

ACUMULAÇÃO DE ÍONS EM PLANTAS DE PINHÃO-MANSO CULTIVADAS EM SALINIDADE CRESCENTE

Evandro Nascimento da Silva¹, Joaquim Albenízio Gomes Silveira¹, Cícera Raquel Rodrigues Fernandes¹, Antônia Tathiana Batista Dutra¹, Rafael Magalhães de Aragão¹, Déborah Laurentino de Morais², Ricardo Almeida Viégas³ e Renata Figueiredo Marinho³

Resumo: Este trabalho teve como objetivo caracterizar diferenças no padrão de absorção e partição dos íons sódio (Na^+), cloreto (Cl^-) e potássio (K^+) em folhas de plantas de pinhão-manso expostas ao estresse salino. Plântulas de pinhão-manso com 23 dias de idade foram cultivadas em solução nutritiva contendo 0; 25; 50; 75 e 100 mM de NaCl durante 15 dias em condições de casa de vegetação. O acúmulo de Na^+ e Cl^- nas folhas aumentou proporcionalmente ao incremento de NaCl, contudo o conteúdo de K^+ foi reduzido em função do aumento da salinidade. O acúmulo de Na^+ e Cl^- foi de 2.493 e 980 mmol kg^{-1} MS, respectivamente, para a dose de 100 mM. O conteúdo de K^+ no maior nível de salinidade foi de 188 mmol kg^{-1} MS. A relação K^+/Na^+ diminuiu significativamente com o aumento da dose de NaCl. Os dados evidenciam que plantas jovens de pinhão-manso são sensíveis à salinidade.

Termos de indexação: *Jatropha curcas*, estresse salino, salinização do solo.

Introdução

A salinização dos solos é um sério problema no mundo inteiro e tem crescido substancialmente, causando perdas na produtividade das culturas. Estima-se que 20% das terras cultivadas no mundo e aproximadamente 1/2 das terras irrigadas estejam afetadas por sais (Sairam & Tyagi, 2004). Esse problema é mais agudo nas regiões semi-áridas onde a baixa pluviosidade e a elevada demanda evaporativa contribuem decisivamente para o agravamento da salinização dos solos (Viégas *et al.*, 2001).

O excesso de sais no solo causa redução no potencial hídrico dos tecidos, provocando restrição no crescimento uma vez que as taxas de alongação e de divisão celular dependem diretamente do processo de extensibilidade da parede celular (Ashraf & Harris, 2004). Portanto, a resposta imediata das plantas ao estresse salino é uma forte diminuição na expansão foliar (Parida & Das, 2005). Dessa forma, o balanço osmótico é essencial para o crescimento dos vegetais em meio salino (Ashraf & Harris, 2004).

Diversos trabalhos na literatura demonstram que a salinidade promove um aumento nos teores de sódio e cloreto, tanto em glicófitas como em halófitas (Greenway & Munns, 1980). A injúria provocada pelo acúmulo excessivo de íons tóxicos, Na^+ e Cl^- , se manifesta como clorose marginal e causa o surgimento de zonas necróticas, o que contribui para aceleração dos processos de senescência e abscisão foliar (Munns, 2002). Em plantas que crescem em solos salinos, as células podem apresentar distúrbios na homeostase iônica não somente devido ao aumento da concentração de Na^+ como também pela diminuição da concentração de K^+ no citosol, causando a conseqüente redução da relação K^+/Na^+ (Zhu, 2003).

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie oleaginosa, de fácil propagação e que pode apresentar relevante importância social e econômica para o Brasil, especialmente como fonte de biocombustível. Infelizmente, essa espécie ainda é muito pouco estudada nos diversos aspectos agrônômicos, especialmente na fisiologia vegetal ligada ao estresse salino. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a acumulação de Na^+ , Cl^- e K^+ em folhas de plantas jovens de pinhão-manso visando conhecer o grau de sensibilidade dessa espécie ao estresse salino.

Material e Métodos

Condições de crescimento

A fase de germinação e o desenvolvimento das plantas foram conduzidos em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, na Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza, Ceará, Brasil (latitude 3°44' S, longitude 38°33' W), temperatura de 28 °C a 36 °C durante o dia e de 24 °C a 27 °C durante a noite e a umidade relativa de 40 a 80% (dia/noite). A radiação

¹ Eng. Agrônomo, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFC.

