

**PATRÍCIA CARNEIRO DA CUNHA**

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE *Jatropha curcas* L. CULTIVADA SOB  
ESTRESSE SALINO**

**Recife – PE**

**2009**

PATRÍCIA CARNEIRO DA CUNHA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE *Jatropha curcas* L. CULTIVADA SOB ESTRESSE SALINO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGB), da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Botânica, com área de concentração em Fisiologia e Biotecnologia Vegetal.

Orientadora: Dra. Lilia Gomes Willadino

Conselheiros: Dra. Terezinha Rangel Camara

Dr. Gilberto de Souza e Silva Júnior

Recife – PE

2009

Patrícia Carneiro da Cunha

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE *Jatropha curcas* L. CULTIVADA SOB ESTRESSE SALINO**

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora:

Orientadora: \_\_\_\_\_

Dra. Lilia Willadino

Examinadores: \_\_\_\_\_

Dra. Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira

\_\_\_\_\_  
Dr. Egídio Bezerra Neto

\_\_\_\_\_  
Dra. Elizamar Ciríaco da Silva

\_\_\_\_\_  
Dr. Levy Paes Barreto (Suplente)

Recife – PE

2009

A toda minha família, especialmente ao meu marido, Ivan, e a minha filha, Vitória, pois sem eles eu não teria força para alcançar meus objetivos.

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

Ao nosso Deus, todo poderoso, pela saúde, graça e a certeza de vitória.

A todos os meus familiares, em especial aos meus pais, minha avó, minhas irmãs e meu irmão, meus tios, minhas tias, meus sobrinhos e afilhados.

A minha amiga, de hoje e de sempre, Nise Souto por toda amizade, atenção e apoio que me deu em todos os momentos que precisei.

Às minhas amigas Andresa, Aurenívia, Bruna e Marta por todo apoio, atenção e companheirismo durante minha trajetória.

À Professora Lilia Willadino pela maravilhosa orientação e dedicação, assim como, pela paciência e compreensão que teve comigo durante todo o desenvolvimento do trabalho.

Aos professores Terezinha Camara e Gilberto Silva Júnior pelo apoio, atenção e orientação dada durante a execução do trabalho.

Ao técnico em química do Laboratório de Cultura de Tecidos, Wellington, e o estagiário André do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas e Bioquímica Vegetal que me ajudaram bastante no decorrer do trabalho.

Aos estagiários Luciana e Fabian, pela grandiosa ajuda dada durante a execução do trabalho.

A todos que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Ao Reitor da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Prof. Valmar Correa de Andrade, pela oportunidade de realização e concretização dessa dissertação.

Aos professores Egídio e Levy por terem sido bastante solícitos nas orientações dadas diante das dúvidas que surgiam.

Ao pesquisador Almir do CETENE pela prestimosa ajuda no fornecimento das sementes da espécie de trabalho, pela bibliografia sobre a espécie fornecida, assim como, pela prestimosa atenção.

Aos funcionários da UFRPE que fazem a Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Botânica, especialmente a D. Margarida e Ariane pelo carinho e atenção.

Aos que fizeram parte da banca examinadora desta dissertação.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente me ajudaram e me apoiaram, tornando possível a realização deste trabalho.

*Deus sempre sabe e faz tudo  
que nós precisamos e merecemos,  
basta crer, confiar e fazer por onde  
merecer, que ele nunca nos faltará.*

Cunha, Patrícia Carneiro da; M.Sc.; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Fevereiro de 2009; Aspectos fisiológicos e bioquímicos de *Jatropha curcas* cultivada sob estresse salino; Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lilia Gomes Willadino (Orientadora); Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Terezinha Rangel Camara (Conselheira); Prof. Dr Gilberto de Souza e Silva Júnior (Conselheiro).

## RESUMO

No Brasil, com o advento do Programa Brasileiro de Biodiesel e o surgimento de grande demanda por óleos vegetais, o pinhão-mansão tem sido divulgado como uma alternativa para fornecimento de matéria-prima. Porém, o incentivo ao plantio do pinhão manso em extensas áreas causa grande apreensão aos técnicos envolvidos com a pesquisa agrícola no Brasil, pois é uma cultura sobre a qual o conhecimento técnico ainda é extremamente limitado. A prática da irrigação é um instrumento efetivo no aumento da produtividade e na expansão de fronteiras agrícolas, porém, quando utilizada inadequadamente pode causar problemas de excesso de sais nos solos, principalmente nas regiões áridas e semi-áridas, diminuindo os rendimentos das culturas. As condições edafoclimáticas dessas regiões e a ação antrópica também propiciam à salinização dos solos. A salinidade dos solos pode alcançar níveis prejudiciais às plantas cultivadas em um curto período de tempo e dependendo da espécie vegetal as injúrias apresentam vários graus de severidade. Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar as respostas fisiológicas e bioquímicas de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.), sob condições salinas. Foram estabelecidos sete tratamentos: 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl. O crescimento da planta foi avaliado, mediante a determinação do número de folhas (NF), área foliar (AF), produções de matéria fresca e seca totais (MFT e MST), taxa de crescimento absoluto e relativo (TCA e TCR). Foram analisados, nos tecidos foliares, os teores de prolina, carboidratos solúveis totais, fenóis totais, proteínas solúveis totais, assim como, as porcentagens de integridade absoluta, de integridade relativa e de danos das membranas celulares. Foram feitas também a determinação dos teores de Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> e K<sup>+</sup> nas folhas, caules e raízes das plantas. Foi utilizado o desenho experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, totalizando 35 unidades experimentais, durante o período de 28 dias. O incremento da salinidade reduziu o crescimento das plantas em todas as variáveis analisadas. A área foliar foi reduzida a partir da concentração de 45 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl e a produção de matéria fresca e seca, bem como a taxa de

crescimento, a partir de  $60 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl. Foi observada elevação nos teores de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{Cl}^-$  tanto na folha, como no caule e na raiz, e redução nos teores de  $\text{K}^+$  nas folhas e nas raízes à medida que foram incrementadas as concentrações de sal na solução nutritiva. A concentração de carboidratos solúveis aumentou significativamente apenas nas plantas submetidas a  $30 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl e os teores de proteínas solúveis totais, nas concentrações de 15 a  $30 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl. O teor de fenóis totais aumentou nas plantas tratadas com concentração de NaCl igual ou superior a  $30 \text{ mol.m}^{-3}$ . Observou-se redução da integridade da membrana apenas nas concentrações mais severas de salinidade. O acúmulo de solutos orgânicos foi concomitante ao decréscimo do crescimento. Os elevados teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  indicam a ausência de mecanismos de extrusão desses íons bem como de translocação para a parte aérea.

**Palavras-chaves:** Compostos orgânicos, crescimento, íons, pinhão-manso, salinidade.

Cunha, Patrícia Carneiro da; M.Sc.; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Fevereiro de 2009; Aspectos fisiológicos e bioquímicos de *Jatropha curcas* cultivada sob estresse salino; Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilia Gomes Willadino (Orientadora); Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Terezinha Rangel Câmara (Conselheiro); Prof. Dr Gilberto de Souza e Silva Júnior (Conselheiro).

