

Efeitos da salinidade induzida por NaCl sobre um acesso de pinhão-manso: atributos metabólicos e produtivos

Giselle Sousa da Silva⁽¹⁾; **Maicon Wandermaz dos Santos**⁽²⁾; **Camila Figueiredo da Silva**⁽³⁾; **Ádria Pamplona Miranda Freire**⁽⁴⁾; **Everaldo Zonta**⁽⁵⁾; **Roberto Oscar Pereyra Rossiello**⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Aluna do curso de Engenharia Agrônômica; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; Seropédica, RJ; giselle.dasilva@hotmail.com; ⁽²⁾ Estudante de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽³⁾ Aluna do curso de Engenharia Agrônômica; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro ⁽⁴⁾ Aluna do curso de Engenharia Agrônômica; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁵⁾ Professor, Departamento de Solos, Instituto de Agronomia; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁶⁾ Professor, Departamento de Solos, Instituto de Agronomia; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO: O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie oleaginosa que, pela sua rusticidade, pode ser usada como uma fonte potencial de produção de biodiesel através de seu cultivo em ambientes semiáridos, sobre solos salino-sódicos. Em face da necessidade de aumentar as informações sobre o comportamento dos acessos nacionais, foi conduzido um experimento, com o objetivo de caracterizar os efeitos da salinidade induzida por doses crescentes de NaCl sobre atributos metabólicos e produtivos de plântulas do acesso nº 305, do Banco de Germoplasma da UFRRJ. O experimento foi conduzido no sistema hidropônico, sob condições ambientais controladas. Após um período pré-experimental de cultivo em areia, plântulas foram transferidas para a câmara de crescimento, onde foram aplicados os tratamentos, consistentes em três doses NaCl: 0, 50, e 150 mM, adicionadas, em parcela única, à solução nutritiva de Hoagland. Ao final de um período de crescimento de 15 dias, as plantas foram colhidas, fracionadas em seus componentes vegetativos, e determinadas as massas frescas e secas de cada fração. Em amostras frescas de limbos foliares, foram determinados o teor relativo de água, de clorofila total, aminoácidos livres, prolina livre e carboidratos solúveis totais. Os resultados obtidos permitiram concluir que o acesso estudado exibiu um nível moderado de tolerância à toxidez do NaCl, e que os teores de aminoácidos livres, e carboidratos solúveis não responderam ao aumento da salinidade, indicando uma baixa contribuição dos solutos orgânicos compatíveis ao processo de ajustamento osmótico.

Termos de indexação: *Jatropha curcas* L.; teor relativo de água; solutos orgânicos compatíveis.

INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), espécie arbustiva da família das Euforbiáceas, vem recebendo considerável atenção, em diversas partes do mundo, como matéria prima com alto potencial para a produção de biodiesel (Jongschaap et al., 2009). Dado o seu caráter rústico e a sua facilidade de adaptação a variados ambientes edafoclimáticos, no país são encontrados representantes da espécie, desde a região Nordeste até os estados de São Paulo e Paraná (Andréo-Souza et al., 2010). Estimativas teóricas sugerem que o rendimento energético da cultura, por unidade de água utilizada, pode ser relativamente maior quando cultivada em condições de deficiência hídrica do que sob maiores disponibilidades de água (Jongschaap et al., 2009). Em particular, o pinhão-manso tem sido considerada uma opção de uso agrícola em solos salino-sódicos, característicos dos trópicos semi-áridos. Por outro lado, *J. curcas* ainda pode ser considerada uma espécie semi-selvagem, não domesticada e sujeita a considerável variação no seu desempenho produtivo (Atchen et al., 2010). Por essa razão, há necessidade de mais estudos que elucidem aspectos fisiológicos, ecológicos e agrônômicos da interação entre o pinhão-manso e os ambientes salinos. Dadas essas premissas, o objetivo do presente trabalho foi o de caracterizar os efeitos da salinidade induzida por doses crescentes de NaCl sobre atributos metabólicos e produtivos de plântulas de pinhão manso, em condições de cultivo hidropônico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Departamento de Solos da UFRRJ em condições de ambiente controlado. Foram estudadas as respostas de um acesso de pinhão manso, coletado em Petrolina, PE, e registrado sob o nº 305 no Banco de Germoplasma da UFRRJ. Sementes, previamente desinfetadas (NaClO, 2%), foram postas a germinar em casa de vegetação, utilizando areia autoclavada

como substrato. Inicialmente, as sementes foram embebidas com água destilada, e, após 10 dias, com solução de Hoagland & Arnon (H&A, 1950) diluída a 10%. Após a completa germinação e emergência, as plântulas foram transferidas para vasos com capacidade de 2,0 dm³ (duas plantas/vaso), contendo solução de H&A diluída, a 0,25 e 0,5 da concentração original, na primeira e segunda semana pós transplante, respectivamente. Após esse período de adaptação às condições ambientais da câmara de crescimento (irradiância: 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; fotoperíodo: 12 h e temperatura do ar (dia/noite): 28°C/24°C), ao início da terceira semana, as plântulas receberam solução nutritiva à concentração plena. Nessa ocasião foram adicionados os tratamentos, consistentes em três doses NaCl: 0, 50, e 150 mM, segundo um delineamento experimental totalmente casualizado, com quatro repetições.