² Eng. Florestal, UFCG, Instituto Fazenda Tamanduá, e-mail: deborahflorest@yahoo.com.br

³ Eng. Florestal, Unidade Acadêmica de Engenharia Florestal, UFCG.

fotossintética ativa máxima nas proximidades das folhas foi aproximadamente $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mensurada com um 'quantum sensor' acoplado a um porômetro (LI-1600 steady state porometer, Li-Cor, USA).

Material vegetal e condução das plantas

Sementes de pinhão-mansó foram postas para germinar em bandejas com areia e irrigadas diariamente com água destilada até a queda dos cotilédones (8 dias após o plantio). Em seguida, foram transferidas para vasos de 2 L onde passaram a receber solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada, apresentando a seguinte composição de macronutrientes (mM): 2,5 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; 1,0 NH_4Cl ; 0,5 K_2HPO_4 ; 0,5 MgSO_4 e 2 KNO_3 e micronutrientes (μM): 40 H_3BO_3 ; 9 MnCl_2 ; 3 CuSO_4 ; 7 ZnMoO_4 ; 0,1 Na_2MoO_4 e 100 Fe-EDTA com ajuste do pH para 6,0. As plantas permaneceram em solução nutritiva por duas semanas com diluição de $\frac{1}{4}$ na primeira semana e $\frac{1}{2}$ na segunda semana.

Aos 20 dias após a germinação foram aplicados os tratamentos salinos de maneira parcelada (25 mM de NaCl por dia) e ao final de quatro dias tínhamos 5 tratamentos (0; 25; 50; 75 e 100 mM de NaCl) com quatro repetições. Após 15 dias as folhas foram coletadas para a determinação das concentrações de Na^+ , Cl^- e K^+ .

As determinações das concentrações de sódio e potássio foram realizadas segundo Brilhante (2006). A extração em farinha do tecido vegetal foi feita utilizando 50 mg do tecido para 20 mL de H_2O deionizada em banho-maria a 100°C por 1 hora. O extrato obtido foi centrifugado e seu sobrenadante foi analisado em fotômetro de chama (Micronal B462) para determinação dos conteúdos de Na^+ e K^+ . A concentração de cloreto foi determinada segundo Malavolta et al. (1997); 100 mg do tecido foram submetidos à extração com 25 mL de água deionizada com agitação ocasional durante 30 minutos.

Em seguida, alíquotas de 20 mL do extrato foram filtradas em papel de filtro e adicionadas 1 mL da solução indicadora de cromato de potássio K_2CrO_4 5%(p/V). Cada amostra foi titulada lentamente com nitrato de prata AgNO_3 28 mM em bureta até a viragem do indicador através da formação do precipitado de Ag_2CrO_4 (coloração marrom pálido persistente). Cada 1 mL de nitrato de prata gasto na titulação correspondeu a 2,5 mg de cloreto em 100 mg de matéria seca. Foi utilizado um branco com 20 mL de água deionizada + indicador + algumas gotas de Ag_2NO_3 até obtenção da coloração marrom pálido. O volume do branco foi subtraído de cada amostra.

Delineamentos experimental

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado (5×4) com cinco tratamentos (0; 25; 50; 75 e 100 mM de NaCl) com quatro repetições, em que a parcela experimental foi composta de uma planta por vaso. Os resultados foram submetidos ao teste F a 5% de significância através da análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Foi observado acúmulo excessivo de Na^+ nas folhas, sendo este proporcional ao aumento das doses de NaCl (Figura 1A) chegando a 661% na dose mais elevada de sal (100 mM). A acumulação do íon Cl^- obedeceu a mesma similaridade do sódio, todavia com 100 mM de NaCl ocorreu um acúmulo de 1400% (Figura 1B). Os resultados obtidos sugerem não ter havido mecanismos de exclusão dos íons tóxicos (Na^+ e Cl^-) após o processo de absorção, resultando em acúmulo na parte aérea, com surgimento de cloroses e necroses nas folhas. Essas respostas resultaram, provavelmente, de alteração no balanço hormonal, na perda de turgescência das células-guarda e na redução generalizada da atividade metabólica da planta (Gorham *et al.*, 1988).