## **ABSTRACT**

In Brazil, with the advent of the Brazilian Biodiesel Program and emergence of high demand for vegetable oils, the pinion gentle has been disclosed as an alternative for the raw material supply. However, encouraging the planting of large areas in pinion gentle causes great concern to practitioners involved with agricultural research in Brazil, due to limitation of the technical knowledge for this culture. The irrigation practice it's an effective instrument in the productivity increasing and expansion of agricultural frontiers, but when improperly used can be cause problems of the soil salts excess, especially in arid and semi-arid regions, reducing the crop yield. The edafoclimatic conditions of these regions and the anthropic action also provide the soils salinization. Soil salinity can be reach harmful levels to plants grown in a short time period and depending of the vegetable species the injuries have varying severity degrees. Before the above, the present study aimed to evaluate the physiological and biochemical responses of pinion gentle (*Jatropha curcas* L.) under saline conditions. Seven treatments were established: 0, 15, 30, 45, 60, 75 and 90 mol.m<sup>-3</sup> of NaCl. The plant growth was evaluated by determination of the leaves number (LN), leaf area (LA), fresh and dry matter total production (FMT and DMT), absolute and relative growth rate (AGR and RGR). Were analyzed, in leaf tissues, the proline tenors, total soluble carbohydrates, total phenols, total soluble proteins, as well as, the absolute integrity, relative integrity and cells membrane damage percentages. The Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> levels determination was also performed in plants leaves, stems and roots. The experimental design was completely randomized with five replicates, totaling 35 experimental units during the period of 28 days. Increased salinity reduced plant growth in all variables. Leaf area was reduced from the concentration of 45 mol.m<sup>-3</sup> NaCl and the fresh and dry matter production and the growth rate from the 60 mol.m<sup>-3</sup> NaCl. Was observed an elevation in Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> levels in the leaves well as in the stem and root, and the K<sup>+</sup> levels reduction in leaves and roots with the salt concentration increased in nutritive solution. The soluble carbohydrates concentration increased significantly

only in plants subjected to 30 mol.m<sup>-3</sup> of NaCl and the soluble protein content in concentrations of the 15 to 30 mol.m<sup>-3</sup> of NaCl. The total phenols content increased in plants treated with NaCl concentration equal or higher to 30 mol.m<sup>-3</sup> of NaCl. It was observed a membrane integrity reduction only in the most severe salinity concentrations. The organic solutes accumulation was concomitant to decrease in the growth. The Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> high levels indicate the absence of extrusion mechanisms for these ions as well as translocation to the shoot.

**Key-words: Organic compounds, growth, ions, pinion-gentle, salinity.**

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Aspectos gerais da espécie.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1.1 Características botânicas.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1.2 Origem e ocorrência.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1.3 – Importância econômica.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2. – Aspectos gerais da salinidade.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2.1 – Definição e causas.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2.2 – Extensão da salinidade nos solos .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2.3 – Influência do excesso de sais do solo na planta.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.3.1 Alterações bioquímicas.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.3.2 Alterações no crescimento.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2.3.2 Alterações iônicas.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2.3.4 Danos oxidativos.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2.4 – Mecanismos de tolerância das plantas à salinidade.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2.4.1 – Tolerância aos efeitos osmóticos.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2.4.2 - Tolerância aos efeitos iônicos.....</b>	<b>20</b>
<b>2.2.4.3 –Tolerância aos danos oxidativos.....</b>	<b>21</b>
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>23</b>
<b>4. MANUSCRITO.....</b>	<b>32</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>33</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>34</b>
<b>Materiais e métodos.....</b>	<b>35</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>36</b>
<b>Discussão.....</b>	<b>42</b>
<b>Agradecimentos.....</b>	<b>46</b>
<b>Referências.....</b>	<b>46</b>
<b>5. ANEXO: Normas da Revista Journal of Plant Physiology.....</b>	<b>51</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Tabela 1.** Número de folhas (NF), matéria fresca total (MFT), matéria seca total (MST), taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR) e área foliar (AF) de plântulas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em casa de vegetação durante 28 dias sob diferentes concentrações de NaCl.....pág. 38

**Tabela 2.** Teores de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas folhas, caules e raízes de plântulas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em casa de vegetação durante 28 dias sob diferentes concentrações de NaCl.....pág. 40

**Tabela 3.** Teores de prolina, carboidratos solúveis totais, proteínas solúveis totais e fenóis totais de plântulas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em casa de vegetação durante 28 dias sob diferentes concentrações de NaCl.....pág. 41

**Figura 1.** Porcentagem da integridade absoluta (PIA), integridade relativa (PIR) e danos (PD) nas membranas celulares em plântulas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes concentrações de NaCl, cultivadas em casa de vegetação durante 28 dias.....pág. 42

## 1. INTRODUÇÃO

*Jatropha curcas* L., conhecida popularmente como pinhão-mansão, é uma espécie nativa da América tropical e, segundo Openshaw (2000), ocorre em muitas partes dos trópicos e subtropicais da África e da Ásia. Embora seja uma planta conhecida e cultivada no continente americano desde a época pré-colombiana e esteja disseminada em todas as regiões tropicais e até em algumas áreas temperadas, a espécie ainda encontra-se em processo de domesticação e somente nos últimos 30 anos começou a ser mais pesquisada agronomicamente (SATURNINO et al., 2005).

De acordo com a literatura, *J. curcas* é uma espécie bastante utilizada de forma medicinal e como cerca viva (ARRUDA et al., 2004; CÁCERES et al., 2008) e, atualmente, está entre as mais promissoras fontes de grãos oleaginosos, por apresentar um alto índice de produtividade, facilidade de manejo e de colheita das sementes, o que torna seu cultivo bastante atrativo e especialmente recomendado para um programa de produção de óleos vegetais (SLUSZZ e MACHADO, 2006). Diante da busca por sistemas sustentáveis, somada à gradual redução das reservas de petróleo, alternativas produtivas vêm sendo estudadas, e *J. curcas* L. destaca-se pela alta produção de óleo por hectare e por não concorrer pela demanda de alimentos, como ocorre com outras culturas oleaginosas (FRIGO et al., 2008).

Em 1985, o CETEC (Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais), iniciou estudos de produção de biodiesel a partir do óleo de *J. curcas* e realizou testes em motores estacionários, porém, sem muito êxito (TEIXEIRA, 2005). Esse fato diminuiu o incentivo às pesquisas com a referida espécie no Brasil. Em contrapartida, outros países como a Índia, por exemplo, continuaram investindo na cultura, obtendo respostas positivas. Há pouco mais de três anos, ressurgiu o interesse para o seu cultivo, por ser uma possível alternativa para a produção de óleo de boa qualidade para a produção sustentável de biodiesel no Brasil (BELTRÃO et al., 2006).

Segundo Teixeira (2005), *J. curcas* tem uma menor exigência hídrica e nutricional, capacidade de recuperação de áreas degradadas em função das raízes profundas, além de registrar uma boa produtividade agrícola (5t/ha). Essa recuperação dos solos, resultado do adequado sistema radicular, auxilia na reciclagem de nutrientes das camadas mais profundas do solo, além de proporcionar sombreamento para o solo, reduzindo assim os riscos de erosão e de

desertificação (JONGSCHAAP et al., 2007), o que pode ser bastante viável, principalmente, para a região Nordeste do Brasil.

