e
312 na homeostase iônica de folhas, caule e raízes de *J. curcas* submetidas a diferentes
313 concentrações de NaCl.

314 c) Determinar quais solutos orgânicos e inorgânicos participam nos processos de
315 ajustamento osmótico e regulação da homeostase iônica dos diferentes órgãos de *J.*
316 *curcas*.

317 d) Verificar se a suplementação com K^+ e Ca^{2+} mitigam os efeitos osmóticos e iônicos da
318 salinidade nos diferentes órgãos de *J. curcas* através do ajustamento osmótico e das
319 relações K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ .

320 e) Avaliar a modulação das respostas de *J. curcas* submetidas às soluções salinas
321 suplementadas ou não com K^+ e Ca^{2+} de acordo com a dose e o tempo de exposição.

322

323 5. MATERIAIS E MÉTODOS

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

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

333

334 **5.1 Caracterização da área experimental.**

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

339

340 **5.2 Material vegetal e condições experimentais.**

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

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

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

361

362 **Tabela 1:** Concentrações salinas e suplemento de cálcio (Ca²⁺) e potássio (K⁺) para o cultivo
 363 hidropônico das plantas de *Jatropha curcas* em solução nutritiva de Hoagland & Arnon
 364 (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 |

365

366 O incremento das concentrações de NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50
 367 mM por dia até atingir a concentração final pretendida, para evitar o choque osmótico. Após
 368 24 e 240 horas de exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes foram
 369 coletados e analisados.

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

373

374 **5.3 Indicadores de crescimento.**

375 Para a avaliação dos indicadores de crescimento, utilizou-se metodologias não
 376 destrutivas expressas por equações matemáticas conforme recomendação de Silva et al.
 377 (2000). A taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) foi calculada através da equação:
 378 $TCRC = (\ln L_2 - \ln L_1) / (t_2 - t_1)$ [cm . (cm . dia)⁻¹], onde: L₁ corresponde a medida da altura
 379 da planta no tempo inicial t₁ e L₂ a altura da planta no tempo final t₂. A taxa de crescimento
 380 relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) foi calculada através da equação: $TCRFFE =$
 381 $(\ln L_2 \cdot C_2^2 - \ln L_1 \cdot C_1^2) / (t_2 - t_1)$ [cm³ . dia⁻¹], onde: L₁ corresponde a medida da altura da
 382 planta no tempo inicial t₁, L₂ a altura da planta no tempo final t₂; C₁ corresponde ao diâmetro
 383 caulinar no tempo t₁ e C₂ ao diâmetro caulinar no tempo t₂.

384

385 **5.4 Conteúdo relativo de água.**

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

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

392

393 **5.5 Vazamento de eletrólitos.**

394 A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos
395 (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times$
396 100, onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do
397 frasco, realizada após 6 horas e L_2 representa a segunda leitura da CE realizada após o
398 aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

399

400 **5.6 Determinação dos solutos inorgânicos.**

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

411

412 **5.7 Determinação dos solutos orgânicos.**

413

414 *Proteínas Solúveis Totais (PST)*

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

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

426

427 *Aminoácidos Livres Totais (AALT)*

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

442

443 *Prolina (PRO)*

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

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

458

459 *Açúcares Solúveis Totais (AST)*

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

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

475

476 *Açúcares Não Redutores (ANR) e Redutores (AR)*

477 A dosagem de ANR foi realizada com base no método proposto por Van Handel
478 (1968), com algumas modificações, utilizando o reagente de antrona (MORRIS, 1948;
479 YEMM E WILLIS, 1954). Para cada determinação, 100 µL da amostra, 800 µL de dH₂O e
480 100 µL de KOH 30% (m/v) foram pré-incubados a 100 °C durante 10 min. Após resfriamento
481 em temperatura ambiente, 2,5 mL do reagente de antrona foram adicionados em cada amostra.
482 A leitura foi realizada a 620 nm e o conteúdo de ANR foi calculado utilizando sacarose como
483 padrão, sendo expresso em µmol·g⁻¹ MS.

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

486

487

488

489 *Amido*

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

496 A quantificação do amido foi realizada utilizando o reagente de antrona (MORRIS,
497 1948; YEMM E WILLIS, 1954). Para cada determinação, foram adicionados 100 µL de
498 amostra, 900 µL de dH₂O e 2,5 mL do reagente de antrona. A leitura foi conduzida a 620 nm
499 e o conteúdo de amido foi calculado de acordo com uma curva padrão de D-glicose. Os
500 valores obtidos foram multiplicados pelo fator 0,9 para conversão em amido, segundo
501 McCready et al. (1950), sendo expressos em mg·parte⁻¹.

502

503 **5.8 Delineamento experimental e análise estatística.**

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

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

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

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

6. REFERÊNCIAS

- 522
523
524 AGARWAL, P. K.; SHUKLA, P. S.; GUPTA, K.; JHA, B. Bioengineering for Salinity
525 Tolerance in Plants: State of the Art. **Molecular Biotechnology**, v. 54, p. 102–123, 2013.
- 526
527 ALENCAR, N. L. M.; GADELHA, C. G.; GALLÃO, M. I.; DOLDER, M. A. H.; PRISCO, J.
528 T.; GOMES-FILHO, E. Ultrastructural and biochemical changes induced by salt stress in
529 *Jatropha curcas* seeds during germination and seedling development. **Functional Plant**
530 **Biology**, v. 42, p. 865–874, 2015.
- 531
532 ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A. L.; SILVA, F. F. S.; RIEBEIRO-REIS, R. C.;
533 EVANGELISTA, M. R. V.; CASTRO, R. D.; DANTAS, B. F. **Revista Brasileira de**
534 **Sementes**, v. 32, n. 2, p. 083-092, 2010.
- 535
536 ARRUDA, F. P.; BELTRÃO, N. E. M. B.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.;
537 SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curca* L.) como alternativa para o
538 semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Olericultura Fibrose**, Campina Grande, v. 8, n.
539 1, p. 789-799, 2004.
- 540
541 ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in
542 plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.
- 543
544 BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for
545 water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- 546
547 BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. Oleaginosa potencial do Nordeste para a produção
548 de biodiesel. Campina Grande – PB. **Documentos 177**, 2007.
- 549
550 BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat
551 tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
- 552
553 BOTELLA, M.A.; MARTINEZ, V.; PARDINES, J.; CERDA, A. Salinity induced potassium
554 deficiency in maize plants. **J. Plant Physiol.**, v.150, p.200–205, 1997.
- 555
556 BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
557 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Chemistry**, v.
558 72, p. 248–254, 1976.
- 559
560 BRASIL. País revoluciona o uso e a produção de biocombustível. Disponível em:
561 [http://www.brasil.gov.br/infraestrutura/2011/12/pais-revoluciona-o-uso-e-a-producao-de-](http://www.brasil.gov.br/infraestrutura/2011/12/pais-revoluciona-o-uso-e-a-producao-de-biocombustivel)
562 [biocombustivel](http://www.brasil.gov.br/infraestrutura/2011/12/pais-revoluciona-o-uso-e-a-producao-de-biocombustivel). Acesso em: Dezembro de 2015.
- 563
564 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de**
565 **sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa
566 Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- 567
568 CARNIELLI, F. O combustível do futuro. 2003. Disponível em:
569 <https://www.ufmg.br/boletim/bol1413/quarta.shtml>. Acessado em: Dezembro de 2015.
- 570

571 CARVALHO, H. M.; RIBEIRO, A. B. Biodiesel: Vantagens e desvantagens numa
572 comparação com o diesel convencional. Bolsista de Valor: **Revista de divulgação do Projeto**
573 **Universidade Petrobras e IF Fluminense**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p. 49-53, 2012.
574

575 CORDEIRO, C. S.; RAMOS, L. P. **Biodiesel in South America**; Knothe, G.; Krahl, J.;
576 Gerpen, J.V., eds.; AOCS Press: Lllinois, 2010, cap. 8.3.
577

578 COSKUN, D.; BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Regulation and mechanism of
579 potassium release from barley roots: an in planta 42K⁺ analysis. **New Phytol.**, v.188, p.1028–
580 1038, 2010.
581

582 DANTAS, J. P.; MARINHO, F. J. L.; FERREIRA, M. M. M.; AMORIM, M. DO S. N.;
583 ANDRADE, S. I. DE O.; SALES, A. L. Avaliação de genótipos de feijão-de-corda sob
584 salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 425-430,
585 2002.
586

587 DANTAS, J. A. *et al.* Efeito da salinidade sobre o crescimento e composição mineral de seis
588 clones de *Pennisetum*. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 01, p. 97-101, 2006.
589

590 DÍAZ-LÓPEZ, L. **Bases fisiológicas y morfológicas de la respuesta de *Jatropha curcas* L.**
591 **al estrés hídrico y salino**. Tese 127 p. 2014.
592

593 DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregualtion in plants.
594 **The Plant Journal**, v. 4, p. 215-223, 1993.
595

596 DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric
597 Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n.
598 3, p. 350-356, 1956.
599

600 EGILLA, J.N.; DAVIES, F.T.; BOUTTON, T.W. Drought stress influences leaf water
601 content, photosynthesis, and water-use efficiency of hibiscus rosa-sinensis at three potassium
602 concentrations. **Photosynthetica**, v.43, p.135–140, 2005.
603

604 FLEXAS J.; DIAZ-ESPEJO A.; GALMÉS J.; KALDENHOFF R.; MEDRANO H.; RIBAS-
605 CARBO M. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂
606 concentration around leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 1284-1298, 2007.
607

608 HA, C. V.; LEYVA-GONZÁLEZC, M. A.; OSAKABED, Y.; TRANA, U. T.;
609 NISHIYAMAA, R.; WATANABEA, Y.; TANAKAE, M.; SEKIE, M.; YAMAGUCHIF, S.;
610 DONGB, N. V.; YAMAGUCHI-SHINOZAKIG, K.; SHINOZAKID, K.; HERRERA-
611 ESTRELLAC, L.; TRAN, L. S. P. Positive regulatory role of strigolactone in plant responses
612 to drought and salt stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United**
613 **States of America**, v. 111, n. 2, p. 851–856, 2014.
614

615 HAMAMOTO, S.; HORIE, T.; HAUSER, F.; DEINLEIN, U.; SCHROEDER, J. I.;
616 UOZUMI, N. HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and
617 function to the field. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 113–120, 2015.
618

619 HARE, P.; CRESS, W. Metabolic implications of stress induced proline accumulation in
620 plants. **Plant Growth Regulation**, v. 21, p. 79-102, 1997.

- 621 HASEGAWA, P. M. Sodium (Na^+) homeostasis and salt tolerance of plants. **Environmental**
622 **and Experimental Botany**, v. 92, p. 19–31, 2013.
- 623
- 624 HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants**
625 **without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
- 626
- 627 IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in
628 concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfafa (*Medicago sativa*)
629 plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.
- 630
- 631 JIN, S.H.; HUANG, J.Q.; Li, X.Q.; ZHENG, B.S.; WU, J.S.; WANG, Z.J.; LIU, G.H.;
632 CHEN, M. Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll
633 diffusion conductance in *Carya cathayensis*. **Tree Physiol.** v.31, p.1142–1151, 2011.
- 634
- 635 JONGSCHAAP, R. E. E.; CORRÉ, W.; BINDRABAN, P. S.; BRANDENBURG, W. A.
636 Claims and Facts on *Jatropha curcas* L., Global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and
637 propagation programme; Report 158, 42 pages, **Plant Research International Wageningen**
638 **UR**, 2007.
- 639
- 640 LAVIOLA, B. G.; ALVES, A. A.; ROCHA, R. B.; DRUMOND, M. A. The importance of
641 *Jatropha* for Brazil. In: CARELS, N.; SUJATHA, B.; BAHADUR, B. (Ed.). **Jatropha,**
642 **challenges for a new energy crop. Volume 1: farming, economics and biofuel.** New York:
643 Springer, 2013; p. 71–94.
- 644
- 645 MAATHUIS, F. J. M. E AMTMANN, A. K^+ Nutrition and Na^+ Toxicity: The Basis of
646 Cellular K^+/Na^+ Ratios. **Annals of Botany**, v. 84, n. 1, p. 123-133, 1999.
- 647
- 648 MAEVSKAYA, S. N.; NIKOLAEVA, M. K. Response of Antioxidant and Osmoprotective
649 Systems of Wheat Seedlings to Drought and Rehydration. **Russian Journal of Plant**
650 **Physiology**, v. 60, n. 3, p. 343-350, 2013.
- 651
- 652 MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**, 3rd ed.; Academic
653 Press: London, p. 178–189, UK, 2012.
- 654
- 655 MATSUURA, M. I. S. F.; SILVA, G. A.; KULAY, L. A.; LAVIOLA, B. G. Inventário do
656 Ciclo de Vida do pinhão-mansão destinado à produção de Biodiesel. In: Congresso brasileiro
657 em gestão de ciclo de vida em produtos e serviços, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis,
658 2010.
- 659
- 660 McCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch
661 and amylose in vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156–1158, 1950.
- 662
- 663 MIAN, A.; OOMEN, R. J.; ISAYENKOV, S.; SENTENAC, H.; MAATHUIS, F. J.; VERY,
664 A. A. Over-expression of an Na^+ and K^+ permeable HKT transporter in barley improves salt
665 tolerance. **Plant Journal**, v. 68, p. 468–479, 2011.
- 666
- 667 MISRA, A. K. Impact of Urbanization on the Hydrology of Ganga Basin (India). **Water**
668 **Mesources Management**, v. 25, p. 705–719, 2011.
- 669

670 MIZYED, N. Impact of climate change on water resources availability and agricultural water
671 demand in the west bank. **Water Mesources Management**, v. 23, n. 10, p. 2015–2029, 2009.
672

673 MORRIS, D. L. Quantitative determiantion of carbohydrates with Drywood's anthrone
674 reagent. **Science**, v. 107, n. 1, p. 254–255, 1948.
675

676 MUNNS, R. Genes and Salt Tolerance: Bringing Them Together, **New Phytologist**, v. 167, p.
677 645–663, 2005.
678

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

682 NAVARRO, A.; BAÑON, S.; OLMOS, E; SÁNCHEZ-BLANCO, M. J. Effects of sodium
683 chloride on water potential components, hydraulic conductivity, gas exchange and leaf
684 ultrastructure of *Arbutus unedo* plants. **Plant Science**, v. 172, p. 473-480, 2007.
685

686 NING, J. F.; CUI, L. F.; YANG, S. H.; AI, S. Y.; LI, M. J.; SUN, L. L.; CHEN, Y.; WANG,
687 R. H.; ZENG, Z. B. Basil ionic responses to seawater stress and the identification of gland
688 salt secretion. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 25, n. 1, p. 131-138, 2015.
689

690 NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de**
691 **pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2007. 78 p. Dissertação (Mestrado em fitotecnia),
692 Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
693

694 PENG, Z.; WANG, M.; LI, F.; LV, H.; LI, C.; XIA, G. A proteomic study of the response to
695 salinity and drought stress in an introgression strain of bread wheat. **Molecular and Cellular**
696 **Proteomics**, v. 8, p. 2676–2686, 2009
697

698 PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F. **Methods for**
699 **evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian
700 International Center of Agricultural Research, 1989. 76p.
701

702 PRADO, R.M. & LEAL, R.M. Desordens nutricionais por deficiência em girassol var.
703 Catissol-01. **Pesq. Agropec. Trop.**, v.36, p.187-193, 2006.
704

705 RANADE-MALVI, U. Interaction of micronutrients with major nutrients with special
706 reference to potassium. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 1, p. 106–
707 109, 2011.
708

709 RENAULT, H.; ROUSSEL, V.; EL AMRANI, A.; ARZEL, M.; RENAULT, D.;
710 BOUCHEREAU, A.; DELEU, C. The *Arabidopsis pop2-1* mutant reveals the involvement of
711 GABA transaminase in salt stress tolerance. **BMC Plant Biology**, v. 10, p. 1–16, 2010.
712

713 RIBEIRO, M. R. Origem e classificação dos solos afetados por sais. In: GHEYI, H.R.; DIAS,
714 N.S.; LACERDA, C.F. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados.
715 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.12–19, Fortaleza, 2010.
716

717 RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L. VOIGT, E. L.; VIÉGAS,
718 R. A.; SILVEIRA, J. A. G. High K⁺ supply avoids Na⁺ toxicity and improves photosynthesis
719 by allowing favorable K⁺ : Na⁺ ratios through the inhibition of Na⁺ uptake and transport to the

720 shoots of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, p.
721 157–164, 2013.

722

723 SAPETA, H.; MIGUEL COSTA, J.; LOURENÇO, T.; MAROCO, J.; VAN DER LINDE, P.;
724 MARGARIDA OLIVEIRA, M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and
725 physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 76–84, 2013.

726

727 SATO, M.; BUENO, O. C.; ESPERANCINI, M. S. T.; FRIGO, E. P. A cultura do pinhão
728 manso (*Jatropha curcas* L.): uso para fins combustíveis e descrição agrônômica. **Revista**
729 **Varia Scientia**, v. 7, n. 13, p. 47-62, 2009.

730

731 SATURNINO, H. M. *et al.* Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe**
732 **Agropecuário**, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

733

734 SHABALA, S.; POTTOSIN, I. I. Potassium and potassium-permeable channels in plant salt
735 tolerance. **Signal. Commun. Plants**, p. 87–110, 2010.

736

737 SHORESH, M.; SPIVAK, M.; BERNSTEIN, N. Involvement of calcium-mediated effects on
738 ROS metabolism in the regulation of growth improvement under salinity. **Free Radical**
739 **Biology & Medicine**, v. 51, p. 1221–1234, 2011.

740

741 SILVA, L. C.; BELTERÃO, N. E. M.; AMORIM NETO, M. S. **Análise do Crescimento de**
742 **Comunidades Vegetais**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2000. 18 p. (EMBRAPA
743 Algodão. Circular técnica, 34).

744

745 SILVA J. M. C.; RYLANDS, A. B.; FONSECA, G. A. B. O destino das áreas de endemismo
746 da Amazônia. **Megadiversidade**, v. 1, p. 124-131, 2005.

747

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

751

752 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological
753 adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions,
754 transport and selectivity of K⁺, osmotic adjustment and K⁺/Na⁺ homeostasis. **Plant Biology**,
755 v. 17, p. 1023–1029, 2015.

756

757 SILVEIRA, J.A.G.; SILVA, S.L.F.; SILVA, E.N.; VIÉGAS, R.A. Mecanismos
758 biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino. **In:** GHEYI, H.R.; DIAS,
759 N.S.; LACERDA, C.F. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados.
760 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.161–180, Fortaleza, 2010.

761

762 SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; LIMA NETO, M. C.; LACERDA, C.
763 F.; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados
764 em pinhão-manso irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,
765 v. 47, n. 10, p. 1428–1435, 2012.

766

767 TSONEV, T.; VELIKOVA, V.; YILDIZ-AKTAS, L.; GUREL, A.; EDREVA, A. Effect of
768 water deficit and potassium fertilization on photosynthetic activity in cotton plants. **Plant**
769 **Biosyst.**, v.145, p.841–847, 2011.

770 STRIZHOV, N., ABRAHAM, E.; OKRESZ, L.; BLICKLING, S.; ZILBERSTEIN, A.;
771 SCHELL, J.; KONCZ, C.; SZABADOS, L. Differential expression of two *P5CS* genes
772 controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1,
773 ABI1 and AXR2 in *Arabidopsis*. **Plant Journal**, v. 12, p. 557–569, 1997
774
775 SUN, J.; WANG, M. J.; DING, M. Q.; DENG, S. R.; LIU, M. Q.; LU, C. F.; ZHOU, X. Y.;
776 SHEN, X.; ZHENG, X. J.; ZHANG, Z. K.; SONG, J.; HU, Z. M.; XU, Y.; CHEN, S. L. H₂O₂
777 and cytosolic Ca²⁺ signals triggered by the PM H⁺-coupled transport system mediate K⁺/Na⁺
778 homeostasis in NaCl-stressed *Populus euphratica* cells. **Plant, Cell and Environment**, v. 33,
779 p. 943–958, 2010
780
781 VAN HANDEL, E. Direct microdetermination os sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22,
782 280p. 1968.
783
784 WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: Aspectos
785 fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, p. 1-23, 2010.
786
787 WYN JONES, R. G. Salt tolerance. In: JOHNSON, C. B. (Ed.). **Physiological processes**
788 **limiting plant productivity**. Butterworths, London, p. 271–292, 1981.
789
790 ZHANG, J.; ZHANG, Y.; DU, Y.; CHEN, S.; TANG, H. Dynamic metabonomic responses of
791 Tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants to salt stress. **Journal of Proteome Research**, v. 10, p.
792 1904–1914, 2011.
793
794 ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant**
795 **Biology**, v. 6, n. 5, p. 441-445, 2003.
796
797 ZRIG, A.; BEN MOHAMED, H.; TOUNEKTI, T.; ENNAJEH, M.; VALERO, D.; KHEMIR,
798 H. A comparative study of salt tolerance of three almond rootstocks: contribution of organic
799 and inorganic solutes to osmotic adjustment. **Journal of Agricultural Science and**
800 **Technology**, v. 17, p. 675–689, 2015.
801
802 YANG, M. F.; LIU, Y. J.; LIU, Y.; CHEN, H.; CHEN, F.; SHEN, S. H. Proteomic analysis of
803 oil mobilization in seed germination and post-germination development of *Jatropha curcas*.
804 **Journal of Proteome Research**, v. 8, p. 1441–1451, 2009.
805
806 YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone.
807 **Biochemical Journal**, v. 57, p. 508–514, 1954.
808
809
810
811
812
813
814
815

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

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

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

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

918 Deste modo, a manutenção dos níveis de K^+ em detrimento ao Na^+ , principalmente em
919 folhas de glicófitas, é considerada uma estratégia importante para a sobrevivência destas
920 plantas em ambientes salinos, onde predominam elevados teores de Na^+ (HAUSER &
921 HORIE, 2010; BADAR-UZ-ZAMAN et al., 2012). Diferentes estudos mostram que não é a
922 quantidade absoluta de Na^+ que influencia na resistência ao sal, mas dentre outros fatores, a
923 relação K^+/Na^+ que determina a tolerância ao sal do vegetal (SHABALA & POTTOSIN,
924 2010). Neste contexto e, sabendo-se que concentrações adequadas de K^+ mantém o conteúdo
925 relativo de água e diminui o potencial osmótico, melhorando dessa forma a resistência das
926 plantas ao estresse salino e ao déficit hídrico (PRADO et al., 2006), é fundamental a

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

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

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

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

953

954 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

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

960 diariamente para compensar a perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para
961 reposição dos macro e micronutrientes. As plantas permaneceram nestas condições por 30
962 dias, para aclimação. Após este período, as plantas com cinco folhas completamente
963 expandidas foram selecionadas e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução
964 de Hoagland e Arnon. À solução nutritiva foram acrescidos ou não os tratamentos salinos:
965 Controle (C); 75 (Sal1) e 150 mM (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 9 mM de
966 potássio em forma de K_2SO_4 , duplicando-se sua concentração na solução nutritiva de
967 Hoagland e Arnon (1950) e correspondendo aos tratamentos: Controle + 9 mM de K^+ (C +
968 K^+); 75 mM de NaCl + 9 mM de K^+ (Sal1 + K^+) e 150 mM de NaCl + 9 mM de K^+ (Sal2 +
969 K^+). O incremento das concentrações de NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50
970 mM por dia até atingir a concentração final pretendida, para evitar o choque osmótico.

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

975 Para a avaliação dos indicadores de crescimento, utilizou-se metodologias não
976 destrutivas expressas por equações matemáticas conforme recomendação de Silva et al.
977 (2000). A taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) foi calculada através da equação:
978 $TCRC = (\ln L_2 - \ln L_1) / (t_2 - t_1)$ [$cm \cdot (cm \cdot dia)^{-1}$], onde: L_1 corresponde a medida da altura
979 da planta no tempo inicial t_1 e L_2 a altura da planta no tempo final t_2 . A taxa de crescimento
980 relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) foi calculada através da equação: $TCRFFE =$
981 $(\ln L_2 \cdot C_2^2 - \ln L_1 \cdot C_1^2) / (t_2 - t_1)$ [$cm^3 \cdot dia^{-1}$], onde: L_1 corresponde a medida da altura da
982 planta no tempo inicial t_1 , L_2 a altura da planta no tempo final t_2 ; C_1 corresponde ao diâmetro
983 caulinar no tempo t_1 e C_2 ao diâmetro caulinar no tempo t_2 .

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

990 A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos
991 (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times$
992 100, onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do

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

995 Os indicadores de estresse iônico foram representados pelas concentrações do íon
996 salino sódio (Na⁺) e da concentração de potássio (K⁺). As extrações de Na⁺ e K⁺ foram
997 realizadas de acordo com Silva et al. (2009) e a leitura das concentrações foram realizada em
998 fotômetro de chama (Micronal B462). As concentrações de Na⁺ e K⁺ foram determinadas com
999 base em curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de cloreto de sódio e
1000 cloreto de potássio, respectivamente. A relação K⁺/Na⁺ foi determinada segundo Maathuis e
1001 Amtmann (1999) como requisito para a determinação de um possível estresse iônico.

1002 O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a
1003 cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com K⁺ (C; Sal1; Sal2; Sal1 + K⁺; Sal2 + K⁺) e
1004 três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo um total
1005 de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

1006 Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t, que comparou os efeitos
1007 dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$ de
1008 probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

1009

1010 **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

1011

1012 **3.1 Indicadores de crescimento**

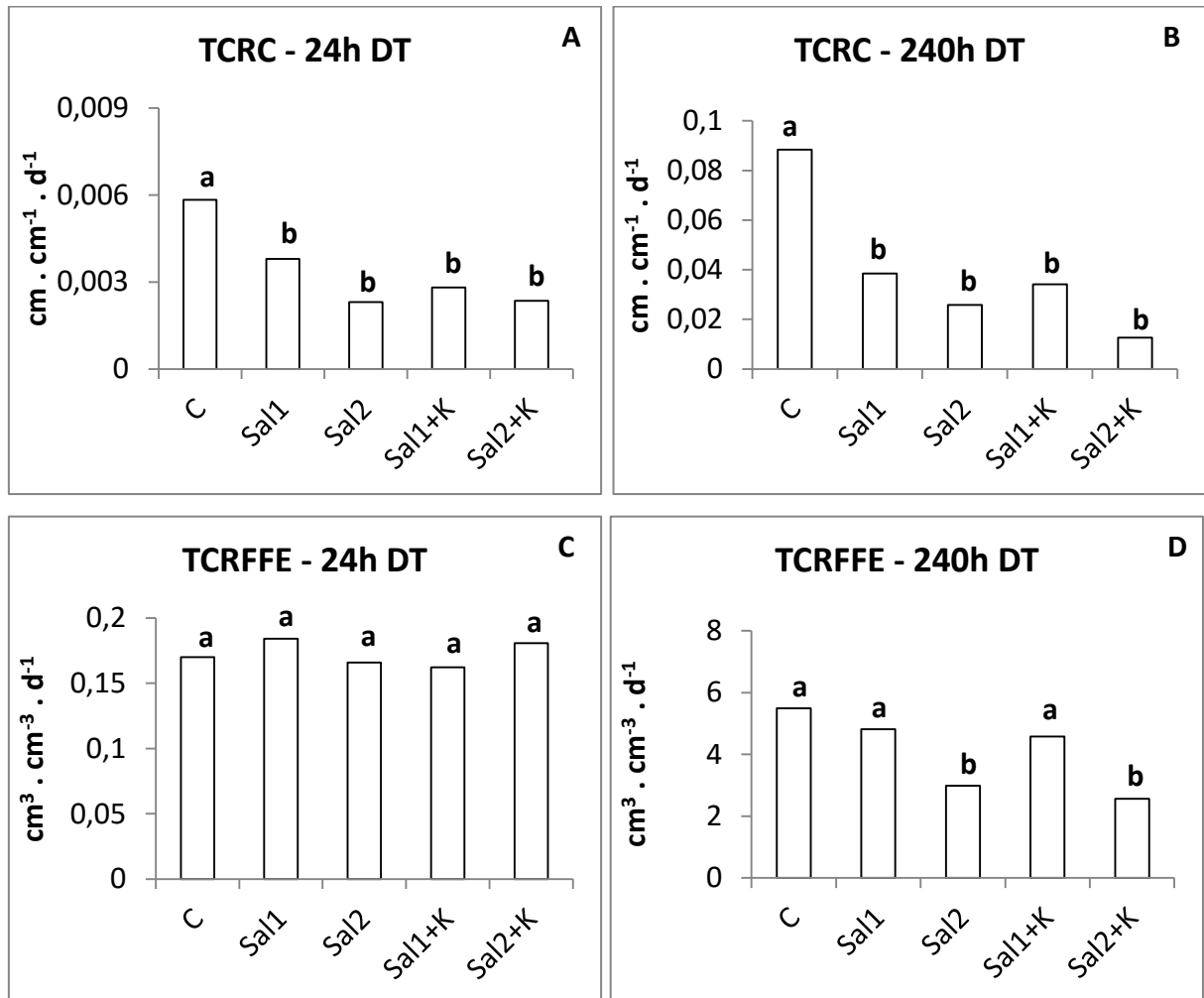
1013 Os processos de crescimento são particularmente sensíveis ao efeito dos sais, tornando
1014 análises de crescimento como altura média, números de folhas, área foliar, biomassa e outros,
1015 bons critérios para a avaliação da severidade do estresse e da capacidade da planta de superá-
1016 lo (ESTEVEES & SUZUKI, 2008).

1017 O estresse salino simulado pelo NaCl, afetou o crescimento das plantas de *Jatropha*
1018 *curcas* L. expressos pelas taxas de crescimento relativo caulinar (TCRC) e de crescimento
1019 relativo foliar da fitomassa epígea (TCRFFE). Os tratamentos salinos diminuíram a TCRC
1020 (Figura 1 – A e B), provocando reduções em torno de 36% (Sal1) e 60% (Sal2); e a TCRFFE
1021 (Figura 1 – C e D), reduzindo em 34% (Sal1) e 56% (Sal2) em relação aos seus respectivos
1022 controles, desde as primeiras 24 horas de exposição ao estresse. Tal efeito foi mais
1023 pronunciado na dose mais elevada de NaCl (150 mM), apenas para a TCRFFE e nos dois
1024 períodos de exposição ao estresse. A adição de potássio à solução nutritiva contendo NaCl

1025 não minimizou os efeitos deletérios do sal, pois não houve efeito significativo entre os valores
1026 encontrados, independente do tempo de exposição (Figura 1 – A - D).

1027

1028



1029

1030 **Figura 1:** Taxa de Crescimento Relativo Caulinar (TCRC) (A e B) e Taxa de Crescimento Relativo
1031 em Fitomassa Fresca Epígea (TCRFFE) (C e D) de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a
1032 diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementadas ou não
1033 com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas
1034 (24h DT) (A e C) e 240 horas (240h DT) (B e D) de exposição aos estresses. Os resultados foram
1035 submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
1036 significativamente pelo teste de teste t-Student (p<0,05).

1037

1038

1039

1040

1041

1042

1043

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

1044 água para as plantas provoca diminuição de crescimento, de vigor e do ganho de massa
1045 devido ao suprimento de água se dar em quantidades inferiores às requeridas, baixando o
1046 componente de potencial de pressão do protoplasto sobre a parede da célula, resultando em
1047 diminuição de turgor e, por fim, afetando a alongação e a divisão celular (XIONG & ZHU,
1048 2001; TAIZ & ZEIGER, 2010). Adicionalmente, a acumulação de íons tóxicos como Na^+
1049 e/ou Cl^- no protoplasma provocam uma toxidez iônica interferindo em diferentes processos
1050 metabólicos no meio intracelular (AGARWAL et al., 2013). As reduções do crescimento em
1051 *J. curcas*, apresentadas neste estudo, podem ainda estar relacionadas a um desequilíbrio
1052 nutricional, como sugerido por Díaz-Lopez et al. (2012) estudando a mesma espécie sob
1053 condições salinas. Outra hipótese para explicar a redução nas TCRC e TCRFFE observadas
1054 em *J. curcas* é que possivelmente a energia destinada ao crescimento possa ter sido desviada
1055 para a manutenção de outros processos metabólicos (FLOWERS et al., 2014).

1056 Uma quantidade suficiente de potássio é essencial para a sobrevivência das plantas em
1057 ambiente normal ou salino, pois a regulação estomática, fotossíntese, regulação osmótica, a
1058 síntese de proteínas, dentre outros, depende da disponibilidade de potássio para as plantas
1059 (ASHRAF & FOOLAD, 2007; MUNNS & TESTER, 2008). Contudo, no presente estudo, o
1060 incremento de K^+ na solução nutritiva adicionada de NaCl não promoveu efeitos positivos nas
1061 TCRC e TCRFFE em relação aos tratamentos salinos, o que sugere uma resposta dose e
1062 espécie dependente (LEGOCKA & KLUK, 2005). Trabalhos com algumas espécies (BAR-
1063 TAL & SPARKS, 2004; ABBASI et al., 2015) mostram que alguns vegetais respondem de
1064 forma diferente aos tratamentos com K^+ , reforçando, portanto, que a resposta aos tratamentos
1065 é espécie dependente e que a tolerância das culturas varia tanto entre espécies como entre
1066 cultivares de uma mesma espécie (SOUSA NETO et al., 2011).