O elevado acúmulo de Na^+ e Cl^- no tecido vegetal durante a exposição das plantas ao estresse salino representou um dos principais efeitos desse estresse sobre o metabolismo vegetal. O componente iônico da salinidade pode causar danos irreparáveis em estruturas celulares as quais podem comprometer a eficiência metabólica e até mesmo provocar a morte celular (Shi *et al.*, 2002). O efeito tóxico causado pelo excesso de Na^+ oriundo do meio externo pode ser reduzido pelos seguintes mecanismos: restrição da entrada de Na^+ na célula através da absorção seletiva; exclusão ou compartimentalização no vacúolo do excesso de Na^+ citosólico, bem como um sistema eficiente de partição deste íon na planta (Ashraf & Ahmad, 2000). A concentração de K^+ foi reduzida pelos tratamentos salinos (Figura 1C). Tal redução foi proporcional ao incremento das doses de NaCl, obtendo na maior dose (100 mM) reduções de 87%. Diminuição na concentração de K^+ com o aumento da salinidade também foi encontrado em plantas do gênero *Atriplex* (Brilhante, 2006), em milho (Azevedo Neto *et al.*, 2004) e sorgo (Netondo *et al.*, 2004).

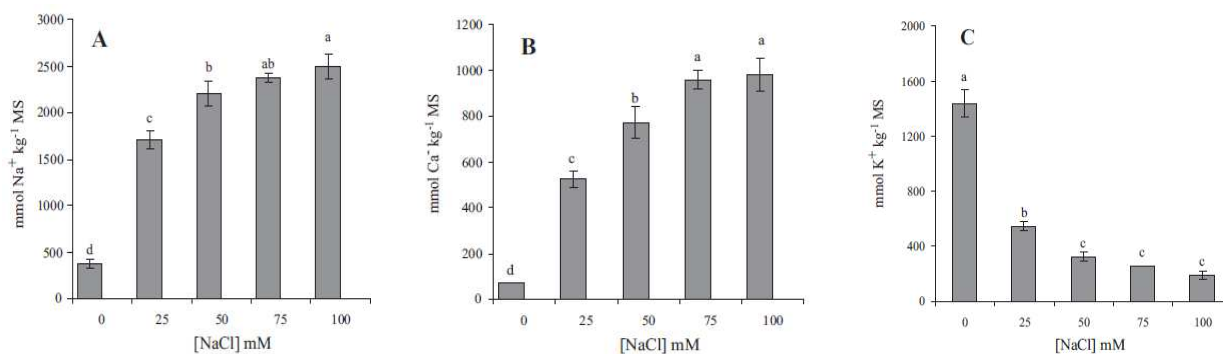


Figura 1 - Concentrações de Na⁺ (A) Cl⁻ (B) e K⁺ (C) em folhas de pinhão-mansó submetidas a diferentes doses de NaCl. Os valores representam médias de 4 repetições (n=4) ± desvio padrão.

As concentrações de K⁺ nas folhas podem ter sido inibidas pelas altas concentrações de sódio através do antagonismo que existe entre esses dois íons. Na realidade, alguns autores têm observado a existência de múltiplos sistemas de absorção com diferentes seletividades para Na⁺ e K⁺ o que pode refletir a necessidade da planta para coordenar o influxo desses cátions (Schachtman & Liu, 1999). Para Lacerda (2005), a duração do estresse e a idade da folha amostrada podem produzir diferentes resultados e interpretações.

A relação K⁺/Na⁺ foi reduzida com o aumento da salinidade (Figura 2), proporcionando reduções de 99,9% nas folhas de plantas de pinhão-mansó. Esses resultados estão de acordo com os dados obtidos por Viégas *et al.* (2001) e Alves *et al.* (2008) que observaram reduções de K⁺/Na⁺ em plantas de cajueiro submetidas à salinidade.

