

CONTRIBUIÇÃO DE SOLUTOS INORGÂNICOS NO AJUSTAMENTO OSMÓTICO DE PINHÃO-MANSO SUBMETIDO À SALINIDADE

Evandro Nascimento da Silva³, Joaquim Albenízio Gomes Silveira³, Cristina Silva de Lima³, Déborah Laurentino de Moraes², Ricardo Almeida Viégas¹ e Renata Figueiredo Marinho¹

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a acumulação de solutos inorgânicos e suas contribuições para o ajustamento osmótico de folhas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) submetido à salinidade. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (0, 25, 50, 75 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl) e quatro repetições. O potencial osmótico das folhas decresceu progressivamente e variou de -0,84 a -2,05 Mpa, enquanto o conteúdo relativo de água aumentou nos tratamentos com 75 e 100 mmol L⁻¹. Os íons Na⁺ e Cl⁻ foram os mais importantes e contribuíram com cerca de 52 e 20%, respectivamente, para o ajustamento osmótico das folhas de plantas tratadas com NaCl. A contribuição do K⁺ decresceu de modo acentuado e foi de 17 e 5% nos tratamentos com 25 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl. As folhas de pinhão-manso ajustam-se osmoticamente em presença de salinidade, e mantêm bom nível de hidratação, principalmente por meio da acumulação de Na⁺ e Cl⁻.

Termos de indexação: *Jatropha curcas*, estresse salino, potencial osmótico, solutos orgânicos.

Introdução

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie oleaginosa viável para a obtenção de biocombustível (Saturnino *et al.*, 2005). Esses autores relatam que os graves problemas a ser enfrentados pelos produtores, no cultivo da espécie em região semi-árida, são a salinidade e a salinização dos solos. No caso de cultivo de sequeiro, será provável a expansão para solos naturalmente salinizados, que são amplamente distribuídos na região Nordeste do Brasil. Na agricultura irrigada, as condições de elevada evapotranspiração, baixa qualidade das águas e baixa pluviosidade em muito deverão contribuir para a salinização secundária.

Para suportar o estresse salino, as plantas têm desenvolvido mecanismos complexos, que contribuem para a adaptação aos estresses osmótico e iônico, provocados pela alta salinidade (Meloni *et al.*, 2004). Esses mecanismos incluem o ajustamento osmótico, que é usualmente acompanhado pela absorção de íons inorgânicos (Strange, 2004), que são sequestrados no vacúolo (Taiz & Zeigler, 2004). Recentemente, Silveira *et al.* (2009) observaram que os íons Na⁺ e Cl⁻ são os solutos mais importantes no ajustamento osmótico de folhas e raízes de *Atriplex nummularia*, e que K⁺ tem sua contribuição diminuída intensamente pela salinidade.

O acúmulo de compostos inorgânicos (Na⁺, K⁺ e Cl⁻) é bem evidenciado em condições de estresse salino; embora esses elementos tenham papel importante no crescimento de plantas superiores nessas condições, suas contribuições relativas variam entre as espécies, entre as cultivares de uma mesma espécie, entre órgãos e tecidos de uma mesma planta e até entre diferentes compartimentos de uma célula (Asharaf & Harris, 2004). Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o acúmulo de solutos inorgânicos e suas respectivas contribuições para o ajustamento osmótico em folhas de pinhão-manso, em diferentes concentrações de NaCl.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, CE (3°44'S e 38°33'W). O período experimental foi de março a abril de 2008. As condições ambientais no interior da casa de vegetação foram: fotoperíodo de 12 horas, temperatura média diária de 28 °C, umidade relativa do ar média de 65% e radiação fotossinteticamente ativa máxima média de aproximadamente 700 μmol m⁻² s⁻¹.

Foram utilizadas sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) fornecidas pelo Instituto Fazenda Tamanduá, Santa Terezinha, PB. Sementes previamente selecionadas por tamanho e peso foram germinadas em areia, e as plântulas foram mantidas por oito dias, até posterior transferência para vasos de 2 L, com

¹ Eng. Florestal, Unidade Acadêmica de Engenharia Florestal, UFCG.