Após um período de exposição de 15 dias, as plantas foram coletadas e fracionadas em limbo foliar + pecíolo, caules e raízes. Imediatamente, os limbos foliares foram submetidos a análise de imagens, com auxílio do software SIARCS[®], para a determinação da área foliar total por planta. Folhas superiores, de mais recente expansão, foram selecionadas para a determinação do Teor Relativo de Água (TRA), de acordo com o procedimento de Barrs & Weatherley (1962). Os teores de clorofila total ($a + b$) foram determinados em discos foliares ($\phi=10$ mm) incubados, por 72 h, no escuro, com 10 mL de dimetilsulfóxido, de acordo com Hiscox & Israelstam (1979), seguido de determinação espectrofotométrica (Wellburn, 1994). Para a determinação dos metabolitos solúveis, foi preparado, a partir de 0,5 g de limbos foliares frescos, um extrato alcoólico (Etanol 80 %), o qual foi submetido à partição de fases em clorofórmio. Na fase hidrossolúvel, os teores de α -amino foram determinados segundo Yemm & Cocking (1955) enquanto os teores de carboidratos solúveis segundo Yemm & Willis (1954). Prolina livre foi quantificada pelo método de Bates et al. (1973). Os dados foram submetidos a análise de variância unifatorial para discriminação do efeito dos tratamentos (teste "F"), seguido, quando aplicável, de discriminação de médias por meio do teste de Tukey ao nível de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição a níveis crescentes de NaCl induziu reduções significativas ($p < 0,05$) nos níveis de

hidratação foliar, especialmente nas plantas submetidas ao maior nível de sal (TRA: 91,9; 87,2 e 84,1 %, para os tratamentos 0, 50 e 150 mM NaCl, respectivamente). Esse resultado é similar ao observado em folhas de algodão, as quais resultaram parcialmente desidratadas quando as plantas foram transferidas, num único passo, para uma solução nutritiva contendo NaCl 150 mM, indicando a ocorrência de um choque osmótico (Shavrukov, 2013).

A adição de NaCl não implicou em alterações significativas na produção da área foliar total por planta (teste F; $p = 0,842$ n.s), a qual se manteve constante ($266 \pm 31,7 \text{ cm}^2 \text{ pl}^{-1}$), na média das doses aplicadas. Por outro lado, deve ser observado que a ausência de pontos necróticos nas folhas mais velhas, é indicativa que a fase de toxidez associada com a progressiva acumulação dos íons Na^+ e Cl^- na parte aérea, não teve influência marcante na expressão da área foliar, devido, talvez, à limitada duração do período de exposição (Munns, 2002). É possível, portanto, que a manutenção de área foliar verificada neste experimento, tenha relação com outros mecanismos de ajuste das relações hídricas sob salinidade crescente, implicando em reduções do volume celular e mudanças na elasticidade das paredes celulares (Díaz-López et al., 2012).

Contrariamente ao verificado para a área foliar, a produção de massa seca total e sua distribuição entre folhas, caule e raízes foi afetada pelos níveis de NaCl adicionados. Ao final do período de exposição, o teste de Tukey indicou existência de diferença significativa ($p < 0,05$) apenas entre o tratamento controle e a dose de 150 mM NaCl, a qual teve uma redução global de 48 % (**Figura 1**).

A redução em matéria seca total deve refletir os efeitos do estresse salino sobre a fotossíntese, sendo difícil estabelecer quanto da redução em assimilação líquida de carbono seja devida ao choque osmótico e quanto ao estresse iônico (Munns, 2002). Todavia, dois fatores podem ser preliminarmente descartados: tanto os teores de clorofila total quanto os de carboidratos solúveis totais nas folhas, não variaram significativamente em função das doses de NaCl adicionadas (**Tabela 1**). Com efeito, é sabido que o estresse salino pode afetar negativamente os teores de clorofila, quer pela redução da sua biossíntese como pelo aumento da sua degradação (JAMIL et al., 2007).

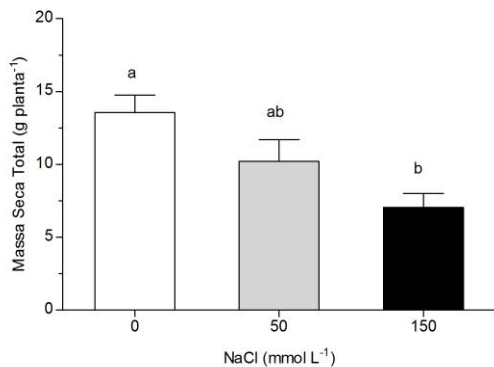


Figura 1 Produção de massa seca total de plantas de pinhão manso, acesso 305, cultivadas em solução nutritiva, na ausência ou presença de 50 ou 150 mM NaCl. Barra vertical indica o erro padrão da média de quatro repetições por tratamento. Médias seguidas de letras comuns não diferem significativamente (Tukey, $p < 0,05$).