1067

1068 **3.2 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas**

1069 O conteúdo relativo de água (CRA) diz respeito à quantidade de água da planta em
1070 porcentagem levando em consideração a sua capacidade máxima de água presente na planta.
1071 Sendo assim, considerado um indicador indireto do status hídrico no vegetal (IRIGOYEN et
1072 al., 1992).

1073 O estresse salino simulado pelo NaCl , durante as primeiras 24 horas de exposição,
1074 interferiu na quantidade de água das folhas, do caule e das raízes de *J. curcas* L., expressa
1075 pelo CRA. Tal efeito foi mais acentuado nas folhas, na dose mais elevada de NaCl (150 mM).
1076 Nas raízes, o estresse salino diminuiu o CRA em aproximadamente 8%, no caule 7% e nas

1077 folhas 15% em presença de 150 mM de NaCl (Tabela 1). A adição de K⁺ na solução nutritiva,
 1078 contendo NaCl, não interferiu no CRA, pois não houve efeitos significativos quando
 1079 comparados aos tratamentos com NaCl (Tabela 1). Curiosamente, independente da dose de
 1080 sal, após 240 horas de exposição ao estresse salino, o CRA dos diferentes órgãos das plantas
 1081 de *J. curcas* (folha, caule e raiz) não foi afetado pela salinidade (Tabela 1).

1082

1083 **Tabela 1:** Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L.
 1084 submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM),
 1085 suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM
 1086 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 |

1087 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 1088 significativamente pelo teste de teste t-Student (p≤0,05).

1089

1090 Na primeira fase de alarme, o componente osmótico do estresse salino é preponderante
 1091 sobre o iônico fazendo com que a planta absorva uma menor quantidade de água (ZENG et
 1092 al., 2015). Contudo, passado a fase de alarme, a planta entra em fase de restituição buscando
 1093 retomar a homeostase hídrica dos seus tecidos. É possível que, nas primeiras 24 horas de
 1094 exposição ao sal, a planta tenha sofrido um estresse osmótico, mas que após 240 horas de
 1095 exposição, o vegetal tenha recuperado seu *status* hídrico. Provavelmente, os íons salinos
 1096 absorvidos tenham sido responsáveis por uma diminuição do potencial osmótico das plantas
 1097 de *J. curcas* suficiente para manter o *status* hídrico, anulando parcialmente ou completamente
 1098 os efeitos do estresse osmótico pela salinidade, como relatam Silva et al. (2015) estudando os
 1099 efeitos da salinidade sob *J. curcas* e Rodrigues et al. (2014) estudando *R. communis* em
 1100 condições salinas. Outra hipótese para a manutenção do CRA durante este período é a
 1101 possibilidade de o ajustamento osmótico ter ocorrido através do acúmulo de solutos orgânicos
 1102 e/ou inorgânicos que são alocados no citosol ou compartimentalizados dentro dos vacúolos
 1103 (ZENG et al., 2015).

1104 A condutividade elétrica mede o vazamento de eletrólitos (VE) para a solução, sendo
 1105 utilizada como medida indireta para avaliar possíveis danos às membranas celulares, causadas
 1106 pelo estresse salino (BAJJI et al., 2001).

1107 O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, não
 1108 causou danos às membranas dos tecidos foliares e caulinares de *J. curcas*, de acordo com o
 1109 VE (Tabela 2). Entretanto nas raízes, o NaCl provocou aumento significativo do VE quando
 1110 comparado ao controle (Tabela 2). Tal efeito foi mais acentuado na dose mais elevada de
 1111 NaCl (150mM). Nas raízes, o estresse salino aumentou 17% na presença de 75 mM, e de 35%
 1112 na presença de 150 mM de NaCl. A adição de K⁺ à solução nutritiva contendo NaCl não
 1113 interferiu no VE das folhas e caule, quando comparados aos tratamentos salinos sem potássio.
 1114 Contudo, na presença de 150 mM houve um aumento de 7% nas raízes (Tabela 2). Com a
 1115 exposição prolongada ao NaCl (240 horas), observa-se um aumento significativo do VE em
 1116 todas as partes da planta. Tal efeito foi proporcional à dose de NaCl e mais acentuado nas
 1117 raízes, seguido do caule e por último das folhas (Tabela 2). Os maiores índices de VE
 1118 observados em raízes, em comparação ao caule e as folhas, provavelmente pode ser devido a
 1119 um contato direto deste órgão com a solução salina (LOPES & MACEDO, 2008).
 1120 Adicionalmente, o aumento da condutividade elétrica em presença de NaCl, pode ser devido
 1121 ao excesso de Na⁺ e Cl⁻ no protoplasma, causando assim, toxicidade e distúrbios no balanço
 1122 iônico, o que traz como consequência alterações na estrutura das membranas e enzimas
 1123 (YOKOI et al., 2002).

1124

1125 **Tabela 2:** Vazamento de Eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L.
 1126 submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM),
 1127 suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM
 1128 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 |

1129 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 1130 significativamente pelo teste de teste t-Student (p≤0,05).

1131

1132 3.3 Indicadores iônicos

1133 O estresse salino influenciou significativamente os conteúdos de sódio (Na⁺) e
 1134 potássio (K⁺), interferindo também na relação potássio/sódio (K⁺/Na⁺) nas folhas, caule e
 1135 raízes de *Jatropha curcas* L. (Tabela 3).

1136

1137 **Tabela 3:** Concentrações de sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e relação K⁺/Na⁺ em folhas, caule e raízes de
 1138 plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75
 1139 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 +
 1140 K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas (24h DT) e 240 horas (240h DT) de exposição aos
 1141 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 |

1142 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 1143 significativamente pelo teste de teste t-Student (p≤0,05).
 1144

1145 O Na⁺ pode entrar nas células de forma passiva ou por intermédio de carreadores de
 1146 baixa ou alta afinidade, comuns ao K⁺ (HASEGAWA et al., 2000; TESTER &
 1147 DAVENPORT, 2003). Contudo, as plantas não toleram grandes concentrações de Na⁺ no
 1148 citoplasma, pois elevadas concentrações deste íon causa danos às membranas celulares e a
 1149 estrutura de enzimas, interferindo diretamente na homeostase iônica e hídrica das plantas
 1150 (YOKOI et. al., 2002; PRISCO & GOMES FILHO, 2010).

1151 O tratamento salino provocou um acúmulo de Na⁺ em níveis superiores aos
 1152 observados no grupo controle, a partir das 24 horas de exposição ao estresse salino (Tabela 3).

1153 Em folhas, o acúmulo de Na⁺, nas primeiras 24 horas de exposição, foi mais evidente
 1154 na concentração moderada da NaCl (Sal1), com aproximadamente 6 vezes mais Na⁺ que seu
 1155 respectivo grupo controle (Tabela 3). Contudo, neste mesmo tratamento, o acúmulo de K⁺ foi
 1156 maior também neste órgão, com níveis semelhantes ao tratamento controle, o que manteve
 1157 valores da relação K⁺/Na⁺ superiores a 3,0 (Tabela 3). No tratamento Sal2, o aumento de

1158 sódio 6 vezes maior que o grupo controle foi acompanhado da redução de K^+ em quase 10%
1159 no mesmo tratamento (Tabela 3). Apesar disto, o valor referente à relação K^+/Na^+ neste
1160 tratamento, foi superior a 2,5 (Tabela 3). O tratamento salino moderado adicionado de K^+
1161 (Sal1+K) diminuiu as concentrações de Na^+ em folhas em aproximadamente 25% em
1162 comparação a Sal1, no entanto reduziu os valores de K^+ no tratamento Sal1+K, repercutindo
1163 na relação K^+/Na^+ que atingiu valor inferior a 1,0 neste mesmo tratamento (Tabela 3). No
1164 tratamento Sal2+K, a adição de K^+ elevou os níveis de Na^+ em 54%, contudo os níveis de
1165 potássio também aumentaram em 9,5%, ambos comparados ao tratamento Sal2 (Tabela 3). O
1166 valor da relação K^+/Na^+ em folhas do tratamento Sal2+ K^+ foi igual a 2,8 (Tabela 3).

1167 O aumento dos níveis de Na^+ juntamente com os níveis de K^+ , observados em folhas
1168 de *J. curcas* submetidas a concentrações moderadas de NaCl (Sal1), após 24 horas de
1169 exposição ao estresse, indica uma possível tolerância mediada pelo acúmulo de potássio, que
1170 pode ocorrer tanto no vacúolo quanto no citosol, ou em ambos (ZHANG et al., 2015).
1171 Proteínas transportadoras da superfamília NHX promovem o controle nos níveis tanto de
1172 sódio, por meio da compartimentalização celular (HASEGAWA, 2013), quanto da
1173 homeostase celular do potássio (LEIDI et al., 2010) em células vegetais submetidas à
1174 salinidade. Principalmente as proteínas NHX da classe I, alocadas no vacúolo, são as
1175 responsáveis pela manutenção do turgor celular (BASSIL et al., 2011; BARRAGÁN et al.,
1176 2012), explicando em parte, a manutenção do CRA em folhas de *J. curcas* submetidas a
1177 salinidade moderada após 24 horas de exposição ao estresse. Ainda, o acúmulo de Na^+ pode
1178 estar associado a um possível ajustamento osmótico em folhas de *J. curcas*. Recentemente
1179 Silva et al. (2015), estudando *J. curcas* e, Rodrigues et al., (2014), estudando *R. communis* em
1180 condições salinas, afirmam que as duas espécies apresentam eficiente ajustamento osmótico
1181 pelo acúmulo de íons salinos como o sódio e o cloreto.

1182 A minimização dos efeitos da salinidade em folhas, em estresse moderado, pode ser
1183 confirmada pela relação K^+/Na^+ em folhas submetidas ao tratamento Sal1, pois segundo
1184 Rodrigues et al. (2013) valores entre 1,0 e 2,0, nesta relação, são suficientes para evitar a
1185 toxicidade pelo Na^+ , melhorando o desempenho fotossintético e o acúmulo de matéria seca
1186 em *J. curcas*.

1187 A redução dos níveis de K^+ em folhas de *J. curcas*, no tratamento severo (Sal2), pode
1188 ter ocorrido em detrimento ao aumento dos níveis de Na^+ no mesmo órgão. Resultados
1189 semelhantes também foram obtidos por Sousa et al. (2012) estudando folhas de *J. curcas*
1190 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).

1224 Contudo, o aumento de Na^+ nas raízes foi acompanhado também pelo aumento de K^+ , sendo
1225 este último encontrado em maiores concentrações em relação as folhas e caule no tratamento
1226 Sal2. Da mesma forma, a adição de potássio à solução salina contribuiu para aumento nos
1227 níveis de Na^+ e K^+ . Em todos os tratamentos, adicionados ou não de K^+ na solução salina, os
1228 valores da relação K^+/Na^+ em raízes foram positivos e não atribuem efeito tóxico pelo Na^+ .
1229 Altas concentrações de K^+ no ambiente externo às raízes são requeridas para restringir a
1230 absorção e o transporte de Na^+ , principalmente para a parte aérea das plantas (RODRIGUES
1231 et al., 2013). Para Rodrigues et al. (2013), altas concentrações de K^+ em tecidos radiculares
1232 representam eficiente absorção deste íon pelas raízes e confirmam a elevada afinidade pelo
1233 potássio em detrimento ao sódio em *J. curcas*.

1234 Aparentemente, em condições de salinidade, o caule foi o órgão que menos sofreu a
1235 ação do efeito iônico do estresse salino nas primeiras 24 horas. Apesar do aumento nos níveis
1236 de Na^+ dos tratamentos Sal1 e Sal2 terem sido 4 vezes maior que o grupo controle; e os níveis
1237 K^+ não terem apresentado diferenças entre si, a manutenção no controle dos referidos solutos
1238 no caule foi bem representado pelas relações K^+/Na^+ em ambos os tratamentos salinos (Sal1 e
1239 Sal2), atingindo valores superiores a 4,5 (Tabela 3). A adição de K^+ a solução nutritiva
1240 contribuiu de forma significativa para o incremento desta relação, principalmente no
1241 tratamento Sal1 + K^+ , que reduziu em 13% o nível de Na^+ no caule e incrementou 25% o
1242 nível de K^+ no mesmo órgão, mantendo valores acima de 5,0 nos tratamentos Sal1 + K^+ e
1243 Sal2 + K^+ (Tabela 3).

1244 Em estudo com *J. curcas*, Díaz-López et al. (2012) observaram um aumento nas
1245 concentrações de K^+ em caule quando a planta foi submetida a condições salinas, sendo este
1246 acúmulo atribuído à inibição na absorção de Na^+ por competição entre os dois íons,
1247 adicionado à capacidade de acumulação de K^+ por este órgão. Neste estudo, o acúmulo de K^+
1248 em detrimento à redução de Na^+ em caule, somente foi observado após o incremento de K^+ na
1249 solução salina no tratamento Sal1 + K^+ , quando comparado ao tratamento Sal1. O acúmulo de
1250 Na^+ foi observado em caule e xilopódio de *C. phyllacanthus*, que também é uma
1251 Euphorbiaceae, destacando estes órgãos como responsáveis por evitar a translocação dos íons
1252 tóxicos para a parte aérea (OLIVEIRA et al, 2014). Para Oliveira et al. (2014) órgãos basais
1253 como o caule e o xilopódio servem como estruturas acumuladoras de Na^+ e atuam
1254 possivelmente compartimentalizando este íon nos vacúolos. Neste estudo, os níveis de K^+ no
1255 caule de *J. curcas* não apresentaram reduções, assim como observado por Oliveira et al.
1256 (2014), analisando os níveis de K^+ em caule de *C. phyllacanthus* submetido à salinidade.

1257 Entretanto, ao contrário do observado em caule de *C. phyllacanthus* por Oliveira et al. (2014),
1258 as relações K^+/Na^+ apresentaram valores positivos, indicando que o referido órgão não sofreu
1259 toxicidade pelo íon Na^+ .

1260 Após 240 horas de exposição ao estresse salino moderado (Sal1), as folhas
1261 continuaram sendo o órgão que mais acumularam Na^+ em seus tecidos (cerca de 18 vezes
1262 mais Na^+ do que seu respectivo grupo controle), seguido das raízes (9 vezes) e caule (11
1263 vezes) (Tabela 3). No tratamento Sal2, tanto folhas quanto raízes apresentaram níveis
1264 semelhantes de Na^+ , cerca de 19 e 16 vezes mais sódio em folhas e raízes, respectivamente,
1265 comparados aos seus grupos controles. Em folhas, altas concentrações de Na^+ reduziram os
1266 níveis de K^+ em 37% no tratamento Sal1 e 27% em Sal2, provocando consequente diminuição
1267 na relação K^+/Na^+ , principalmente no tratamento Sal1, onde o valor desta relação ficou abaixo
1268 de 1,0 (Tabela 3). Neste mesmo órgão, a adição de K^+ à solução salina atenuou os efeitos do
1269 Na^+ , principalmente no tratamento Sal1 + K^+ , reduzindo a concentração de Na^+ em
1270 aproximadamente 42%, comparado ao tratamento Sal1 (Tabela 3). Adicionalmente, o
1271 incremento de K^+ à solução salina aumentou a concentração deste íon nos tecidos foliares,
1272 principalmente no tratamento Sal2 + K^+ , com aumento aproximado de 27% em relação ao
1273 tratamento Sal2 (Tabela 3). O incremento de K^+ à solução salina também influenciou a
1274 relação K^+/Na^+ em folhas nos dois tratamentos salinos, apresentando valores entre 1,4 e 1,8,
1275 para os tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+ , respectivamente (Tabela 3).

1276 O efeito da salinidade em plantas, após longo período de exposição, pode estar
1277 relacionado ao influxo excessivo de sal por meio do fluxo transpiratório, o que amplifica a
1278 distribuição dos íons salinos entre o apoplasto e protoplasto e, podendo assim, prejudicar a
1279 condutância estomática, como visto por Yeo et al. (1991) em folhas de *Oryza sativa* L., após
1280 longo período de submissão ao estresse salino. Neste estudo, 240 horas após a exposição ao
1281 sal houve um aumento excessivo de Na^+ em folhas, repercutindo na redução dos níveis de K^+
1282 no mesmo órgão, nos dois tratamentos salinos, apresentando efeitos tóxicos no tratamento
1283 Sal1. A absorção de K^+ geralmente é inibida quando os níveis de Na^+ são elevados em
1284 condições salinas, sendo esse fenômeno atribuído às muitas vias de absorção que são comuns
1285 aos dois íons. Neste caso, maiores concentrações de Na^+ no ambiente extracelular favorecem
1286 a maior absorção deste íon em detrimento ao K^+ (HISHIDA et al., 2013).

1287 O incremento de K^+ à solução nutritiva não apenas minimizou a concentração de sódio
1288 no tecido (Sal1 + K^+), como também aumentou a concentração de K^+ em folhas de *J. curcas*
1289 no tratamento Sal2 + K^+ , minimizando o efeito tóxico do Na^+ através da relação K^+/Na^+ .

1290 Reduções nas concentrações de Na^+ no apoplasto podem favorecer a incorporação de cátions
1291 essenciais como o K^+ e Ca^{2+} , que competem pelos mesmos sítios de entrada celular do sódio e
1292 evitam um possível desequilíbrio nutricional (HISHIDA et al., 2013). Para Kudo et al. (2010),
1293 o equilíbrio entre o sódio e outros cátions essenciais podem ser utilizados como indicadores
1294 de homeostase nutricional em plantas submetidas às condições salinas elevadas.

1295 As raízes, que apresentaram valores de Na^+ semelhante às folhas no tratamento Sal2,
1296 tiveram suas concentrações de K^+ também aumentadas em 8% e 23% nos tratamentos Sal1 e
1297 Sal2, respectivamente, comparados ao controle (Tabela 3). O aumento de K^+ nos tecidos
1298 radiculares contribuiu para a manutenção da homeostase iônica neste órgão, pois os valores na
1299 relação K^+/Na^+ foram de 2,6 e 1,8 para os tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela
1300 3). A adição de K^+ à solução salina mitigou os efeitos do Na^+ neste órgão. Embora não houve
1301 diferença nas concentrações de K^+ entre os tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+ , os valores
1302 foram superiores em 47% e 27% aos seus respectivos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2)
1303 (Tabela 3). Tais resultados repercutiram na relação K^+/Na^+ nos tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2
1304 + K^+ , que atingiram valores entre 3,0 e 2,0, respectivamente (Tabela 3).

1305 Após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos, as raízes, juntamente com as
1306 folhas, apresentaram-se como os órgãos que mais acumularam Na^+ no tratamento Sal2. Nas
1307 raízes, os níveis de K^+ nos tecidos mantiveram os valores da relação K^+/Na^+ aceitáveis para
1308 evitar uma toxicidade iônica em todos os tratamentos salinos. O influxo de Na^+ na raiz pode
1309 ser mediado por transportadores de alta e baixa afinidade pelo K^+ (família HKT) (DREYER
1310 & BLATT, 2009; SZCZERBA et al., 2009) ou ainda através de canais catiónicos não
1311 selectivos (NSCC) (BRITTO et al., 2010). Neste sentido, é possível que o acúmulo de Na^+
1312 neste órgão tenha favorecido à osmorregulação de raízes de *J. curcas* L., corroborando com
1313 dados encontrados por Silva et al. (2015) estudando a mesma espécie. De todas as formas o
1314 aumento nos níveis de K^+ são requeridos para atenuar os efeitos tóxicos do Na^+ (AKRAM et
1315 al., 2009) e que, altos valores na relação K^+/Na^+ no ambiente citosólico, são fundamentais
1316 para manter a homeostase iônica favorável em células vegetais e evitar a morte celular
1317 programada sob condições de salinidade (CUIN et al, 2003; SHABALA, 2009). Sobretudo, os
1318 dados encontrados neste estudo sugerem fortemente que as raízes, após 240 horas de
1319 exposição à salinidade, restringem o transporte de Na^+ para a parte aérea de *J. curcas*, assim
1320 como observado por Rodrigues et al. (2013).

1321 Mesmo após 240 horas de exposição ao NaCl, o caule continuou sendo o órgão que
1322 menos sofreu interferência dos efeitos iônicos da salinidade. Apesar de o sal aumentar os

1323 níveis de Na^+ no caule em 11 e 18 vezes nos tratamento Sal1 e Sal2, respectivamente, um
1324 aumento nas concentrações de K^+ também foram observadas a medida que aumentou-se a
1325 concentração do sal na solução nutritiva (Tabela 3). Tal relação entre K^+ e Na^+ apresenta-se
1326 tão estável nos tecidos caulinares que, mesmo após o incremento de K^+ à solução salina, os
1327 valores não apresentaram modificações contundentes, deixando a relação K^+/Na^+ com valores
1328 entre 2,6 e 3,4 para os tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente e; 2,6 e 3,9 para os
1329 tratamentos Sal1 + K^+ e Sal2 + K^+ , respectivamente (Tabela 3).

1330 Provavelmente, a estabilidade iônica observada principalmente na relação K^+/Na^+ do
1331 caule, em todos os tratamentos salinos mesmo após 240 horas, pode estar relacionada a outros
1332 mecanismos adaptativos envolvidos na resistência ao estresse salino. Segundo Díaz-López et
1333 al. (2012), o caule de *J. curcas* aparentemente possui importante função no ajustamento
1334 osmótico, pois concentra neste órgão elevados níveis de hidratos de carbono que podem servir
1335 como solutos compatíveis ou ainda suprir energeticamente os tecidos foliares. No mesmo
1336 sentido, Oliveira et al. (2014) sugerem que o xilopódio de *C. phyllacanthus* possivelmente
1337 desempenha papel importante na homeostase iônica.

1338

1339 4. CONCLUSÕES

1340 1- O estresse salino simulado pelo cloreto de sódio (NaCl) induziu respostas
1341 distintas quanto ao tempo de exposição, dose de NaCl e aos órgãos de *Jatropha curcas* L.
1342 estudados, sendo o caule o órgão que menos sofreu com os efeitos da salinidade em todos os
1343 tratamentos e tempos avaliados.

1344 2- A salinidade afetou o crescimento das plantas em ambos os períodos de
1345 exposição, não tendo o incremento de potássio efeito positivo sobre os indicadores de
1346 crescimento estudados.

1347 3- Nas primeiras 24 horas de exposição ao estresse salino, o efeito do componente
1348 osmótico foi preponderante ao componente iônico, interferindo no *status* hídrico dos
1349 diferentes órgãos de *J. curcas*, sendo mais expressivo nas folhas, sem causar toxicidade iônica
1350 pelo sódio, embora danos às membranas tenham sido observado em raízes.

1351 4- A partir de 240 horas as plantas recuperaram o *status* hídrico, mas o efeito
1352 iônico provocou as principais alterações fisiológicas do vegetal, causando danos às
1353 membranas celulares em todos os órgãos estudados. Ainda assim, na maioria dos órgãos, não
1354 foram observados efeitos tóxicos pelo sódio, pois a relação K^+/Na^+ atingiu valores superiores
1355 a 1,0.

1356 5- O incremento de K^+ à solução salina minimizou os danos às membranas de
1357 folhas e caule nas primeiras 24 horas de exposição apenas no tratamento salino moderado, e
1358 ainda, auxiliou a manutenção da homeostase iônica e contribuindo para o aumento da relação
1359 K^+/Na^+ e reduzindo o efeito tóxico do sódio na maioria dos órgãos estudados, independente
1360 do tempo de exposição ao NaCl.

1361

1362 5. REFERÊNCIAS

1363 ABBASI, G. H.; AKHTA, J.; AHMAD, R.; JAMIL, M.; ANWAR-UL-HAQ, M.; ALI, S.;
1364 IJAZ, M. Potassium application mitigates salt stress differentially at different growth stages in
1365 tolerant and sensitive maize hybrids. **Plant Growth Regulation**, v. 76, p. 111–125, 2015.

1366

1367 AGARWAL, P. K.; SHUKLA, P. S.; GUPTA, K.; JHA, B. Bioengineering for Salinity
1368 Tolerance in Plants: State of the Art. **Molecular Biotechnology**, v. 54, p. 102–123, 2013.

1369

1370 AKRAM, M. S.; AKRAM, N. A.; AKRAM, N. A. Effectiveness of potassium sulfate in
1371 mitigating salt-induced adverse effects on different physio-biochemical attributes in sunflower
1372 (*Helianthus annuus* L.). **Flora**, v. 204, p. 471-483, 2009.

1373

1374 ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous
1375 application of osmoprotectants glycinebetaine and proline. **Environmental and**
1376 **Experimental Botany**, v. 59, p. 206-216, 2007.

1377

1378 BADAR-UZ-ZAMAN; ALI, A.; HYDER, S. I.; ARSHADULLAH, M.; BHATTI, S. U.
1379 Potassium chloride as a nutrient seed primer to enhance salt-tolerance in maize. **Pesquisa**
1380 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 8, p. 1181-1184, 2012.

1381

1382 BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J.M. Water Deficit Effects on Solute Contribution to Osmotic
1383 Adjustment as a Function of Leaf Ageing in Three Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.)
1384 Cultivars Performing Differently in Arid Conditions. **Plant Science**, v. 160, p. 669–681,
1385 2001.

1386

1387 BARRAGÁN, V.; LEIDI, E. O.; ANDRES, Z.; RUBIO, L.; DE LUCA, A.; FERNÁNDEZ, J.
1388 A.; CUBERO, B.; PARDO, J. M. Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium
1389 uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in Arabidopsis. **Plant Cell**,
1390 v. 24, p. 1127–1142, 2012.

1391

1392 BAR-TAL, F. A. S.; SPARKS, D. L. Potassium-salinity interaction in irrigated corn.
1393 **Irrigation Science**, v. 12, p. 27–35, 2004.

1394

1395 BASSIL, E.; TAJIMA, H.; LIANG, Y. C.; OHTO, M.; USHIJIMA, K.; NAKANO, R.;
1396 ESUMI, T.; COKU, A.; BELMONTE, M.; BLUMWALD, E. The *Arabidopsis* Na^+/H^+
1397 antiporters NHX1 and NHX2 control vacuolar pH and K^+ homeostasis to regulate growth,
1398 flower development, and reproduction. **Plant Cell**, v. 23, p. 3482–3497, 2011.

1399

1400 BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat
1401 tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.

1402 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de**
1403 **sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa
1404 Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

1405
1406 BRITTO, D. T.; EBRAHIMI-ARDEBILI, S.; HAMAM, A. M.; COSKUN, D.;
1407 KRONZUCKER, H. J. K analysis of sodium-induced potassium efflux in barley: mechanism
1408 and relevance to salt tolerance. **New Phytologist**, v. 186, p. 373-384, 2010.

1409
1410 CUIN, T. A.; MILLER, A. J.; LAURIE, S. A.; LEIGH, R. A. Potassium activities in cell
1411 compartments of salt-grown barley leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 657–
1412 661, 2003.

1413
1414 CUIN, T. A.; BETTS, S. A.; CHALMANDRIER, R.; SHABALA, S. A root's ability to retain
1415 K⁺ correlates with salt tolerance in wheat. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p. 2697–
1416 2706, 2008.

1417
1418 DÍAZ-LÓPEZ , L.; GIMENO, V.; LIDÓN, V.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-
1419 SÁNCHEZ, F. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological
1420 analysis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 34–42, 2012.

1421
1422 DREYER, I.; BLATT, M. R. What makes a gate? The ins and outs of Kv-like K⁺ channels in
1423 plants. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 383-390, 2009.

1424
1425 ESTEVES, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Australis**,
1426 v. 12, n. 4, p. 662-679, 2008.

1427
1428 FLOWERS, T. J.; MUNNS, R.; COLMER, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular
1429 basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany**, v. 115, p. 419–431, 2014.

1430
1431 GOLLDACK, D.; LI, C.; MOHAN, H.; PROBST, N. Tolerance to drought and salt stress in
1432 plants: unraveling the signaling networks. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 151, p. 1-10,
1433 2014.

1434
1435 HA, C. V.; LEYVA-GONZÁLEZC, M. A.; OSAKABED, Y.; TRANA, U. T.;
1436 NISHIYAMAA, R.; WATANABEA, Y.; TANAKAE, M.; SEKIE, M.; YAMAGUCHIF, S.;
1437 DONGB, N. V.; YAMAGUCHI-SHINOZAKIG, K.; SHINOZAKID, K.; HERRERA-
1438 ESTRELLAC, L.; TRAN, L. S. P. Positive regulatory role of strigolactone in plant responses
1439 to drought and salt stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences** of the United
1440 States of America, v. 111, n. 2, p. 851–856, 2014.

1441
1442 HAMAMOTO, S.; HORIE, T.; HAUSER, F.; DEINLEIN, U.; SCHROEDER, J. I.;
1443 UOZUMI, N. HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and
1444 function to the field. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 113–120, 2015.

1445
1446 HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and
1447 molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant**
1448 **Molecular Biology**, v. 51, n. 1, p. 463-499, 2000.

1449
1450 HASEGAWA, P. M. Sodium (Na⁺) homeostasis and salt tolerance of plants. **Environmental**
1451 **and Experimental Botany**, v. 92, p. 19–31, 2013.