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

³ Eng. Agrônomo, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFC.

solução de Hoagland & Arnon (1950) diluída $\frac{1}{4}$ na primeira semana e $\frac{1}{2}$ na segunda semana, com pH 6, ajustado a cada dois dias com NaOH 0,1 mol L⁻¹ ou HCl 0,1 mol L⁻¹. Na terceira semana, iniciaram-se os tratamentos com NaCl por meio da adição diária de 25 mmol L⁻¹ até atingir as concentrações de 25, 50, 75 e 100 mmol L⁻¹, no quarto dia. Em seguida, as plantas permaneceram por mais 11 dias em exposição aos tratamentos de NaCl. As plantas cultivadas na ausência de NaCl foram consideradas como controle.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos – 0, 25, 50, 75 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl – e quatro repetições. A parcela experimental foi representada por um vaso com uma planta, e o total foi 20 parcelas experimentais. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05). Após a coleta, foi feita pesagem da matéria fresca das folhas que foram, posteriormente, transferidas para secagem em estufa com circulação de ar a 75°C, por 48 horas. Após esse período, foi determinada a massa de matéria seca.

Para a determinação do conteúdo relativo de água (CRA), foram coletados 30 discos foliares de 1 cm, nos quais foi determinada a massa de matéria fresca (MF1). Os discos foliares foram transferidos para placas de Petri com água destilada e deixados sobre uma bancada por 6 horas. A seguir, os discos foram removidos e colocados entre folhas de papel de filtro, pressionados para eliminação do excesso de água e, em seguida, foram pesados novamente (MF2). Logo após, os discos foram colocados em sacos de papel e postos em estufa a 75°C por 48 horas. Foi, então, determinada a massa de matéria seca do material (MS). O conteúdo relativo de água foi calculado pela equação: $CRA = 100[(MF1 - MS)/(MF2 - MS)]$, e a suculência foliar (SF) pela equação: $SF = MF1/A$, em que A representa a área de 30 discos.

Para a determinação da osmolalidade total do tecido foliar, foram coletadas folhas do terço médio da parte aérea da planta, que foram maceradas em almofariz com pistilo. A seiva obtida do tecido foi filtrada e centrifugada a 10.000 g por 10 min a 4°C. Uma alíquota de 10 µL do sobrenadante foi utilizada para a determinação da osmolalidade do tecido, com um osmômetro de pressão de vapor Vapro 5520 (Wescor, Inc., Logan, UT, USA). Os valores obtidos em milimoles por quilograma foram convertidos em potencial osmótico, por meio da equação de Van't Hoff, com a fórmula: $1 \text{ mmol kg}^{-1} = -c \text{ (mosmol kg}^{-1}) \times 2,58 \times 10^{-3}$. O ajustamento osmótico foi estimado pela diferença no potencial osmótico entre plantas com e sem estresse.

Os solutos inorgânicos foram extraídos de tecidos foliares liofilizados, previamente congelados em N₂ líquido. Amostras pulverizadas foram transferidas para tubos hermeticamente fechados, na presença de água deionizada, e colocados em banho-maria a 100°C por 1 hora. Os extratos foram filtrados e armazenados em freezer a -20 °C. Os conteúdos de sódio e potássio foram determinados por fotometria de chama, e o conteúdo de cloreto, pela titulação com AgNO₃. Os teores de nitrato foram determinados segundo método de Cataldo *et al.* (1975).

Todas as concentrações de solutos foram expressas em milimoles por quilograma de água no tecido, após correção da umidade (Silveira *et al.*, 2009). A contribuição de cada soluto para o potencial osmótico foi estimada como percentagem da osmolalidade, por meio da seguinte relação: conteúdo do soluto (mmol do soluto kg⁻¹ de água no tecido)/osmolalidade (mmol kg⁻¹ do solvente) x 100.

Resultados e Discussão

O estresse salino acarretou decréscimo significativo no crescimento foliar, em plantas jovens de pinhão-manso, após 15 dias de tratamento. Mesmo na concentração mais baixa de NaCl (25 mmol L⁻¹), a massa de matéria seca sofreu uma redução de aproximadamente 25%, em comparação com o controle (Figura 1 A). Entre os tratamentos com 50, 75 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl, não houve diferenças significativas. Essa redução foi acompanhada por intensos sintomas visuais de toxicidade causados pelo estresse salino, caracterizados por clorose seguida de necrose, inicialmente em áreas localizadas das folhas com progressiva expansão, em consequência da dose de NaCl e do tempo de exposição.

Apesar dos efeitos tóxicos da salinidade sobre as folhas de pinhão-manso, os indicadores de estado hídrico, conteúdo relativo de água (CRA) e suculência foliar não diminuíram na presença do sal. Ao contrário, nos tratamentos com 75 e 100 mmol L⁻¹ de NaCl, houve aumento significativo dessas variáveis, em relação ao controle (Figura 1 B e C). Portanto, o estresse salino não afetou negativamente o grau de hidratação das folhas, e o excesso de íons acumulados contribuiu para a retenção de água no tecido.