A prática da irrigação é um instrumento efetivo no aumento da produtividade e na expansão de fronteiras agrícolas, porém, quando utilizada inadequadamente pode causar problemas de excesso de sais nos solos, principalmente nas regiões áridas e semi-áridas, diminuindo os rendimentos das culturas, ou até mesmo resultando no abandono das terras (FERREIRA et al., 2005). As condições edafoclimáticas dessas regiões também propiciam à salinização dos solos. A ação antrópica é outro fator determinante no processo de salinização.

A salinidade dos solos pode alcançar níveis prejudiciais às plantas cultivadas em um curto período de tempo e dependendo da espécie vegetal as injúrias apresentam vários graus de severidade. Embora, em algumas espécies, a acumulação de íons sódio e cloreto auxiliem no ajustamento osmótico e na redução do potencial hídrico da planta, o excesso de sais por um longo período pode causar danos por toxicidade, quando não exportados, secretados ou compartimentados adequadamente (FRICKE et al., 2006). As culturas respondem diferenciadamente à salinidade, algumas com rendimentos aceitáveis em condições de elevada condutividade elétrica do solo ou da água de irrigação, enquanto outras são sensíveis em níveis relativamente baixos (GURGEL et al., 2003).

O excesso de sais na superfície do solo pode afetar fortemente o crescimento das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2004; LARCHER, 2004). O preciso mecanismo pelo qual o excesso de sais dissolvidos no solo provoca reduções no crescimento das plantas superiores inclui o efeito osmótico, o efeito direto de toxicidade iônica (SILVA et al., 2005). A tolerância ao estresse salino pode ser em função do controle da aquisição e da alocação de íon sódio na planta, do ajustamento osmótico e/ou osmoprotetor e de outros processos fisiológicos do vegetal (CHEESEMAN, 1988).

Diante do exposto o trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações salinas sobre o crescimento, síntese de solutos orgânicos e equilíbrio iônico ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$ ) em *Jatropha curcas* L., visto que os trabalhos nessa área, com a citada espécie, são bastante escassos no Brasil, além do que, o país necessita concretizar estudos com culturas que apresentem potencial para subsidiar o crescimento sócio-econômico, principalmente na região Nordeste.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Aspectos gerais da espécie**

#### **2.1.1 Características botânicas**

A família Euphorbiaceae, com cerca de 317 gêneros e 8.000 espécies, distribui-se principalmente nos trópicos e subtropicais (CRONQUIST, 1981). Entre essas espécies, existe a *Jatropha curcas* L., cujo nome tem a sua origem associado às suas propriedades medicinais (MAKKAR e BECKER, 1999).

*J. curcas* L. é um arbusto grande, de crescimento rápido, cuja altura varia frequentemente de dois a três metros, podendo alcançar até cinco metros. As folhas são decíduas, alternadas e subopostas, filotaxia em espiral, cada folha dista 105° da próxima, os pecíolos são longos e esverdeados, dos quais partem as nervuras divergentes, e no final da época seca ou durante a estação fria, as folhas caem, em parte ou totalmente (SATURNINO et al., 2005). O diâmetro do tronco é de aproximadamente 20 cm, possui poucas ramificações, caule liso, de lenho mole e medula desenvolvida, mas pouco resistente; floema com longos canais que se estendem até as raízes, nos quais circula o látex, suco leitoso que corre com abundância em qualquer ferimento (ARRUDA et al., 2004). As flores da espécie são pequenas, amarelo-esverdeadas e o fruto é uma cápsula com três sementes escuras e lisas (MARTINS et al., 2008). A semente do pinhão-manso pesa de 0,48 a 0,72g e fornece de 50 a 52% de óleo extraído com solventes e 32 a 35% em caso de extração por trituração e aquecimento da amêndoa (BRASIL, 1992). O gênero *Jatropha* apresenta polinização entomófila (SATURNINO et al., 2005), o que aumenta a probabilidade de ocorrência de variabilidade genética dentro das espécies.

### **2.1.2 Origem e ocorrência**

De acordo com a “Society for Rural Initiatives for Promotion of Herbals”, *J. curcas* L., é uma espécie originária da América Central, com relatos de mais de 70 milhões de anos atrás. Peixoto (1973) julga que o pinhão-mansão seja oriundo da América do Sul, Brasil e ainda das Antilhas, e que foi introduzida em 1783, nas Ilhas do Arquipélago de Cabo Verde, alcançando depois a África e a Índia, e posteriormente disseminada por todas as regiões tropicais, temperadas e, em menor proporção, nas regiões frias.

Já Heller (1996) alega que o pinhão-mansão foi originado no México e América Central, mas que é cultivado em muitos outros países latino-americanos, africanos e asiáticos como cerca viva e que foi um importante produto de exportação nas Ilhas de Cabo Verde durante a primeira metade do século passado. Porém, esse mesmo autor relata que as informações sobre o país de sua origem ainda não são totalmente claras, visto que vários trabalhos relatam origens diferentes da espécie e que apesar de diversos cientistas terem tentado definir a origem da *J. curcas* L., a sua fonte continua bastante controversa.

O fato é que o pinhão-mansão é encontrado em quase todas as regiões intertropicais, estendendo sua ocorrência à América Central, Índia, Filipinas e Timor, até mesmo às zonas temperadas (EPAMIG, 2008). Segundo esse mesmo autor, a espécie ocorre praticamente em todas as regiões do Brasil, sempre de forma dispersa e adaptando-se em condições edafoclimáticas variadas, propagando-se, sobretudo, nos estados do Nordeste, assim como em Goiás e Minas Gerais e, de modo geral, crescendo nos terrenos abandonados e não cultivados, não subsistindo, porém, nos locais de densa vegetação, com a qual dificilmente consegue competir.

### **2.1.3 – Importância econômica**

De acordo com Openshaw (2000), *J. curcas* é uma planta com muitos atributos, múltiplos usos e considerável potencial, em especial para prevenção e controle de erosão do solo (JONGSCHAAP et al., 2007), recuperação do solo e como cerca viva, principalmente para incluir

ou excluir os animais. Tong et al. (2006) acrescentam que a espécie, também pode produzir sabão, cosméticos, pesticidas e medicamentos anticancerígenos.

Outros aspectos positivos se referem à produção de óleo com a vantagem de armazenamento das sementes por longos períodos de tempo, sem os inconvenientes da deterioração do óleo por aumento da acidez livre, como acontece com os frutos de dendê, por exemplo (SLUSZZ e MACHADO, 2006). *J. curcas* L. apresenta uma grande vantagem em relação a outras culturas, pois, ela se adapta a variadas condições externas, como por exemplo, solos contaminados por metais pesados (KUMAR et al., 2008).

O pinhão-manso leva de três a quatro anos para atingir a idade produtiva, que se estende por 40 anos, e produz, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectare, o que reflete de forma positiva para o cultivo da espécie (CARNIELLI, 2007). Há diversos relatos do uso do óleo e sementes de pinhão-manso em lamparinas e candeiros, por ser inodoro e ao ser queimado não produzir fumaça (SATURNINO et al., 2005).

Na medicina doméstica, aplica-se o látex da planta como cicatrizante, hemostático e purgante, as raízes são consideradas diuréticas e antileucêmicas e as folhas são utilizadas para combater doenças de pele. São eficazes também contra o reumatismo e possuem alto poder anti-sifilítico, porém, verificam-se casos de intoxicação pelas sementes, em crianças e adultos quando ingeridas em excesso, o que pode ser perigoso e até fatal (ARRUDA et al., 2004). Esses autores também relatam que se atribuem as propriedades tóxicas do pinhão-manso a uma globulina, a curcasina, e também ao ácido jatrópico de toxicidade igual ou superior a ricinina.