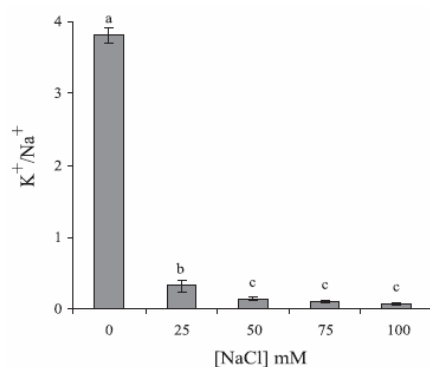


Figura 2 - Relação K⁺/Na⁺ em folhas de plantas de pinhão-mansó submetidas a diferentes doses de NaCl. Os valores representam médias de 4 repetições (n=4) ± desvio padrão.

Diversos autores (Maathuis & Amtmann, 1999) têm correlacionado a resistência à salinidade com a manutenção de uma adequada nutrição potássica dentro de uma planta, podendo a relação K⁺/Na⁺ ser utilizada como critério de seleção de materiais sensíveis e resistentes ao estresse salino. Múltiplos sistemas de absorção com seletividades para K⁺ e Na⁺ podem refletir a necessidade da planta em coordenar o influxo desses cátions (Schachtman & Liu, 1999).

Conclusões

1. A sensibilidade das plantas de pinhão-mansó ao estresse salino deve-se, principalmente, a uma grande acumulação de Na⁺ e Cl⁻ nas folhas.
2. A grande redução na concentração de K⁺ é induzida pelo excesso de Na⁺.

Referências

- ALVES, M. A. L. *et al.* Clones de cajueiro-anão precoce expostos ao estresse salino e ao acúmulo de potássio e sódio. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 03, p. 422-428, 2008.
- ASHRAF, M.; AHAMAD, S. Influence of sodium chloride on ion accumulation, yield components and fibre characteristics ion accumulation, yield components and fibre characteristics hirsutum L. **Field Crops Research**, v. 66, n. 02, p. 115-127, 2000.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, n. 01, p. 3-16, 2004.
- AZEVEDO NETO, A. D. *et al.* Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 16, n. 01, p. 31-38, 2004.
- BRILHANTE, J. C. A. **Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no potencial osmótico de folhas de Atriplex nummularia submetidas ao NaCl, seca e PEG.** 2006. 195 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- GORHAM, J. *et al.* Salinity induced changes in the chemical composition of *Leucaena leucocephala* and *Sesbania bispinosa*. **Journal of Plant Physiology**, v. 132, n. 66, p. 678-682, 1988.
- GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. **Annual review of plant physiology**, v.31, n. 01, p.149-190, 1980.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soil.** Berkeley: University of California, 1950.
- LACERDA, C. F. Interação salinidade x nutrição mineral. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. *et al.* (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas.** Recife: UFRPE, 2005, p.127-137.
- MAATHUIS, F. J. M.; AMTMANN, A. K^+ Nutrition and Na^+ Toxicity: Basis of Cellular K^+/Na^+ Ratios. **Annals of Botany**, v. 84, n. 02, p. 123-133, 1999.
- MALAVOLTA E. *et al.* **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações.** Piracicaba: Potafos, 1997. 201 p.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, n. 02, p. 239-250, 2002.
- NETONDO, G. W. *et al.* Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. **Crop Science**, v. 44, n. 03, p. 806-811, 2004.
- PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Saafey**, v. 60, n. 03, p. 324-349, 2005.
- SAIRAM, R. K.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Current Science**, v. 86, n. 03, p. 407-421, 2004.
- SCHACHTMAN, D.; LIU, W. Molecular pieces to the puzzle of the interaction between potassium and sodium uptake in plants. **Trends Plant Science**, v. 04, n. 07, p. 281-287, 1999.
- SHI, H. *et al.* The putative plasma membrane Na^+/H^+ antiporter SOS1 controls long-distance Na^+ transport in plants. **The Plant Cell**, v. 14, n. 02, p. 466-477, 2002.

VIÉGAS, R. A. *et al.* Effects of NaCl-salinity on growth and inorganic solute accumulation in young cashew plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 05, n. 02, p. 216-222, 2001.

ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 06, n. 05, p. 441-445, 2003.