1452 HAUSER, F.; HORIE, T. A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT
1453 transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K^+/Na^+ ratio in
1454 leaves during salinity stress. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p. 552-565, 2010.
1455

1456 HISHIDA, M.; ASCENCIO, F.; FUJIYAMA, H.; ORDUNO-CRUZ, A.; ENDO, T. Response
1457 to salt stress in growth water relations and ion content of *Jatropha curcas* and *J. cinerea*
1458 seedlings. **Interciencia Journal**, v. 38, p. 289-304, 2013.
1459

1460 HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants**
1461 **without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
1462

1463 IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in
1464 concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfafa (*Medicago sativa*)
1465 plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.
1466

1467 KUDO, N.; SUGINO, T.; OKA, M.; FUJIYAMA, H. Sodium tolerance of plants in relation to
1468 ionic balance and the absorption ability of microelements. **Soil Science & Plant Nutrition**, v.
1469 56, p. 225-233, 2010.
1470

1471 LEGOCKA, J. & KLUK, A. Effect of salt and osmotic stress on changes in polyamine
1472 content and arginine decarboxylase activity in *Lupinus luteus* seedlings. **Journal of Plant**
1473 **Physiology**, v. 162, p. 662–668, 2005.
1474

1475 LEIDI, E. O.; BARRAGAN, V.; RUBIO, L.; EL-HAMDAOUI, A.; RUIZ, T.; CUBERO, B.;
1476 FERNÁNDEZ, J. A.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M.; QUINTERO, F. J.; PARDO, J.
1477 M. The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic
1478 tomato. **The Plant Journal**, v. 61, p. 495–506, 2010.
1479

1480 LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de
1481 substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 79-85, 2008.
1482

1483 MAATHUIS, F. J. M. E AMTMANN, A. K^+ Nutrition and Na^+ Toxicity: The Basis of
1484 Cellular K^+/Na^+ Ratios. **Annals of Botany**, v. 84, n. 1, p. 123-133, 1999.
1485

1486 MEURER, E. J. Potássio. In: FERNANDES, M. S. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**.
1487 Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 281-298.
1488

1489 MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. Crescimento e
1490 conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina
1491 exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 49, n. 1, p. 18-25, 2014.
1492

1493 MUNNS, R. E TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant**
1494 **Biology**, v. 59, n. 1, p. 651–681, 2008.
1495

1496 OLIVEIRA, M. D. M.; BEZERRA, L. L.; DANTAS, C. V. S.; VOIGT, E. L.; MAIA, J. M.;
1497 MACÊDO, C. E. C. The role of xylopodium in Na^+ exclusion and osmolyte accumulation in
1498 faveleira [*Cnidioscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta**
1499 **Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 2871–2882, 2014.
1500

1501 OUSLATI, S.; KARRAY-BOURAOUI, N.; ATIA, H.; RABHI, M.; KSOURI, R.;
1502 LACHASAL, M. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal)
1503 to salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 289–296, 2010.
1504

1505 PINHEIRO, H. A.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; FERREIRA, V. M.; CÂMARA, C. A.;
1506 CABRAL, F. F.; OLIVEIRA, J. F.; CARVALHO, L. W. T.; SANTOS, J. M.; FILHO, B. G.
1507 Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean
1508 (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. **Industrial Crops and**
1509 **Products**, v. 27, p. 385-392, 2008.
1510

1511 PRADO, R. M.; LEAL, R. M. Desordens nutricionais por deficiência em girassol var.
1512 Catissol-01. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 36, p. 187-193, 2006.
1513

1514 PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In:
1515 GREYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. In: **Manejo da salinidade na agricultura:**
1516 **Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em
1517 Salinidade, p.143-159, 2010.
1518

1519 RAJENDRAN, K. A.; TESTER, M.; ROY, S. J. Quantifying the three main components of
1520 salinity tolerance in cereals. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, p. 237–249, 2009.
1521

1522 RODRIGUES, C. R. F.; SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, E. N.; DUTRA, A. T. B.; VIÉGAS, R.
1523 A. Potassium transport and partitioning alleviates toxic effects of sodium on young physic nut
1524 plants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 223–232, 2012.
1525

1526 RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L. VOIGT, E. L.; VIÉGAS,
1527 R. A.; SILVEIRA, J. A. G. High K⁺ supply avoids Na⁺ toxicity and improves photosynthesis
1528 by allowing favorable K⁺ : Na⁺ ratios through the inhibition of Na⁺ uptake and transport to the
1529 shoots of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, p.
1530 157–164, 2013.
1531

1532 RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; MOURA, R. M.; ANJOS, D. C.; HERNANDEZ, F. F.
1533 F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *R. communis* seedlings is
1534 associated with a probable mechanism of osmotic adjustment and a reduction in water lost by
1535 transpiration. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 233–239, 2014.
1536

1537 SAPETA, H.; MIGUEL COSTA, J.; LOURENÇO, T.; MAROCO, J.; VAN DER LINDE, P.;
1538 MARGARIDA OLIVEIRA, M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and
1539 physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 76–84, 2013.
1540

1541 SHABALA, S. Salinity and programmed cell death: unravelling mechanisms for ion specific
1542 signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 709-712, 2009.
1543

1544 SHABALA, S. N.; SHABALA, I.; VAN VOLKENBURGH, E. Effect of calcium on root
1545 development and root ion fluxes in salinised barley seedlings. **Functional Plant Biology**, v.
1546 30, p. 507–514, 2003.
1547

1548 SHABALA, S.; MUNNS, R. **Salinity stress: physiological constraints and adaptive**
1549 **mechanisms**. UK: CAB; 2012. 291 p.
1550

- 1551 SHABALA, S.; POTTOSIN, I. I. Potassium and potassium-permeable channels in plant salt
1552 tolerance. **Signaling and Communication in Plants**, p. 87–110, 2010.
1553
- 1554 SHABALA, S.; POTTOSIN, I. Regulation of potassium transport in plants under hostile
1555 conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. **Physiologia Plantarum**, v.
1556 151, p. 257–279, 2014.
1557
- 1558 SILVA, L. C.; BELTERÃO, N. E. M.; AMORIM NETO, M. S. **Análise do Crescimento de**
1559 **Comunidades Vegetais**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2000. 18 p. (EMBRAPA
1560 Algodão. Circular técnica, 34).
1561
- 1562 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A.
1563 Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansó
1564 submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.
1565
- 1566 SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J.
1567 A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and
1568 growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1130–1137,
1569 2010.
1570
- 1571 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological
1572 adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions,
1573 transport and selectivity of K⁺, osmotic adjustment and K⁺/Na⁺ homeostasis. **Plant Biology**,
1574 v. 17, p. 1023–1029, 2015.
1575
- 1576 SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; LIMA NETO, M. C.; LACERDA, C.
1577 F.; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados
1578 em pinhão-mansó irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,
1579 v. 47, n. 10, p. 1428–1435, 2012.
1580
- 1581 SOUSA NETO, O. N.; DIAS, N. S.; FERREIRA NETO, M.; LIRA, R. B.; REBOUCAS, J.
1582 R. Utilização do rejeito da dessalinização da água na produção de mudas de espécies da
1583 caatinga. **Revista Caatinga**, v. 24, p. 123-129, 2011.
1584
- 1585 SZCZERBAB, M. W.; BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. K⁺ transport in plants:
1586 Physiology and molecular biology. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, p. 447-466, 2009.
1587
- 1588 TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 5. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2010. 917p.
1589
- 1590 TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of**
1591 **Botany**, v. 91, p. 503–527, 2003.
1592
- 1593 XIONG, L. & ZHU, J. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress.
1594 **Plant, Cell and Environment**, Nottingham, v. 25, n. 2, p. 131-139, 2001.
1595
- 1596 YEO, A. R.; LEE, K.-S.; IZARD, P.; BOURSIER, P. J.; FLOWERS, T. J. Short- and long-
1597 term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental**
1598 **Botany**, v. 42, n. 240, p. 881-889, 1991.
1599

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.
1611

1612

1613

1614

1615

1616

1617

1618

1619

1620

1621

1622

1623

1624

1625

1626

1627

1628

1629

1630

1631

1632

1633

1634

1635

1636

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-manso, ajustamento osmótico, estresse salino, potássio.

ABSTRACT

Potassium addiction 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⁺ addiction 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

1720 of the NaCl concentration of NaCl and in most of the evaluated organs, may be related to a
1721 maintenance of PST, AALT and PRO levels. The relation between carbohydrates and the
1722 osmotic adjustment in all organs of *J. curcas* and 240h after treatment is not clear. The
1723 addition of K⁺ to the salt solution increased AALT (Sal1 + K⁺), PRO, AST (Sal2 + K⁺) and
1724 starch (Sal1 + K⁺) levels in leaves; PST, AALT (Sal1 + K⁺) and AST (Sal1 + K⁺) levels in
1725 stem; and AAALT, PRO and starch levels in roots only for the Sal1 + K⁺ treatment. Thus, the
1726 osmotic adjustment observed in *J. curcas* occurred mainly by nitrogenous compounds, being
1727 the K⁺ addition related to an increase of most of the studied compatible solutes. The
1728 contribution of the supplement of K⁺ for osmotic adjustment recorded in *J. curcas* has
1729 different responses regard to exposure time, NaCl concentration and plant organs.

1730

1731 **Keywords:** Physic nut, osmotic adjustment, salt stress, potassium.

1732

1733 1. INTRODUÇÃO

1734 A salinidade é o estresse abiótico que afeta seriamente o crescimento das plantas e a
1735 produtividade das culturas (ZHANG et al., 2014). Com as atuais mudanças climáticas, a
1736 previsão é de um aumento de 2 a 6 °C na temperatura e uma diminuição da precipitação de até
1737 16%, reduzindo a reposição das águas subterrâneas em até 50%. Desta forma, a taxa de
1738 salinidade do solo irá aumentar em 20 a 25% e o crescimento agrícola irá reduzir em 10 a
1739 15% (MIZYED, 2009; MISRA, 2011).

1740 Altas concentrações de sais no solo impõem tensões, tanto iônicas quanto osmóticas
1741 que podem gerar, sobretudo, estresses oxidativos, distúrbios hídricos e nutricionais na maioria
1742 das plantas (ZHANG et al., 2014). O ajustamento osmótico é uma estratégia comum das
1743 plantas a fim de manter a turgescência dos tecidos e proteger a maquinaria fotossintética dos
1744 efeitos da salinidade (D'SOUZA & DEVARAJ, 2010). Tal mecanismo envolve a síntese de
1745 solutos compatíveis, como aminoácidos ou açúcares solúveis e ainda, a absorção de íons
1746 como sódio (Na⁺) e/ou potássio (K⁺) do ambiente radicular (DICHIO et al., 2009; OUESLATI
1747 et al., 2010).

1748 Nas células expostas a ambientes salinos, o acúmulo de compostos orgânicos age
1749 como osmólitos citoplasmáticos, facilitando a absorção e retenção de água nos tecidos e
1750 ainda, protegendo e estabilizando macromoléculas (ex. proteínas) e estruturas celulares como
1751 membranas e cloroplastos (ZRIG et al., 2015). Contudo, os agentes osmóticos que
1752 desempenham papéis cruciais no ajustamento osmótico é espécie dependente, e o grau deste
1753 ajustamento pode ser influenciado tanto pela duração e intensidade do estresse, idade do
1754 tecido e estágio de desenvolvimento da planta, quanto pelo genótipo (ZRIG et al., 2015).

1755 O acúmulo de Na⁺ e Cl⁻ pode ser tóxico para vários processos bioquímicos e
1756 fisiológicos da planta, reduzindo a absorção de nutrientes essenciais como o K⁺, que

1757 desempenha importante função nos processos metabólicos (MARQUES et al., 2013). Neste
1758 sentido, estudos envolvendo a suplementação de potássio (K^+) no ambiente radicular têm
1759 mostrado bons resultados na mitigação dos efeitos adversos da salinidade, atuando, sobretudo,
1760 na homeostase hídrica (ASHRAF et al., 2010; WANG et al., 2013; RODRIGUES et al.,
1761 2013).

1762 Plantas bem nutridas com K^+ são mais resistentes a condições de seca e salinidade,
1763 pois este íon além de agir como osmorregulador, aumentando a retenção de água, melhora a
1764 estabilidade da membrana celular, aumenta o alongamento celular, atua como cofator
1765 enzimático e ainda está envolvido na síntese de proteínas (WANG et al., 2013). Portanto, a
1766 manutenção dos níveis de K^+ no citoplasma é essencial para a sobrevivência das plantas em
1767 ambientes salinos, onde predominam elevados teores de sódio (Na^+) (ASHRAF et al., 2010).

1768 Estudos com *Jatropha curcas* L. observaram que tanto a manutenção da homeostase
1769 hídrica quanto os efeitos deletérios do Na^+ sobre o metabolismo desta espécie são
1770 influenciados pelas relações K^+/Na^+ (RODRIGUES et al., 2013) e também por um possível
1771 ajuste osmótico mediado por osmólitos compatíveis como açúcares, aminoácidos e proteicas
1772 (SILVA et al., 2010; ZHANG et al., 2014; SILVA et al., 2015). No entanto, a contribuição do
1773 K^+ e o seu envolvimento com solutos orgânicos compatíveis ao ajustamento osmótico, como
1774 ferramentas de tolerância ao estresse salino ainda é pouco compreendido, principalmente as
1775 respostas com relação à dose limite e o tempo de exposição, e ainda, os efeitos do NaCl sobre
1776 cada órgão especificamente.

1777 *Jatropha curcas* L. é uma Euphorbiaceae promissora para a produção de biodiesel
1778 devido ao seu rápido crescimento, fácil propagação, baixo custo e alto teor de óleo em suas
1779 sementes (~40-60%) e ainda, por apresentar adaptabilidade a condições agroclimáticas
1780 adversas de salinidade e seca em terras marginais (GAO et al., 2008; YANG et al., 2009;
1781 ALENCAR et al., 2015), comuns em zonas áridas e semiáridas de regiões tropicais e
1782 subtropicais do Brasil (LAVIOLA et al., 2013). Contudo, a espécie encontra-se em fase de
1783 domesticação, e ainda não há cultivares e sistemas de cultivo validados, sobretudo em áreas
1784 salinizadas. Neste sentido, pesquisas que possam ser aplicadas objetivando uma melhor
1785 compreensão dos complexos mecanismos adaptativos utilizados pelas plantas para combater
1786 os diferentes tipos de estresses abióticos são de extrema importância (PENG et al., 2009).

1787 Assim, dada à importância da *Jatropha curcas* L. para a produção de biocombustíveis
1788 e dos efeitos negativos do estresse salino na homeostase hídrica da espécie, este estudo teve
1789 como objetivo avaliar o desempenho da planta quanto à resposta ao incremento de K^+ à

1790 solução salina. Para elucidar a ação do K^+ na mitigação dos efeitos osmóticos da salinidade,
1791 foi estudada a relação deste íon com a síntese de osmólitos compatíveis e consequente relação
1792 com o *status* hídrico da planta e a manutenção da integridade das membranas celulares.
1793 Espera-se identificar neste estudo se o incremento de K^+ na solução nutritiva contribui para a
1794 osmorregulação em diferentes órgãos de *J. curcas* por meio do acúmulo de solutos orgânicos,
1795 identificando quais destes solutos contribuem de maneira mais efetiva para minimizar os
1796 efeitos deletérios do sal na espécie.

1797

1798 2. MATERIAL E MÉTODOS

1799 Plantas de *Jatropha curcas* L. germinadas em sistema de rolos (BRASIL, 2009) foram
1800 transferidas, oito dias após a germinação, para o sistema hidropônico em frascos contendo 0,8
1801 L de solução Hoagland e Arnon (1950) com $\frac{1}{2}$ de força, pH 6,0, sob aeração constante com
1802 bombas de aquarofilia. A solução nutritiva foi completada diariamente para compensar a
1803 perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para reposição dos macro e
1804 micronutrientes. As plantas permaneceram nestas condições por 30 dias, para aclimatação.
1805 Após este período, as plantas com cinco folhas completamente expandidas foram selecionadas
1806 e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução. À solução nutritiva foram
1807 acrescentados ou não os tratamentos salinos: Controle - 0 mM (C); 75 mM (Sal1) e 150 mM
1808 (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 9 mM de potássio em forma de K_2SO_4 ,
1809 duplicando-se sua concentração na solução nutritiva e correspondendo aos tratamentos: 75
1810 mM de NaCl + 9 mM de K^+ (Sal1 + K^+) e 150 mM de NaCl + 9 mM de K^+ (Sal2 + K^+). O
1811 incremento das concentrações de NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50 mM por
1812 dia até atingir a concentração final pretendida, para evitar o choque osmótico.

1813 Posteriormente à exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes foram
1814 coletados e analisados após dois períodos, 24 e 240 horas. O material vegetal foi avaliado
1815 quanto a indicadores de *status* hídrico da planta; a integridade das membranas celulares e
1816 indicadores de ajustamento osmótico.

1817 Para aferir o *status* hídrico da planta, a determinação do conteúdo relativo de água
1818 (CRA) foi realizada segundo Irigoyen et al. (1992) utilizando a equação: $CRA = (MF - MS /$
1819 $MT - MS) \times 100$; onde os tecidos vegetais de cada plântula foram pesados para obtenção da
1820 massa fresca (MF) e, em seguida, embebidos em água deionizada sob temperatura ambiente
1821 de 25 ± 5 °C durante seis horas para obtenção da massa túrgida (MT). A massa seca (MS) foi
1822 obtida pela desidratação da MT por 72 h a 60 °C.

1823 A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos
1824 (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times$
1825 100, onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do
1826 frasco, realizada após 6 horas e L_2 representa a segunda leitura da CE realizada após o
1827 aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

1828 A concentração de proteínas solúveis totais (PST) foi determinada segundo método
1829 descrito por Bradford (1976), com base em curva padrão obtida a partir de albumina bovina
1830 (BSA) e os resultados expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca.

1831 A concentração de aminoácidos livres totais (AALT) foi determinada segundo o
1832 método descrito por Peoples et al. (1989), onde os AALT foram determinados com base em
1833 uma curva padrão de L-Glutamina, sendo os resultados expressos em $\mu mol \cdot g^{-1}$ de massa
1834 seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm de absorbância.

1835 A concentração de prolina (PRO) foi determinada segundo metodologia descrita por
1836 Bates (1973), onde a PRO foi determinada com base em curva padrão de L-Prolina, com seus
1837 resultados expressos em $\mu mol \cdot g^{-1}$ de massa seca e a leitura realizada em espectrofotômetro a
1838 520 nm de absorbância.

1839 A aferição da concentração de açúcares solúveis totais (AST) foi realizada pelo
1840 método “fenol-sulfúrico” descrito por Dubois et al. (1956), onde os AST foram determinados
1841 com base na curva padrão de D-Glicose, com seus resultados expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa
1842 seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm de absorbância.

1843 A concentração de açúcares não redutores (ANR) foi determinada conforme o método
1844 “antrona” descrito por Morris (1948), adaptado por Van Handel (1968), onde os ANR foram
1845 obtidos por comparação com curva-padrão de sacarose, com seus resultados expressos em mg
1846 $\cdot g^{-1}$ de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm de absorbância.

1847 Para estimar os açúcares redutores (AR) foi utilizada a equação matemática: $AR =$
1848 $AST - ANR$, expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca (SOUSA et al., 2012).

1849 A dosagem do amido foi realizada utilizando o reagente antrona (MORRIS, 1948;
1850 YEMM & WILLIS, 1954). Os extratos utilizados foram submetidos anteriormente a extração
1851 alcoólica e seu precipitado foi re-extraído com HClO₄ 30%. A concentração de amido foi
1852 calculada com base em uma curva padrão de D-glicose e sua leitura realizada em
1853 espectrofotômetro a 620 nm. Para a conversão em amido, os resultados obtidos foram
1854 multiplicados pelo fator 0,9, segundo proposto por McCready et al. (1950), onde os resultados
1855 foram expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca.

1856 O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a
 1857 cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com K⁺ (C; Sal1; Sal2; Sal1 + K⁺; Sal2 + K⁺) e
 1858 três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo um total
 1859 de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

1860 Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t, que comparou os efeitos
 1861 dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$ de
 1862 probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

1863

1864 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1865 3.1 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas

1866 O conteúdo relativo de água (CRA) diz respeito à quantidade de água da planta em
 1867 porcentagem levando em consideração a sua capacidade máxima de água presente nos
 1868 tecidos. Sendo, portanto, considerado um indicador indireto do *status* hídrico do vegetal
 1869 (IRIGOYEN et al., 1992).

1870 O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição,
 1871 interferiu na quantidade de água das folhas, do caule e das raízes de *J. curcas*, expressa pelo
 1872 CRA (Tabela 1). Tal efeito foi mais acentuado nas folhas, na dose mais elevada de NaCl (150
 1873 mM). Nas folhas, o estresse salino diminuiu o CRA em aproximadamente 15%, seguido das
 1874 raízes (8%) e do caule (7%) em presença de 150 mM de NaCl (Tabela 1). A adição de K⁺ na
 1875 solução nutritiva contendo NaCl, não interferiu no CRA, pois não houve efeitos significativos
 1876 quando comparados aos tratamentos com NaCl (Tabela 1). Curiosamente, independente da
 1877 dose de sal, após 240 horas de exposição ao estresse salino, o CRA dos diferentes órgãos das
 1878 plantas de *J. curcas* (folha, caule e raiz) não foi afetado pela salinidade (Tabela 1).

1879

1880 **Tabela 1:** Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L.
 1881 submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C - 0 mM; Sal1 - 75 mM; Sal2 - 150 mM),
 1882 suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ - 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ - 150 mM + 9 mM
 1883 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 |

1884 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 1885 significativamente pelo teste de t-Student ($p \leq 0,05$).

1886

1887 Na primeira fase de alarme, o componente osmótico do estresse salino é preponderante
1888 sobre o iônico fazendo com que a planta absorva uma menor quantidade de água (ZENG et
1889 al., 2015). Contudo, passado a fase de alarme, a planta entra em fase de restituição buscando
1890 retomar a homeostase hídrica dos seus tecidos. No presente estudo, é possível que nas
1891 primeiras 24 horas de exposição ao sal, a planta tenha sofrido um estresse osmótico, mas que
1892 após 240 horas de exposição, ela tenha recuperado seu *status* hídrico. Provavelmente, a
1893 manutenção da turgescência celular após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos pode
1894 ter ocorrido por meio de um ajustamento osmótico, decorrente da redução no potencial
1895 osmótico celular (HESSINI et al., 2009).

1896 Em *J. curcas*, o acúmulo de solutos orgânicos (açúcares solúveis, aminoácidos livres,
1897 e prolina) e inorgânicos (potássio, sódio e cloreto), que são alocados no citosol ou
1898 compartimentalizados dentro dos vacúolos, parecem desempenhar um papel importante no
1899 processo de ajustamento osmótico nesta espécie quando submetida à salinidade
1900 (RODRIGUES et al., 2013; SILVA et al., 2015; ZENG et al., 2015).

1901 A condutividade elétrica mede o vazamento de eletrólitos (VE) para a solução, sendo
1902 utilizada como medida indireta para avaliar possíveis danos às membranas celulares, causadas
1903 pelo estresse salino (BAJJI et al., 2001).

1904 O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, não
1905 causou danos às membranas dos tecidos foliares e caulinares de *J. curcas*, de acordo com o
1906 VE (Tabela 2). Entretanto nas raízes, o NaCl provocou aumento significativo do VE quando
1907 comparado ao controle (Tabela 2). Tal efeito foi mais acentuado na dose mais elevada de
1908 NaCl (150mM). Nas raízes, o estresse salino aumentou 17% na presença de 75 mM, e de 35%
1909 na presença de 150 mM de NaCl. A adição de K⁺ à solução nutritiva contendo NaCl não
1910 interferiu no VE das folhas e caule, quando comparados aos tratamentos salinos sem potássio.
1911 Contudo, na presença de 150 mM houve um aumento de 7% nas raízes (Tabela 2). Com a
1912 exposição prolongada ao NaCl (240 horas), observa-se um aumento significativo do VE em
1913 todas as partes da planta. Tal efeito foi proporcional à dose de NaCl e mais acentuado nas
1914 raízes, seguido do caule e por último das folhas (Tabela 2).

1915 Os maiores índices de VE observados em raízes, em comparação ao caule e folhas,
1916 provavelmente pode ser devido a um contato direto deste órgão com a solução salina (LOPES
1917 & MACEDO, 2008) ou ainda, que as raízes atuaram na retenção dos íons salinos em seus
1918 tecidos e preveniram, no primeiro momento, o acúmulo de Na⁺ e/ou Cl⁻ nos órgãos apicais
1919 como caule e folhas (OLIVEIRA et al., 2014). Após 240 horas, o aumento da condutividade

1920 elétrica em presença de NaCl, pode ser devido ao excesso de Na⁺ e Cl⁻ no protoplasma que,
 1921 com o passar do tempo, causa toxicidade e distúrbios no balanço iônico, o que traz como
 1922 consequência alterações na estrutura das membranas e enzimas (YOKOI et al., 2002).

1923

1924 **Tabela 2:** Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L.
 1925 submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM),
 1926 suplementados ou não com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM
 1927 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 |

1928 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 1929 significativamente pelo teste de teste t-Student (p≤0,05).

1930

1931 3.2 Ajustamento osmótico por compostos nitrogenados

1932 As concentrações de proteínas solúveis totais (PST) aumentaram apenas em raízes,
 1933 com o incremento de NaCl na solução nutritiva (Sal1 – 77%; Sal2 – 106%), após 24 horas de
 1934 exposição aos tratamentos salinos (Tabela 3). Após 240 horas de exposição ao tratamento
 1935 salino, apenas as folhas do tratamento Sal1 tiveram seus níveis de PST duplicados com a
 1936 adição de NaCl à solução nutritiva, comparado ao grupo controle (Tabela 3). Os demais
 1937 órgãos não apresentaram alterações nos níveis de PST, após 240 horas de exposição à
 1938 salinidade.

1939 O acúmulo de PST tanto em raízes, em ambos os tratamentos salinos (24 h DT),
 1940 quanto em folhas, após 240 horas de exposição ao tratamento salino moderado (Sal1), pode
 1941 estar relacionado à síntese de proteínas específicas que, em condições adversas, contribuem
 1942 para a tolerância ao estresse salino (MOHAMMADKHANI & HEIDARI, 2008).
 1943 Adicionalmente, em raízes expostas ao tratamento Sal2 (24 h DT) e em folhas expostas ao
 1944 tratamento Sal1 (240 h DT), o aumento nos níveis de PST pode estar associado à manutenção
 1945 do CRA nestes dois órgãos. Para Zhang et al. (2014), o aumento da síntese de proteínas da
 1946 família LEA (*late embryogenesis abundant*) estão associadas a manutenção do turgor celular,
 1947 bem como a estabilização de proteínas e estruturas celulares em *J. curcas*, o que pode
 1948 aumentar a tolerância da espécie ao sal.

1949

1950 **Tabela 3:** Concentrações de proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT), prolina
 1951 (PRO) e relação PRO/AALT em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a
 1952 diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não
 1953 com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas
 1954 (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 |

1955 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 1956 significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

1957

1958 O incremento de K⁺ à solução salina, 24 h DT, aumentou os níveis de PST em todos os
 1959 órgãos das plantas submetidas ao tratamento Sal1 + K⁺ (folhas – 52%; caule – 37%; raiz –
 1960 57%), comparado às suas respectivas concentrações de PST no grupo Sal1 (Tabela 3). Na
 1961 concentração mais elevada de NaCl, suplementada com K⁺ (Sal2 + K⁺), observou-se um
 1962 aumento nos níveis de PST em caule (23%) e uma redução de aproximadamente 38% em
 1963 raízes, comparados ao tratamento Sal2 (Tabela 3). Após 240 horas de exposição aos
 1964 tratamentos salinos, o incremento de K⁺ à solução nutritiva reduziu as concentrações de PST
 1965 apenas em folhas no tratamento Sal1 + K⁺ (15%) (Tabela 3). Os demais órgãos, submetidos

1966 aos diferentes tratamentos salinos, não apresentaram diferenças nas concentrações de PST
1967 após 240 horas de exposição ao NaCl. O aumento nos níveis de PST, 24 h DT, em todos os
1968 órgãos das plantas submetidas ao tratamento salino moderado, suplementado com K⁺ (Sal1 +
1969 K⁺), sugere a forte relação do potássio como cofator enzimático e a sua importante função na
1970 síntese de proteínas (MARSCHNER, 2012).

1971 A adição moderada de NaCl à solução nutritiva (Sal1), reduziu os níveis de AALT em
1972 folhas (25%) e raízes (24%), após 24 horas de exposição ao sal (Tabela 3). No caule, houve
1973 um aumento de aproximadamente 30% nos níveis de AALT quando a planta foi submetida à
1974 75 mM de NaCl (Sal1) (Tabela 3). As plantas que foram submetidas ao tratamento mais
1975 severo de NaCl (Sal2) apresentaram reduções nos níveis de AALT apenas em folhas (42%) e
1976 um aumento apenas no caule (38%) (Tabela 3). Após 240 horas de exposição ao NaCl, o
1977 aumento nas concentrações de AALT foi observado em todos os órgãos e em todos os
1978 tratamentos salinos, exceto no caule quando submetido à 75 mM de NaCl (Tabela 3). Em
1979 folhas, tal aumento foi de aproximadamente 2 vezes nos tratamentos Sal1 e Sal2; no caule,
1980 houve incremento de quase 3 vezes em Sal2 e; nas raízes, um aumento de 79% em Sal1 e 3
1981 vezes mais AALT em Sal2, comparados aos seus respectivos grupos controles (Tabela 3).

1982 Em folhas submetidas aos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2) e em raízes no tratamento
1983 Sal1, após 24 horas de exposição ao NaCl, a redução observada nos níveis de AALT pode
1984 estar relacionada a manutenção da concentração de PST, pois nestes órgãos, 24h DT, não
1985 houve diferença nos níveis deste último soluto quando foram comparados os grupos controles
1986 com os tratamentos salinos. Neste caso, é possível que as plantas tenham alterado o
1987 metabolismo dos aminoácidos com intuito de estabilizar ou ainda sintetizar novas proteínas
1988 em resposta ao estresse, como sugere Székely et al. (2008) em plantas de *Arabidopsis* sob
1989 estresse.

1990 O aumento nos níveis de AALT em caule (Sal1 e Sal2 – 24 h DT; Sal2 – 240 h DT),
1991 folhas e raízes (Sal1 e Sal2 – 240 h DT), podem estar relacionados à limitação na síntese
1992 proteica que favorece o aumento nos níveis de AALT, indicando que há um rearranjo do
1993 metabolismo do nitrogênio sob estresse salino, possibilitando o acúmulo de aminoácidos
1994 como solutos compatíveis, através do mecanismo de síntese “*de novo*” no ambiente
1995 intracelular (SILVA et al., 2009). O acúmulo de aminoácidos solúveis foi também observado
1996 em *J. curcas* submetidas ao déficit hídrico, sendo tal resposta parte do mecanismo de
1997 ajustamento osmótico que impede a perda de água pela planta (SANTOS et al., 2013). Tal
1998 mecanismo também pode ser utilizado por *J. curcas* em condições de salinidade, pois o déficit

1999 hídrico gerado pelo componente osmótico do estresse salino pode aumentar os níveis de
2000 AALT (SILVA et al., 2009). De acordo com Zhou e Yu (2010), o acúmulo de AALT na
2001 planta pode agir como osmólitos compatíveis, mantendo o turgor celular a potenciais hídricos
2002 inferiores ao do ambiente externo, justificando a manutenção do CRA em todos os órgãos
2003 após exposição aos diferentes tratamentos salinos, 240 h DT, do presente estudo.

2004 O incremento de K^+ à solução nutritiva, após 24 horas de exposição ao NaCl,
2005 aumentou os níveis de AALT apenas em raízes no tratamento Sal1 + K^+ e apenas em folhas
2006 no tratamento Sal2 + K^+ , comparados aos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela
2007 3). No caule, quando a planta foi submetida a condições severas de NaCl, suplementada com
2008 K^+ , houve uma redução nos níveis de AALT no tratamento Sal2 + K^+ , comparado ao
2009 tratamento Sal2 (Tabela 3). Após 240 horas de exposição ao NaCl, o tratamento Sal1 + K^+
2010 aumentou os níveis de AALT em todos os órgãos da planta (folha – 68%; caule – 59%; raiz –
2011 25%), comparados ao tratamento Sal1 (Tabela 3). No tratamento Sal2 + K^+ , 240h DT, o caule
2012 foi o único órgão que apresentou redução nos níveis de AALT (20%), comparado ao
2013 tratamento Sal2, não havendo diferenças entre folhas e raízes do tratamento Sal2 + K^+ com
2014 seus respectivos controles salinos (Sal2) (Tabela 3).

2015 O acúmulo de AALT observado em raízes (Sal1 + K^+) e folhas (Sal2 + K^+) após 24
2016 horas de exposição ao NaCl e também em todos os órgãos no tratamento Sal1 + K^+ , 240 h
2017 DT, podem estar relacionadas a alterações nas concentrações de potássio intracelular
2018 (SLAMA et al., 2007). Segundo Cuin e Shabala (2007), os aminoácidos podem atenuar
2019 substancialmente os efeitos do estresse salino através da homeostase iônica mediada pelo K^+
2020 e, em última análise, aumentar a adaptação das plantas à salinidade, diminuindo o efluxo de
2021 K^+ em detrimento à indução de NaCl e contribuindo indiretamente para o ajustamento
2022 osmótico celular, através de retenções de potássio intracelular.

2023 Após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos, houve um aumento nas
2024 concentrações de PRO somente em folhas após exposição moderada ao NaCl (Sal1 – 60%)
2025 (Tabela 3). Após exposição severa (Sal2), todos os órgãos apresentaram aumento nos níveis
2026 de PRO (folhas – 93%; caule – 26%; raízes – 29%). Contudo, após 240 horas de exposição à
2027 salinidade, apenas o caule apresentou aumento de aproximadamente 83% nos níveis de PRO
2028 quando as plantas foram submetidas à concentração moderada de NaCl (Sal1) (Tabela 3). Na
2029 concentração mais elevada de NaCl (Sal2), todos os órgãos aumentaram seus níveis de PRO
2030 (folhas – 52%; caule – 4 vezes mais PRO; raízes – 91%), comparado aos seus respectivos
2031 controles (Tabela 3).

2032 A prolina é um dos aminoácidos que comumente estão associados à resposta da planta
2033 frente a um fator de estresse, podendo seus níveis aumentar em até 80% da reserva de
2034 aminoácidos totais (JOSEPH et al., 2015). Na maioria dos órgãos analisados no presente
2035 estudo, independente da concentração salina, observou-se um aumento nos níveis de PRO,
2036 principalmente 240 h DT. Tal elevação nas concentrações de PRO foi acompanhada do
2037 aumento nos níveis de AALT, e os valores encontrados na relação PRO/AALT,
2038 principalmente em folhas, sugerem uma relativa contribuição deste aminoácido no
2039 ajustamento osmótico de *J. curcas*. Adicionalmente, a prolina pode estar relacionada
2040 diretamente com a estabilidade da membrana (BABU et al., 2012), representado pelo
2041 percentual de VE (folhas e caule – 24 h DT), e ainda à manutenção do *status* hídrico da planta
2042 (ZENG et al., 2015), representado pelos níveis de CRA em folhas (Sal1) e raízes (Sal2), 24 h
2043 DT, e em todos os órgãos independente do tratamento salino, 240 h DT.

2044 No tratamento salino moderado incrementado com K^+ (Sal1 + K^+), 24 h DT, apenas
2045 caule e raízes apresentaram aumentos de 30% e 74%, respectivamente, nos níveis de PRO,
2046 comparados aos seus respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 3). As folhas reduziram seus
2047 níveis de PRO em aproximadamente 32% no tratamento Sal1 + K^+ . O incremento de K^+ na
2048 concentração severa de NaCl reduziu os níveis de PRO, apenas nos caules das plantas em
2049 aproximadamente 17%, comparado ao tratamento Sal2 (24 h DT) (Tabela 3). Após 24 horas
2050 de exposição ao tratamento, tanto em folhas quanto em raízes, o incremento e K^+ à solução
2051 salina não alterou os níveis de PRO após comparação com o tratamento Sal2. Contudo, após
2052 240 horas de exposição ao tratamento salino, o incremento de K^+ à solução salina moderada
2053 (Sal1 + K^+) aumentou a concentração de PRO em folhas (68%) e raízes (65%), comparados
2054 aos seus respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 3). A suplementação da solução salina
2055 com o K^+ aumentou os níveis de PRO apenas de folhas (aproximadamente 24%) na
2056 concentração mais severa de NaCl (Sal2 + K^+), comparado ao tratamento Sal2, não
2057 apresentando efeito nos demais órgãos, 240 h DT (Tabela 3).