O pinhão-manso é utilizado industrialmente no arquipélago de Cabo verde, em Angola, Guiné, Moçambique, Antilhas Britânicas, Filipinas, México, Porto Rico, Venezuela e El Salvador, sempre em consórcio com outras culturas (PEIXOTO, 1973). Porém, atualmente, a Índia vem se destacando na cultura do pinhão-manso. Segundo Saturnino et al. (2005), esse país vem desenvolvendo um grande programa de pesquisa com essa espécie, entre outras oleaginosas, visando produção de biodiesel.

No Brasil, com o advento do Programa Brasileiro de Biodiesel e o surgimento de grande demanda por óleos vegetais, o pinhão-manso tem sido divulgado como uma alternativa para fornecimento de matéria-prima. Esta escolha se baseia na expectativa de que a planta tenha baixo custo de produção e seja resistente ao estresse hídrico, o que seria uma vantagem significativa principalmente na região semi-árida do país (BELTRÃO et al., 2007). A resistência ao estresse

hídrico parece estar relacionada com o gene JcPIP2 da aquaporina encontrado em *J. curcas*, entre outros fatores (ZHANG et al., 2007).

Porém, o incentivo ao plantio do pinhão manso em extensas áreas causa grande apreensão aos técnicos envolvidos com a pesquisa agrícola no Brasil, pois é uma cultura sobre a qual o conhecimento técnico ainda é extremamente limitado (BELTRÃO et al., 2006).

## **2.2. – Aspectos gerais da salinidade**

### **2.2.1 – Definição e causas**

O termo salinidade se refere à existência de níveis de sais solúveis no solo que possam prejudicar significativamente o rendimento das plantas cultivadas (RIBEIRO et al., 2007, MUNNS e TESTER, 2008). Os ambientes salinos são definidos pela elevada concentração de sais solúveis no solo ( $\geq 4 \text{ dS.m}^{-1}$  de condutividade elétrica), os quais podem ter origens tanto naturais como antropogênicas (WILLADINO e CÂMARA, 2004).

O acúmulo de sais no solo poderá ser de origem primária (intemperismo químico da rocha-mãe), ou secundária, causado pelos sais contidos na água de irrigação (RICHARDS, 1974). A ocorrência de solos salinos, salino-sódicos e sódicos é comum nas regiões áridas e semi-áridas em razão da baixa precipitação pluvial e alta taxa de evaporação (RUIZ et al., 2006). De acordo com Taiz e Zeiger (2004), a evaporação e a transpiração removem água pura (sob forma de vapor) do solo e esta perda de água concentra solutos no solo. Outra forma de acúmulo de sais ocorre quando a água de irrigação contém uma alta concentração de solutos e não há possibilidade de descarregá-los em um sistema de drenagem, o que pode rapidamente alcançar níveis prejudiciais ao crescimento normal das plantas.

A prática de irrigação com água em quantidade insuficiente, principalmente na área dos perímetros irrigados, também favorece o processo de salinização dos solos. As fontes de águas subterrâneas (poços) e superficiais (açudes de pequeno e médio portes e lagoas), utilizadas na região semi-árida do Nordeste brasileiro, apresentam elevada concentração salina, principalmente dos pequenos e médios reservatórios e aumenta durante o período seco, quando o volume da água

é significativamente reduzido (AQUINO et al., 2007). A utilização de fontes de águas salinas também pode, dependendo de sua composição, alterar de forma negativa as propriedades físicas e químicas do solo (AQUINO et al., 2007).

### **2.2.2 – Extensão da salinidade nos solos**

Baseado nos dados da FAO (2008), a área total dos solos salinos é de 397 milhões de hectares e de solos sódicos é de 434 milhões de hectares, que não são necessariamente aráveis, mas abrangem toda área afetada pelo sal em nível mundial. Entre as terras irrigadas, dos 230 milhões de hectares de terras irrigadas no mundo, 45 milhões de hectares são afetados por sais (19,56%), (FAO, 2008).

No Brasil, embora a informação sobre as áreas salinizadas ainda não esteja bem definida, estima-se que 20 a 25 % das áreas irrigadas próximas aos rios e riachos intermitentes, principalmente nos solos aluviais, apresentam problemas de salinidade e/ou problemas de drenagem. Além dos solos salinos em áreas irrigadas, também existem grandes áreas afetadas por causas naturais no país (2,4 % do total da área terrestre do Brasil). De acordo com uma sondagem feita para os solos dos Estados da Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará, compostos de 110 milhões de hectares, as áreas salinizadas já foram estimadas em 9,1 milhões hectares, o que corresponde a 9% da região analisada (FAO, 2008).

A crescente perda de terras para uso agrícola, por causa dos problemas de aridez e/ou salinidade torna difícil a tarefa de aumentar a produção alimentar, a fim de atender a demanda da população mundial (KOIWA et al., 2006).

### **2.2.3 – Influência do excesso de sais do solo na planta**

#### **2.2.3.1 Alterações bioquímicas**

Várias alterações bioquímicas são observadas nos vegetais cultivados sob estresse salino, como por exemplo, variações na concentração de carboidratos solúveis totais (LACERDA et al.,

2001; COSTA et al., 2003; GHEYI et al., 2005), fenóis totais, glicina-betaína (ASHRAF e FOOLAD, 2006; LACERDA et al., 2001), prolina (LACERDA et al., 2001; ASHRAF e FOOLAD, 2006), clorofila (DOWNTON et al., 1985; SANTOS, 2004; NETONO et al., 2004), e proteínas solúveis (COSTA et al., 2003; RODRÍGUEZ-PÉREZ, 2006; LUNDE et al., 2007). A variação na concentração de vários destes compostos orgânicos está geralmente relacionada à maior ou menor tolerância ao estresse.

A salinidade pode reduzir a concentração de carboidratos das folhas mais jovens através do acúmulo de sais no citoplasma, após exceder a habilidade das folhas maduras de acumular os sais nos vacúolos (MUNNS, 2002). Como o carboidrato, entre outros compostos, é o substrato necessário para o crescimento do vegetal, todos os outros órgãos da planta também têm seu crescimento afetado pela salinidade (PARIDA e DAS, 2005). Porém, a elevação nos teores de carboidratos solúveis totais nas folhas, está ligada à finalidade de se manter o nível de água da folha e induzir um ajustamento osmótico na planta, visando o equilíbrio osmótico da célula (LACERDA et al., 2001; KERBAUY, 2004). Apesar de estudos relacionarem o papel dos carboidratos na osmorregulação das plantas submetidas à salinidade (CHEESEMAN, 1988), ainda é muito restrito o conhecimento sobre as alterações no metabolismo do carboidrato em repostas ao aumento da salinidade ou da sua importância como osmólito (ROLLETSCHEK e HARTZENDORF, 2000).

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (BRAVO, 1998). Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998). Os fenóis são compostos reconhecidos como potentes antioxidantes, que podem agir como redutores de oxigênio singlete, atuando nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelação de metais (SATUÉ-GARCIA et al., 1997). Em contrapartida, o excesso de fenóis pode atuar de forma negativa no desenvolvimento das plantas pela oxidação de compostos celulares. Porém, trabalhos com os compostos fenólicos relacionados com a tolerância à salinidade ainda são bastante limitados para se ter uma delimitação de valores referenciais.