O aumento nos valores da suculência foliar e no conteúdo relativo de água induzido pelo NaCl são indicativos de ter ocorrido um efetivo ajustamento osmótico em plantas com estresse, conforme observado por Martínez *et al.* (2004). Os efeitos da salinidade sobre o potencial osmótico estão apresentados na Figura 1 D, em que se observa que esse parâmetro foi sistematicamente reduzido em plantas tratadas com NaCl. A variação foi de -0,84 (0 mmol L⁻¹) a -2,05 MPa em 100 mmol L⁻¹ de NaCl. Vários autores relatam

que a redução do potencial osmótico foliar, em plantas lenhosas submetidas à salinidade, tem como principal causa a maior absorção dos íons Na^+ e Cl^- (Silveira *et al.*, 2009).

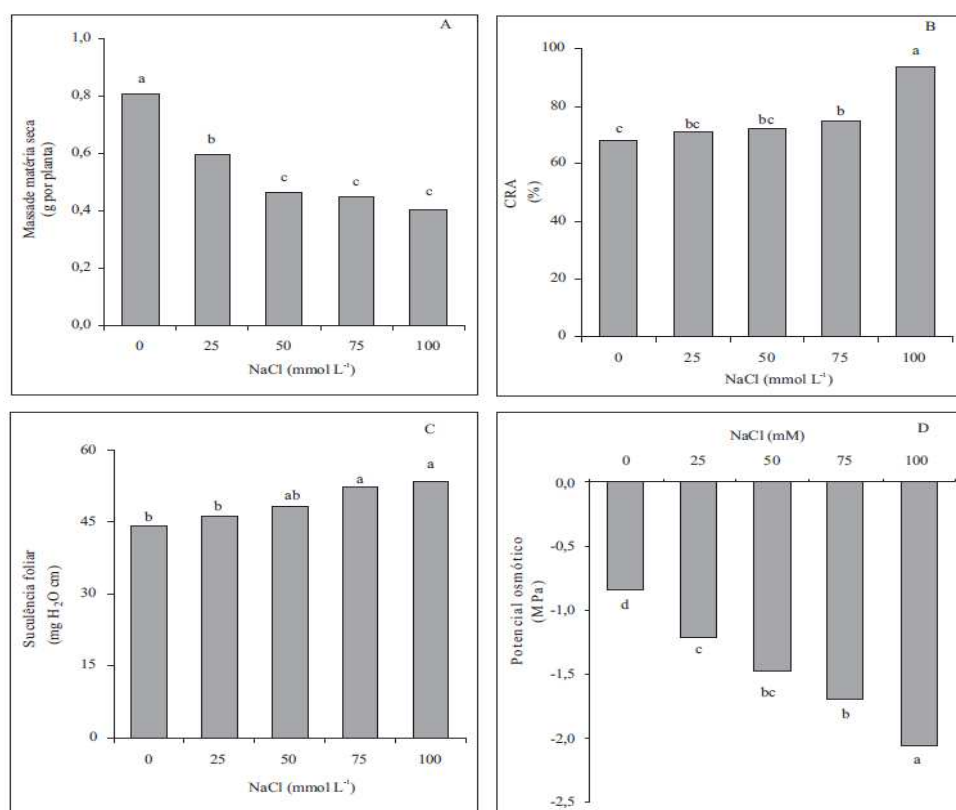


Figura 1. Massa de matéria seca (A), conteúdo relativo de água (B), suculência foliar (C) e potencial osmótico (D) em folhas de pinhão-mansão, expostas a diferentes concentrações de NaCl durante 15 dias. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os conteúdos de Na^+ e Cl^- foram significativamente maiores em folhas expostas ao sal em comparação ao controle. Os aumentos ocorreram a partir da concentração 25 mmol L^{-1} e apresentaram tendência de estabilização a partir de 50 mmol L^{-1} (Figura 2 A e B). O conteúdo de Na^+ na concentração mais elevada de sal atingiu aproximadamente 373 mmol L^{-1} (expressa na base de água no tecido), cerca de quatro vezes a concentração de Na^+ na solução nutritiva, enquanto a soma das concentrações de Na^+ e Cl^- nas folhas, nesse mesmo tratamento, alcançou 520 mmol L^{-1} , valor aproximadamente cinco vezes maior do que a concentração externa na solução.