2058 O aumento nos níveis de prolina, nos tratamentos onde houve um incremento de
2059 potássio, observados em caule e raízes (Sal1 + K^+), 24 h DT, e em folhas (Sal1 + K^+ e Sal2 +
2060 K^+) e raízes (Sal1 + K^+), 240 h DT, sugere uma interação entre o soluto orgânico e o soluto
2061 inorgânico. Hamdia e Shaddad (2010), discutindo a resposta de *C. dactylon* submetidas a
2062 condições salinas, concluem que a relativa tolerância desta espécie ao sal está relacionada,
2063 dentre outros fatores, ao aumento nos níveis de prolina associado ao aumento na captação de
2064 K^+ e Ca^{2+} pelo ambiente radicular, auxiliando na restrição da absorção de Na^+ . A interação

2065 entre a suplementação de K⁺ com aumento nos níveis de prolina em condições de estresse
2066 também foram observadas por Moh Zain e Ismail (2016) em *Oryza sativa*, Khan et al. (2015)
2067 em *Hibiscus esculenus* e Ahanger et al. (2015) em *Avena sativa*.

2068

2069 **3.3 Ajustamento osmótico por carboidratos**

2070 Os AST tiveram seus níveis reduzidos em folhas com o aumento da concentração de
2071 NaCl na solução nutritiva, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao estresse (Tabela
2072 4). Nestas folhas, o tratamento Sal1 reduziu em aproximadamente 35% os níveis de AST, 24
2073 h DT e 48% após 240 horas de exposição ao estresse, comparados aos respectivos grupos
2074 controles (Tabela 4). Neste mesmo tratamento salino, 24 h DT, observou-se um aumento de
2075 20% nos níveis de amido em folhas, entretanto, 240 h DT, os níveis de amido reduziram em
2076 folhas cerca de 58%. No tratamento Sal2 a redução na concentração de AST foi de 49% e
2077 65%, após 24 e 240 horas de exposição ao NaCl, respectivamente (Tabela 4). Em Sal2, a
2078 redução observada nos AST de folhas apenas 240 h DT, foi acompanhada de reduções de
2079 54% nos níveis de amido. Neste órgão, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao NaCl,
2080 os AR contribuíram com a maior parcela nas concentrações de AST observadas, independente
2081 do tratamento salino (Tabela 4).

2082 No caule, após 24 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST aumentaram de
2083 acordo com o aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva (Sal1 – 73%; Sal2 – 3
2084 vezes mais AST), comparado ao grupo controle (Tabela 4). Neste caso, após 24 horas de
2085 exposição ao NaCl, os ANR contribuem com a maior parcela nas concentrações de AST no
2086 tratamento salino moderado (Sal1) e os AR contribuem com a maior parcela nas
2087 concentrações de AST no tratamento salino severo (Sal2). Neste mesmo período, reduções de
2088 11% e 25% foram observadas nos níveis de amido em caules expostos aos tratamentos Sal1 e
2089 Sal2, respectivamente (Tabela 4). Após 240 horas de exposição ao NaCl, observou-se no
2090 caule uma redução nos níveis de AST de acordo com o aumento da concentração de NaCl na
2091 solução nutritiva (Sal1 – 44%; Sal2 – 55%), comparado ao grupo controle (Tabela 4).
2092 Contudo, no referido período, observou-se que a maior parcela na concentração de AST em
2093 caule se deu pelos AR no tratamento Sal1 e pelos ANR no tratamento Sal2. Os níveis de
2094 amido em caule, 240 h DT, não apresentaram diferença entre os tratamentos salinos e seus
2095 respectivos grupos controle (Tabela 4).

2096

2097

2098 **Tabela 4:** Concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), açúcares
 2099 redutores (AR) e amido em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a
 2100 diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não
 2101 com potássio (Sal1 + K⁺ – 75 mM + 9 mM de K⁺; Sal2 + K⁺ – 150 mM + 9 mM de K⁺), após 24 horas
 2102 (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 |

2103 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 2104 significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

2105

2106 Após 24 horas de exposição ao estresse salino, observou-se em raízes um aumento de
 2107 42% nas concentrações de AST apenas no tratamento Sal1 (Tabela 4). Durante a exposição ao
 2108 estresse salino moderado (Sal1), observou-se uma maior contribuição dos ANR no aumento
 2109 da concentração de AST em raízes. Neste mesmo órgão e tratamento salino, observou-se uma
 2110 redução de aproximadamente 25% nos níveis de amido, 24 h DT (Tabela 4). Os níveis de
 2111 AST e amido em raízes, quando expostas ao tratamento Sal2, não apresentam diferenças em
 2112 relação ao grupo controle, 24h DT. Neste órgão, 240 h DT, o tratamento salino moderado
 2113 (Sal1) reduziu em 50% os níveis de AST (Tabela 4). Entretanto, as raízes submetidas à

2114 concentração mais severa de NaCl (Sal2) aumentaram em 56% os níveis de AST. Nas raízes,
2115 em ambos os tratamentos salinos, 240 h DT, os AR contribuíram com a maior parcela nas
2116 concentrações de AST (Tabela 4). Neste órgão, 240 h DT, os níveis de amido não sofreram
2117 alterações em nenhum dos tratamentos salinos.

2118 Altas concentrações de NaCl podem causar desbalanço no perfil de carboidratos
2119 podendo aumentar ou reduzir os níveis deste soluto orgânico em todo o vegetal (SILVA et al.,
2120 2010). Em folhas de *J. curcas*, tanto 24 h DT quanto 240 h DT, é possível que as reduções
2121 observadas nos níveis de AST estejam associadas a uma redução intensa na taxa de
2122 assimilação de CO₂ acompanhada de forte decréscimo dos conteúdos de sacarose em folhas
2123 (SOUSA et al., 2012) e/ou pelo aumento na intensidade de translocação dos fotoassimilados
2124 das folhas para outros órgãos da planta (ALBACETE et al., 2014). Alterações no
2125 metabolismo fotossintético de *J. curcas* foram relacionadas a exposição desta espécie à
2126 salinidade e ao déficit hídrico por Silva et al. (2010), Díaz-López et al. (2012) e Garcia-
2127 Almodovar et al. (2014).

2128 As reduções nos níveis de AST e ANR em folhas podem ser relacionadas ao aumento
2129 nos níveis de AST em caule (Sal1 e Sal2) e em raízes apenas no tratamento salino moderado
2130 (Sal1), quando expostas a 24 horas de exposição aos tratamentos salinos. Já após 240 horas de
2131 exposição, as reduções observadas nos AST e ANR estão associadas ao aumento nos níveis
2132 de AST em raízes apenas no tratamento salino severo (Sal2). Em ambos os casos, pode-se
2133 inferir que o aumento na translocação destes solutos das folhas (órgão fonte) para tecidos não
2134 fotossintetizantes (órgãos dreno) ocorreu na tentativa de suprir a demanda por açúcares nos
2135 órgãos basais do vegetal, estratégia comum utilizada por plantas expostas à salinidade
2136 (ALBACETE et al., 2014).

2137 Especificamente no tratamento Sal1 em folhas (24 h DT) e em ambos os tratamentos
2138 salinos em caule (240 h DT), as reduções nos níveis de AST nestes dois órgãos podem estar
2139 relacionadas ao aumento ou manutenção nos níveis de amido. O acúmulo de amido pode ser
2140 resultado da síntese deste polissacarídeo a partir da hidrólise da sacarose, quando as plantas
2141 são submetidas à salinidade (PATTANAGUL & THITISAKSAKUL, 2008). As plantas
2142 acumulam e armazenam carboidratos na forma de amido, podendo este ser mobilizado em
2143 períodos de fornecimento limitado ou aumento das demandas energéticas, comuns durante o
2144 estresse salino (KRÁSENSKÝ et al., 2012).

2145 Provavelmente, o acúmulo de AST (24 h DT) e amido (240 h DT) em caules de *J.*
2146 *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

2180 plantas jovens de *J. curcas* o aumento nos níveis de AST estão relacionados à manutenção do
2181 ajustamento osmótico de raízes quando expostas a condições de restrição hídrica (SILVA et
2182 al., 2010).

2183 A suplementação com K^+ após 24 horas de exposição à solução salina reduziu em 25%
2184 os níveis de AST em folhas apenas no tratamento salino severo (Sal2 + K^+), comparado ao
2185 tratamento Sal2 (Tabela 4). A redução nos níveis de AST se deu principalmente devido a
2186 reduções de 30% nos níveis de AR. Em folhas submetidas ao tratamento Sal2 + K^+ , 24 h DT,
2187 os níveis de amido não foram alterados. Da mesma forma, 240 h DT, observou-se uma
2188 redução de aproximadamente 62% nos níveis de AST, neste mesmo órgão, após exposição ao
2189 tratamento Sal1 + K^+ , comparado ao tratamento Sal1 (Tabela 4). Tal redução foi
2190 acompanhada da diminuição nos níveis de ANR (40%) e AR (63%), porém os níveis de
2191 amido aumentaram em aproximadamente 60%, neste mesmo tratamento após 240 horas de
2192 exposição. Em folhas expostas ao tratamento Sal2 + K^+ , 240 h DT, o aumento de 39% nos
2193 níveis de AST foi acompanhado do incremento de 31% nos níveis de AR que se deu
2194 provavelmente em detrimento à redução de 27% nos níveis de ANR (Tabela 4).

2195 No caule, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao tratamento Sal1 + K^+ ,
2196 observou-se que o incremento de K^+ à solução salina aumentou os níveis de AST em
2197 aproximadamente 55%, em ambos os períodos de exposição e comparados ao tratamento Sal1
2198 (Tabela 4). Após 24 horas de exposição ao tratamento Sal1 + K^+ , observou-se uma redução de
2199 20% nos níveis de amido, comparado ao tratamento Sal1, enquanto que após 240 h de
2200 exposição ao tratamento Sal1 + K^+ , os níveis de amido permaneceram semelhantes ao
2201 controle salino (Sal1). Caules expostos aos tratamentos Sal2 + K^+ , tanto 24 quanto 240 h DT,
2202 não apresentaram alterações nos níveis de AST e amido após a suplementação de K^+ à
2203 solução salina (Tabela 4). Contudo, 24h DT, verificou-se que os AR contribui com a maior
2204 parcela dos AST encontrados nos caules expostos ao tratamento Sal1 + K^+ , enquanto que, 240
2205 h DT, são os ANR que contribuem com a maior parcela dos AST neste mesmo órgão e
2206 tratamento salino (Tabela 4).

2207 O aumento nos níveis de AST em raízes, 24 h DT, apenas foi observado no tratamento
2208 Sal2 + K^+ (41%), comparado ao tratamento Sal2 (Tabela 4). Após 24 horas de exposição,
2209 observou-se um aumento apenas nos níveis de AR (81%), comparado ao tratamento Sal2,
2210 contribuindo assim com a maior parcela na concentração de AST em raízes submetidas ao
2211 tratamento Sal2 + K^+ (Tabela 4). Neste mesmo tratamento e período de exposição, uma
2212 redução de 14% nos níveis de amido foi observada em raízes. Após 240 horas de exposição ao

2213 NaCl, os tratamentos Sal1 + K⁺ e Sal2 + K⁺ não apresentaram diferenças nos níveis de AST e
2214 amido comparados aos seus respectivos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2) (Tabela 4).

2215 As concentrações de AST em folhas, 24 h DT, reduziram após exposição ao
2216 tratamento Sal2 + K⁺, acompanhado de reduções principalmente nos níveis de AR. Neste
2217 mesmo tratamento e período de exposição, observou-se também um aumento nos níveis de
2218 AST em raízes, acompanhados do incremento de AR neste mesmo órgão. Tal evento sugere a
2219 participação do potássio na translocação de hexoses das folhas para as raízes em condições de
2220 salinidade. Especificamente após 240 h DT, a redução de AST acompanhadas da diminuição
2221 de ANR, observada em folhas no tratamento Sal1 + K⁺, pode estar relacionada ao aumento de
2222 AST e ANR em caule de *J. curcas* neste mesmo tratamento. Neste caso, a adição de K⁺ à
2223 solução salina facilitou o transporte de sacarose das folhas para o caule, pois o potássio pode
2224 ativar enzimas que estão envolvidas no processo de transporte de sacarose, havendo assim
2225 uma relação de co-transporte entre estes dois solutos (YUAN et al., 2015). Adicionalmente, o
2226 aumento nos níveis de amido em detrimento à redução dos AST no tratamento Sal1+K⁺
2227 sugere a atuação do potássio como cofator enzimático de enzimas responsáveis pela síntese
2228 deste polissacarídeo (RANADE-MALVI, 2011).

2229 O acúmulo de AST, especialmente dos AR, observado em folhas de *J. curcas*
2230 submetidas ao tratamento Sal2 + K⁺, 240 h DT, pode estar relacionado à contribuição na
2231 manutenção dos níveis de CRA de ambos os órgãos submetidos a condição de estresse. Para
2232 Saglam et al. (2010), os açúcares e especialmente a glicose são os solutos orgânicos
2233 preferencialmente utilizados no ajustamento osmótico das células, permitindo que a planta
2234 continue a absorção de água em condições de deficiência hídrica, como observados no
2235 presente estudo.

2236 O aumento nos níveis de AST em caule 24 horas após exposição ao tratamento Sal1 +
2237 K⁺ pode ter ocorrido por meio da redução nos níveis de amido. Em condições salinas, a
2238 similaridade entre os íons K⁺ e Na⁺ pode dificultar a absorção do primeiro e afetar a taxa de
2239 conversão dos açúcares solúveis em amido, pois baixos níveis de K⁺ nos tecidos vegetais
2240 reduzem a atividade catalítica de enzimas que dependem deste íon para a sua síntese (DKHIL
2241 & DENDEN, 2010; RANADE-MALVI, 2011). Adicionalmente, o acúmulo nos níveis de
2242 AST no tratamento Sal1 + K⁺, 240 h DT, pode ter contribuído para um acúmulo maior de
2243 amido, comparado à 24 h DT em caules de *J. curcas*. Neste caso, a suplementação com
2244 potássio pode ter aumentado a atividade das enzimas envolvidas na síntese de amido, pois
2245 concentrações adequadas de K⁺ favorecem a ativação destas enzimas (WAKEEL et al., 2011).

2246 Um aumento nas concentrações de carboidratos no caule também foi observado por Díaz-
2247 López et al. (2012) e Silva et al. (2010) estudando *J. curcas* em ambiente salino, estando este
2248 efeito associado à função de estrutura acumuladora de açúcares solúveis e amido que podem
2249 auxiliar no ajustamento osmótico de plantas desta espécie.

2250 Em raízes, alterações nos níveis de AST e amido foram percebidos apenas no
2251 tratamento Sal2 + K⁺ e após 24 horas de exposição. O aumento nos níveis de AST em raízes
2252 (Sal2 + K⁺), 24 h DT, foi estimulado pelo incremento do potássio à solução salina que, neste
2253 caso, pode ter contribuído para a manutenção dos níveis de CRA observados neste mesmo
2254 tratamento e período de exposição. Para Shabala e Cuin (2007) e Pérez-Peréz et al. (2009),
2255 alterações nos níveis de potássio associados a mudanças nos níveis de açúcares podem
2256 contribuir substancialmente para a osmorregulação de espécies vegetais sob salinidade, como
2257 observados no presente estudo. O aumento na síntese e acúmulo de açúcares solúveis totais
2258 associados à importância de concentrações ideais de potássio para o cultivo de plantas em
2259 condições de estresse foram reportados por Ahanger et al. (2015) e Khan et al. (2015)
2260 estudando *A. sativa* e *H. esculenus*, respectivamente.

2261 A maior contribuição dos AR no *pool* total de AST, na maioria dos órgãos estudados,
2262 independente do tratamento salino, incrementado ou não com potássio, pode estar
2263 relacionado, possivelmente, ao predomínio da glicose e frutose na parcela de AST, sendo
2264 assim os mais importantes para o metabolismo das plantas (McCORMICK et al., 2008). É
2265 possível também que ocorra a liberação de hexoses a partir da hidrólise da sacarose,
2266 favorecendo a utilização de seus produtos em processos anabólicos ou catabólicos
2267 favorecendo a manutenção do crescimento e/ou armazenamento nos diferentes órgãos
2268 (CHAVES FILHO & STACCIARINI-SERAPHIN, 2001). Para Fougere et al. (1991) e Zhu
2269 (2002), solutos compatíveis como sacarose e glicose são importantes para minimizar o
2270 estresse osmótico induzido pela salinidade. Entretanto, no presente estudo, as contribuições
2271 destes compostos para a manutenção nas taxas de CRA não ficaram claras.

2272 De forma geral, as variações observadas nos níveis dos principais representantes do
2273 metabolismo de carboidratos não permitem afirmar a real contribuição de açúcares no
2274 ajustamento osmótico durante o estresse salino em *J. curcas*. Para Sánchez et al. (1998) a
2275 contribuição dos carboidratos no efetivo ajustamento osmótico só é possível a partir do
2276 conhecimento da proporção entre monossacarídeos, dissacarídeos e oligossacarídeos. Para
2277 Khelil et al. (2007) e Dkhil & Denden (2010), variações nos níveis de AST podem ainda

2278 sugerir distúrbios no metabolismo de carboidratos, sendo os esqueletos de carbono utilizados
2279 como fonte de energia facilmente disponível para células sob condições de estresse.

2280

2281 4. CONCLUSÕES

2282 1- Plantas de *Jatropha curcas* submetidas a condições de salinidade e
2283 suplementadas com potássio apresentam respostas complexas e moduladas de acordo com o
2284 órgão, a dose e o tempo de exposição.

2285 2- O NaCl causou danos as membranas celulares e foi responsável por reduções
2286 no *status* hídrico da planta evidenciando assim o efeito do componente osmótico do estresse
2287 salino após 24 horas de estresse.

2288 3- Após 240 horas de exposição, a planta recupera seu *status* hídrico devido à
2289 acumulação de solutos orgânicos, utilizando, portanto, a estratégia de ajustamento osmótico.

2290 4- Em ambos os períodos de exposição, a osmorregulação se dá em cada órgão
2291 especificamente de acordo com a dose de NaCl aplicada à solução, estando as proteínas
2292 solúveis, os aminoácidos livres, a prolina e os carboidratos totais agindo como osmólitos
2293 compatíveis e atuando de forma conjunta ou não na mitigação dos efeitos osmóticos da
2294 salinidade.

2295 5- A complexidade e a modulação da estratégia de resistência foram influenciadas
2296 pela suplementação de potássio à solução salina, estando este íon atuando no incremento das
2297 concentrações dos osmóticos em cada órgão especificamente.

2298

2299 5. REFERÊNCIAS

2300 AHANGER, M. A.; AGARWAL, R. M.; TOMAR, N. S.; SHRIVASTAVA, M. Potassium
2301 induces positive changes in nitrogen metabolism and antioxidant system of oat (*Avena sativa*
2302 L cultivar Kent). **Journal of Plant Interactions**, v. 10, n. 1, p. 211-223, 2015.

2303

2304 ALBACETE, A.; MARTINEZ-ANDUJAR, C.; GHANEM, M. E.; ACOSTA, M.;
2305 SANCHEZ-BRAVO, J.; ASINS, M. J.; CUARTERO, J.; LUTTS, S.; DODD, I. C.; PEREZ-
2306 ALFOCEA, F. Rootstock-mediated changes in xylem ionic and hormonal status are correlated
2307 with delayed leaf senescence and increased leaf area and crop productivity in salinised
2308 tomato. **Plant Cell Environ**, v. 32, p. 928–938, 2009.

2309

2310 ALBACETE, A. A.; MARTINEZ-ANDUJAR, C.; PEREZ-ALFOCEA, F. Hormonal and
2311 metabolic regulation of source–sink relations under salinity and drought: from plant survival
2312 to crop yield stability. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 12–30, 2014.

2313

2314 ALENCAR, N. L. M.; GADELHA, C. G.; GALLÃO, M. I.; DOLDER, M. A. H.; PRISCO, J.
2315 T.; GOMES-FILHO, E. Ultrastructural and biochemical changes induced by salt stress in

- 2316 *Jatropha curcas* seeds during germination and seedling development. **Functional Plant**
 2317 **Biology**, v. 42, p. 865–874, 2015.
- 2318
- 2319 ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in
 2320 plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.
- 2321
- 2322 ASHRAF, M.; RAHMATULLAH, R.; AHMAD, A. S.; BHATTI, M.; AFZAL, A.;
 2323 SARWAR, M. A.; MAQSOOD; S. KANWAL. Amelioration of Salt Stress in Sugarcane
 2324 (*Saccharum officinarum* L.) by Supplying Potassium and Silicon in Hydroponics.
 2325 **Pedosphere**, v. 20, n. 2, p. 153–162, 2010.
- 2326
- 2327 BABU, M. A.; SINGH, D.; GOTHANDAM, K. M. The effect of salinity on growth,
 2328 hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. **The Journal of**
 2329 **Animal & Plant Sciences**, v. 22, n. 1, p. 159-164, 2012.
- 2330
- 2331 BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J.M. Water Deficit Effects on Solute Contribution to Osmotic
 2332 Adjustment as a Function of Leaf Ageing in Three Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.)
 2333 Cultivars Performing Differently in Arid Conditions. **Plant Science**, v. 160, p. 669–681,
 2334 2001.
- 2335
- 2336 BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for
 2337 water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- 2338
- 2339 BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat
 2340 tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
- 2341
- 2342 BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
 2343 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Chemistry**, v.
 2344 72, p. 248–254, 1976.
- 2345
- 2346 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de**
 2347 **sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa
 2348 Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- 2349
- 2350 CHAVES FILHO, J.T. & STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e
 2351 teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) em
 2352 resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.
- 2353
- 2354 CUIN, T. A.; SHABALA, S. Amino acids regulate salinity-induced potassium efflux in
 2355 barley root epidermis. **Planta**, v. 225, p. 753–761, 2007.
- 2356
- 2357 DÍAZ-LÓPEZ , L.; GIMENO, V.; LIDÓN, V.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-
 2358 SÁNCHEZ, F. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological
 2359 analysis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 34–42, 2012.
- 2360
- 2361 DICHIO, B.; MARGIOTTA, G.; XILOYANNIS, C.; BUFO, S. A.; SOFO, A.; CATALDI, T.
 2362 R. I. Changes in water status and osmolyte contents in leaves and roots of olive plants (*Olea*
 2363 *europaea* L.) subjected to water deficit. **Trees**, v. 23, p. 247–256, 2009.
- 2364

2365 DKHIL, B. B.; DENDEN, M. Salt stress induced changes in germination, sugars, starch and
2366 enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. (Moench.) seeds. **African**
2367 **Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 12, p. 1412–1418, 2010.
2368

2369 D’SOUZA, M. R. D.; DEVARAJ, V. R. Biochemical responses of Hyacinth bean (*Lablab*
2370 *purpureus*) to salinity stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 341–353, 2010.
2371

2372 DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric
2373 Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n.
2374 3, p. 350-356, 1956.
2375

2376 FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p.
2377 307-319, 2004.
2378

2379 FOUGERE, F.; LE RUDULIER, D.; STREETER, J. G. Effects of salt stress on amino acid,
2380 organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa
2381 (*Medicago sativa* L.). **Plant Physiology**, v. 96, p. 1228–1236, 1991.
2382

2383 GARCIA-ALMODOVAR, C.; GIMENO, V.; NIEVES, M.; DIAZ-LOPEZ, L.; SIMON, I.;
2384 GARCIA-SANCHEZ, F. Improving the tolerance of *Jatropha curcas* L. plants to abiotic
2385 stresses. **CAB Reviews**, v. 9, n. 4. p. 1-10, 2014.
2386

2387 GAO, S.; OUYANG, C.; WANG, S.; XU, L. Y.; CHEN, T. F. Effects of salt stress on growth,
2388 antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L.
2389 seedlings. **Plant, Soil and Environment**, v. 54, p. 374–381, 2008.
2390

2391 HAMDIA, M. A.; SHADDAD, M. A. K. Salt tolerance of crop plants. **Journal of Stress**
2392 **Physiology & Biochemistry**, v. 6, n. 3, p. 64-90, 2010.
2393

2394 HESSINI, K.; MARTÍNEZ, J. P.; GANDOUR, M.; ALBOUCHI, A.; SOLTANI, A.;
2395 ABDELLY, C. Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and
2396 water-use efficiency in *Spartina alterniflora*. **Environmental and Experimental Botany**, v.
2397 67, n. 2, p. 312–319, 2009.
2398

2399 HASSINE, A. B.; LUTTS, S. Differential responses of saltbush *Atriplex halimus* L. exposed
2400 to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene.
2401 **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p. 1448–1456, 2010.
2402

2403 HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants**
2404 **without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
2405

2406 IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in
2407 concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*)
2408 plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.
2409

2410 JOSEPH, E. A.; RADHAKRISHNAN, V. V.; MOHANAN, K. V. A Study on the
2411 accumulation of proline - an osmoprotectant amino acid under salt stress in some native rice
2412 cultivars of North Kerala, India. **Universal Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 1, p.
2413 15-22, 2015.
2414

- 2415 KHAN, A.; SHAHEEN, F.; AHMAD, K.; KHAN, Z. I.; SHAH, A.; NAWAZ, H.
 2416 Amelioration of adverse effects of salt stress in okra (*Hibiscus esculentus* L.) by foliar
 2417 application of proline. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental**
 2418 **Sciences**, v. 15, n. 11, p. 2170–2179, 2015.
- 2419
 2420 KHELIL, A.; MENU, T.; RICARD, B. Adaptive response to salt involving carbohydrate
 2421 metabolism in leaves of a salt-sensitive tomato cultivar. **Plant Physiology and Biochemistry**,
 2422 v. 45, n. 8, p. 551–559, 2007.
- 2423
 2424 KRÁSENSKÝ, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic
 2425 rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p.
 2426 1593–1608, 2012.
- 2427
 2428 LAVIOLA, B. G.; ALVES, A. A.; ROCHA, R. B.; DRUMOND, M. A. The importance of
 2429 *Jatropha* for Brazil. In: CARELS, N.; SUJATHA, B.; BAHADUR, B. (Ed.). **Jatropha,**
 2430 **challenges for a new energy crop. Volume 1: farming, economics and biofuel.** New York:
 2431 Springer, 2013; p. 71–94.
- 2432
 2433 LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de
 2434 substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 79-85, 2008.
- 2435
 2436 MARQUES, E. C.; FREITAS, P. A. F.; ALENCAR, N. L. M.; PRISCO, J. T.; GOMES-
 2437 FILHO, E. Increased Na⁺ and Cl⁻ accumulation induced by NaCl salinity inhibits
 2438 cotyledonary reserve mobilization and alters the source-sink relationship in establishing dwarf
 2439 cashew seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 2171–2182, 2013.
- 2440
 2441 MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants.** 3.ed. London, UK:
 2442 Academic Press, 2012; p. 178–189.
- 2443
 2444 McCORMICK, A. J.; CRAMER, M. D.; WATT, D. A. Differential expression of genes in the
 2445 leaves of sugarcane in response to sugar accumulation. **Tropical Plant Biology**, v. 1, p. 142–
 2446 158, 2008.
- 2447
 2448 McCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch
 2449 and amylose in vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156–1158, 1950.
- 2450
 2451 MISRA, A. K. Impact of Urbanization on the Hydrology of Ganga Basin (India). **Water**
 2452 **Mesources Management**, v. 25, p. 705–719, 2011.
- 2453
 2454 MIZYED, N. Impact of climate change on water resources availability and agricultural water
 2455 demand in the west bank. **Water Mesources Management**, v. 23, n. 10, p. 2015–2029, 2009.
- 2456
 2457 MOH ZAIN, N. A.; ISMAIL, M. R. Effects of potassium rates and types on growth, leaf gas
 2458 exchange and biochemical changes in rice (*Oryza sativa*) planted under cyclic water stress.
 2459 **Agricultural Water Management**, v. 164, p. 83–90, 2016.
- 2460
 2461 MOHAMMDKANI, N.; HEIDARI, R. Effects of drought stress on soluble proteins in two
 2462 maize varieties. **Turkish Journal of Biology**, v. 32, p. 23–30, 2008.
- 2463

- 2464 MORRIS, D. L. Quantitative determination of carbohydrates with Drywood's anthrone
2465 reagent. **Science**, v. 107, n. 1, p. 254–255, 1948.
2466
- 2467 OLIVEIRA, M. D. M.; BEZERRA, L. L.; DANTAS, C. V. S.; VOIGT, E. L.; MAIA, J. M.;
2468 MACÊDO, C. E. C. The role of xylopodium in Na⁺ exclusion and osmolyte accumulation in
2469 faveleira [*Cnidioscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta**
2470 **Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 2871–2882, 2014.
2471
- 2472 OUSLATI, S.; KARRAY-BOURAOUI, N.; ATIA, H.; RABHI, M.; KSOURI, R.;
2473 LACHASAL, M. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal)
2474 to salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 289–296, 2010.
2475
- 2476 PATTANAGUL, W.; THITISAKSAKUL, M. Effect of salinity stress on growth and
2477 carbohydrate metabolism in three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity
2478 tolerance. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 46, p. 736–742, 2008.
2479
- 2480 PENG, Z.; WANG, M.; LI, F.; LV, H.; LI, C.; XIA, G. A proteomic study of the response to
2481 salinity and drought stress in an introgression strain of bread wheat. **Molecular and Cellular**
2482 **Proteomics**, v. 8, p. 2676–2686, 2009.
2483
- 2484 PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F. **Methods for**
2485 **evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian
2486 International Center of Agricultural Research, 1989. 76p.
2487
- 2488 PÉREZ-PÉREZ, J. G.; ROBLES, J. M.; TOVAR, J. C.; BOTÍA, P. Response to drought and
2489 salt stress of lemon ‘Fino 49’ under field conditions: water relations, osmotic adjustment and
2490 gas exchange. **Scientia Horticulturae**, v. 122, p. 83–90, 2009.
2491
- 2492 RANADE-MALVI, U. Interaction of micronutrients with major nutrients with special
2493 reference to potassium. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 1, p. 106–
2494 109, 2011.
2495
- 2496 RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L. VOIGT, E. L.; VIÉGAS,
2497 R. A.; SILVEIRA, J. A. G. High K⁺ supply avoids Na⁺ toxicity and improves photosynthesis
2498 by allowing favorable K⁺ : Na⁺ ratios through the inhibition of Na⁺ uptake and transport to the
2499 shoots of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, p.
2500 157–164, 2013.
2501
- 2502 SAGLAM, A.; TERZI, R.; NAR, H.; SARUHAN, N.; AYAZ, F. A.; KADIOGLU, A.
2503 Inorganic and organic solutes in apoplastic and symplastic spaces contribute to osmotic
2504 adjustment during leaf rolling in *Ctenanthe setosa*. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 52, n. 1,
2505 p. 37–44, 2010.
2506
- 2507 SÁNCHEZ, F. J.; MANZANARES, M.; ANDRES, E. F. de; TENÓRIO, J. L.; AYERBE, L.
2508 Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49
2509 pea cultivars in response to water stress. **Field Crops Research**, v. 59, p. 225–235, 1998.
2510
- 2511 SANTOS, C. M. DOS.; VERISSIMO, V.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; FERREIRA, F.
2512 M.; CAVALCANTE, P. G. S.; ROLIM, E. V.; ENDRES, L. Seasonal variations of
2513 photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical

- 2514 responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water
2515 stress. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 203–213, 2013.
- 2516
- 2517 SHABALA, S.; CUIN, T. A. Potassium transport and plant salt tolerance. **Physiologia**
2518 **Plantarum**, v. 133, p. 651–669, 2007.
- 2519
- 2520 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A.
2521 Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansó
2522 submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.
- 2523
- 2524 SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J.
2525 A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and
2526 growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1130–1137,
2527 2010.
- 2528
- 2529 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological
2530 adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions,
2531 transport and selectivity of K⁺, osmotic adjustment and K⁺/Na⁺ homeostasis. **Plant Biology**,
2532 v. 17, p. 1023–1029, 2015.
- 2533
- 2534 SLAMA, I.; GHNAYA, T.; HESSINE, K.; MESSEDI, D.; SAVOURÉ, A.; ABDELLY, C.
2535 Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute
2536 accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. **Environmental and Experimental Botany**, v.
2537 61, p. 10–17, 2007.
- 2538
- 2539 SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; LIMA NETO, M. C.; LACERDA, C.
2540 F.; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados
2541 em pinhão-mansó irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,
2542 v. 47, n. 10, p. 1428–1435, 2012.
- 2543
- 2544 SZÉKELY, G.; ÁBRAHÁM, E.; CSÉPLŐ, Á.; RIGÓ, G.; ZSIGMOND, L.; CSISZÁR, J.;
2545 AYAYDIN, F.; STRIZHOV, N.; JÁSIK, J.; SCHMELZER, E.; KONCZ, C.; SZABADOS, L.
2546 Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and
2547 developmental control of proline biosynthesis. **The Plant Journal**, v. 53, p. 11–28, 2008.
- 2548
- 2549 VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22,
2550 1968. 280p.
- 2551
- 2552 WAKEEL, A.; FAROOQ, M.; QADIR, M.; SCHUBERT, S. Potassium substitution by
2553 sodium in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 30, n. 4, p. 401–413, 2011.
- 2554
- 2555 WANG, M.; ZHENG, Q.; SHEN, Q.; GUO, S. The critical role of potassium in plant stress
2556 response. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 7370–7390, 2013.
- 2557
- 2558 YANG, M. F.; LIU, Y. J.; LIU, Y.; CHEN, H.; CHEN, F.; SHEN, S. H. Proteomic analysis of
2559 oil mobilization in seed germination and post-germination development of *Jatropha curcas*.
2560 **Journal of Proteome Research**, v. 8, p. 1441–1451, 2009.
- 2561
- 2562 YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone.
2563 **Biochemical Journal**, v. 57, p. 508–514, 1954.