A alteração na concentração de prolina nas plantas é relacionada a vários estresses abióticos, principalmente aos estresses hídrico e salino. O acúmulo de prolina livre é estudado em condições de estresse osmótico há mais de 45 anos (KAVI KISHOR et al., 2005), e sabe-se que o teor de prolina varia de espécie para espécie e pode apresentar valores 100 vezes maiores nas

plantas submetidas a estresse quando comparadas às plantas controles (VERBRUGGEN e HERMANS, 2008) e durante os estresses osmóticos a prolina atua com um osmorregulador, além de ser uma grande fonte de carbono e nitrogênio (HARE e CRESS, 1997). Além disso, tem sido proposto, também, que a prolina pode funcionar como chaperonas moleculares para a estabilização das estruturas das proteínas, favorecer a estabilização do pH citosólico e auxiliar no equilíbrio redox das células estressadas (VERBRUGGEN e HERMANS, 2008). Alguns autores mostraram que a prolina pode atuar como seqüestrador das espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas durante estresses (SMIRNOFF e CUMBES, 1989; BOHNERT e SHEN, 1999). A acumulação de prolina também pode influenciar na sinalização de respostas adaptativas aos estresses osmóticos (MAGGIO et al., 2002).

Variações na concentração de clorofila podem ocorrer através da diminuição da sua síntese, devido à alteração do ácido aminolevulínico (ALA) o qual é o precursor da protoclorigila (que é convertido em clorigila quando expostas à luz), ou pela própria degradação da clorigila, através da enzima clorigilase (SANTOS, 2004). Esse último processo tem como primeiro passo a remoção de fitol pela clorigilase, primeira enzima que age na via de degradação da clorigila (FANG et al., 1998). No entanto, os dados sobre essa enzima sugerem que a sua atividade diminui com a senescência e anóxia (FANG et al., 1998), mas não há informações claras sobre o comportamento da enzima presente nas folhas sob condições de estresse salino.

As proteínas são encontradas em todas as partes das células, uma vez que são fundamentais sob todos os aspectos da estrutura e função celulares, e alterações nos teores de proteínas podem representar um grande dano para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Alguns autores relatam que, sob estresse salino, normalmente, há redução no conteúdo de proteínas das plantas estressadas, ou em virtude da síntese protéica ser prejudicada, ou pelo aumento da proteólise (PARIDA e DAS, 2005; SILVEIRA et al., 2003). A síntese protéica é prejudicada devido à exigência do íon potássio na ligação do tRNA aos ribossomos, a qual necessita de altas concentrações desse íon para ocorrer (BLAHA et al., 2000), porém na salinidade, geralmente, a concentração de  $K^+$  tende a cair com o aumento da concentração do íon sódio, isso porque não há transportadores específicos para o íon sódio, o qual compete com o íon potássio. Essa interrupção da síntese protéica parece ser um importante fator dos danos causados pelo excesso de íons sódio (TESTER e DAVENPORT, 2003). Porém, é importante salientar que também ocorre um aumento da síntese de uma ampla variedade de proteínas em resposta ao

estresse salino, as quais podem também atuar, principalmente na estabilização das membranas celulares e na sinalização de respostas ao estresse salino (TESTER e DAVENPORT, 2003).

### **2.2.3.2 Alterações no crescimento**

O modelo bifásico de redução do crescimento, proposto por Munns e Termaat (1986), identifica a diminuição do potencial osmótico como o primeiro fator e o efeito específico dos íons como o segundo. Eles relatam que na primeira fase, o crescimento da planta é afetado pelos sais que estão no exterior da mesma e é regulado por sinalização proveniente da raiz, sobretudo pelo ácido abscísico (ABA). A segunda fase caracteriza-se pela redução do crescimento resultante do acúmulo de sais no interior da planta. A causa desta injúria é em função da elevada quantidade de sal absorvida, a qual ultrapassa a capacidade da planta de compartimentalizá-lo no vacúolo.

Durante o estresse salino, todos os principais processos da planta, como a fotossíntese, síntese de proteína e metabolismo lipídico, são afetados e as primeiras respostas são a redução da taxa de expansão da superfície foliar, seguida de uma cessação de expansão quando o estresse intensifica (PARIDA e DAS, 2005). Dessa forma, área foliar e a taxa de crescimento das plantas também são afetadas, até porque, a salinidade também aumenta a energia para a absorção de água pelas raízes e para os ajustes bioquímicos necessários para sobreviver sob estresse, desviando tal energia do crescimento e dos processos produtivos (AZEVEDO NETO e TABOSA, 2000; RHOADES et al., 2008).

As alterações morfofisiológicas da planta aos estresses em geral variam enormemente com o genótipo e seu estágio de desenvolvimento, além da intensidade e duração do estresse, ao qual a planta é submetida (WILLADINO e CÂMARA, 2004). Desta forma, a análise de crescimento pode ser muito útil no estudo do comportamento vegetal, servindo também para selecionar cultivares ou espécies que apresentem características funcionais mais apropriadas aos objetivos do estudo (BENINCASA, 2003).

O efeito da salinidade sobre o crescimento e o desenvolvimento das plantas é discutido por pesquisadores, principalmente dos países que apresentam regiões áridas e semi-áridas, em função dos problemas socioeconômicos por ela causados (MELLONI et al., 2000).

### **2.2.3.2 Alterações iônicas**

A redução na atividade fotossintética, também, depende de dois aspectos da salinização, a concentração total de sal e a sua composição iônica (PARIDA e DAS, 2005). De acordo com Taiz e Zeiger (2004), uma alta relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  e concentrações altas de sais totais inativam as enzimas e inibem a síntese protéica. Segundo esses autores, em termos de desordem nutricional um dos principais efeitos deletérios do íon sódio é o de deslocar o íon cálcio da membrana protoplasmática das células radiculares, com a conseqüente perda da seletividade iônica das raízes. A membrana protoplasmática, em condições normais, tem uma alta especificidade por íon potássio, a qual é reduzida ou perdida devido ao deslocamento do íon cálcio, ocasionado pelo íon sódio. Este fato foi também constatado por Cramer et al. (1985) ao detectarem a perda de íon potássio das células de plantas submetidas ao estresse salino. É importante destacar que o íon potássio é ativador de reações enzimáticas vitais, contribui significativamente para a manutenção do potencial osmótico do vacúolo e turgor celular e é essencial na síntese de proteínas (TESTER e DAVENPORT, 2003).

Em algumas espécies, a acumulação de íons sódio e potássio também favorece o ajustamento osmótico e a redução do potencial hídrico da planta (FRICKE et al., 2006). Porém, a exposição ao excesso de sais por um longo período pode causar na planta danos por toxicidade, quando não exportados, secretados ou compartimentados adequadamente. Alternativamente à compartimentalização no vacúolo, os sais podem ser transportados para a parede celular, o que, por sua vez, pode resultar na desidratação da célula (MUHLING e LAUCHLI, 2002).