Isso indica que essa espécie não possui mecanismos eficientes de redistribuição e exclusão de Na^+ e Cl^- para atuar na redução do excesso de íons salinos, acumulados na parte aérea de plantas sob salinidade (García-Sánchez *et al.*, 2002). Os íons Na^+ e Cl^- contribuíram com aproximadamente 17 e 4%, respectivamente, para o ajustamento osmótico das plantas de pinhão-mansão não tratadas com NaCl, enquanto as tratadas apresentaram contribuições médias de 52 e 20%, respectivamente (Tabela 1). Esses dados mostram que os próprios íons salinos são, quantitativamente, os solutos mais importantes para o ajustamento osmótico de folhas de pinhão-mansão submetido à salinidade. Esse tipo de resposta ocorre frequentemente em glicófitas e em halófitas submetidas ao estresse salino (Silveira *et al.*, 2009).

Os conteúdos de K^+ e NO_3^- nas folhas foram significativamente menores em plantas expostas ao sal em comparação às do controle (Figura 2 C e D). Essas reduções foram significativas a partir da dose de 25 mmol L^{-1} e apresentaram tendência à estabilização a partir da dose de 50 mmol L^{-1} . Na concentração mais elevada de sal, as reduções de K^+ e NO_3^- foram de 89 e 37%, respectivamente. Diminuição na concentração de K^+ nas folhas com o aumento da salinidade também foi encontrada em milho por Azevedo Neto *et al.* (2004). A redução intensa nos conteúdos de K^+ , causada pela salinidade do NaCl, deverá ter sérias implicações no ajustamento osmótico do citosol e organelas de folhas de pinhão-mansão.

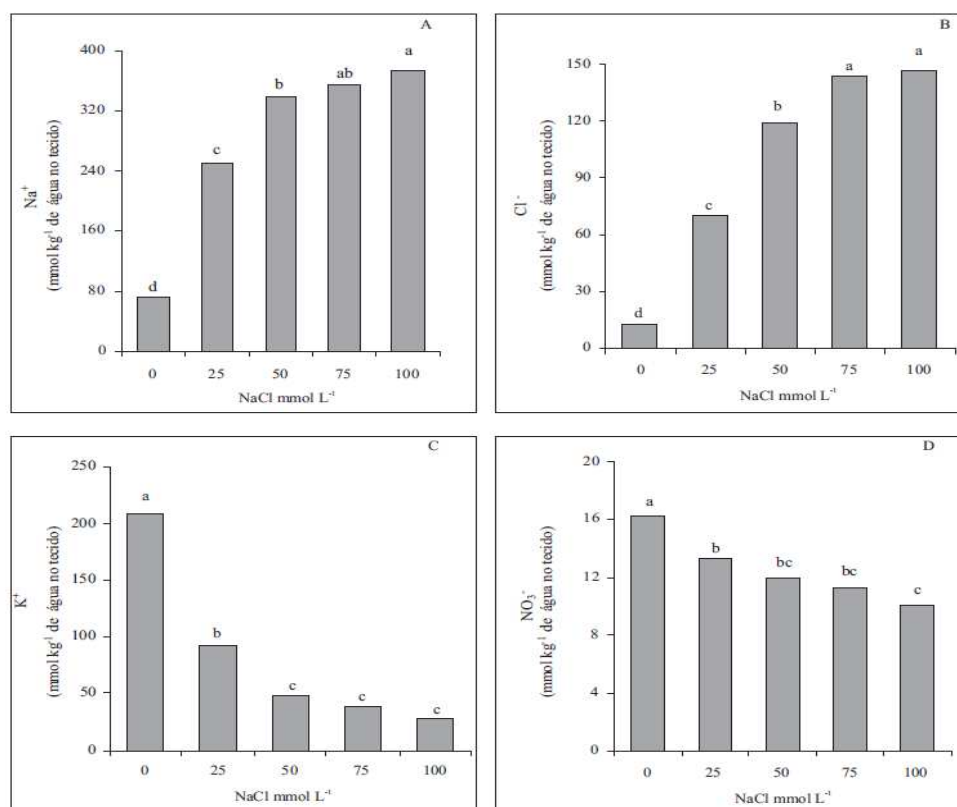


Figura 2. Conteúdos de sódio (A), potássio (B), cloreto (C) e nitrato (D), em folhas de pinhão-mansó, expostas a diferentes concentrações de NaCl durante 15 dias. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

De fato, nas plantas controle, esse soluto mostrou contribuição de aproximadamente 50% no ajustamento osmótico, enquanto nas plantas tratadas com 100 mmol L⁻¹ de NaCl, essa contribuição foi de apenas 5% (Tabela 1). Adicionalmente, a contribuição do nitrato, para o potencial osmótico foliar de plantas de pinhão-mansó, também foi reduzida pela salinidade que variou de 4 a 1,5% (Tabela 1).