2564 YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. **Salt stress tolerance of plants.**, West
2565 Lafayette: JIRCAS Working Report, 2002. p. 25-33.
2566

2567 YUAN, H.; WU, Y.; LIU, W.; LIU, Y.; GAO, X.; LIN, J.; ZHAO, Y. Mass spectrometry-
2568 based method to investigate the natural selectivity of sucrose as the sugar transport form for
2569 plants. **Carbohydrate Research**, v. 407, p. 5-9, 2015.
2570

2571 ZENG, Y.; LI, L.; YANG, R.; YI, X.; ZHANG, B. Contribution and distribution of inorganic
2572 ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to
2573 salt stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. 13639, 2015.
2574

2575 ZHANG, L.; ZHANG, C.; WU, P.; CHEN, Y.; LI, M.; JIANG, H.; WU, G. Global analysis of
2576 gene expression profiles in physic nut (*Jatropha curcas* L.) seedlings exposed to salt stress.
2577 **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, 2014.
2578

2579 ZHOU, Q.; YU, B. Changes in content of free, conjugated and bound polyamines and osmotic
2580 adjustment in adaptation of vetiver grass to water deficit. **Plant Physiology and**
2581 **Biochemistry**, v. 48, p. 417–425, 2010.
2582

2583 ZHU J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual Review of Plant
2584 Biology, v. 53, p. 247-273, 2002.
2585

2586 ZRIG, A.; BEN MOHAMED, H.; TOUNEKTI, T.; ENNAJEH, M.; VALERO, D.; KHEMIR,
2587 H. A comparative study of salt tolerance of three almond rootstocks: contribution of organic
2588 and inorganic solutes to osmotic adjustment. **Journal of Agricultural Science and**
2589 **Technology**, v. 17, p. 675–689, 2015.
2590

2591

2592

2593

2594

2595

2596

2597

2598

2599

2600

2601

2602

2603

2604

2605

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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺. 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 Ca²⁺ foram maiores que o Na⁺ minimizando a toxicidade iônica (Ca²⁺/Na⁺) em quase todos os órgãos da planta, independente do tempo. Observou-se maiores valores Ca²⁺/Na⁺ nos tratamentos salinos suplementados com Ca²⁺. Conclui-se que o incremento de Ca²⁺ à solução salina auxiliou na manutenção da homeostase iônica e contribuiu para o aumento da relação Ca²⁺/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, Ca²⁺.

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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺. 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 Ca²⁺ were higher than the Na⁺ ion minimizing toxicity (Ca²⁺/Na⁺) in almost all organs of the plant, independent of time. Higher values observed Ca²⁺/Na⁺ in saline treatments supplemented with Ca²⁺. It was concluded that increased Ca²⁺ at saline aided in the maintenance of homeostasis and contribute to the increase of the Ca²⁺/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, Ca²⁺.

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

2684 utilizada para este fim e levanta a suspeita do uso indiscriminado de águas salinas devido à
2685 ausência de estratégias adequadas de manejo do solo, da água e dos sistemas de cultivo,
2686 gerando um alerta sobre graves riscos à saúde do solo e do meio ambiente (MINHAS et al.,
2687 2015).

2688 Os efeitos negativos da salinidade sobre o crescimento e os processos metabólicos das
2689 plantas estão, sobretudo, associados com a perda da homeostase hídrica, a toxicidade por íons
2690 e a deficiência nutricional (SEDAY et al., 2014). Nestas condições, a composição mineral dos
2691 vegetais é alterada e o principal motivo é a interação entre os íons na rizosfera, o que interfere
2692 diretamente e principalmente nas relações $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ e Na^+/K^+ por meio da competição entre
2693 estes solutos (NING et al., 2015). O desbalanço iônico a nível celular, gerado pelo excesso de
2694 NaCl, não somente reduz a disponibilidade de cálcio, mas também prejudica o seu transporte
2695 e mobilidade para órgãos vegetativos e reprodutivos das plantas (SHORESH et al., 2011).

2696 Os efeitos da suplementação com cálcio a ambientes salinos são amplamente relatados
2697 e estão associados à mitigação dos sintomas da toxicidade pelo sódio em várias espécies de
2698 plantas (SHORESH et al., 2011). O cálcio desempenha um papel essencial nos processos que
2699 preservam a integridade estrutural e funcional das membranas celulares dos vegetais, atuando
2700 na estabilização da parede celular, auxiliando o transporte e seletividade de íons, e ainda,
2701 regulando algumas atividades enzimáticas ou atuando na transdução de sinal (SUN et al.,
2702 2010). Apesar da atuação do Ca^{2+} na mitigação dos danos à salinidade ainda não serem
2703 completamente compreendidos, estudos recentes sugerem alguns mecanismos de atuação,
2704 como por exemplo, a importante função do cálcio em suprimir diretamente a importação de
2705 sódio por canais de cátions não seletivos (RANADE-MALVI, 2011), e ainda, a sua atuação
2706 como cofator de enzimas da família SOS (*salt overly sensitive*), responsável pelo mecanismo
2707 de exclusão de Na^+ através de proteínas antiportadoras, localizadas na membrana plasmática
2708 (HASEGAWA, 2013).

2709 Algumas espécies apresentam mecanismos eficientes de controle da homeostase iônica
2710 quando estão expostas a condições de salinidade, uma delas é *J. curcas* (SILVA et al., 2015).
2711 Está espécie, pertencente à família das Euforbiáceas, é um arbusto grande, de crescimento
2712 rápido, encontrado principalmente na região nordeste do Brasil, mas com vasta distribuição
2713 devido à sua rusticidade e fácil adaptação a diferentes condições edafoclimáticas (ANDRÉO-
2714 SOUZA et al., 2010). A espécie é considerada resistente à seca e não somente se desenvolve
2715 em vários tipos de solos, como os salino-sódicos, mas também, o plantio de *J. curcas* melhora
2716 a fertilidade e diminui a sodicidade do solo (ANDRÉO-SOUZA et al., 2010; SINGH et al.

2717 2013). A espécie apresenta muitos valores comerciais, dentre eles, destacam-se a utilização do
2718 óleo obtido a partir de suas sementes como matéria-prima para a produção de biodiesel (KOH
2719 & MOHD GHAZI, 2011), e ainda, a sua utilização nos processos de reflorestamento de áreas
2720 em processo de desertificação (MAKKAR & BECKER, 2009).

2721 Apesar da grande demanda por informações sobre *J. curcas*, os trabalhos de pesquisa
2722 se encontram em fase inicial. Ainda não há material selecionado, sistema de produção e
2723 zoneamentos agrícolas definidos, o que restringe a ciência do real potencial da planta. Assim,
2724 existe uma importante demanda por pesquisas na área da tecnologia de cultivo, sobretudo
2725 àquelas que garantam a domesticação e o melhoramento genético da espécie, para que assim
2726 seja possível apresentar níveis econômicos aceitáveis de produção de óleo de suas sementes
2727 em condições edafoclimáticas típicas do semiárido.

2728 A resposta dos vegetais ao estresse salino é considerada complexa, pois depende da
2729 espécie, do nível de sal no meio de crescimento, do período de exposição ao estresse, do
2730 genótipo e do estágio de desenvolvimento da planta (BAHRANI & JOO, 2011; ASHRAF &
2731 ASHRAF, 2012). Contudo os problemas da salinidade e/ou déficit hídrico poderão ser
2732 amenizados através da seleção de genótipos, ou ainda, do aprimoramento genético de espécies
2733 tolerantes a ambos os estresses. Em ambos os casos, estudos que envolvam critérios
2734 fisiológicos e bioquímicos podem fornecer ferramentas que garantam avanços na seleção ou
2735 melhoramento desta espécie.

2736 Assim, dada à importância da *Jatropha curcas* L. para a produção de biocombustíveis
2737 e dos efeitos negativos do estresse salino na atividade agrícola, este trabalho teve como
2738 objetivo avaliar o desempenho da espécie quanto à resposta ao suplemento de Ca^{2+} à solução
2739 salina, visando uma melhor compreensão da ação deste íon na mitigação dos efeitos iônicos
2740 da salinidade através de indicadores de crescimento, de *status* hídrico e de integridade das
2741 membranas. Espera-se identificar neste estudo se a suplementação com o Ca^{2+} contribui para
2742 a regulação da homeostase iônica em diferentes órgãos de *J. curcas* e se a aplicação deste
2743 soluto pode ser utilizada como uma estratégia para minimizar os efeitos deletérios do sal no
2744 crescimento das plantas.

2745

2746 2. MATERIAL E MÉTODOS

2747 Plântulas de *J. curcas* (acesso CNPAPM-XVIII) obtidas a partir da germinação em
2748 sistema de rolos de papel toalha (BRASIL, 2009) foram transferidas, oito dias após a
2749 germinação, para o sistema hidropônico em frascos contendo 0,8 L de solução Hoagland e

2750 Arnon (1950) com ½ de força, pH 6,0, sob aeração constante com bombas de aquariofilia para
2751 manter a oxigenação do sistema radicular das plantas. A solução nutritiva foi completada
2752 diariamente para compensar a perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para
2753 reposição dos macro e micronutrientes. As plantas permaneceram nestas condições por 30
2754 dias, para aclimação. Após este período, as plantas com cinco folhas completamente
2755 expandidas foram selecionadas e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução
2756 de Hoagland e Arnon. À solução nutritiva foram acrescidos ou não os tratamentos salinos:
2757 Controle (C); 75 (Sal1) e 150 mM (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 6 mM de cálcio
2758 em forma de CaSO₄, duplicando-se sua concentração na solução nutritiva de Hoagland e
2759 Arnon (1950) e correspondendo aos tratamentos: 75 mM de NaCl + 6 mM de Ca²⁺ (Sal1 +
2760 Ca²⁺) e 150 mM de NaCl + 6 mM de Ca²⁺ (Sal2 + Ca²⁺). O incremento das concentrações de
2761 NaCl ocorreu gradativamente, sendo colocado 50 mM por dia até atingir a concentração final
2762 pretendida, para evitar o choque osmótico.

2763 Após 24 e 240 horas de exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes
2764 foram coletados e analisados. O material vegetal foi avaliado quanto a indicadores de
2765 crescimento vegetal; o estado hídrico da planta; a integridade das membranas celulares e
2766 indicadores de estresse iônico de todos os tratamentos.

2767 Para a avaliação dos indicadores de crescimento, utilizou-se metodologias não
2768 destrutivas expressas por equações matemáticas conforme recomendação de Silva et al.
2769 (2000). A taxa de crescimento relativo caulinar (TCRC) foi calculada através da equação:
2770 $TCRC = (\ln L_2 - \ln L_1) / (t_2 - t_1)$ [cm . (cm . dia)⁻¹], onde: L₁ corresponde a medida da altura
2771 da planta no tempo inicial t₁ e L₂ a altura da planta no tempo final t₂. A taxa de crescimento
2772 relativo em fitomassa fresca epígea (TCRFFE) foi calculada através da equação: $TCRFFE =$
2773 $(\ln L_2 \cdot C_2^2 - \ln L_1 \cdot C_1^2) / (t_2 - t_1)$ [cm³ . dia⁻¹], onde: L₁ corresponde a medida da altura da
2774 planta no tempo inicial t₁, L₂ a altura da planta no tempo final t₂; C₁ corresponde ao diâmetro
2775 caulinar no tempo t₁ e C₂ ao diâmetro caulinar no tempo t₂.

2776 Para aferir o estado hídrico dos diferentes órgãos da planta, a determinação do
2777 conteúdo relativo de água (CRA) foi realizada segundo Irigoyen et al. (1992) utilizando a
2778 equação: $CRA = (MF - MS / MT - MS) \times 100$; onde os tecidos vegetais de cada plântula
2779 foram pesados para obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, embebidos em água
2780 deionizada sob temperatura ambiente de 25 ± 5 °C durante seis horas para obtenção da massa
2781 túrgida (MT). A massa seca (MS) foi obtida pela desidratação da MT por 72 h a 75 °C.

2782 A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos
2783 (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times$
2784 100, onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do
2785 frasco, realizada após 6 horas e L_2 representa a segunda leitura da CE realizada após o
2786 aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

2787 Os indicadores de estresse iônico foram representados pelas concentrações do íon
2788 salino sódio (Na^+) e da concentração de cálcio (Ca^{2+}). As extrações de Na^+ e Ca^{2+} foram
2789 realizadas de acordo com Silva et al. (2009) e a leitura das concentrações foram realizada em
2790 fotômetro de chama (Micronal B462). As concentrações de Na^+ e Ca^{2+} foram determinadas
2791 com base em curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de cloreto de sódio e
2792 cloreto de potássio, respectivamente. A relação Ca^{2+}/Na^+ foi determinada segundo Wyn Jones
2793 (1981), onde valores superiores a 1,0 sugerem um nível mínimo aceitável para o
2794 funcionamento normal das plantas sob condições de salinidade.

2795 O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a
2796 cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com Ca^{2+} (C; Sal1; Sal2; Sal1 + Ca^{2+} ; Sal2 +
2797 Ca^{2+}) e três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo
2798 um total de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

2799 Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t-Student, que comparou os
2800 efeitos dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$
2801 de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

2802

2803 **3. RESULTADOS E DUSCUSSÃO**

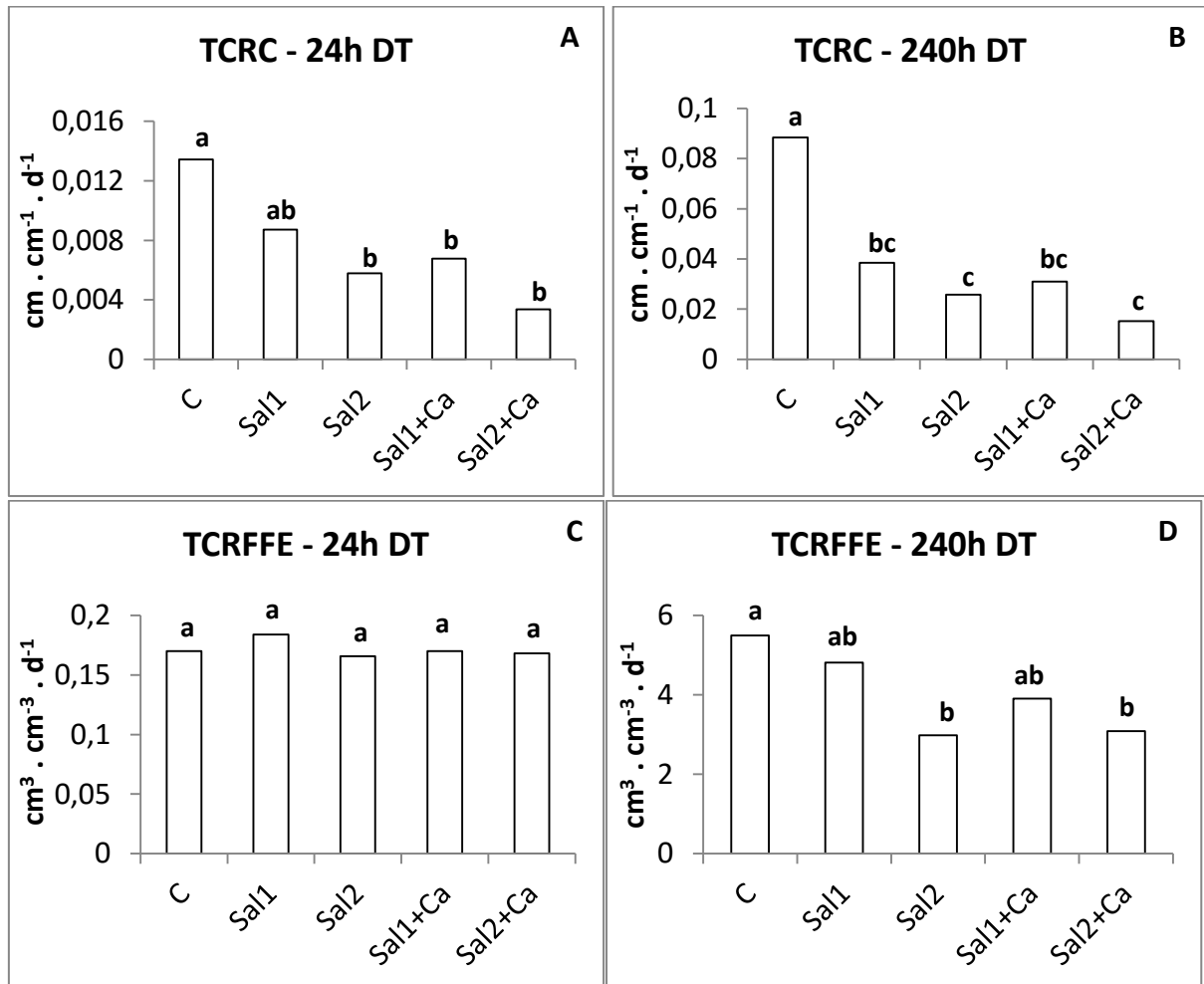
2804 **3.1 Indicadores de crescimento**

2805 A adição de NaCl à solução nutritiva reduziu a taxa de crescimento relativa caulinar
2806 (TCRC) de *J. curcas* nos dois períodos de exposição aos tratamentos salinos (Figura 1 - A e
2807 B). Após 24 horas de exposição ao NaCl, as reduções foram de aproximadamente 35% no
2808 tratamento Sal1 e 56% no tratamento Sal2, comparados ao grupo controle. Já após 240 horas
2809 de exposição ao sal, as reduções na TCRC nesta espécie foram mais evidentes, com reduções
2810 de aproximadamente 56% no tratamento Sal1 e de 70% em Sal2, ambos comparados ao grupo
2811 controle. O estresse salino induzido pelo NaCl não provocou alterações na taxa de
2812 crescimento relativo da fitomassa fresca epígea (TCRFFE) de plantas de *J. curcas*, 24 h DT.
2813 Contudo, 240 horas após a exposição aos tratamentos salinos, houve reduções de
2814 aproximadamente 12% em Sal1 e 45% em Sal2, ambos comparados ao grupo controle. A

2815 adição de cálcio na solução salina não interferiu nos indicadores de crescimento avaliados,
2816 independente da dose de NaCl e do tempo de exposição estudados.

2817

2818



2819

2820

2821

2822

2823

2824

2825

2826

2827

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 ($p \leq 0,05$).

2828

2829

2830

2831

2832

2833

2834

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.

2848

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).

2857

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 ($p \leq 0,05$).

2864

2865 As reduções observadas no CRA de folhas (Sal2), caule (Sal1 e Sal2) e raízes (Sal1)
2866 indicam a forte restrição do aporte hídrico destes tecidos, podendo estar associadas às altas
2867 pressões osmóticas provocadas pelas elevadas concentrações de sais solúveis na solução
2868 nutritiva, o que limita a absorção de água pelas raízes (JOUYBAN, 2012; ROY et al., 2014).
2869 Como resultado da restrição hídrica, as células vegetais perdem turgor, o alongamento celular
2870 é inibido, há fechamento dos estômatos e diminuição na eficiência fotossintética,
2871 prejudicando assim o crescimento das plantas, como representado no presente estudo pela
2872 TCRC (MUNNS & TESTER, 2008; CASSANITI et al., 2012).

2873 A manutenção do *status* hídrico observada em todos os órgãos e, sobretudo, após
2874 exposição prolongada (240 h DT) ao NaCl pode estar relacionada a um possível ajustamento
2875 osmótico por meio do acúmulo de solutos orgânicos e/ou inorgânicos que são alocados no
2876 citosol ou compartimentalizados dentro dos vacúolos (ZENG et al., 2015). Tal capacidade
2877 para manter a turgescência celular, observada no presente estudo, em diferentes órgãos de *J.*
2878 *curcas*, provavelmente resultou da acumulação de Na⁺ bem como de Ca²⁺ e outros íons nestes
2879 tecidos. Em plantas submetidas a altas concentrações de NaCl, devido à semelhança entre
2880 estes íons, canais de potássio e cálcio podem servir como sítios para a entrada de Na⁺
2881 (TAVAKOLI et al., 2010).

2882 Frequentemente, o transporte de Na⁺ e Cl⁻ da raiz para a parte aérea das plantas e seu
2883 acúmulo nos vacúolos são considerados mecanismos importantes de tolerância à salinidade
2884 (ROY et al., 2014), podendo reduzir o potencial hídrico das células e manter a
2885 osmorregulação entre as células vegetais e o baixo potencial osmótico extracelular causado
2886 por sal (BRESÍ et al., 2016). O acúmulo de íons salinos nos tecidos vegetais e sua contribuição
2887 na mitigação parcialmente ou completa dos efeitos do estresse osmótico da salinidade foi
2888 reportado por Silva et al. (2015) e Rodrigues et al. (2014) estudando plantas de *J. curcas* e *R.*
2889 *communis*, respectivamente, em condições de salinidade. Apesar do Na⁺ aparentemente
2890 contribuir para a manutenção de turgor em *J. curcas*, este íon é incapaz de substituir o Ca²⁺
2891 em funções específicas, como a sua atuação na expansão celular, como cofator enzimático e
2892 na transdução de sinais envolvidos no ajustamento osmótico (CHEN & JIANG, 2010;
2893 HISHIDA et al., 2013).

2894 A suplementação de cálcio à solução salina manteve os níveis do CRA semelhantes ao
2895 do grupo controle em praticamente todos os órgãos avaliados, independente da concentração
2896 de NaCl e do tempo de exposição. Após 24 horas, a adição de Ca²⁺ à solução salina severa
2897 (Sal2 + Ca²⁺) aumentou os níveis de CRA em aproximadamente 17% em folhas. Após 240

2898 horas de exposição, o incremento de Ca²⁺ à solução salina não interferiu estatisticamente nos
 2899 níveis de CRA dos diferentes órgãos da planta.

2900 O aumento no CRA de folhas no tratamento Sal2 + Ca²⁺, 24h DT, comparado ao
 2901 tratamento Sal2, e a manutenção do *status* hídrico nos demais órgãos e tratamentos salinos
 2902 suplementados com Ca²⁺, em ambos os períodos de exposição, sugerem que o aporte
 2903 adequado de cálcio pode minimizar os efeitos osmóticos do estresse salino através, por
 2904 exemplo, da sua atuação sobre os canais de água, aumentando a abundância das proteínas
 2905 aquaporinas e restaurando a permeabilidade hídrica das membranas celulares (MARTINEZ-
 2906 BALLESTA et al., 2008). O acúmulo de Ca²⁺ em tecidos foliares pode ainda estar relacionado
 2907 ao controle do fechamento estomático, evitando assim a perda de água por transpiração
 2908 quando a planta está submetida a condições de estresse (SAGLAM et al., 2010). De acordo
 2909 com Shores et al., (2011), diferentes mecanismos para contornar os efeitos do estresse salino
 2910 são ativados por Ca²⁺ em diferentes órgãos das plantas, o que provavelmente pode ter
 2911 ocorrido em folhas, caule e raízes de *J. curcas*.

2912 O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, não
 2913 causou danos às membranas dos tecidos foliares e caulinares de *J. curcas*, de acordo com o
 2914 VE (Tabela 2). Entretanto nas raízes, o NaCl provocou aumento significativo do VE quando
 2915 comparado ao controle (Tabela 2). Tal efeito foi mais acentuado na dose mais elevada de
 2916 NaCl (150mM), onde o aumento foi de 35% quando comparado ao grupo controle. Com a
 2917 exposição prolongada ao NaCl (240 horas), observou-se um aumento do VE em todas as
 2918 partes da planta, sendo proporcional à dose de NaCl e mais acentuado nas raízes (Sal1 – 110%
 2919 e Sal2 – 158%), seguido das folhas (Sal1 – 85% e Sal2 – 143%) e por último do caule (Sal1 –
 2920 49% e Sal2 – 65%) (Tabela 2).

2921

2922 **Tabela 2:** Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L.
 2923 submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM),
 2924 suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6
 2925 mM de Ca²⁺), 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 |

2926 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 2927 significativamente pelo teste t-Student (p≤0,05).

2928 A manutenção das membranas celulares, representada pela não alteração nos valores
2929 do VE em folhas e caules de plantas durante as 24 de exposição ao NaCl, pode estar
2930 relacionada ao aumento nos níveis de VE observados em raízes, pois devido a um contato
2931 direto deste órgão com a solução salina é provável que esta estrutura tenha funcionado como
2932 órgão protetor, acumulando os sais em seus tecidos e prevenindo seu deslocamento em níveis
2933 tóxicos para as partes aéreas (LOPES & MACEDO, 2008). Oliveira et al. (2014) observaram
2934 que em *C. phyllacanthus*, espécie da mesma família de *J. curcas*, as raízes foram eficientes
2935 em atuar na retenção dos íons salinos em seus tecidos e assim prevenir, no primeiro momento,
2936 o acúmulo de Na⁺ e/ou Cl⁻ nos órgãos apicais, pois não houve interferência dos tratamentos
2937 salinos sob o vazamento de eletrólitos em folhas e caule, após 24 horas de exposição ao
2938 estresse.

2939 O aumento da condutividade elétrica em raízes (24h DT) e em todos os órgãos após
2940 240 horas de exposição aos tratamentos salinos sugere um acúmulo excessivo de Na⁺ e Cl⁻ no
2941 protoplasma, o que pode causar toxicidade, distúrbios no balanço iônico e por consequência
2942 alterações na estrutura das membranas (YOKOI et al., 2002). Os efeitos da salinidade
2943 relacionados ao aumento nos danos às membranas já foram observados e discutidos por Silva
2944 et al. (2015) em *J. curcas*, Shores et al. (2011) e Bernstein et al. (2010) em *Zea mays*, Tuna
2945 et al. (2007) em *Solanum lycopersicum*.

2946 Mesmo não havendo efeito do NaCl sobre as folhas de *J. curcas*, 24h DT, observou-se
2947 que a adição de Ca²⁺ à solução salina reduziu o nível de VE neste órgão em aproximadamente
2948 25% no tratamento Sal1 + Ca²⁺ e 33% no tratamento Sal2+Ca²⁺, comparados aos tratamentos
2949 salinos (Sal1 e Sal2, respectivamente). Em raízes, 24 h DT, o incremento de Ca²⁺ à solução
2950 salina reduziu os níveis de VE em aproximadamente 22% no tratamento Sal2 + Ca²⁺, quando
2951 comparado ao tratamento Sal2. Após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos, o
2952 incremento de cálcio à solução salina não apresentou efeitos benéficos sobre a redução dos
2953 níveis de VE, independente do órgão e tratamento avaliado.

2954 Apesar de não estar clara a relação direta entre a suplementação de Ca²⁺ e a redução
2955 nos danos às membranas encontrados em folhas (Sal1 + Ca²⁺ e Sal2 + Ca²⁺) e em raízes (Sal2
2956 + Ca²⁺), é provável que o cálcio exerça função na manutenção da integridade das membranas
2957 celulares, pois além de estabilizar as estruturas da parede celular, regular o transporte e
2958 seletividade de íons, uma quantidade razoável de Ca²⁺ regula a atividade enzimática de
2959 plantas cultivadas sob estresse salino (KADER & LINDBERG, 2010; SHORESH et al.,
2960 2011). O cálcio pode atuar como estabilizador das membranas celulares através de ligações

2961 com fosfolipídios e proteínas, contudo, nestes locais de ligação, pode haver uma troca entre
2962 Ca^{2+} e o Na^+ , quando as plantas estão submetidas a condições de salinidade (CRAMER,
2963 2002). No presente estudo, é possível que altas concentrações externas de Na^+ , principalmente
2964 240 h DT, tenham desestabilizado e lesionado as membranas dos órgãos de *J. curcas* devido a
2965 troca do Ca^{2+} pelo Na^+ na estrutura das membranas e a suplementação de Ca^{2+} não tenha sido
2966 suficiente para inibir a entrada de Na^+ através de canais não seletivos de cátions (NSCCs)
2967 (DEMIDCHIK et al., 2007).

2968

2969 **3.3 Indicadores iônicos**

2970 O estresse salino influenciou significativamente os conteúdos de sódio (Na^+) e cálcio
2971 (Ca^{2+}), interferindo também na relação cálcio/sódio ($\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$) nas folhas, caule e raízes de *J.*
2972 *curcas* (Tabela 3).

2973 A adição de NaCl na solução nutritiva promoveu um aumento nos níveis de sódio nos
2974 diferentes tecidos de *J. curcas*. Tanto no tratamento salino moderado (Sal1) quanto no severo
2975 (Sal2), 24 h DT, o acúmulo de Na^+ foi de aproximadamente 8 vezes em folhas (Tabela 3).
2976 Nos mesmos tratamentos salinos e no mesmo órgão avaliado, a adição de NaCl reduziu os
2977 níveis de Ca^{2+} em aproximadamente 8 e 9 vezes nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente.
2978 O aumento nos níveis de Na^+ e a redução nos níveis de Ca^{2+} , reduziram os valores observados
2979 na relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ para 1,17 e 0,82 nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente (Tabela 3).
2980 Após 240 horas de exposição à salinidade, os níveis de Na^+ em folhas continuaram altos, com
2981 aproximadamente 25 e 30 vezes mais Na^+ nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente,
2982 quando comparados ao grupo controle. Neste mesmo órgão, 240h DT, os níveis de Ca^{2+}
2983 reduziram em aproximadamente 45% e 18% nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente,
2984 quando comparados ao grupo controle (Tabela 3). Apesar do aumento nos níveis de Na^+ terem
2985 sido acompanhados por reduções nos níveis de Ca^{2+} , 240 h DT, a relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ apresentou
2986 valores positivos entre 3,3 e 3,7 em ambos os tratamentos salinos (Tabela 3).

2987 Os tratamentos salinos simulados pelo NaCl aumentaram os níveis de Na^+ em caules
2988 de *J. curcas* após 24 horas de exposição ao estresse. Nos tratamentos Sal1 e Sal2, observou-se
2989 aumentos de 5 e 4 vezes após comparação com o grupo controle, respectivamente.
2990 Curiosamente, o aumento nos níveis de Na^+ foi acompanhado também por elevações nos
2991 níveis de Ca^{2+} de aproximadamente 17% e 19% nos tratamentos Sal1 e Sal2, respectivamente,
2992 comparados ao controle (Tabela 3). O aumento nos níveis de cálcio no caule de *J. curcas*
2993 submetidas aos tratamentos salinos permitiram que a relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ alcançassem valores

2994 superiores a 11,0 em ambos tratamentos com NaCl (Tabela 3). Neste mesmo órgão, 240 h DT,
 2995 os níveis de sódio continuaram aumentando em ambos os tratamentos salinos. A elevação nos
 2996 teores de Na⁺ em caule, no tratamento Sal1 foi de 14 vezes o valor atingido no grupo controle,
 2997 enquanto que no tratamento Sal2 este valor foi de 19 vezes. Neste mesmo período, não foram
 2998 observadas alterações nos níveis de cálcio em caules de *J. curcas*, contudo, as relações
 2999 Ca²⁺/Na⁺ atingiram valores superiores a 6,5 em ambos os tratamentos (Tabela 3).

3000

3001 **Tabela 3:** Concentrações de sódio (Na⁺), cálcio (Ca²⁺) e relação Ca²⁺/Na⁺ em folhas, caule e raízes de
 3002 plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75
 3003 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2
 3004 + Ca²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca²⁺), após 24 horas (24 h DT) e 240 horas (240 h DT) de exposição aos
 3005 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 |
| Ca²⁺ (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 |
| Ca²⁺/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 |

3006

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).

3007

3008

3009

3010

3011

3012

3013

3014

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.

3047 Os maiores índices de VE observados em raízes, comparados ao caule e as folhas, em
3048 ambos os períodos de exposição aos tratamentos salinos, provavelmente pode ser devido a um
3049 contato direto deste órgão com a solução salina (LOPES & MACEDO, 2008). Após 240
3050 horas, o aumento da condutividade elétrica em presença de NaCl, pode ser devido ao excesso
3051 de Na^+ e Cl^- no protoplasma que, com o passar do tempo, causa toxicidade e distúrbios no
3052 balanço iônico, o que traz como consequência alterações na estrutura das membranas e
3053 enzimas (YOKOI et al., 2002).

3054 O aumento nos níveis de Na^+ em caules de *J. curcas* foi acompanhando de um
3055 aumento nos níveis de Ca^{2+} , principalmente após 24 horas de exposição ao estresse salino.
3056 Neste caso, é possível que o acúmulo de cálcio em caule de *J. curcas* seja um indicador
3057 importante da regulação metabólica para a manutenção da homeostase iônica na planta como
3058 um todo, minimizando os efeitos tóxicos do NaCl neste órgão e regulando a concentração de
3059 sódio na planta, como representado pelos maiores valores da relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$.