### **2.2.3.4 Danos oxidativos**

Uma conseqüência direta dos efeitos primários do estresse salino é o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), que são prejudiciais às células vegetais em concentrações elevadas, mas que, em níveis relativamente baixos, podem atuar como moléculas sinalizadoras de mecanismos que minimizam o estresse abiótico (PANG e WANG, 2008). Essas ROS produzidas durante o estresse salino podem causar danos nas membranas celulares, nos pigmentos fotossintéticos, nas proteínas (HERNANDEZ et al., 2000), nos lipídios e nos ácidos nucleicos (MONK et al., 1989).

Os danos oxidativos se traduzem em diversos processos degenerativos, incluindo peroxidação de lipídios de membrana e morte celular programada (SILVEIRA et al., 2005). Podem também se expressar como hipo ou hipermetilação do DNA, deleção e substituição de bases do DNA, alterações cromossômicas (aneuploidia e poliploidia) e rearranjo cromossômico (CASSELLS e CURY, 2001).

As ROS são formas reduzidas de oxigênio atmosférico, que normalmente resultam da excitação do  $O_2$  para formar oxigênio singlete ( $O_2^1$ ) ou a partir da transferência de um, dois ou três elétrons do  $O_2$  para formar, respectivamente, um radical superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) ou um radical hidroxila ( $OH^-$ ) (MITTLER, 2002).

Existem muitas fontes das ROS na planta, algumas delas estão envolvidos em reações normais do metabolismo, como na fotossíntese e respiração (MITTLER, 2002). Nesses processos, o oxigênio molecular pode seguir duas rotas, a das oxidases, a qual consiste na formação de água pela transferência de quatro elétrons para o oxigênio na cadeia respiratória (redução tetravalente), acoplada a fosforilação oxidativa que forma ATP; e a rota das oxigenases, culminando na formação das ROS através da transferência de um elétron de cada vez para o oxigênio (redução univalente) (SOARES e MACHADO, 2007). Outras fontes também são citadas como produtoras das ROS durante os estresses abióticos, como por exemplo, a fotorrespiração nos peroxissomos (MITTLER, 2002).

#### **2.2.4 – Mecanismos de tolerância das plantas à salinidade**

As plantas apresentam diferentes mecanismos de tolerância frente ao estresse salino, os quais variam enormemente de acordo com os vários fatores internos e externos. Segundo Parida e Das (2005), de uma forma geral, as plantas submetidas à salinidade desenvolvem mecanismos bioquímicos e moleculares para diminuir os efeitos nocivos do sal e esses mecanismos podem ser de alta ou baixa complexidade. A salinização dos solos acarreta para os vegetais os estresses osmóticos, iônicos e oxidativos, os quais podem ser diferenciados sob vários níveis (TESTER e DAVENPORT, 2003), e que frequentemente afetam o desenvolvimento das plantas.

#### 2.2.4.1 – Tolerância aos efeitos osmóticos

Num intervalo de tempo de minutos a horas, apenas o efeito osmótico atua sobre a planta induzindo variações essencialmente instantâneas (MUNNS, 2002). Para minimizar os efeitos osmóticos, as plantas podem acumular compostos osmorreguladores, como a prolina, glicina-betaína (ASHRAF e FOOLAD, 2006) e carboidratos (ROLLETSCHEK e HARTZENDORF, 2000). E suas funções osmóticas são devidas, exclusivamente, às suas estruturas químicas (PARIDA e DAS, 2005). Entre esses osmorreguladores, destaca-se na literatura o acúmulo de prolina.

Segundo Bengtson et al. (1978), em estudo sobre o acúmulo de prolina em folhas de trigo, os caminhos biossintético da prolina são ligados pelo  $\alpha$ -cetoglutarato, assim como do ácido aminolevulinico (ALA), que poderia significar que quando as condições de estresse inibem o metabolismo para ALA, isso favorece o acúmulo de prolina. O ALA, por sua vez, afeta a regeneração da protoclorofila (precursora da clorofila), o que explica o menor acúmulo de clorofila durante o estresse osmótico. Os autores sugerem que a prolina acumulada seja utilizada para a biossíntese de clorofila imediatamente após a reidratação, além da utilização para outras rotas metabólicas e síntese de proteína, dependendo da intensidade do estresse.

Um aumento na concentração de íon sódio e cloreto induz o incremento da prolina, pela diminuição da atividade de prolina desidrogenase (uma enzima catabólica de prolina) (PARIDA e DAS, 2005). A prolina tende a acumular nos tecidos vegetais sob estresse hídrico (FERREIRA et al., 2002), mas, como a assimilação do nitrogênio é reduzida sob tais condições, pode-se supor que esse composto se origine da rotatividade de proteínas. É interessante destacar que entre os N-aminossolúveis que se acumulam em resposta ao estresse osmótico, a prolina é indiscutivelmente a mais relatada (FERREIRA et al., 2002).

Apesar da forte correlação entre tolerância aos estresses e acúmulo de prolina em plantas superiores, essa relação não é universal (ASHRAF e FOOLAD, 2006), pois alguns autores sugerem que o acúmulo de prolina é apenas uma consequência do estresse e não uma resposta adaptativa (COSTA et al., 2003). No entanto, o acúmulo de prolina em plantas sob estresse tem sido relacionado mais à tolerância do que à susceptibilidade às condições de estresse (ASHRAF e FOOLAD, 2006).

Segundo Fricke et al. (2006), em algumas espécies, a acumulação de íons sódio e cloreto também favorecem o ajustamento osmótico e a redução do potencial hídrico da planta. Porém, a exposição ao excesso de sais por um longo período pode causar na planta danos por toxicidade, quando não exportados, secretados ou compartimentados adequadamente. A compartimentalização de sais em nível radicular pode reduzir a produção da biomassa seca da raiz, afetando, principalmente, a relação raiz/parte aérea, porém, como a subida dos sais para a parte aérea é menor, os efeitos tóxicos da salinidade no aparato fotossintético da planta, também são inibidos (MAGGIO et al., 2007).

#### **2.2.4.2 - Tolerância aos efeitos iônicos**

De acordo com MUNNS et al. (2002), frente aos efeitos iônicos do sal, os mecanismos de tolerância podem se apresentar em três níveis de organização: planta inteira, organela e molecular. No nível de planta inteira a tolerância depende da habilidade da plantas em controlar o transporte do sal em pontos estratégicos da plantas, as quais evitam que os sais alcancem níveis tóxicos nas folhas, através da retenção dos sais em outras partes da planta ou na exclusão dos mesmos. O controle no nível de organela é atrelado à manutenção dos íons fora das células e à compartimentalização dos íons para os vacúolos celulares, impedindo-os que entrem em contato com as enzimas, nesse caso, deve ocorrer paralelamente o acúmulo de íons potássio e de solutos compatíveis, como prolina e glicina-betaína, no citoplasma para balancear a pressão osmótica dos íons no vacúolo. No nível molecular, o controle ocorre através dos canais transportadores de íons que os carregam para fora da célula e até mesmo não permitem sua entrada no meio intracelular. Como não há transportadores específicos para o íon sódio, ele compete com outros cátions, principalmente o íon potássio, através de transportadores de alta afinidade pelo íon potássio ou daqueles de baixa afinidade, esses são fortemente influenciados pelo íon cálcio.

As plantas também podem absorver os íons e mantê-los em concentração constante por longos períodos, desde que a absorção de água seja proporcional à absorção deles, resultando em aumento no grau de suculência (LARCHER, 2004). Embora muitos desses mecanismos sejam especialmente eficientes nas halófitas, eles também têm sido observados em glicófitas.