Com relação aos teores de CST, diversas evidências indicam de que a sua acumulação citoplasmática, sob condições de estresse hídrico ou salino, pode implicar em inibição tipo “feedback” sobre as taxas de assimilação fotossintética (Sapeta et al., 2013).

Tabela 1 – Teores de carboidratos solúveis totais, aminoácidos livres, prolina e clorofila total ($a + b$), em limbos foliares do acesso de pinhão manso n^o 305, submetido a doses crescentes de NaCl, em cultivo hidropônico.

Atributo	NaCl (mmol L ⁻¹)		
	0	50	150
CST ¹	59,4 n.s.	70,8 n.s.	58,6 n.s.
N-amino Livre	21,3 n.s.	16,0 n.s.	16,1 n.s.
Prolina Livre	0,27 b	0,25 b	0,33 a
Clorofila ($a + b$)	413 n.s.	399 n.s.	380 n.s.

¹ $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa fresca; ² $\mu\text{mol m}^{-2}$ folha. CST = carboidrato solúvel total. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p=0,05$). n.s.= não significativo.

Vários tipos de solutos orgânicos, tais como açúcares solúveis, polióis, compostos quaternários de amônio, como glicina-betaina, aminoácidos livres e prolina são participantes do processo de ajuste osmótico na célula vegetal, necessário à manutenção da turgescência requerida para o crescimento e a absorção de água, (Munns, 2002). Todavia, no presente caso, as análises realizadas mostraram uma redução não significativa (- 24 %) nos teores de aminoácidos livres, em resposta as doses de NaCl aplicadas (**Tabela 1**). Enquanto aos teores de prolina, os mesmos mostraram um acúmulo moderado (+ 22 %), na maior dose de NaCl

aplicada. Todavia, seus baixos valores absolutos (**Tabela 1**), tornam improvável, neste caso, que este metabolito faça uma contribuição relevante à osmorregulação celular. Resta saber se esses resultados são produto da forma como o estresse salino foi aplicado, ou se constituem um rasgo de baixa plasticidade metabólica, como sugerem outros trabalhos com esta espécie (Díaz-López et al, 2012; Sapeta et al., 2013).

Tomados em conjunto, os presentes resultados permitem inferir um comportamento moderadamente tolerante ao estresse salino, principalmente levando-se em consideração que o NaCl foi aplicado em dose única, o que pode ter induzido uma situação de choque osmótico, ao menos, no maior nível de aplicação. De forma significativa, cabe observar que nenhuma planta de este acesso conseguiu sobreviver, quando a dose aplicada foi aumentada para 200 mM. Como Shavrukov (2013) sugeriu, seria interessante submeter este acesso, às mesmas doses de exposição ao NaCl, aplicadas de forma parcelada.

CONCLUSÕES

O acesso de pinhão manso n^o 305 do Banco de Germoplasma da UFRRJ, cultivado em solução nutritiva, exibiu um nível moderado de tolerância à toxidez do NaCl;

Os teores de aminoácidos livres, e carboidratos solúveis não responderam ao aumento da salinidade, indicando uma baixa contribuição dos solutos orgânicos compatíveis ao processo de ajustamento osmótico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Pedro Corrêa Damasceno Júnior, do Departamento de Fitotecnia da UFRRJ, pela cessão das sementes de pinhão-manso.

REFERÊNCIAS

- ACHTEN, W.M.J.; NIELSEN, L.R.; AERTS, R. et al. Towards domestication of *Jatropha curcas*. *Biofuels*, 1: 91-107, 2010.
- ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A.L.; SILVA, F.F. S. da et al. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. *Revista Brasileira de Sementes*, 32: 83-92, 2010.



BARRS, H.D.; WEATHERLEY, P.E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Science*, 15:413-428, 1962.

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

DÍAZ-LÓPEZ, L.; GIMENO, V.; LIDÓN, V.; et al. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: an ecophysiological analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.54, p.34-42, 2012.

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

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

JAMIL, M.; REHMAN, S.; LEE, K.J. et al. Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish. *Scientia Agricola*, 64 : 111-118, 2007.

JONGSCHAAP, R.E.; BLESGRAAF, R.A.R.; BOGAARD, T.A. et al. The water footprint of bioenergy from *Jatropha curcas* L. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* , 106:E92, 2009.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell & Environment*, 25: 239-250, 2002.

SAPETA, H.; COSTA, J.M.; LOURENÇO, T. et al. Drought stress response in *Jatropha curcas*: growth and physiology. *Environmental and Experimental Botany*, 85:76-84, 2013.

SHAVRUKOV, Y. Salt stress or salt shock: which genes are we studying? *Journal of Experimental Botany*, 64: 119-127, 2013.

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

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

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



XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO

28 de julho a 2 de agosto de 2013 | Costão do Santinho Resort | Florianópolis | SC