3060 O incremento de cálcio à solução salina, 24 h DT, mitigou os efeitos da salinidade em
3061 folhas de *J. curcas* apenas no tratamento salino moderado (Sal1 + Ca^{2+}), reduzindo a
3062 concentração de Na^+ em 27%, comparado ao seu controle salino (Sal1) (Tabela 3). Contudo, a
3063 redução nos níveis de Na^+ neste tratamento não foi acompanhada do aumento nos níveis de
3064 Ca^{2+} no tecido foliar o que manteve a relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ em valores próximos a 1,0. Apesar
3065 disto, o incremento de Ca^{2+} minimizou os efeitos tóxicos do Na^+ , pois principalmente no
3066 tratamento Sal2 + Ca^{2+} , o valor encontrado na relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ passou de 0,82 (Sal2) para
3067 1,06 (Sal2 + Ca^{2+}) (Tabela 3). Após 240 horas de exposição à salinidade, o incremento de
3068 Ca^{2+} não influenciou os níveis de Na^+ em folhas de *J. curcas*, mas apesar de não haver
3069 diferença estatística, observou-se reduções de 9% e 14% nos tratamentos Sal1 + Ca^{2+} e Sal2 +
3070 Ca^{2+} , respectivamente, quando comparados aos tratamentos Sal1 e Sal2 (Tabela 3). Em
3071 folhas, 240 h DT, os níveis de cálcio no tecido vegetal não sofreram alterações com o
3072 incremento de Ca^{2+} na solução salina, contudo, apesar de não haver diferença estatística,
3073 observou-se um aumento de 7% nos níveis de Ca^{2+} no tratamento Sal2 + Ca^{2+} , comparado ao
3074 tratamento Sal2. A relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ neste período manteve seus valores superiores a 2,0, com
3075 destaque para o tratamento salino severo suplementado com cálcio, que aumentou os valores
3076 desta relação de 3,39 (Sal2) para 4,51 (Sal2 + Ca^{2+}) (Tabela 3).

3077 Após curto período de exposição ao estresse salino (24 h DT), o incremento de cálcio
3078 à solução contendo NaCl reduziu os níveis de sódio em tecidos caulinares em
3079 aproximadamente 20% apenas no tratamento salino moderado (Sal1 + 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).

3113 Apesar do incremento de cálcio em caules após 24 horas de exposição ao tratamento
3114 Sal1 + Ca²⁺, após 240 horas de exposição, observou-se uma redução nos níveis de Ca²⁺. Tal
3115 redução foi acompanhada pelo aumento de Na⁺ neste mesmo tratamento 240 h DT. Neste
3116 caso, a competitividade entre o Na⁺ e o Ca²⁺ pelos mesmos sítios de absorção podem ter
3117 prejudicado a importação de cálcio para o ambiente intracelular, reduzindo suas
3118 concentrações nos tecidos (SALAH et al., 2009).

3119 A suplementação de Ca²⁺ reduziu a toxicidade iônica, representada pela relação
3120 Ca²⁺/Na⁺, principalmente de folhas e raízes submetidas ao tratamento Sal2 + Ca²⁺ (24 h DT),
3121 bem como na maioria dos demais órgãos em ambos os períodos de exposição. O papel do
3122 Ca²⁺ no transporte seletivo e na exclusão de Na⁺ através das membranas celulares (IMADA et
3123 al., 2009) foi bem representado, em nosso estudo, pelos valores acima de 1,0 atingidos na
3124 relação Ca²⁺/Na⁺ em todos os tratamentos suplementados com Ca²⁺. Para Hashi et al. (2015),
3125 relativos altos valores na relação Ca²⁺/Na⁺ podem ser considerados importantes mecanismos
3126 de tolerância a salinidade. A intensa atividade de proteínas antiportadores situadas na
3127 membrana plasmática exclui o Na⁺ em detrimento à importação de Ca²⁺ e facilita a adaptação
3128 das plantas em ambientes salinos (KARIMOVA et al., 2000).

3129 Especificamente em folhas e raízes, 24 horas após a exposição aos tratamentos, pode-
3130 se relacionar a redução dos danos às membranas celulares, representados pelo VE, aos valores
3131 encontrados na relação Ca²⁺/Na⁺. Em folhas expostas ao tratamento Sal1 + Ca²⁺, a
3132 manutenção nos sistemas de membranas se deu devido à redução nos níveis de Na⁺
3133 intracelular, enquanto que tanto em folhas quanto em raízes expostas ao tratamento Sal2 +
3134 Ca²⁺, a manutenção se deu devido ao aumento nos níveis de Ca²⁺. Em ambos os tratamentos
3135 salinos suplementados com Ca²⁺, fica clara a importante função do cálcio na estabilização das
3136 membranas celulares (ZENG et al., 2015).

3137 A manutenção da relação Ca²⁺/Na⁺, principalmente em folhas (Sal1 + Ca²⁺ – 24 h DT;
3138 Sal2 + Ca²⁺ – 24 e 240 h DT), caule (Sal1 + Ca²⁺ – 24 h DT) e raízes (Sal1 + Ca²⁺ – 24 e 240
3139 h DT), estão diretamente relacionadas à manutenção do *status* hídrico de plantas de *J. curcas*,
3140 representado pelo CRA. Para Cabañero et al. (2004), a suplementação com cálcio favorece a
3141 manutenção das relações hídricas de plantas submetidas a condições salinas por meio do
3142 controle da abertura de aquaporinas, permitindo assim um aporte hídrico adequado aos tecidos
3143 de plantas submetidas ao NaCl.

3144

3145

3146 4. CONCLUSÕES

3147 1- O estresse salino simulado pelo cloreto de sódio (NaCl) induziu respostas
3148 distintas quanto ao tempo de exposição, a dose de NaCl e aos órgãos de *J. curcas* estudados
3149 independente da suplementação de cálcio à solução.

3150 2- A salinidade afetou o crescimento das plantas em ambos os períodos de
3151 exposição e o incremento de cálcio não minimizou os efeitos do NaCl sobre o crescimento.

3152 3- Após 24 horas de exposição ao estresse salino, ocorreu uma perda da
3153 homeostase hídrica em todos os órgãos analisados, evidenciando, portanto, o efeito
3154 preponderante do componente osmótico sobre o componente iônico.

3155 4- A partir das 240 horas de exposição ao NaCl as plantas recuperaram o *status*
3156 hídrico, mas o efeito iônico provocado, sobretudo pelo sódio, causou danos às membranas
3157 celulares, representado pelo aumento do vazamento de eletrólitos, em todos os órgãos e de
3158 forma mais pronunciada nas raízes, com o aumento da concentração de NaCl.

3159 5- As diferentes respostas observadas nos dois períodos de exposição ao NaCl
3160 mostraram claramente que as plantas possuem estratégias complexas de defesa que foram
3161 moduladas pelo tempo.

3162 6- A suplementação de Ca^{2+} à solução salina atuou reduzindo os níveis de Na^+
3163 e/ou aumentando os níveis de Ca^{2+} e como consequência, minimizou os efeitos tóxicos,
3164 observados pela relação $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$, sobretudo em folhas e raízes nas primeiras 24 horas de
3165 exposição ao estresse.

3166 7- No presente estudo, sugerimos a atuação do caule como estrutura de
3167 armazenamento de Ca^{2+} devido ao acúmulo expressivo deste íon.

3168

3169 5. REFERÊNCIAS

3170

3171 ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A. L.; SILVA, F. F. S.; RIEBEIRO-REIS, R. C.;
3172 EVANGELISTA, M. R. V.; CASTRO, R. D.; DANTAS, B. F. **Revista Brasileira de**
3173 **Sementes**, v. 32, n. 2, p. 083-092, 2010.

3174

3175 ASHRAF, M. A.; ASHRAF, M. Salt-induced variation in some potential physiochemical
3176 attributes of two genetically diverse wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars: photosynthesis
3177 and photosystem II efficiency. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 1, p. 53-64, 2012.

3178

3179 BAHRANI, A.; JOO, M. H. Response of some wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes to
3180 salinity at germination and early seedling growth stages. **World Applied Sciences Journal**,
3181 v. 13, p. 887-897, 2011.

3182

- 3183 BERNSTEIN, N.; LÄUCHLI, A.; SILK, W. Kinematics and dynamics of sorghum (*Sorghum*
3184 *bicolor* L.) leaf development at various Na/Ca salinities. **Plant Physiology**, v. 103, p. 1107–
3185 1114, 1993.
- 3186
3187 BERNSTEIN, N.; KRAVCHIK, M.; DUDAI, N. Salinity induced changes in essential oil,
3188 pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum Basilicum*) in relation to alterations
3189 of morphological development. **Annals of Applied Biology**, v. 156, p. 167-177, 2010.
- 3190
3191 BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat
3192 tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
- 3193
3194 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de**
3195 **sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa
3196 Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- 3197
3198 BRÉŠ, W.; BANDURSKA, N.; KUPSKA, A.; NIEDZIELA, J.; FRĄSZCZAK, B.
3199 Responses of pelargonium (*Pelargonium X hortorum* L.H. Bailey) to long-term salinity stress
3200 induced by treatment with different NaCl doses. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 26,
3201 p. 1-11, 2016.
- 3202
3203 CABAÑERO, F. J.; MARTÍNEZ, V.; CARVAJAL, M. Does calcium determine water uptake
3204 under saline conditions in pepper plants, or is it water flux which determines calcium uptake?
3205 **Plant Science**, v. 166. p. 443–450, 2004.
- 3206
3207 CASSANITI, C.; ROMANO, D.; FLOWERS, T. J. The response of ornamental plants to
3208 saline irrigation water. In: Garcia Garizabal I (Ed.). **Irrigation-water management,**
3209 **pollution and alternative strategies**. In Tech, Croatia, p. 131–139, 2012.
- 3210
3211 CHEN, H.; JIANG, J-G. Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes
3212 related to drought and salinity. **Environmental Reviews**, v. 18, 2010.
- 3213
3214 CHOI, W-G.; TOYOTA, M.; KIM, S-H.; HILLEARY, R.; GILROY, S. Salt stress-induced
3215 Ca^{2+} waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants.
3216 **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111,
3217 p. 6497–6502, 2014.
- 3218
3219 CRAMER, G. R. Sodium–calcium interactions under salinity stress. **Salinity: Environment–**
3220 **Plants–Molecules**, p. 205–228; 2002.
- 3221
3222 DAGAR, J. C.; MINHAS, P. S. **Advances in agroforestry: Agroforestry for management**
3223 **of waterlogged saline soils and poor-quality waters**. v. 13, Gainesville, USA, 2016. 214 p.
- 3224 DEMIDCHIK, V.; MAATHUIS, F. J. M. Physiological roles of nonselective cation channels
3225 in plants: from salt stress to signalling and development. **New Phytologist**, v. 175, p. 387–
3226 404, 2007.
- 3227
3228 FLOWERS, T. J.; MUNNS, R.; COLMER, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular
3229 basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany**, v. 115, p. 419–431, 2014.
- 3230
3231 GENC, Y.; TESTER, M.; McDONALD, G. K. Calcium requirement of wheat in saline and
3232 non-saline conditions. **Plant Soil**, v. 327, p. 331–345, 2010.

- 3233 HASEGAWA, P. M. Sodium (Na⁺) homeostasis and salt tolerance of plants. **Environmental**
3234 **and Experimental Botany**, v. 92, p. 19–31, 2013.
3235
- 3236 HASHI, U. S.; KARIM, A.; SAIKAT, H. M.; ISLAM, R.; ISLAM, M. A. Effect of salinity
3237 and potassium levels on different morpho-physiological characters of two soybean (*Glycine*
3238 *max* L.) genotypes. **Journal of Rice Research**, v. 3, n. 3, p. 1-5, 2015.
3239
- 3240 HISHIDA, M.; ASCENCIO, F.; FUJIYAMA, H.; ORDUNO-CRUZ, A.; ENDO, T. Response
3241 to salt stress in growth water relations and ion content of *Jatropha curcas* and *J. cinerea*
3242 seedlings. **Interciencia Journal**, v. 38, p. 289-304, 2013.
3243
- 3244 HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants**
3245 **without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
3246
- 3247 IMADA, S.; YAMANAKA, N.; TAMAI, S. Effects of salinity on the growth, Na partitioning,
3248 and Na dynamics of a salt-tolerant tree, *Populus alba* L. **Journal of Arid Environments**, v.
3249 73, p. 245–251, 2009.
3250
- 3251 JOUYBAN, Z. The Effects of Salt stress on plant growth. **Journal of Applied Science &**
3252 **Engineering Technology**, v. 2, n. 1, p. 7-10, 2012.
3253
- 3254 KADER, M. A.; LINDBERG, S. Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity
3255 stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 3, p. 233-238, 2010.
3256
- 3257 KANWAL, H.; ASHRAF, M.; HAMEED, M. Water relations and ionic composition in the
3258 seedlings of some newly developed and candidate cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.)
3259 under saline conditions. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 4, p. 1221-1227, 2013.
3260
- 3261 KARIMOVA, F. G.; KORTCHOUGANOVA, E. E.; TARCHEVSKY, I. A.;
3262 IAGOUCHEVA, M. R. The oppositely directed Ca²⁺ and Na⁺ transmembrane transport in
3263 algal cells. **Protoplasma**, v. 213, n. 1-2, p. 93–98, 2000.
3264
- 3265 KOH, M. Y.; MOHD GHAZI, T. I. A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L.
3266 oil. **Journal Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 2240-2251, 2011.
3267
- 3268 LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de
3269 substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 79-85, 2008
3270
- 3271 MADEA, Y.; YOSHIBA, M.; TADANO, T. Comparison of Ca effect on the salt tolerance of
3272 suspension cells and intact plants of tobacco (*Nicotiana tabacum* L., cv. Bright Yellow-2).
3273 **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 51, p. 313–318, 2005.
3274
- 3275 MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of
3276 biodiesel and value-added coproducts. **European Journal of Lipid Science and Technology**,
3277 v. 111, p. 773-778, 2009.
3278
- 3279 MARTINEZ-BALLESTA, M. C.; CABANERO, F.; OLMOS, E.; PERIAGO, P. M.;
3280 MAUREL, C.; CARVAJAL, M. Two different effects of calcium on aquaporins in salinity-
3281 stressed pepper plants. **Planta**, v. 228, p. 15–25, 2008.
3282

3283 MINHAS, P. S.; YADAV, R. K.; LAL, K.; CHATURVEDI, R. K. Effect of long-term
3284 irrigation with wastewater on growth, biomass production and water use by *Eucalyptus*
3285 *tereticornis* planted at variable stocking density. **Agricultural Water Management**, v. 152,
3286 p. 151–160, 2015.

3287
3288 MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**,
3289 v.25. p. 239-250, 2002.

3290
3291 MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant**
3292 **Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.

3293
3294 NING, J. F.; CUI, L. F.; YANG, S. H.; AI, S. Y.; LI, M. J.; SUN, L. L.; CHEN, Y.; WANG,
3295 R. H.; ZENG, Z. B. Basil ionic responses to seawater stress and the identification of gland
3296 salt secretion. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 25, n. 1, p. 131-138, 2015.

3297
3298 OLIVEIRA, M. D. M.; BEZERRA, L. L.; DANTAS, C. V. S.; VOIGT, E. L.; MAIA, J. M.;
3299 MACÊDO, C. E. C. The role of xylopodium in Na⁺ exclusion and osmolyte accumulation in
3300 faveleira [*Cnidioscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta**
3301 **Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 2871–2882, 2014.

3302
3303 RANADE-MALVI, U. Interaction of micronutrients with major nutrients with special
3304 reference to potassium. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 1, p. 106–
3305 109, 2011.

3306
3307 RODRIGUES, C. R. F.; SILVA, E. N.; MOURA, R. M.; ANJOS, D. C.; HERNANDEZ, F. F.
3308 F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *R. communis* seedlings is
3309 associated with a probable mechanism of osmotic adjustment and a reduction in water lost by
3310 transpiration. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 233–239, 2014.

3311
3312 ROY, S. J.; NEGRÃO, S.; TESTER, M. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in**
3313 **Biotechnology**, v. 26, p. 115–124, 2014.

3314
3315 SAGLAM, A.; TERZI, R.; NAR, H.; SARUHAN, N.; AYAZ, F. A.; KADIOGLU, A.
3316 Inorganic and organic solutes in apoplastic and symplastic spaces contribute to osmotic
3317 adjustment during leaf rolling in *Ctenanthe setosa*. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 52, n. 1,
3318 p. 37–44, 2010.

3319
3320 SALAH, I. B.; ALBACETE, A.; ANDÚJAR, C. M.; HAOUALA, R.; LABIDI, N.; ZRIBI,
3321 F.; MARTINEZ, V.; PÉREZ-ALFOCEA, F.; ABDELLY, C. Response of nitrogen fixation in
3322 relation to nodule carbohydrate metabolism in *Medicago ciliaris* lines subjected to salt stress.
3323 **Journal of Plant Physiology**, v. 166, p. 477-488, 2009.

3324
3325 SEDAY, U.; GULSEN, O.; UZUN, A.; TOPRAK, G. Response of citrus rootstocks to
3326 different salinity levels for morphological and antioxidative enzyme activities. **Journal of**
3327 **Animal and Plant Sciences**, v. 24, p. 512-520, 2014.

3328
3329 SHORESH, M.; SPIVAK, M.; BERNSTEIN, N. Involvement of calcium-mediated effects on
3330 ROS metabolism in the regulation of growth improvement under salinity. **Free Radical**
3331 **Biology & Medicine**, v. 51, p. 1221–1234, 2011.

3332

- 3333 SILVA, L. C.; BELTERÃO, N. E. M.; AMORIM NETO, M. S. **Análise do Crescimento de**
3334 **Comunidades Vegetais**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2000. 18 p. (EMBRAPA
3335 Algodão. Circular técnica, 34).
3336
- 3337 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A.
3338 Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansó
3339 submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.
3340
- 3341 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological
3342 adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions,
3343 transport and selectivity of K⁺, osmotic adjustment and K⁺/Na⁺ homeostasis. **Plant Biology**,
3344 v. 17, p. 1023–1029, 2015.
3345
- 3346 SINGH, K.; SINGH, B.; TULI, R. Sodic soil reclamation potential of *Jatropha curcas*: a
3347 long-term study. **Ecological Engineering**, v. 58, p. 434–440, 2013.
3348
- 3349 SUN, J.; WANG, M-J.; DING, M-Q.; DENG, S-R.; LIU, M-Q.; LU, C-F.; ZHOU, X-Y.;
3350 SHEN, X.; ZHENG, X-J.; ZHANG, Z-K.; SONG, J.; HU, Z-M.; XU, Y.; CHEN, S-L. H₂O₂
3351 and cytosolic Ca²⁺ signals triggered by the PM H⁺-coupled transport system mediate K⁺/Na⁺
3352 homeostasis in NaCl-stressed *Populus euphratica* cells. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p.
3353 943–958, 2010.
3354
- 3355 TAÏBI, KH.; TAÏBI, F.; BELKHODJA, M. Effects of external calcium supply on the
3356 physiological response of salt stressed bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Genetics & Plant**
3357 **Physiology**, v. 2, p. 3–4, 2012.
3358
- 3359 TAVAKOLI, F.; VAZAN, S.; MORADI, F.; SHIRAN, B.; SORKHEH, K. Differential
3360 response of salt-tolerant and susceptible barley genotypes to salinity stress. **Journal of Crop**
3361 **Improvement**, v. 24, p. 244-260, 2010.
3362
- 3363 TUNA, A. L.; KAYA, C.; ASHRAF, M.; ALTUNLU, H.; YOKAS, I.; YAGMUR, B. The
3364 effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato
3365 plants grown under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 173–178,
3366 2007.
3367
- 3368 WYN JONES, R. G. Salt tolerance. In: JOHNSON, C. B. (Ed.). **Physiological processes**
3369 **limiting plant productivity**. Butterworths, London, p. 271–292, 1981.
3370
- 3371 YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. **Salt stress tolerance of plants.**, West
3372 Lafayette: JIRCAS Working Report, 2002. p. 25-33.
3373
- 3374 ZENG, Y.; LI, L.; YANG, R.; YI, X.; ZHANG, B. Contribution and distribution of inorganic
3375 ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to
3376 salt stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. 13639, 2015.
3377
- 3378
- 3379
- 3380

3381

3382

3383

3384

3385

3386

3387

3388

3389

3390

3391

3392

3393

3394

3395

3396

3397 **CAPÍTULO V**

3398 **A SUPLEMENTAÇÃO COM CÁLCIO AUXILIA O AJUSTAMENTO OSMÓTICO**

3399 **DE *Jatropha curcas* L. SUBMETIDAS A CONDIÇÕES SALINAS**

3400

3401

3402

3403

3404

3405

3406

3407

3408

3409

3410

3411

3412

3413

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

3464 mainly by nitrogen compounds being the Ca^{2+} supplying related to the increases of most of
3465 the compatible solutes studied. The contribution of Ca^{2+} supplying in the osmotic adjustment
3466 observed in *J. curcas* showed different responses in terms of exposure time, NaCl dosage and
3467 plant organ.

3468

3469 **Keywords:** Physic nut, osmotic adjustment, salt stress, calcium.

3470

3471 1. INTRODUÇÃO

3472 A salinidade dos solos, que resulta de processos naturais e/ou antrópicos, afeta mais de
3473 20% das terras irrigadas e tem impactado negativamente o desenvolvimento e a produtividade
3474 de espécies agrícolas mundialmente. Particularmente em regiões áridas e semiáridas, os
3475 componentes salinos no solo se intensificam devido à taxa de evaporação que excede a
3476 precipitação e, sobretudo, a utilização de água com elevados teores de sais para a irrigação das
3477 lavouras (SWANHART et al., 2014).

3478 A presença de sais reduz o potencial osmótico da água, tornando mais difícil a
3479 absorção deste fluido por parte do sistema radicular das plantas, além de provocar
3480 perturbações na homeostase iônica e osmótica, gerando estresse oxidativo, prejuízos à
3481 fotossíntese e alteração no metabolismo do vegetal (ZHANG et al., 2011). Os principais íons
3482 salinos (Na^+ e Cl^-) podem afetar a absorção de nutrientes através da interação competitiva
3483 com o cálcio e o potássio, por exemplo, ou ainda, desestabilizam a estrutura e prejudicam a
3484 seletividade das membranas, pois elevados níveis de Na^+ frequentemente induzem a
3485 deficiência de íons importantes para a manutenção do metabolismo vegetal, como o Ca^{2+} e o
3486 K^+ (SILVA et al., 2015).

3487 Para que a planta contorne os efeitos da salinidade e minimize a atuação dos
3488 componentes osmóticos e iônicos, mecanismos que garantam o aporte hídrico dos tecidos,
3489 aloquem e/ou acumulem o sódio nos vacúolos ou até mesmo que estimulem a exclusão de Na^+
3490 do ambiente citosólico, são ferramentas de grande importância para garantir a tolerância ao
3491 estresse salino de algumas espécies (RENAULT et al., 2010). Somados a estes mecanismos, o
3492 fornecimento de cálcio reduz os sintomas de toxicidade gerada pelo Na^+ em diferentes
3493 espécies e estimula o crescimento da planta (SOUALEM et al., 2014). Adequados níveis de
3494 Ca^{2+} minimizam os efeitos do estresse salino através da estabilização da membrana e parede
3495 celular, controlando o pH das células, evitando a extrusão de solutos compatíveis a partir de
3496 citoplasma, neutralizando íons no vacúolo e atuando como mensageiro secundário nos
3497 processos de sinalização celular, que resultaram em cascatas de eventos que culminaram na
3498 tolerância aos estresses abióticos (SIDDIQUI et al., 2012).

3499 O Ca^{2+} é um íon de sinalização versátil que pode integrar diferentes vias em resposta
3500 ao estresse salino, tendo influência direta ou indireta sobre a expressão gênica e/ou a
3501 fisiologia celular (DODD et al., 2010). Ma et al. (2009) demonstraram que o Ca^{2+} participa
3502 em muitos processos bioquímicos das plantas, e a alteração da concentração de cálcio bem
3503 como a sua distribuição em diferentes órgãos da planta podem ser consideradas respostas de
3504 adaptação a condições de estresse. Para Nayyar, (2003), concentrações adequadas de Ca^{2+}
3505 podem auxiliar no ajustamento osmótico de plantas por meio do acúmulo de osmólitos
3506 compatíveis em resposta ao déficit hídrico, comumente relacionado à salinidade.

3507 Nas plantas, os efeitos do déficit hídrico e da salinidade são minimizados pelo
3508 ajustamento osmótico que dentre outros fatores ocorre principalmente pelo acúmulo de
3509 compostos orgânicos osmoticamente compatíveis (ADEM et al., 2014). O acúmulo de
3510 osmorreguladores, tais como açúcares solúveis, aminoácidos (ex. prolina), íons inorgânicos
3511 (ex. cálcio e potássio), proteínas e outros (JOSEPH et al., 2015), impede a perda de água e
3512 mantem o turgor vegetal, balanceando assim, os potenciais osmóticos entre o citoplasma e o
3513 vacúolo, o que facilita a retenção de água no citoplasma e permite o sequestro de Na^+ para o
3514 vacúolo ou apoplasto (MUNNS & TESTER, 2008; SHABALA & MUNNS, 2012).

3515 Muitos estudos ressaltam o acúmulo de osmorreguladores e o seu papel fisiológico em
3516 plantas submetidas ao estresse salino e embora seja amplamente estudado, paradoxalmente
3517 ainda é um fenômeno pouco conhecido e bastante controverso, sobretudo em espécies que,
3518 recentemente, despertaram interesses da comunidade agrícola, como é o caso da *Jatropha*
3519 *curcas* L.

3520 *J. curcas* é um arbusto suculento pertence à família Euphorbiaceae resistente à seca e
3521 salinidade que se desenvolve bem em regiões tropicais e subtropicais, capaz de crescer sob
3522 uma vasta gama de regimes de chuva, de 200 a mais de 1500 mm por ano (HSU et al., 2015).
3523 A espécie apresenta muitos valores comerciais, mas, sobretudo, o óleo obtido de suas
3524 sementes é talvez o principal produto desta planta devido a sua utilização como matéria-prima
3525 para a produção de biodiesel (KOH et al., 2011). Somada a esta característica, *J. curcas* pode
3526 também ser utilizada para a restauração de ecossistemas afetados por processos de
3527 desertificação (MAKKAR & BECKER, 2009). Apesar da alta resistência da espécie, a seca e
3528 a salinidade são fatores que limitam o desenvolvimento, o cultivo e a distribuição da planta
3529 em áreas potencialmente agricultáveis (MAES et al., 2009; DIVAKARA et al 2010).

3530 Estudos não somente demonstram os efeitos da salinidade sobre alterações no
3531 crescimento, na fotossíntese, nas relações hídricas e na toxicidade por íons salinos, mas

3532 também como o ajustamento osmótico pelo acúmulo de osmólitos pode minimizar a ação dos
3533 sais sobre plantas de *J. curcas* (DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012; SOUSA et al., 2012; SILVA et al.,
3534 2015; RODRIGUES et al., 2016). Contudo, a espécie carece de estudos que envolvam a
3535 suplementação de componentes como o Ca^{2+} que possam mitigar os efeitos osmóticos da
3536 salinidade atuando principalmente no incremento de osmólitos e na manutenção da
3537 integridade das membranas celulares. Neste contexto, torna-se necessário encontrar critérios
3538 mais específicos que possam fornecer informações sobre as diferentes estratégias de
3539 adaptação para lidar com o estresse salino, sobretudo a sua atuação nos diferentes órgãos em
3540 períodos críticos ao desenvolvimento do vegetal.

3541 Assim, dada à importância da *J. curcas* no cenário para a produção de
3542 biocombustíveis e dos efeitos negativos do estresse salino na homeostase hídrica da espécie,
3543 este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho da planta quanto à resposta ao
3544 incremento de Ca^{2+} à solução salina. Para elucidar a ação do Ca^{2+} na mitigação dos efeitos
3545 osmóticos da salinidade, foi estudada a relação deste íon com a síntese de osmólitos
3546 compatíveis e consequente relação com o *status* hídrico da planta e a manutenção da
3547 integridade das membranas celulares. Espera-se identificar neste estudo se o incremento de
3548 Ca^{2+} na solução nutritiva contribui para a osmorregulação em diferentes órgãos de *J. curcas*
3549 por meio do acúmulo de solutos orgânicos, identificando quais destes solutos contribuem de
3550 maneira mais efetiva para minimizar os efeitos deletérios do sal na espécie.

3551

3552 2. MATERIAL E MÉTODOS

3553 Plântulas de *J. curcas* (acesso CNPAPM-XVIII) obtidas a partir da germinação em
3554 sistema de rolos de papel toalha (BRASIL, 2009) foram transferidas, oito dias após a
3555 germinação, para o sistema hidropônico em frascos contendo 0,8 L de solução Hoagland e
3556 Arnon (1950) com ½ de força, pH 6,0, sob aeração constante com bombas de aquariofilia para
3557 manter a oxigenação do sistema radicular das plantas. A solução nutritiva foi completada
3558 diariamente para compensar a perda por evapotranspiração e trocada semanalmente para
3559 reposição dos macro e micronutrientes. As plantas permaneceram nestas condições por 30
3560 dias, para aclimação. Após este período, as plantas com cinco folhas completamente
3561 expandidas foram selecionadas e transferidas para vasos maiores, contendo 2,5 L de solução
3562 nutritiva. À solução foram acrescidos ou não os tratamentos salinos: Controle (C); 75 (Sal1) e
3563 150 mM (Sal2) de NaCl, suplementados ou não com 6 mM de cálcio em forma de CaSO_4 ,
3564 duplicando-se sua concentração na solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e

3565 correspondendo aos tratamentos: 75 mM de NaCl + 6 mM de Ca²⁺ (Sal1 + Ca²⁺) e 150 mM de
3566 NaCl + 6 mM de Ca²⁺ (Sal2 + Ca²⁺). O incremento das concentrações de NaCl ocorreu
3567 gradativamente, sendo colocado 50 mM por dia até atingir a concentração final pretendida,
3568 para evitar o choque osmótico.

3569 Posteriormente à exposição aos tratamentos, tecidos de folhas, caules e raízes foram
3570 coletados e analisados após dois períodos, 24 e 240 horas. O material vegetal foi avaliado
3571 quanto a indicadores de *status* hídrico da planta; a integridade das membranas celulares e
3572 indicadores de ajustamento osmótico.

3573 Para aferir o *status* hídrico da planta, a determinação do conteúdo relativo de água
3574 (CRA) foi realizada segundo Irigoyen et al. (1992) utilizando a equação: $CRA = (MF - MS /$
3575 $MT - MS) \times 100$; onde os tecidos vegetais de cada plântula foram pesados para obtenção da
3576 massa fresca (MF) e, em seguida, embebidos em água deionizada sob temperatura ambiente
3577 de 25 ± 5 °C durante seis horas para obtenção da massa túrgida (MT). A massa seca (MS) foi
3578 obtida pela desidratação da MT por 72 h a 60 °C.

3579 A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos
3580 (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação $VE = (L_1 / L_2) \times$
3581 100 , onde: L_1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do
3582 frasco, realizada após 6 horas e L_2 representa a segunda leitura da CE realizada após o
3583 aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

3584 A concentração de proteínas solúveis totais (PST) foi determinada segundo método
3585 descrito por Bradford (1976), com base em curva padrão obtida a partir de albumina bovina
3586 (BSA) e os resultados expressos em $mg \cdot g^{-1}$ de massa seca.

3587 A concentração de aminoácidos livres totais (AALT) foi determinada segundo o
3588 método descrito por Peoples et al. (1989), onde os AALT foram determinados com base em
3589 uma curva padrão de L-Glutamina, sendo os resultados expressos em $\mu mol \cdot g^{-1}$ de massa seca.
3590 A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm de absorbância.

3591 A concentração de prolina (PRO) foi determinada segundo metodologia descrita por
3592 Bates (1973), onde a PRO foi determinada com base em curva padrão de L-Prolina, com seus
3593 resultados expressos em $\mu mol \cdot g^{-1}$ de massa seca e a leitura realizada em espectrofotômetro a
3594 520 nm de absorbância.

3595 A aferição da concentração de açúcares solúveis totais (AST) foi realizada pelo
3596 método “fenol-sulfúrico” descrito por Dubois et al. (1956), onde os AST foram determinados

3597 com base na curva padrão de D-Glicose, com seus resultados expressos em mg . g⁻¹ de massa
3598 seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm de absorbância.

3599 A concentração de açúcares não redutores (ANR) foi determinada conforme o método
3600 “antrona” descrito por Morris (1948), adaptado por Van Handel (1968), onde os ANR foram
3601 obtidos por comparação com curva-padrão de sacarose, com seus resultados expressos em
3602 mg. g⁻¹ de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm de absorbância.

3603 Para estimar os açúcares redutores (AR) foi utilizada a equação matemática: AR =
3604 AST – ANR, expressos em mg. g⁻¹ de massa seca (SOUSA et al., 2012).

3605 A dosagem do amido foi realizada utilizando o reagente antrona (MORRIS, 1948;
3606 YEMM & WILLIS, 1954). Os extratos utilizados foram submetidos anteriormente a extração
3607 alcoólica e seu precipitado foi re-extraído com HClO₄ 30%. A concentração de amido foi
3608 calculada com base em uma curva padrão de D-glicose e sua leitura realizada em
3609 espectrofotômetro a 620 nm. Para a conversão em amido, os resultados obtidos foram
3610 multiplicados pelo fator 0,9, segundo proposto por McCready et al. (1950), onde os resultados
3611 foram expressos em mg. g⁻¹ de massa seca.