Como alguns solutos osmorreguladores também protegem os componentes celulares das injúrias causadas pela desidratação, eles são comumente referidos como osmoprotetores (ASHRAF e FOOLAD, 2006).

#### **2.2.4.3 - Tolerância aos danos oxidativos**

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio na relação entre compostos antioxidantes versus compostos pró-oxidantes, levando ao aumento do nível das espécies reativas de oxigênio (ROS). A sinalização para o mecanismo de desintoxicação das plantas, provavelmente, não ocorre devido às mudanças iônicas ou osmóticas, mas ao aumento dessas ROS ou a própria desnaturação das proteínas (ZHU, 2002).

Para lidar com o estresse oxidativo, plantas superiores têm desenvolvido sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos, que são encontrados em diferentes organelas como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (PANG e WANG, 2008). Entre os sistemas antioxidantes não-enzimáticos atuam o ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos. O efeito do estresse salino também pode provocar estímulo ou inibição de enzimas envolvidas nos processos metabólicos, como as peroxidases (LIMA et al., 1999), as quais sequestram o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o primeiro composto formado durante os danos oxidativos, que em seguida é decomposto por meio da oxidação de co-substratos, como compostos fenólicos e/ou antioxidantes enzimáticos (DIONISIO-SESE e TOBITA, 1998).

Os compostos fenólicos são constituintes de um amplo e complexo grupo de fitoquímicos, produtos secundários do metabolismo vegetal. Estes compostos apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, o que possibilita que os mesmos atuem como agentes redutores, exercendo proteção ao organismo contra o estresse oxidativo (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000).

Outro composto citado na literatura para auxiliar na tolerância aos efeitos oxidativos da salinidade nas plantas é a prolina, estabilizando a estrutura das macromoléculas e organelas (GIRIJA et al., 2002), assim como, influenciando positivamente na defesa da peroxidação lipídica das membranas celulares das plantas submetidas à salinidade (JAIN et al., 2001). A L-prolina é um iminoácido por possuir uma porção imino ( $C=NH$ ), um grupo funcional carboxil e um grupo imino secundário, e é reportada como um importante osmoprotetor em muitas plantas

(MOLINARI, 2006). A prolina, por possuir um anel pirrolina, que lhe confere uma baixa capacidade de ceder elétrons, forma um complexo de transferência de carga e seqüestra  $O_2$  livre, atuando dessa forma na redução da produção de íons superóxido (REDDY et al., 2004), os quais podem ser produzidos em maior quantidade durante os estresses de uma forma geral.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AQUINO A. J. S.; LACERDA, C. F.; BEZERRA, M. A.; GOMES FILHO, E.; COSTA, R. N. T. Crescimento, partição de matéria seca e retenção de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> em dois genótipos de sorgo irrigados com águas salinas. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, v. 31, p. 961-971, 2007.
2. ARRUDA, F. O.; BELTRÃO, N. E. M.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curca* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, jan-abr. 2004.
3. ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, p. 1-11, 2006.
4. AZEVEDO NETO, A. D.; TABOSA, J. N. Estresse salino em plântulas de milho: Parte I análise do crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 2, p. 159-164, 2000.
5. BELTRÃO, N. E. de M.; SEVERINO, L. S.; SUINAGA, F. A.; VELOSO, J. F.; JUNQUEIRA, N.; FIDELIS, M.; GONÇALVES, N. P.; SATURNINO, H. M.; ROSCOE, R.; GAZZONI, D.; DUARTE, J. O.; DRUMOND, M. A.; ANJOS, J. B. **Recomendação técnica sobre o de pinhão-manso plantio no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. Folder. Disponível em: <http://www.cpa0.embrapa.br/portal/noticias/Position%20Paper.pdf>. Acesso em 05 dez. 2007.
6. BELTRÃO, N. E. M.; SEVERINO VELOSO, J. F.; JUNQUEIRA, N.; FIDELIS, M.; GONÇALVES, N. P.; SATURNINO, H. M.; ROSCOE, R.; GAZZONI, D.; DUARTE, J. O.; DRUMOND, M. A.; ANJOS, J. B. **Alerta sobre o Plantio de Pinhão-manso no Brasil**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Algodão. Campina Grande, Documento 155, p. 1-16, out. 2006.
7. BENGTON, C.; KLOCKARE, B.; KLOCKARE, R.; LARSSON, S.; SUNDGVIST, C. The after-effect of water stress on chlorophyll formation during greening and the levels of abscisic acid and proline in dark grown in wheat seedlings. **Physiologia Plantarum**, v. 43, p. 205-212, 1978.

8. BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: FUNEP, São Paulo, 2003. 41 p.
9. BLAHA, G.; STELZL, U.; SPAHN, C. M.; AGRAWAL, R. K.; FRANK, J.; NIERHAUS, K. H. Preparation of functional ribosomal complexes and effect of buffer conditions on tRNA positions observed by cryoelectron microscopy. **Methods Enzymol.**, v. 317, p. 292-309. 2000.
10. BOHNERT, H. J.; SHEN, B. Transformation and compatible solutes. **Scientia Horticulturae**, v. 78, p. 237-260, 1999.
11. BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNDA/DNDV/CLV, 1992. 365 p.
12. BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, New York, v.56, n.11, p.317-333, 1998.
13. CÁCERES, D.R.; PORTAS, A.A.; ABRAMIDES, J.E. **Pinhão-manso**. Artigo em Hypertexto. Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2007\\_3/pinhaomanso/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2007_3/pinhaomanso/index.htm)>. Acesso em: 18 abril. 2008.
14. CARNIELLI, F. **O combustível do futuro**. 2003. Disponível em: [www.ufmg.br/boletim/bul1413](http://www.ufmg.br/boletim/bul1413). Acessado em: 09 dez. 2007.
15. CASSELLS, A.C.; CURY, R.F. Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.64, p.145-157, 2001.
16. CHEESEMAN, J. M. Mechanisms of Salinity Tolerance in Plants. **Plant Physiology**. v. 87, n. 3, p. 547-550, jul. 1988.
17. COSTA, P. H. A.; SILVA, J. V.; BEZERRA, M. A.; ENÉAS FILHO, J.; PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Crescimento e níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de *Vigna unguiculata* submetidos à salinidade. **Revista Brasileira de Botânica**, V. 26, n. 3, p. 289-297, jul.-set. 2003.