Tabela 1. Contribuição relativa (%) de solutos inorgânicos, na osmolalidade total das folhas de plantas de pinhão-mansó, expostas a diferentes concentrações de NaCl durante 15 dias.

NaCl (mmol L ⁻¹)	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	NO ₃ ⁻
0	17,40	50,54	3,79	4,24
25	48,57	17,01	14,15	2,70
50	54,73	7,92	18,78	1,90
75	53,64	5,46	23,38	1,60
100	50,80	5,30	23,22	1,49

A maior contribuição relativa de Na⁺ e Cl⁻ em folhas de plantas estressadas são indicadores que o pinhão-mansó possui algumas características semelhantes a de espécies halófitas que exibem grande avidez por íons salinos (Silveira *et al.*, 2009). A contribuição excessiva dos íons salinos é indicação de que o pinhão-mansó se ajusta osmoticamente a concentrações de elevadas de NaCl, basicamente pelo uso do sódio e do cloreto, principalmente o Na⁺. Estes resultados corroboram os de Alarcón *et al.* (1993), que observaram em algumas espécies de tomate não domesticadas, expostas à salinidade por período longo, um ajustamento osmótico quase exclusivamente à custa dos íons sódio e cloreto. Ao contrário dos íons salinos (Na⁺ e Cl⁻), o potássio se caracterizou por apresentar baixa contribuição relativa para o ajustamento osmótico, em folhas de pinhão-mansó submetidas à elevada salinidade. Em concentrações altas de Na⁺, a absorção de K⁺ é inibida por meio de um transportador com afinidade alta a K⁺-Na⁺, e esse transportador opera como um sistema de absorção para Na⁺ (Taiz & Zeigler, 2004).

Conclusões

1. O pinhão-manso é capaz de se ajustar osmoticamente em presença de salinidade, por redução intensa no potencial osmótico e aumento do estado hídrico das folhas em concentrações elevadas de NaCl.
2. Os íons salinos Na⁺ e Cl⁻ contribuem para a maioria do ajustamento osmótico, e a contribuição do K⁺ é diminuída intensamente pelo NaCl.

Referências

ALARCÓN, J.J.; SANCHEZ-BLANCO, M.J.; BOLARÍN, M.C.; TORRECILLAS, A. Water relations and osmotic adjustment in *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii* during short-term salt exposure and recovery. **Physiologia Plantarum**, v.89, p.441-447, 1993.

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

AZEVEDO NETO, A.D. de; PRISCO, J.T.; ENÉAS FILHO, J.; LACERDA, C.F. de; SILVA, J.V.; COSTA, P.H.A. da; GOMES FILHO, E. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.16, p.31-38, 2004.

CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.6, p.71-80, 1975.

GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; JIFON, J.L.; CARVAJAL, M.; SYVERTSEN, J.P. Gas exchange, chlorophyll and nutrient contents in relation to Na⁺ and Cl⁻ accumulation in 'Sunburst' mandarin grafted on different rootstocks. **Plant Science**, v.162, p.705-712, 2002.

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

MARTÍNEZ, J.P.; LUTTS, S.; SCHANCK, A.; BAJJI, M.; KINET, J.M. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub *Atriplex halimus* L.? **Journal of Plant Physiology**, v.161, p.1041-1051, 2004.

MELONI, D.A.; GULOTTA, M.R.; MARTÍNEZ, C.A.; OLIVA, M.A. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycine betaine accumulation in *Prosopis alba*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.16, p.39-46, 2004.

SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N.P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, v.26, p.44-78, 2005.

SILVEIRA, J.A.G.; ARAÚJO, S.A.M.; LIMA, J.P.M.S.; VIÉGAS, R.A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. **Environmental and Experimental Botany**, v.66, p.1-8, 2009.

STRANGE, K. Cellular volume homeostasis. **Advances in physiology education**, v.28, p.155-159, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGHER, E. **Plant physiology**. 3.ed. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 719p.