3612 O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC - 5x3) correspondeu a
3613 cinco tratamentos salinos acrescidos ou não com Ca²⁺ (C; Sal1; Sal2; Sal1 + Ca²⁺; Sal2 +
3614 Ca²⁺) e três órgãos da planta (folhas, caules e raízes), com seis repetições cada, perfazendo
3615 um total de 90 unidades experimentais, para cada tempo de exposição (24 e 240 horas).

3616 Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste t-Student, que comparou os
3617 efeitos dos contrastes ortogonais. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal $\alpha = 0,05$
3618 de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

3619

3620 **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

3621 **3.1 Indicadores de estresse hídrico e danos às membranas**

3622 O conteúdo relativo de água (CRA) diz respeito à quantidade de água da planta em
3623 porcentagem levando em consideração a sua capacidade máxima de água presente na planta.
3624 Sendo, portanto, considerado um indicador indireto do *status* hídrico do vegetal (IRIGOYEN
3625 et al., 1992).

3626 Alterações no *status* hídrico de *J. curcas* foram observados em ambos os períodos de
3627 exposição aos tratamentos salinos através do conteúdo relativo de água (CRA). Após 24 horas
3628 de exposição, observou-se reduções nos níveis de CRA de aproximadamente 21% em folhas
3629 expostas a 150 mM de NaCl (Sal2), 8% em caule nos tratamentos Sal1 e Sal2 e, 22% em

3630 raízes submetidas ao tratamento Sal1. Após 240 horas de exposição ao NaCl, não houve
 3631 diferenças significativas entre os níveis de CRA avaliados nos três órgãos de *J. curcas*
 3632 (Tabela 1).

3633

3634 **Tabela 1:** Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L.
 3635 submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM),
 3636 suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6
 3637 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 |

3638 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 3639 significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

3640

3641 Na primeira fase de alarme, o componente osmótico do estresse salino é preponderante
 3642 sobre o iônico fazendo com que a planta absorva uma menor quantidade de água (ZENG et
 3643 al., 2015). Contudo, passado a fase de alarme, a planta entra em fase de restituição buscando
 3644 retomar a homeostase hídrica dos seus tecidos. No presente estudo, é possível que nas
 3645 primeiras 24 horas de exposição ao sal, a planta tenha sofrido um estresse osmótico, mas que
 3646 após 240 horas de exposição, ela tenha recuperado seu *status* hídrico. Provavelmente, a
 3647 manutenção da turgescência celular após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos pode
 3648 ter ocorrido por meio de um ajustamento osmótico, decorrente da redução no potencial
 3649 osmótico celular (HESSINI et al., 2009).

3650 Em *J. curcas*, o acúmulo de solutos orgânicos (açúcares solúveis, aminoácidos livres,
 3651 e prolina) e inorgânicos (potássio, sódio e cloreto), que são alocados no citosol ou
 3652 compartimentalizados dentro dos vacúolos, parecem desempenhar um papel importante no
 3653 processo de ajustamento osmótico nesta espécie quando submetida à salinidade (GARCIA-
 3654 ALMODOVAR et al., 2014; SILVA et al., 2015; ZENG et al., 2015).

3655 O incremento de Ca²⁺ à solução salina aumentou o CRA de folhas em
 3656 aproximadamente 21% no tratamento Sal2 + Ca²⁺, comparado ao tratamento Sal2, 24h DT
 3657 (Tabela 1). Neste mesmo período, caules e raízes expostos ao tratamento Sal1 + Ca²⁺,
 3658 aumentaram seus níveis de CRA em 5,8% e 9,8%, respectivamente, comparados ao
 3659 tratamento Sal1 (Tabela 1). Após 240 horas de exposição, o incremento Ca²⁺ à solução salina

3660 aumentou o CRA apenas de folhas expostas ao tratamento Sal2 + Ca²⁺ (11%), comparado ao
3661 tratamento Sal2 (Tabela 1).

3662 A suplementação de Ca²⁺ na solução salina proporcionou um aumento no CRA de
3663 folhas no tratamento Sal2 + Ca²⁺, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao tratamento.
3664 Contudo, o incremento de Ca²⁺ à solução salina não teve qualquer efeito sobre a manutenção
3665 do CRA de folhas submetidas ao tratamento moderado com NaCl (Sal1 + Ca²⁺), tanto após 24
3666 quanto 240 horas de exposição, nem mesmo em caule e raízes submetidos ao tratamento
3667 salino severo (Sal2 + Ca²⁺), 24h DT, e em todos os tratamentos salinos acrescidos de Ca²⁺,
3668 240h DT (Tabela 1). Tal evento sugere que diferentes mecanismos para contornar os efeitos
3669 do estresse salino são ativados por Ca²⁺ em diferentes órgãos das plantas (SHORESH et al.,
3670 2011), como observado em folhas, caule e raízes e de acordo com o tempo de exposição da
3671 espécie aos tratamentos do presente estudo.

3672 O aumento no CRA de folhas no tratamento Sal2 + Ca²⁺, 24h DT, comparado ao
3673 tratamento Sal2, e a manutenção do *status* hídrico nos demais órgãos e tratamentos salinos
3674 suplementados com Ca²⁺, em ambos os períodos de exposição, sugerem que o aporte
3675 adequado de cálcio pode minimizar os efeitos osmóticos do estresse salino através, por
3676 exemplo, da sua atuação sobre os canais de água, aumentando a abundância das proteínas
3677 aquaporinas e restaurando a permeabilidade hídrica das membranas celulares (MARTINEZ-
3678 BALLESTA et al., 2008). O acúmulo de Ca²⁺ em tecidos foliares pode ainda estar relacionado
3679 ao controle do fechamento estomático, evitando assim a perda de água por transpiração
3680 quando a planta está submetida a condições de estresse (SAGLAM et al., 2010).

3681 Apesar do Na⁺ aparentemente contribuir a manutenção de turgor em *J. curcas* (SILVA
3682 et al., 2015), este íons é incapaz de substituir o Ca²⁺ em funções específicas, como a sua
3683 atuação na expansão celular, como cofator enzimático e na transdução de sinais envolvidos no
3684 ajustamento osmótico (CHEN & JIANG, 2010; HISHIDA et al., 2013).

3685 A condutividade elétrica mede o vazamento de eletrólitos (VE) para a solução, sendo
3686 utilizada como medida indireta para avaliar possíveis danos às membranas celulares, causadas
3687 pelo estresse salino (BAJJI et al., 2001).

3688 O estresse salino simulado pelo NaCl, durante as primeiras 24 horas de exposição, não
3689 causou danos às membranas dos tecidos foliares e caulinares de *J. curcas*, de acordo com o
3690 VE (Tabela 2). Entretanto nas raízes, o estresse salino aumentou 17% na presença de 75 mM,
3691 e de 35% na presença de 150 mM de NaCl, comparados ao controle (Tabela 2). Após 240
3692 horas de exposição aos tratamentos salinos, observou-se um aumento no VE em todos os

3693 órgãos estudados, independente da concentração de NaCl. Os aumentos nos VE após
 3694 exposição ao tratamento salino moderado (Sal1) foram de aproximadamente 85%, 43% e
 3695 110%, em folhas, caules e raízes, respectivamente. Após exposição ao tratamento salino
 3696 severo (Sal2), os aumentos nos VE foram de aproximadamente 143%, 65% e 158%, em
 3697 folhas, caules e raízes, respectivamente (Tabela 2).

3698

3699 **Tabela 2:** Vazamento de eletrólitos (VE) de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L.
 3700 submetidas a diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM),
 3701 suplementados ou não com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6
 3702 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 |

3703 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 3704 significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

3705

3706 Os maiores índices de VE observados em raízes, em comparação ao caule e folhas,
 3707 provavelmente pode ser devido a um contato direto deste órgão com a solução salina (LOPES
 3708 & MACEDO, 2008) ou ainda, que as raízes atuaram na retenção dos íons salinos em seus
 3709 tecidos e preveniram, no primeiro momento, o acúmulo de Na⁺ e/ou Cl⁻ nos órgãos apicais
 3710 como caule e folhas (OLIVEIRA et al., 2014). Após 240 horas, o aumento da condutividade
 3711 elétrica em presença de NaCl, pode ser devido ao excesso de Na⁺ e Cl⁻ no protoplasma que,
 3712 com o passar do tempo, causa toxicidade e distúrbios no balanço iônico, o que traz como
 3713 consequência alterações na estrutura das membranas e enzimas (YOKOI et al., 2002).

3714 A suplementação com o Ca²⁺ no tratamento salino moderado (Sal1 + Ca²⁺) reduziu em
 3715 25% o VE em folhas, contudo, aumentou o VE de raízes em aproximadamente 26% (Tabela
 3716 2). Já no tratamento Sal2 + Ca²⁺, a redução no VE se deu tanto em folhas (33%) quanto em
 3717 raízes (22%), comparados aos seus respectivos controles salinos (Sal2). Após 240 horas de
 3718 exposição ao tratamento salino moderado suplementado com Ca²⁺ (Sal1 + Ca²⁺), observou-se
 3719 aumentos nos VE tanto de folhas (49%) quando de raízes (14%), comparados aos seus
 3720 respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 2).

3721 As reduções nos danos às membranas encontrados em folhas (Sal1 + Ca²⁺ e Sal2 +
 3722 Ca²⁺) e em raízes (Sal2 + Ca²⁺) sugerem a importante atuação do cálcio na manutenção da

3723 integridade das membranas celulares, pois além de estabilizar as estruturas da parede celular,
3724 regular o transporte e seletividade de íons, quantidades adequadas de Ca^{2+} regulam a atividade
3725 enzimática de plantas cultivadas sob estresse salino (KADER & LINDBERG, 2010;
3726 SHORESH et al., 2011). O cálcio pode atuar como estabilizador das membranas celulares
3727 através de ligações com fosfolipídios e proteínas, além de minimizar a peroxidação dos
3728 lipídeos da membrana (SU et al., 2012). Contudo, nos locais de ligação entre o cálcio e a
3729 membrana, pode haver uma troca entre Ca^{2+} e o Na^+ , quando as plantas estão submetidas a
3730 condições de salinidade (CRAMER, 2002). No presente estudo, é possível que altas
3731 concentrações externas de Na^+ , principalmente 240h DT, tenham desestabilizado e lesionado
3732 as membranas dos órgãos de *J. curcas* devido a troca do Ca^{2+} pelo Na^+ na estrutura das
3733 membranas e a suplementação de Ca^{2+} não tenha sido suficiente para inibir a entrada de Na^+
3734 através de canais não seletivos de cátions (NSCCs) (DEMIDCHIK et al., 2007).

3735

3736 **3.2 Ajustamento osmótico por compostos nitrogenados**

3737 As concentrações de proteínas solúveis totais (PST) em folhas de *J. curcas*, após 24
3738 horas de exposição ao tratamento Sal1, não apresentaram aumento significativo, contudo os
3739 níveis de AALT neste órgão reduziram em aproximadamente 25% neste mesmo tratamento
3740 (Tabela 3). Ainda em folhas, 24 h DT, expostas ao tratamento Sal1, observou-se um aumento
3741 de 60% nos níveis de PRO. Neste mesmo período, em folhas de *J. curcas* expostas ao
3742 tratamento salino severo (Sal2), observou-se um aumento de 40% nos níveis de PST (Tabela
3743 3). Tal aumento foi acompanhado de uma redução na concentração de AALT, de
3744 aproximadamente 42%. Neste mesmo tratamento, 24 h DT, o nível de PRO aumentou em
3745 93% em folhas de *J. curcas*. Após 240 horas de exposição ao tratamento salino moderado
3746 (Sal1), observou-se um incremento de 102% nos níveis de PST em folhas de *J. curcas*
3747 (Tabela 3). Tal aumento foi acompanhado também da elevação de aproximadamente 103%
3748 nos níveis de AALT, após 240 horas de exposição ao tratamento Sal1. Contudo, não foi
3749 observada alteração no nível de PRO neste mesmo período e tratamento salino. Após
3750 exposição ao tratamento salino severo (Sal2), a concentração de PST em folhas não foi
3751 alterada. No entanto, tanto os níveis de AALT quanto os níveis de PRO, aumentaram 128% e
3752 52%, respectivamente, após 240 horas de exposição ao tratamento salino severo (Sal2)
3753 (Tabela 3).

3754

3755

3756 **Tabela 3:** Concentrações de proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT), prolina
 3757 (PRO) e relação PRO/AALT de folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a
 3758 diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não
 3759 com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca²⁺), após 24
 3760 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 |

3761 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 3762 significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).
 3763

3764 Após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos (Sal1 e Sal2), não foram
 3765 observadas alterações nos níveis de PST em caules (Tabela 3). Entretanto, os níveis de AALT
 3766 em ambos os tratamentos salinos aumentaram em aproximadamente 29% (Sal1) e 38% (Sal2)
 3767 em caules de *J. curcas*. Ao avaliar a concentração de PRO neste mesmo órgão e período de
 3768 exposição, observou-se que apenas no tratamento salino severo (Sal2) os níveis deste
 3769 osmólito aumentou em aproximadamente 25%, comparado ao grupo controle (Tabela 3). Em
 3770 caules de *J. curcas*, 240 h DT, as concentrações de PST não sofreram alterações em nenhum
 3771 dos tratamentos salinos estudados. Entretanto, aumentos de 161% nos níveis de AALT em

3772 Sal2 e de 83% e 300% nos níveis de PRO em Sal1 e Sal2, respectivamente, foram observados
3773 em caules de *J. curcas*, 240 h DT (Tabela 3).

3774 Em raízes, 24 h DT, o aumento nos níveis de PST foi observado em ambos os
3775 tratamentos salinos (Sal1 – 77%; Sal2 – 106%) (Tabela 3). Neste mesmo período de
3776 exposição, os níveis de AALT reduziram 24% apenas no tratamento salino moderado (Sal1),
3777 contudo, após exposição ao tratamento Sal2, observou-se um aumento de aproximadamente
3778 16% (Tabela 3). O aumento nos níveis de AALT, em raízes expostas ao tratamento Sal2, foi
3779 acompanhando também do aumento nos níveis de PRO (29%). Os níveis de PST em raízes de
3780 *J. curcas* não foram alterados após 240 horas de exposição aos tratamentos salinos. Neste
3781 mesmo período, foram observados aumentos nos níveis de AALT em ambos os tratamentos
3782 salinos (Sal1 – 79%; Sal2 – 203%). Apenas no tratamento salino severo (Sal2), observou-se
3783 um aumento de 91% nos níveis de PRO em raízes de *J. curcas* (Tabela 3).

3784 O acúmulo de PST tanto em folhas (Sal2 – 24 h DT; Sal1 – 240 h DT) quanto em
3785 raízes (Sal1 e Sal2 – 24 h DT), pode estar relacionado à síntese de proteínas específicas que,
3786 em condições adversas, contribuem para a tolerância ao estresse salino (MOHAMMADKANI
3787 & HEIDARI, 2008). Adicionalmente, em raízes expostas ao tratamento Sal2 (24 h DT) e em
3788 folhas expostas ao tratamento Sal1 (240 h DT), o aumento nos níveis de PST pode estar
3789 associado à manutenção do CRA nestes dois órgãos. Para Zhang et al. (2014), o aumento da
3790 síntese de proteínas da família LEA (*late embryogenesis abundant*) estão associadas a
3791 manutenção do turgor celular, bem como a estabilização de proteínas e estruturas celulares em
3792 *J. curcas*, o que pode aumentar a tolerância da espécie ao sal.

3793 O aumento ou manutenção nos níveis de PST em detrimento a reduções nas
3794 concentrações de AALT, observados em folhas (Sal1 e Sal2) e raízes (Sal1), após 24 horas de
3795 exposição, sugerem que plantas de *J. curcas* tenham alterado o metabolismo dos aminoácidos
3796 com intuito de estabilizar ou ainda sintetizar novas proteínas em resposta ao estresse, como
3797 sugerido por Székely et al. (2008) em plantas de *Arabidopsis*.

3798 As alterações no metabolismo de aminoácidos em plantas de *J. curcas* submetidas a
3799 condições salinas ficam evidentes com o aumento nos níveis de AALT em folhas (Sal2 – 240
3800 h DT), caule (Sal1 e Sal2 – 24 h DT; Sal2 – 240 h DT) e raízes (Sal1 e Sal2 – 240 h DT).
3801 Nestes casos, o acúmulo de AALT pode estar relacionado à limitação na síntese proteica que
3802 favorece o aumento nos níveis de AALT, indicando que há um rearranjo do metabolismo do
3803 nitrogênio sob estresse salino, possibilitando o acúmulo de aminoácidos como solutos

3804 compatíveis, através do mecanismo de síntese “*de novo*” no ambiente intracelular (ALVES &
3805 SETTER, 2004; SILVA et al., 2009).

3806 O acúmulo de aminoácidos solúveis foi também observado em *J. curcas* submetidas
3807 ao déficit hídrico, sendo tal resposta parte do mecanismo de ajustamento osmótico que
3808 impede a perda de água pela planta (SANTOS et al., 2013). Tal mecanismo também pode ser
3809 utilizado por *J. curcas* em condições de salinidade, pois o déficit hídrico gerado pelo
3810 componente osmótico do estresse salino pode aumentar os níveis de AALT e controlar o
3811 *status* hídrico da espécie (SILVA et al., 2009), assim como observado em raízes (Sal2 – 24 h
3812 DT; Sal1 e Sal2 – 240 h DT) e folhas (Sal1 – 240 h DT) que mantiveram ou até mesmo
3813 aumentaram o CRA de *J. curcas* no presente estudo. De acordo com Zhou e Yu (2010), o
3814 acúmulo de AALT na planta pode agir como osmólitos compatíveis, mantendo o turgor
3815 celular a potenciais hídricos inferiores ao do ambiente externo, estando os AALT
3816 contribuindo para a manutenção do CRA na maioria dos órgãos após exposição aos diferentes
3817 tratamentos salinos do presente estudo, principalmente 240h DT.

3818 Na maioria dos órgãos analisados no presente estudo, observou-se um aumento nos
3819 níveis de PRO, principalmente na concentração salina severa (Sal2). Tal elevação nas
3820 concentrações deste osmólito foi acompanhada do aumento nos níveis de AALT, com
3821 exceção de folhas expostas aos tratamentos salinos 24 h DT. Contudo, de forma geral, os
3822 valores encontrados na relação PRO/AALT, principalmente em folhas, sugerem uma relativa
3823 contribuição deste aminoácido no ajustamento osmótico de *J. curcas*. A prolina é um dos
3824 aminoácidos que comumente estão associados à resposta da planta frente a um fator de
3825 estresse, podendo seus níveis aumentar em até 80% da reserva de aminoácidos totais
3826 (JOSEPH et al., 2015). Adicionalmente, a prolina pode estar relacionada diretamente com a
3827 estabilidade da membrana (BABU et al., 2012), representado pelo percentual de VE (folhas e
3828 caule – 24 h DT), e ainda à manutenção do *status* hídrico da planta (ZENG et al., 2015),
3829 representado pelos níveis de CRA em folhas (Sal1) e raízes (Sal2), 24 h DT, e em todos os
3830 órgãos e tratamentos salinos, 240 h DT.

3831 A suplementação de Ca^{2+} à solução salina incrementou em 84% os níveis de PST de
3832 folhas de *J. curcas*, após 24 horas de exposição ao tratamento salino moderado (Sal1 + Ca^{2+}),
3833 comparado ao tratamento Sal1 (Tabela 3). Tal aumento foi acompanhado pelo incremento de
3834 aproximadamente 23% nos níveis de AALT, no mesmo período e tratamento de exposição. A
3835 exposição de folhas ao tratamento Sal2 + Ca^{2+} , durante 24 horas, reduziu em 36% os níveis de
3836 PST, comparado ao tratamento Sal2 (Tabela 3). Contudo, observou-se um aumento de 52%

3837 nos níveis de AALT, após 24 horas de exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺, comparado ao
3838 tratamento Sal2. Em ambos os tratamentos salinos suplementados com Ca²⁺, os níveis de PRO
3839 em folhas, 24h DT, não sofreram alterações após a suplementação do Ca²⁺ na solução salina
3840 (Tabela 3). A suplementação com o Ca²⁺ à solução salina, 240 h DT, reduziu os níveis de PST
3841 de folhas apenas no tratamento salino severo (Sal2 + Ca²⁺). Entretanto, os níveis de AALT em
3842 folhas de *J. curcas* aumentaram em aproximadamente 76% e 9%, tanto no tratamento Sal1
3843 quanto em Sal2, respectivamente, comparados aos seus tratamentos salinos (Sal1 e Sal2),
3844 assim como os níveis de PRO que também foram incrementados com a suplementação de
3845 Ca²⁺ aos tratamentos salinos em aproximadamente 100% e 33% em Sal1 + Ca²⁺ e Sal2 +
3846 Ca²⁺, respectivamente (Tabela 3).

3847 A exposição do caule ao tratamento Sal1 + Ca²⁺ durante 24 horas, incrementou em
3848 28% a concentração de PST, comparado ao tratamento Sal1. Este incremento foi
3849 acompanhado pela redução de 17% nos níveis de AALT, no mesmo tratamento e tempo de
3850 exposição, bem como a manutenção nos níveis de PRO (Tabela 3). Caules de *J. curcas* não
3851 modificaram suas concentrações de PST após o incremento de Ca²⁺ à solução salina severa
3852 (Sal2 + Ca²⁺). Contudo, observou-se uma redução nos níveis de AALT neste mesmo
3853 tratamento (8%), 24 h DT (Tabela 3). No referido órgão, 24 h DT, observou-se uma redução
3854 de 21% também nos níveis de PRO, após exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺. Em caule, 240
3855 h DT, a suplementação de Ca²⁺ aos tratamentos salinos não provocou alterações na
3856 concentração de PST. Tanto no tratamento Sal1 + Ca²⁺ quanto no Sal2 + Ca²⁺ observaram-se
3857 aumentos de 9% e 57%, respectivamente, nos níveis de AALT, 240 h DT (Tabela 3). No
3858 tratamento Sal2 + Ca²⁺, os níveis de AALT no caule reduziram em aproximadamente 20%, no
3859 mesmo período de exposição. Os níveis de PRO não apresentaram alterações após a
3860 suplementação de Ca²⁺ aos tratamentos salinos, 240 h DT, comparados aos seus respectivos
3861 tratamentos salinos (Tabela 3).

3862 As raízes tiveram suas concentrações de PST incrementadas em 37% com a
3863 suplementação de Ca²⁺ à solução salina moderada (Sal1 + Ca²⁺), 24 h DT (Tabela 3). Neste
3864 mesmo tratamento e período de exposição, observou-se aumentos de 15% nos níveis de
3865 AALT e de 29% nos níveis de PRO, ambos comparados aos seus respectivos controles salinos
3866 (Sal1). Após 24 horas de exposição ao tratamento salino severo suplementado com Ca²⁺ (Sal2
3867 + Ca²⁺), as concentrações de PST reduziram em aproximadamente 32%, comparado ao
3868 controle salino Sal1 (Tabela 3). As reduções nos níveis de PST, foram acompanhadas também
3869 de reduções de aproximadamente 15% nas concentrações de AALT, no mesmo tratamento e

3870 período de exposição. Em raízes, não houve alteração na concentração de PRO após a
3871 suplementação de Ca^{2+} à solução salina severa (Sal2 + Ca^{2+}) (Tabela 3). Após 240 horas de
3872 exposição aos tratamentos salinos suplementados com Ca^{2+} , os níveis de PST em raízes não
3873 sofreram alterações. A suplementação com Ca^{2+} aumentou em 32% os níveis de AALT após
3874 exposição ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} , contudo, reduziu a concentração deste osmólito em 18%
3875 no tratamento Sal2 + Ca^{2+} . As concentrações de PRO em raízes não sofreram influência da
3876 suplementação de Ca^{2+} à solução salina, independente da dose de NaCl, 240 h DT (Tabela 3).

3877 No presente estudo, a suplementação com Ca^{2+} aumentou os níveis de PST em todos
3878 os órgãos expostos ao tratamento salino moderado (Sal1 + Ca^{2+}), somente após 24 horas. Tal
3879 aumento pode estar relacionado à função de sinalização do Ca^{2+} que, em condições de
3880 salinidade, ativam cascatas de eventos que induzem à expressão de genes que codificam
3881 proteínas atuantes nos inúmeros processos de tolerância à salinidade (DODD et al., 2010). A
3882 suplementação de Ca^{2+} ainda pode promover a estabilização de proteínas, evitando a sua
3883 proteólise em condições de estresse salino, o que mantém ou aumenta os níveis deste osmólito
3884 no ambiente intracelular (AURISANO et al., 1995; LÄUCHLI & GRATTAN, 2007). A
3885 estabilização das proteínas e a inibição da sua proteólise podem justificar, em parte, as
3886 reduções nos níveis de AALT em caules (Sal1+ Ca^{2+} - 24 h DT e Sal2 + Ca^{2+} - 240 h DT) e
3887 em raízes (Sal2 + Ca^{2+} - 24 e 240 h DT), pois reduções nos níveis de aminoácidos em
3888 condições de estresse podem estar relacionadas à inibição da proteólise e/ou incorporação de
3889 aminoácidos às proteínas (MEREWITZ et al., 2013).

3890 O cálcio também aumentou os níveis de AALT na maioria dos órgãos estudados,
3891 principalmente em folhas expostas a ambos os períodos de exposição e nos demais órgãos
3892 após 240 horas de exposição ao tratamento salino moderado (Sal1 + Ca^{2+}). No presente
3893 estudo, sugere-se fortemente a ocorrência de uma relação direta entre o cálcio e o aumento
3894 nos níveis de aminoácidos totais principalmente após exposição a 75 mM de NaCl. Aurisano
3895 et al. (1995) relacionaram o aumento de Ca^{2+} citosólico à manutenção dos níveis de
3896 aminoácidos totais e seu papel específico na síntese de ácido γ -aminobutírico (GaBa), um
3897 aminoácido que participa dos processos de resistência das plantas à salinidade (AKÇAY et al.,
3898 2012). Jaleel et al. (2007) relacionaram o incremento de Ca^{2+} na solução nutritiva à mitigação
3899 dos efeitos gerados pelo déficit hídrico através do aumento nas concentrações de aminoácidos
3900 como a prolina e glicina betaína em plantas de *Catharanthus roseus*. Já Nayyar (2003)
3901 ressalta a importância da suplementação de Ca^{2+} no incremento de compostos quaternários de
3902 amônio derivados de aminoácidos, auxiliando no ajustamento osmótico de *Triticum aestivum*

3903 e *Zea mays* submetidas ao estresse salino. A relação entre os aminoácidos e o cálcio também
3904 foram relatadas por Girija et al. (2002) e Dodd et al. (2010) em *Arachis hypogaea* L. e
3905 *Arabidopsis*, respectivamente.

3906 A suplementação com o Ca^{2+} às concentrações de NaCl provocou efeitos positivos às
3907 concentrações de prolina apenas em folhas após 240 horas de exposição aos tratamentos
3908 salinos. O cálcio interage com proteínas quinase que modulam os níveis de prolina, regulando
3909 positivamente a tolerância da espécie por meio do aumento nas concentrações citosólicas
3910 deste osmólito (XU et al., 2010; KRÁSENSKÝ et al., 2012). Segundo Nayyar (2003) o cálcio
3911 tem papel importante na via de biossíntese de prolina, ativando a enzima *$\Delta 1$ -pyrroline-5-*
3912 *carboxylate synthetase* (P5CS) que converte o glutamato em pirrolina-5-carboxilato (P5C),
3913 molécula predecessora à prolina. Aumentos nos níveis de prolina associados à aplicação de
3914 Ca^{2+} em plantas de *Halocnemum strobilaceum*, *Vicia faba* L. e *Atriplex halimus* L.
3915 submetidas a concentrações de NaCl também foram discutidos por Su et al. (2011), Siddiqui
3916 et al. (2012) e Soualem et al. (2014), respectivamente.

3917 Os resultados observados nos diferentes órgãos de *J. curcas*, independente do
3918 tratamento ou tempo de exposição, sugerem uma relativa contribuição do cálcio na mitigação
3919 dos efeitos da salinidade através da sua participação no incremento do acúmulo de compostos
3920 nitrogenados, mecanismo este utilizado para garantir o aporte hídrico dos tecidos por meio de
3921 um ajustamento osmótico celular em condições de salinidade (SOUALEM et al., 2012).

3922

3923 **3.3 Ajustamento osmótico por carboidratos**

3924 Os AST tiveram seus níveis reduzidos em folhas com o aumento da concentração de
3925 NaCl na solução nutritiva, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao estresse (Tabela
3926 4). Nestas folhas, o tratamento Sal1 reduziu em aproximadamente 35% os níveis de AST, 24h
3927 DT e 48% após 240 horas de exposição ao estresse, comparados aos respectivos grupos
3928 controles (Tabela 4). Neste mesmo tratamento salino, 24 h DT, observou-se um aumento de
3929 20% nos níveis de amido em folhas, entretanto, 240h DT, os níveis de amido reduziram cerca
3930 de 58%. No tratamento Sal2 a redução na concentração de AST foi de 49% e 65%, após 24 e
3931 240 horas de exposição ao NaCl, respectivamente (Tabela 4). Em Sal2, a redução observada
3932 nos AST de folhas apenas 240 h DT, foi acompanhada de reduções de 54% nos níveis de
3933 amido. Neste órgão, tanto após 24 quanto 240 horas de exposição ao NaCl, os AR
3934 contribuíram com a maior parcela nas concentrações de AST observadas, independente do
3935 tratamento salino (Tabela 4).

3936 **Tabela 4:** Concentrações de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), açúcares
 3937 redutores (AR) e amido em folhas, caule e raízes de plantas de *Jatropha curcas* L. submetidas a
 3938 diferentes concentrações de NaCl (C – 0 mM; Sal1 – 75 mM; Sal2 – 150 mM), suplementados ou não
 3939 com cálcio (Sal1 + Ca²⁺ – 75 mM + 6 mM de Ca²⁺; Sal2 + Ca²⁺ – 150 mM + 6 mM de Ca²⁺), após 24
 3940 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 |

3941 Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem
 3942 significativamente pelo teste de t-Student (p≤0,05).

3943

3944 No caule, após 24 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST aumentaram de
 3945 acordo com o aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva (Sal1 – 73%; Sal2 – 3
 3946 vezes mais AST), comparado ao grupo controle (Tabela 4). Neste caso, após 24 horas de
 3947 exposição ao NaCl, os ANR contribuem com a maior parcela nas concentrações de AST no
 3948 tratamento salino moderado (Sal1) e os AR contribuem com a maior parcela nas
 3949 concentrações de AST no tratamento salino severo (Sal2). Neste mesmo período, reduções de
 3950 11% e 25% foram observadas nos níveis de amido em caules expostos aos tratamentos Sal1 e
 3951 Sal2, respectivamente (Tabela 4). Após 240 horas de exposição ao NaCl, observou-se no

3952 caule uma redução nos níveis de AST de acordo com o aumento da concentração de NaCl na
3953 solução nutritiva (Sal1 – 44%; Sal2 – 55%), comparado ao grupo controle (Tabela 4).
3954 Contudo, no referido período, observou-se que a maior parcela na concentração de AST em
3955 caule se deu pelos AR no tratamento Sal1 e pelos ANR no tratamento Sal2. Os níveis de
3956 amido em caule, 240h DT, não apresentaram diferença entre os tratamentos salinos e seus
3957 respectivos grupos controle (Tabela 4).

3958 Após 24 horas de exposição ao estresse salino, observou-se em raízes um aumento de
3959 42% nas concentrações de AST apenas no tratamento Sal1 (Tabela 4). Durante a exposição ao
3960 estresse salino moderado (Sal1), observou-se uma maior contribuição dos ANR no aumento
3961 da concentração de AST em raízes. Neste mesmo órgão e tratamento salino, observou-se uma
3962 redução de aproximadamente 25% nos níveis de amido, 24 h DT (Tabela 4). Os níveis de
3963 AST e amido em raízes, quando expostas ao tratamento Sal2, não apresentam diferenças em
3964 relação ao grupo controle, 24 h DT. Neste órgão, 240h DT, o tratamento salino moderado
3965 (Sal1) reduziu em 50% os níveis de AST (Tabela 4). Entretanto, as raízes submetidas à
3966 concentração mais severa de NaCl (Sal2) aumentaram em 56% os níveis de AST. Nas raízes,
3967 em ambos os tratamentos salinos, 240 h DT, os AR contribuíram com a maior parcela nas
3968 concentrações de AST (Tabela 4). Neste órgão, 240 h DT, os níveis de amido não sofreram
3969 alterações em nenhum dos tratamentos salinos.

3970 Altas concentrações de NaCl podem causar desbalanço no perfil de carboidratos
3971 podendo aumentar ou reduzir os níveis deste soluto orgânico em todo o vegetal (SILVA et al.,
3972 2010). Em folhas de *J. curcas*, tanto 24 h DT quanto 240 h DT, é possível que as reduções
3973 observadas nos níveis de AST estejam associadas a uma redução intensa na taxa de
3974 assimilação de CO₂ acompanhada de forte decréscimo dos conteúdos de sacarose em folhas
3975 (SOUSA et al., 2012) e/ou pelo aumento na intensidade de translocação dos fotoassimilados
3976 das folhas para outros órgãos da planta (ALBACETE et al., 2014). Alterações no
3977 metabolismo fotossintético de *J. curcas* foram relacionadas a exposição desta espécie à
3978 salinidade e ao déficit hídrico por Silva et al. (2010), Díaz-López et al. (2012) e Garcia-
3979 Almodovar et al. (2014).

3980 As reduções nos níveis de AST e ANR em folhas podem estar relacionadas ao
3981 aumento nos níveis de AST em caule (Sal1 e Sal2) e em raízes (Sal1), quando expostas a 24
3982 horas de exposição aos tratamentos salinos. Já após 240 horas de exposição, as reduções
3983 observadas nos AST e ANR estão associadas ao aumento nos níveis de AST em raízes apenas
3984 no tratamento salino severo (Sal2). Em ambos os casos, pode-se inferir que o aumento na

3985 translocação destes solutos das folhas (órgão fonte) para tecidos não fotossintetizantes (órgãos
3986 dreno) ocorreu na tentativa de suprir a demanda por açúcares nos órgãos basais do vegetal,
3987 estratégia comum utilizada por plantas expostas à salinidade (FOYER & PAUL, 2001;
3988 ALBACETE et al., 2014).

3989 Especificamente no tratamento Sal1 em folhas (24 h DT) e em ambos os tratamentos
3990 salinos em caule (240h DT), as reduções nos níveis de AST nestes dois órgãos podem estar
3991 relacionadas ao aumento ou manutenção nos níveis de amido. O acúmulo de amido pode ser
3992 resultado da síntese deste polissacarídeo a partir da hidrólise da sacarose, quando as plantas
3993 são submetidas à salinidade (PATTANAGUL & THITISAKSAKUL, 2008). As plantas
3994 acumulam e armazenam carboidratos na forma de amido, podendo este ser mobilizado em
3995 períodos de fornecimento limitado ou aumento das demandas energéticas, comuns durante o
3996 estresse salino (KRÁSENSKÝ et al., 2012).

3997 Provavelmente, o acúmulo de AST (24 h DT) e amido (240 h DT) em caules de *J.*
3998 *curcas*, sugerem a ocorrência tanto de um aumento na intensidade de drenagem dos
3999 fotoassimilados das folhas para o caule (ALBACETE et al., 2009), quanto pela função de
4000 estrutura armazenadora de carboidratos exercida por este órgão, sendo responsável por
4001 transportar tais solutos para os demais órgãos da planta sob condições de estresse (GARCIA-
4002 ALMODOVAR et al., 2014).

4003 Especificamente após 24 horas de exposição aos tratamentos salinos, o acúmulo de
4004 AST observados tanto em caule (Sal1 e Sal2) quanto em raízes (Sal1), aparentemente não
4005 estão relacionados a uma manutenção do *status* hídrico destes órgãos em condições de
4006 salinidade. Contudo, é possível que tal incremento nos valores deste soluto esteja relacionado
4007 ao aumento da hidrólise de amido, representado pelas reduções nas concentrações deste soluto
4008 nos mesmos tratamentos do presente trabalho, ou ainda, sugere a diminuição da sua utilização
4009 como fonte de esqueletos de carbono para a biossíntese e crescimento da planta (SILVA et al.,
4010 2010).

4011 Após 240 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST em caule reduziram,
4012 sugerindo uma mudança de estratégia da planta em função do tempo de exposição aos
4013 tratamentos salinos. As reduções nos níveis de ANR no caule, 240 h DT, principalmente no
4014 tratamento Sal1, podem estar associados à frequente redução na migração destes açúcares das
4015 folhas para o caule, comuns em plantas submetidas à salinidade (McCORMICK et al., 2008).
4016 No estudo de Díaz-López et al. (2012), as concentrações de AST em caules de *J. curcas*
4017 também foram reduzidas com o incremento de NaCl na solução nutritiva.

4018 O acúmulo de AST observado em caule de *J. curcas* em ambos tratamentos com NaCl,
4019 24h DT, não foram suficientes para manter o *status* hídrico deste órgão em ambiente salino,
4020 porém podem ter contribuído para a manutenção da integridade das membranas celulares
4021 neste órgão, como representado pela manutenção da taxa de VE. Aumentos nos níveis de
4022 ANR em caule, como observados no presente estudo, sugerem a contribuição da sacarose na
4023 proteção e estabilização das membranas celulares de tecidos desidratados (HASSINE &
4024 LUTTS, 2010).

4025 Após 240 horas de exposição ao NaCl, os níveis de AST em raízes aumentaram no
4026 tratamento Sal2. A capacidade de acúmulo de AST em células radiculares pode estar
4027 relacionada a um mecanismo de resistência ao sal (FLOWERS, 2004). O acúmulo
4028 principalmente de AR no presente estudo sugere a contribuição das hexoses na osmoproteção
4029 e ajustamento osmótico principalmente nas regiões de crescimento, como ocorre em algumas
4030 espécies (ASHRAF & HARRIS, 2004). O aumento nos níveis de AST em raízes expostas ao
4031 estresse salino severo (Sal2) parece contribuir para a manutenção do CRA deste órgão. Em
4032 plantas jovens de *J. curcas* o aumento no níveis de AST estão relacionados à manutenção do
4033 ajustamento osmótico de raízes quando expostas a condições de restrição hídrica (SILVA et
4034 al., 2010).

4035 O incremento de Ca^{2+} à solução salina moderada (Sal1 + Ca^{2+}) reduziu os níveis de
4036 AST em folhas de *J. curcas* tanto após 24 horas (16%) quanto 240 horas (43%) de exposição
4037 ao tratamento, comparados aos respectivos controles salinos (Sal1) (Tabela 4). Neste mesmo
4038 tratamento (Sal1 + Ca^{2+}), os níveis de amido incrementaram tanto após 24 horas (66%) quanto
4039 após 240 horas (52%) de exposição ao tratamento, comparados aos seus respectivos controles
4040 salinos (Sal1) (Tabela 4). Após exposição ao tratamento Sal2 + Ca^{2+} , os níveis de AST de
4041 folhas não sofreram alterações após 24 horas de exposição, contudo, 240 h DT, observou-se
4042 um aumento de aproximadamente 20% nos níveis de AST, comparado ao tratamento Sal2. O
4043 referido tratamento não alterou os níveis de amido em folhas após 240 horas de exposição
4044 (Tabela 4). Observou-se que em folhas de *J. curcas* expostas aos tratamentos salinos
4045 suplementados com Ca^{2+} , a maior parcela dos AST foi constituída por açúcares redutores,
4046 independente do tratamento ou tempo de exposição aos tratamentos.

4047 Em caule de *J. curcas*, observou-se incrementos nos níveis de AST em ambos os
4048 períodos de exposição ao tratamento Sal1 + Ca^{2+} (24 h DT – 20%; 240 h DT – 106%) (Tabela
4049 4). Em ambos os períodos de exposição ao referido tratamento, observou-se reduções nos
4050 níveis de amido de aproximadamente 13% e 37% após 24 e 240 horas de exposição,

4051 respectivamente. Após 24 horas de exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺, os níveis de AST
4052 não sofreram alterações, contudo, 240 h DT, observou-se um incremento de 50% nos níveis
4053 de AST (Tabela 4). Em ambos os períodos de exposição, as concentrações de amido não
4054 apresentaram alterações após exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺. Em ambos os períodos de
4055 exposição, os ANR contribuem com a maior parcela dos AST em caules expostos ao
4056 tratamento Sal1 + Ca²⁺, enquanto que os AR contribuem com a maior parcela dos AST em
4057 Sal2 + Ca²⁺ (Tabela 4).

4058 Raízes expostas ao tratamento salino moderado, suplementado com Ca²⁺ (Sal1 +
4059 Ca²⁺), apresentaram reduções nos níveis de AST apenas após 24 horas de exposição (60%)
4060 (Tabela 4). Neste mesmo período, a suplementação com Ca²⁺ incrementou os níveis de AST
4061 em 127% no tratamento Sal2 + Ca²⁺. Após 240 horas de exposição ao tratamento Sal2 + Ca²⁺,
4062 os níveis de AST de raízes reduziram 9%, comparado ao tratamento Sal2. Em ambos os
4063 períodos de exposição, independente do tratamento salino acrescido de Ca²⁺, os níveis de
4064 amido não sofreram alterações (Tabela 4). Em ambos os períodos de exposição aos diferentes
4065 tratamentos salinos suplementados com Ca²⁺, observou-se que os AR contribuem com a maior
4066 parcela dos AST em praticamente todos os órgãos de *J. curcas* avaliados (Tabela 4).

4067 A suplementação com o cálcio reduziu os níveis de AST principalmente em folhas
4068 submetidas à concentração moderada de NaCl (Sal1 + Ca²⁺) em ambos os períodos de
4069 exposição. Tal redução foi acompanhada do aumento nos níveis de AST também em caules
4070 no mesmo tratamento e períodos de exposição, o que sugere a translocação de açúcares das
4071 folhas (órgão fonte) para o caule (órgão dreno). Aparentemente o cálcio não participa
4072 diretamente do processo de translocação de açúcares, contudo, um aporte adequado de Ca²⁺
4073 facilita o fluxo de K⁺ através da membrana plasmática e garante concentrações adequadas de
4074 potássio pelo aumento na seletividade por este íon (SHORESH et al., 2011). Neste caso, com
4075 aportes adequados de K⁺, o transporte de sacarose das folhas para o caule é facilitado, pois o
4076 potássio pode ativar enzimas que estão envolvidas no processo de transporte de sacarose
4077 (YUAN et al., 2015). Uma relação direta entre suplementação de cálcio e uma redução nos
4078 níveis de AST, principalmente glicose e frutose, foi encontrada por Rubio et al. (2009)
4079 estudando plantas de *Capsicum annuum* L.

4080 No presente estudo, o acúmulo de AST nos tecidos caulinares sugere a contribuição do
4081 Ca²⁺ na importação de açúcares e fortalece a importante contribuição deste órgão como
4082 estrutura de armazenamento de carboidratos. Concentrações adequadas de Ca²⁺ em órgãos de
4083 armazenamento induzem uma permeabilidade elevada da membrana e facilita a difusão e

4084 acúmulo de açúcares nos tecidos via floema (GREGER & BERTELL, 1992). Por outro lado,
4085 a relação de aumento nos níveis de AST em detrimento à redução nos níveis de amido,
4086 observada em caules, tanto após 24 como 240 horas de exposição ao tratamento Sal1 + Ca²⁺
4087 sugere a atuação do cálcio como molécula sinalizadora na indução da expressão de genes
4088 envolvidos na síntese de amilases, responsáveis pela degradação do amido em açúcares
4089 solúveis (SMEEKENS, 2000). Além disto, os processos de sinalização mediados pelo
4090 acúmulo de Ca²⁺ citosólico podem levar à expressão de genes relacionados com a biossíntese
4091 de carboidratos complexos (FURUICHI et al., 2001), justificando em parte o aumento nos
4092 níveis de AST em folhas (Sal2 + Ca²⁺ - 240 h DT), caules (Sal1 + Ca²⁺ - 24 h DT; Sal1 + Ca²⁺
4093 e Sal2 + Ca²⁺ - 240 h DT) e raízes (Sal2+Ca²⁺).

4094 Já o aumento nos níveis de amido observados em folhas de *J. curcas*, em ambos os
4095 períodos de exposição aos tratamentos salinos suplementados com Ca²⁺, podem estar
4096 relacionados à redução ou mesmo a inibição da sua degradação. Para Appenroth e Gabrys
4097 (2003) a degradação do amido é parcialmente inibida com a suplementação de Ca²⁺ na
4098 solução nutritiva.

4099 Observando os resultados obtidos, ficou evidente que as alterações nos níveis de Ca²⁺
4100 citosólico após exposição de *J. curcas* aos tratamentos salinos influenciaram no acúmulo de
4101 carboidratos e que tal acúmulo depende da duração e intensidade do estresse, além do tipo de
4102 célula ou tecido avaliado (SOUALEM et al., 2012; KADER & LINDBERG, 2014).

4103

4104 4. CONCLUSÕES

4105 1- Plantas de *J. curcas* submetidas a condições de salinidade e suplementadas
4106 com cálcio apresentam respostas complexas e moduladas de acordo com o órgão, a dose e o
4107 tempo de exposição.

4108 2- O NaCl causou danos as membranas celulares e foi responsável por reduções
4109 no *status* hídrico da planta evidenciando assim o efeito do componente osmótico do estresse
4110 salino nas primeiras 24 horas.

4111 3- Após 240 horas de exposição, a planta recupera seu *status* hídrico devido ao
4112 acúmulo de solutos orgânicos, utilizando, portanto, a estratégia de ajustamento osmótico.

4113 4- Em ambos os períodos de exposição, a osmorregulação se dá em cada órgão
4114 especificamente de acordo com a dose de NaCl aplicada à solução, estando as proteínas
4115 solúveis, os aminoácidos livres, a prolina e os carboidratos totais agindo como osmólitos

4116 compatíveis e atuando de forma conjunta ou não na mitigação dos efeitos osmóticos da
4117 salinidade.

4118 5- A complexidade e a modulação desta estratégia de resistência foram
4119 influenciadas pela suplementação de cálcio à solução salina, estando este íon atuando no
4120 incremento das concentrações dos osmólitos em cada órgão especificamente.

4121

4122 5. REFERÊNCIAS

4123 ADEM, G. D.; ROY, S. J.; ZHOU M.; BOWMAN, J. P.; SHABALA, S. B. M. C. Evaluating
4124 contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in
4125 barley. **Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 113, 2014.

4126

4127 AKÇAY, N.; BOR, M.; KARABUDAK, T.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, İ. Contribution of
4128 Gamma amino butyric acid (GABA) to salt stress responses of *Nicotiana sylvestris* CMSII
4129 mutant and wild type plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p. 452–458, 2012.

4130

4131 ALBACETE, A. A.; MARTINEZ-ANDUJAR, C.; PEREZ-ALFOCEA, F. Hormonal and
4132 metabolic regulation of source–sink relations under salinity and drought: from plant survival
4133 to crop yield stability. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 12–30, 2014.

4134

4135 ALVES, A. A. C.; SETTER, T. L. Abscisic acid accumulation and osmotic adjustment in
4136 cassava under water deficit. **Environmental and Experimental Botany**. v. 51, n. 3, p. 259–
4137 271, 2004.

4138

4139 APPENROTH, K-J.; GABRYS, H. Ion antagonism between calcium and magnesium in
4140 phytochrome-mediated degradation of storage starch in *Spirodela polyrhiza*. **Plant Science**, v.
4141 165 p. 1261–1265, 2003.

4142

4143 ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in
4144 plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.

4145

4146 AURISANO, N.; BERTANI, A.; REGGIANI, R. Involvement of calcium and calmodulin in
4147 protein and amino acid metabolism in rice roots under anoxia. **Giornale Botanico Italiano**, v.
4148 129, n. 4, p. 1087-1088, 1995.

4149

4150 BABU, M. A.; SINGH, D.; GOTHANDAM, K. M. The effect of salinity on growth,
4151 hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. **The Journal of**
4152 **Animal & Plant Sciences**, v. 22, n. 1, p. 159-164, 2012.

4153

4154 BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J.M. Water Deficit Effects on Solute Contribution to Osmotic
4155 Adjustment as a Function of Leaf Ageing in Three Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.)
4156 Cultivars Performing Differently in Arid Conditions. **Plant Science**, v. 160, p. 669–681,
4157 2001.

4158

4159 BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for
4160 water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

4161

4162 BLUM, A. E EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat
4163 tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
4164

4165 BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
4166 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Chemistry**, v.
4167 72, p. 248–254, 1976.
4168

4169 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de**
4170 **sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa
4171 Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
4172

4173 CHEN, H.; JIANG, J-G. Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes
4174 related to drought and salinity. **Environmental Reviews**, v. 18, 2010.
4175

4176 CRAMER, G. R. Sodium–calcium interactions under salinity stress. **Salinity: Environment–**
4177 **Plants–Molecules**, p. 205–228; 2002.
4178

4179 DEMIDCHIK, V.; MAATHUIS, F. J. M. Physiological roles of nonselective cation channels
4180 in plants: from salt stress to signalling and development. **New Phytologist**, v. 175, p. 387–
4181 404, 2007.
4182

4183 DÍAZ-LÓPEZ , L.; GIMENO, V.; LIDÓN, V.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-
4184 SÁNCHEZ, F. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological
4185 analysis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 34–42, 2012.
4186

4187 DIVAKARA, B. N.; UPADHYAYA, H. D.; WANI, S. P.; GOWDA, C. L. L. Biology and
4188 genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. **Applied Energy**, v. 87, p. 732-742,
4189 2010.
4190

4191 DODD, A. N.; KUDLA, J.; SANDERS, D. The Language of Calcium Signaling. **Annual**
4192 **Review of Plant Biology**, v. 61, p. 593-620, 2010.
4193

4194 DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric
4195 Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n.
4196 3, p. 350-356, 1956.
4197

4198 FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p.
4199 307-319, 2004.
4200

4201 FOYER, C. H.; PAUL, M. J. Sink regulation of photosynthesis. **Journal of Experimental**
4202 **Botany**, v. 360, n. 52, p. 1383–1400, 2001.
4203

4204 FURUICHI, T.; MORI, I. C.; TAKAHASHI, K.; MUTO, S. Sugar-induced increase in
4205 cytosolic Ca²⁺ in *Arabidopsis thaliana* whole plants. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, n. 10,
4206 p. 1149–1155, 2001.
4207

4208 GARCIA-ALMODOVAR, C.; GIMENO, V.; NIEVES, M.; DIAZ-LOPEZ, L.; SIMON, I.;
4209 GARCIA-SANCHEZ, F. Improving the tolerance of *Jatropha curcas* L. plants to abiotic
4210 stresses. **CAB Reviews**, v. 9, n. 4. p. 1-10, 2014.
4211

4212 GIRIJA, C.; SMITH, B. N.; SWAMY, P. M. Interactive effects of sodium chloride and
4213 calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*Arachis*
4214 *hypogaea* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, p. 1–10, 2002.
4215

4216 GREGER, M.; BERTELL, G. Effects of Ca²⁺ and Cd²⁺ on the carbohydrate metabolism in
4217 sugar beet (*Beta vulgaris*). **Journal of Experimental Botany**, v. 43, n. 247, p. 167-173, 1992.
4218

4219 HISHIDA, M.; ASCENCIO, F.; FUJIYAMA, H.; ORDUNO-CRUZ, A.; ENDO, T. Response
4220 to salt stress in growth water relations and ion content of *Jatropha curcas* and *J. cinerea*
4221 seedlings. **Interciencia Journal**, v. 38, p. 289-304, 2013.
4222

4223 HASSINE, A. B.; LUTTS, S. Differential responses of saltbush *Atriplex halimus* L. exposed
4224 to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene.
4225 **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p. 1448–1456, 2010.
4226

4227 HESSINI, K.; MARTÍNEZ, J. P.; GANDOUR, M.; ALBOUCHI, A.; SOLTANI, A.;
4228 ABDELLY, C. Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and
4229 water-use efficiency in *Spartina alterniflora*. **Environmental and Experimental Botany**, v.
4230 67, n. 2, p. 312–319, 2009.
4231

4232 HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants**
4233 **without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
4234

4235 HSU, M-H.; CHEN, C-C.; LIN, K-H.; HUANG, C-M.; YANG; HUANG, W-D.
4236 Photosynthetic responses of *Jatropha curcas* to spider mite injury. **Photosynthetica**, v. 53, n.
4237 3, p. 349-355, 2015.
4238

4239 IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in
4240 concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfafa (*Medicago sativa*)
4241 plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.
4242

4243 JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; GOPI, R.;
4244 SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Water deficit stress mitigation by calcium
4245 chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole
4246 alkaloid accumulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, p. 110–116, 2007.
4247

4248 JOSEPH, E. A.; RADHAKRISHNAN, V. V.; MOHANAN, K. V. A Study on the
4249 accumulation of proline - an osmoprotectant amino acid under salt stress in some native rice
4250 cultivars of North Kerala, India. **Universal Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 1, p.
4251 15-22, 2015.
4252

4253 KADER, M. A.; LINDBERG, S. Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity
4254 stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 3, p. 233-238, 2010.
4255

4256 KOH, M. Y.; MOHD GHAZI, T. I. A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L.
4257 oil. **Journal Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 2240-2251, 2011.
4258

4259 KRÁSENSKÝ, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic
4260 rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p.
4261 1593–1608, 2012.

- 4262 LÄUCHLI, A.; GRATTAN, S. R. Plant growth and development under salinity stress. *In:*
4263 Jenks M.A., Hasegawa, P. M.; Jain, S. M., eds. **Advances in Molecular Breeding Toward**
4264 **Drought and Salt Tolerant Crops**, Netherlands: Springer, p. 1-32, 2007.
4265
- 4266 LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de
4267 substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 79-85, 2008.
4268
- 4269 MA, Y. Y.; SONG, W. Y.; LIU, Z. H.; ZHANG, H. M.; GUO, X. L.; SHAO, H. B.; NI, F. T.
4270 The dynamic changing of Ca²⁺ cellular localization in maize leaflets under drought stress.
4271 **Comptes Rendus Biologies**, v. 332, n. 4, p. 351–362, 2009.
4272
- 4273 MAES, W. H.; ACHTEN, W. M. J.; REUBENS, B.; RAES, D.; SAMSON, R.; MUYS, B.
4274 Plant-water relationships and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedlings under
4275 different levels of drought stress. **Journal of Arid Environments**, v. 73, p. 877-884, 2009.
4276
- 4277 MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of
4278 biodiesel and value-added coproducts. **European Journal of Lipid Science and Technology**,
4279 v. 111, p. 773-778, 2009.
4280
- 4281 MARTINEZ-BALLESTA, M. C.; CABANERO, F.; OLMOS, E.; PERIAGO, P. M.;
4282 MAUREL, C.; CARVAJAL, M. Two different effects of calcium on aquaporins in salinity-
4283 stressed pepper plants. **Planta**, v. 228, p. 15–25, 2008.
4284
- 4285 McCORMICK, A. J.; CRAMER, M. D.; WATT, D. A. Differential expression of genes in the
4286 leaves of sugarcane in response to sugar accumulation. **Tropical Plant Biology**, v. 1, p. 142–
4287 158, 2008.
4288
- 4289 McCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch
4290 and amylose in vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156–1158, 1950.
4291
- 4292 MEREWITZ, E. B.; GIANFAGNA, T.; HUANG, B. Protein accumulation in leaves and roots
4293 associated with improved drought tolerance in creeping bentgrass expression an *ipt* gene for
4294 cytokinins synthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 5311-5333, 2011.
4295
- 4296 MOHAMMDKANI, N.; HEIDARI, R. Effects of drought stress on soluble proteins in two
4297 maize varieties. **Turkish Journal of Biology**, v. 32, p. 23–30, 2008.
4298
- 4299 MORRIS, D. L. Quantitative determination of carbohydrates with Drywood's anthrone
4300 reagent. **Science**, v. 107, n. 1, p. 254–255, 1948.
4301
- 4302 MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant**
4303 **Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.
4304
- 4305 NAYYAR, H. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water stressed wheat
4306 (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists.
4307 **Environmental and Experimental Botany**, v. 50, p. 253-264, 2003.
4308
- 4309 OLIVEIRA, M. D. M.; BEZERRA, L. L.; DANTAS, C. V. S.; VOIGT, E. L.; MAIA, J. M.;
4310 MACÊDO, C. E. C. The role of xylodium in Na⁺ exclusion and osmolyte accumulation in

4311 faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta**
4312 **Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 2871–2882, 2014.

4313

4314 PATTANAGUL, W.; THITISAKSAKUL, M. Effect of salinity stress on growth and
4315 carbohydrate metabolism in three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity
4316 tolerance. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 46, p. 736–742, 2008.

4317

4318 PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F. **Methods for**
4319 **evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian
4320 International Center of Agricultural Research, 1989. 76p.

4321

4322 RENAULT, H.; ROUSSEL, V.; EL AMRANI, A.; ARZEL, M.; RENAULT, D.;
4323 BOUCHEREAU, A.; DELEU, C. The *Arabidopsis pop2-1* mutant reveals the involvement of
4324 GABA transaminase in salt stress tolerance. **BMC Plant Biology**, v. 10, p. 1–16, 2010.

4325

4326 RODRIGUES, C. R. F.; SILVEIRA, J. A. G.; VIÉGAS, R. A.; MOURAD, R. M.; ARAGÃO,
4327 R. M.; SILVA, E. N. Combined effects of high relative humidity and K⁺ supply mitigates
4328 damage caused by salt stress on growth, photosynthesis and ion homeostasis in *J. curcas*
4329 plants. **Agricultural Water Management**, v. 163, p. 255–262, 2016.

4330

4331 RUBIO, J. S.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; RUBIO, F.; MARTÍNEZ, V. Yield, blossom-end rot
4332 incidence, and fruit quality in pepper plants under moderate salinity are affected by K⁺ and
4333 Ca²⁺ fertilization. **Scientia Horticulturae**, v. 119, p. 79–87, 2009.

4334

4335 SAGLAM, A.; TERZI, R.; NAR, H.; SARUHAN, N.; AYAZ, F. A.; KADIOGLU, A.
4336 Inorganic and organic solutes in apoplastic and symplastic spaces contribute to osmotic
4337 adjustment during leaf rolling in *Ctenanthe setosa*. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 52, n. 1,
4338 p. 37–44, 2010.

4339

4340 SANTOS, C. M. DOS.; VERISSIMO, V.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; FERREIRA, F.
4341 M.; CAVALCANTE, P. G. S.; ROLIM, E. V.; ENDRES, L. Seasonal variations of
4342 photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical
4343 responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water
4344 stress. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 203–213, 2013.

4345

4346 SHABALA, S.; MUNNS, R. **Salinity stress: physiological constraints and adaptive**
4347 **mechanisms**. UK: CAB; 2012. 291 p.

4348

4349 SHORESH, M.; SPIVAK, M.; BERNSTEIN, N. Involvement of calcium-mediated effects on
4350 ROS metabolism in the regulation of growth improvement under salinity. **Free Radical**
4351 **Biology & Medicine**, v. 51, p. 1221–1234, 2011.

4352

4353 SIDDIQUI, M. H.; AL-WHAIBI, M. H.; SAKRAN, A. M.; BASALAH, M. O.; ALI, H. M.
4354 Effect of calcium and potassium on antioxidant system of *Vicia faba* L. under cadmium stress.
4355 **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 6604–6619, 2012.

4356

4357 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A.
4358 Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansó
4359 submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009.

4360

- 4361 SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J.
4362 A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and
4363 growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1130–1137,
4364 2010.
- 4365
4366 SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological
4367 adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions,
4368 transport and selectivity of K^+ , osmotic adjustment and K^+/Na^+ homeostasis. **Plant Biology**,
4369 v. 17, p. 1023–1029, 2015.
- 4370
4371 SMEEKENS, S. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant**
4372 **Biology, Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 49–81, 2000.
- 4373
4374 SOUALEM, S.; ADDA, A.; BELKHODJA, M.; MERAH, O. Calcium supply reduced effect
4375 of salinity on growth in the Mediterranean shrub (*Atriplex halimus* L.). **Life Science Journal**,
4376 v. 11, n. 2, p. 278-284, 2014.
- 4377
4378 SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; LIMA NETO, M. C.; LACERDA, C.
4379 F.; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados
4380 em pinhão-mansão irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,
4381 v. 47, n. 10, p. 1428–1435, 2012.
- 4382
4383 SU, D.; CHEN, N.; GAO, T.; WANG, C. Effects of Si^+ , K^+ , and Ca^{2+} on antioxidant enzyme
4384 activities and osmolytes in *Halocnemum strobilaceum* under salt stress. **Advanced Materials**
4385 **Research**, v. 356-360, p. 2542-2550, 2012.
- 4386
4387 SWANHART, S.; WEINDORF, D. C.; CHAKRABORTY, S.; BAKR, N.; ZHU, Y.;
4388 NELSON, C.; SHOOK, K.; ACREE, A. Soil salinity measurement via portable X-ray
4389 fluorescence spectrometry. **Soil Science**, v. 179, n. 9, p. 417-423, 2014.
- 4390
4391 SZÉKELY, G.; ÁBRAHÁM, E.; CSÉPLŐ, Á.; RIGÓ, G.; ZSIGMOND, L.; CSISZÁR, J.;
4392 AYAYDIN, F.; STRIZHOV, N.; JÁSIK, J.; SCHMELZER, E.; KONCZ, C.; SZABADOS, L.
4393 Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and
4394 developmental control of proline biosynthesis. **The Plant Journal**, v. 53, p. 11–28, 2008.
- 4395
4396 VAN HANDEL, E. Direct microdetermination os sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22,
4397 280p. 1968.
- 4398
4399 XU, J.; TIAN, Y. S.; PENG, R. H.; XIONG, A. S.; ZHU, B.; JIN, X. F.; GAO, F.; FU, X. Y.;
4400 HOU, X. L.; YAO, Q. H. AtCPK6, a functionally redundant and positive regulator involved
4401 in salt/drought stress tolerance in *Arabidopsis*. **Planta**, v. 231, p. 1251–1260, 2010.
- 4402
4403 YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone.
4404 **Biochemical Journal**, v. 57, p. 508–514, 1954.
- 4405
4406 YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. **Salt stress tolerance of plants.**, West
4407 Lafayette: JIRCAS Working Report, 2002. p. 25-33.
- 4408

4409 YUAN, H.; WU, Y.; LIU, W.; LIU, Y.; GAO, X.; LIN, J.; ZHAO, Y. Mass spectrometry-
4410 based method to investigate the natural selectivity of sucrose as the sugar transport form for
4411 plants. **Carbohydrate Research**, v. 407, p. 5-9, 2015.
4412

4413 ZENG, Y.; LI, L.; YANG, R.; YI, X.; ZHANG, B. Contribution and distribution of inorganic
4414 ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to
4415 salt stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. 13639, 2015.
4416

4417 ZHANG, J.; ZHANG, Y.; DU, Y.; CHEN, S.; TANG, H. Dynamic metabonomic responses of
4418 Tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants to salt stress. **Journal of Proteome Research**, v. 10, p.
4419 1904–1914, 2011.
4420

4421 ZHOU, Q.; YU, B. Changes in content of free, conjugated and bound polyamines and osmotic
4422 adjustment in adaptation of vetiver grass to water deficit. **Plant Physiology and**
4423 **Biochemistry**, v. 48, p. 417–425, 2010.
4424

4425

4426

4427

4428

4429

4430

4431

4432

4433

4434

4435

4436

4437

4438

4439

4440

4441

4442

4443

4444

4445

4446

4447 CONSIDERAÇÕES FINAIS

4448 SUPLEMENTAÇÃO DE POTÁSSIO E CÁLCIO CONTRIBUI NA PROTEÇÃO 4449 OSMÓTICA E IÔNICA EM *Jatropha curcas* L. EXPOSTA À SALINIDADE

4450

4451 O estresse salino simulado pelo cloreto de sódio (NaCl) induziu respostas distintas
4452 quanto ao tempo de exposição, dose de NaCl e aos órgãos de *J. curcas* estudados. A
4453 salinidade afetou o crescimento das plantas em ambos os períodos de exposição, não tendo as
4454 suplementações de potássio e cálcio efeitos positivos sobre os indicadores de crescimento.
4455 Após 24 horas de exposição ao estresse salino, a perda da homeostase hídrica evidencia o
4456 efeito preponderante do componente osmótico sobre o iônico. A partir das 240 horas de
4457 exposição ao NaCl as plantas recuperaram o *status* hídrico, mas o efeito iônico provocado,
4458 sobretudo pelo sódio, causou danos às membranas celulares em todos os órgãos e de forma
4459 mais pronunciada nas raízes. Ainda assim, na maioria dos órgãos, não foram observados
4460 efeitos tóxicos pelo sódio, pois as relações K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ atingiram valores superiores a
4461 1,0. Tanto a suplementação com o potássio quanto com o cálcio à solução salina,
4462 minimizaram os danos às membranas de folhas e caule nas primeiras 24 horas de exposição
4463 ao tratamento salino moderado, e ainda, auxiliaram na manutenção da homeostase iônica,
4464 contribuindo para o aumento das relações K^+/Na^+ e Ca^{2+}/Na^+ e reduzindo o efeito tóxico do
4465 sódio na maioria dos órgãos estudados em todos os tempos de exposição. Em ambos os
4466 períodos de exposição, a osmorregulação se dá em cada órgão especificamente de acordo com
4467 a dose de NaCl aplicada à solução, estando as proteínas solúveis, os aminoácidos livres, a
4468 prolina e os carboidratos totais agindo como osmólitos compatíveis e atuando de forma
4469 conjunta, ou não, na mitigação dos efeitos osmóticos da salinidade. A complexidade e a
4470 modulação desta estratégia de resistência foram influenciadas tanto pela suplementação de
4471 potássio quanto de cálcio à solução salina, estando estes solutos inorgânicos atuando no
4472 incremento das concentrações dos osmorreguladores em cada órgão especificamente e de
4473 acordo com o tempo de exposição.