18. CRAMER, G. R.; LAUCHLI, A.; POLITO, V. S. Displacement of  $\text{Ca}^{2+}$  by  $\text{Na}^+$  from the plasmalemma of root cells. A primary response to salt stress. **Plant Physiology**, v. 79, p. 207-211, 1985.
19. CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v. 854, p. 435-442, 1998.
20. CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Houghyon Mifflin, Boston. 1981.
21. DIONISIO-SESE, M.L.; TOBITA, S.; Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. **Plant Science**, Strasbourg, v.135, p. 1-9, 1998.
22. DOWNTON, W. J. S.; GRANT, J. R.; ROBINSON, S. P. Photosynthetic and stomatal responses of spinach leaves to salt stress. **Plant Physiology**, v. 77, p. 85-88, 1985.
23. EPAMIG / FINEP. **Projeto Pinhão-mansão: Relatório Final relativo ao 1º período encerrado a 31 de março de 1985**. In: EPAMIG. Coletâneas sobre pinhão-mansão na EPAMIG. Belo Horizonte, 2005. Disponível em: <http://www.epamig.br/informativo/pinhaomanso/.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2008.
24. FANG, Z.; BOUWKAMP, J.; SOLOMOS, T. Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L. **Experimental Botany**, v. 49, p. 503-510, 1998.
25. FAO: **Extent and Causes of Salt-affected Soils in Participating Countries**. FAO - Land and Plant nutrition management service. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/topic2.htm#top>. Acesso em: 10 mar. 2008.
26. FERREIRA, P. A.; MOURA R. F.; SANTOS, D. B.; FONTES, P. C. R.; MELO, R. F. Efeitos da lixiviação e salinidade da água sobre um solo salinizado cultivado com beterraba. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v. 10, n. 3, p. 570–578, 2005.
27. FERREIRA, V. M.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; PURCINO, A. Á. C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002.

28. FRICKE, W.; AROVA, G. A.; WEI, W.; ALEXANDERSSON, E.; MILLER, A.; KJELLBOM, P. O.; RICHARDSON, A.; WOJCIECHOWSKI, T.; SCHREIBER, L.; VESELOV, D.; KUDOYAROVA, G.; VOLKOV, V. The short-term growth response to salt of the developing barley leaf. **Journal of Experimental Botany**. Plants and Salinity Special Issue, vol. 57, no. 5, p. 1079–1095, 2006.
29. FRIGO, M. S.; BUENA, O. C.; ESPERANCINI, M. S. T.; FRIGO, E. P.; KLAR, A. E. Análise energética do primeiro ano de cultivo do pinhão-manso em sistema irrigado por gotejamento. **Irriga**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 261-271, abril-junho, 2008
30. GHEYI, H. R.; CORREIA, K. G.; FERNANDES, P. D. Salinidade do solo e crescimento e desenvolvimento das plantas. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (Org.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: MXM Gráfica e editora, v. único, p. 138-147. 2005.
31. GIRIJA, C.; SMITH, B.N.; SWAMY, P.M. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*arachis hypogaea* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, p. 1-10, 2002.
32. GURGEL, M. T.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H.; SANTOS, F. J. S.; BEZERRA I. L.; NOBRE, R. G. Índices fisiológicos e de crescimento de um porta-enxerto de aceroleira sob estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 3, p. 451-456, 2003.
33. HARE, P.D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 21, p. 79–102, 1997.
34. HELLER, J. Physic nut. *Jatropha Curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. **Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research**, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 1996, 66 p.
35. HERNANDEZ, J.A.; JIMENEZ, A.; MULLINEAUX, P.; SEVILLA, F. Tolerance of pea (*pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. **Plant Cell Environmental**, v. 23, p. 853–862. 2000.

36. JAIN, M.; MATHUR, G.; KOUL, S.; SARIN, N. B. Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Plant Cell Rep** (2001) 20:463–468
37. JONGSCHAAP, R. E. E.; CORRE, W. J; BINDRABAN, P. S.; BRANDENBURG W.A. **Claims and facts on jatropha curcas**. Plant Research International B.V., Wageningen. Stichting Het Groene Woudt, Laren, p. 1-42, out. 2007.
38. KAVI KISHOR, P. B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N. ; SRI LAXMI, P; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; SREENATH RAO; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, vol. 88, n. 3, P. 424-738, 2005.
39. KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452p.
40. KOIWA, H.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. Identification of plant stress-responsive determinants in arabidopsis by large-scale forward genetic screens. **Journal of Experimental Botany**, vol. 57, n. 5, p. 1119–1128, 2006.
41. KUMAR, G.P.; YADAV, S.K.; THAWALE, P.R.; SINGH, S.K.; JUWARKAR, A.A.. Growth of *Jatropha curcas* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and *Azotobacter* – A greenhouse study. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2078–2082, 2008
42. LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; RUIZ, H. A. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes, under nacl stress. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 270-284, 2001.
43. LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima, 2004. 531 p.
44. LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G. B.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 1 Piracicaba 1999.
45. LUNDE, C.; DREW, D. P.; JACOBS, A. K.; TESTER, M. Exclusion of na1 via sodium atpase (ppena1) ensures normal growth of *Physcomitrella patens* under moderate salt stress. **Plant Physiology**, vol. 144, p. 1786-1796, 2007.

46. MAGGIO, A.; RAIMONDI, G.; MARTINO, A.; PASCALE, S. Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 276–282, 2007.
47. MAGGIO, A.; MIYAZAKI, S.; VERONESE, P.; FUJITA, T.; IBEAS, J. I.; DAMSZ, B.; NARASIMHAN, M. L.; HASEGAWA, P.; JOLY, R. J.; BRESSANDES, R. A. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction. **The Plant Journal**, v. 31, n.6, p. 699-712, 2002.
48. MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Nutritional studies on rats and fish (carp cyprinus carpio) fed diets containing unheated and heated jatropha curcas meal of a non-toxic provenance. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 53, p. 183–192, 1999.
49. MARTINS, C. C.; MACHADO, C. G; CAVASINI, R. Temperatura e substrato para o teste de germinação em sementes de pinhão-manso. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 863-868, maio/jun. 2008.
50. MELLONI, R.; SILVA, F. A. M.; CARVALHO, J. G. Calcio, magnésio e potássio como amenizadores dos efeitos da salinidade sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) **CERNE**, v. 6, n. 2, p. 35-40, 2000.
51. MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in **Plant Science**, vol. 7, n. 9, 2002.
52. MOLINARI, H. B. C. **Expressão estresse-induzida do gene p5cs em plantas transgênicas de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico**. 2006. 109 f. Tese (Doutorado em ciências) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
53. MONK, L.S.; FAGERSTEDT, K.V.; CRAWFORD, R.M.M. Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress. **Physiology Plant**, v. 76, p. 456-459, 1989.
54. MÜHLING, K.H.; LAUCHLI, A. Effect of salt stress on growth and compartmentation in leaves of two plants species differing in salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 159, p. 137-146, 2002.
55. MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Reviews Plant Biology**. v. 59, p. 651-681, 2008.

56. MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell and Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002.
57. MUNNS, R.; HUSAIN, S.; RIVELLI, A. R.; JAMES, R. A.; CONDON, A. G.; LINDSAY, M. P.; LAGUDAH, E. S.; SCHACHTMAN, D. P.; HARE, R. A. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Plant and Soil**, v. 247, p. 93-105, 2002.
58. MUNNS, R.; TERMAAT, A. Whole-plant response to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**, V.13, P.143-160, 1986.
59. NETONO, G. W.; ONYANGO, J. C.; BECK, E. Sorghum and salinity: II. gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. **Crop Science**, v. 44, p. 806-811, 2004.
60. OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, v. 19, p. 1-15, 2000.
61. PANG, C. A.; WANG, B. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. **Progress in Botany**. vol. 69, p. 231-246, 2008.
62. PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, p. 324-349, 2005.
63. PEIXOTO, A. R. Plantas oleaginosas arbóreas. São Paulo: Nobel, 1973. 282 p.
64. REDDY, A. R.; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1189-1202, 2004.
65. RHOADES, J.D.; KANDIAH, A.; MASHALI, A.M. **The use of saline waters for crop production**. Rome, 1992. (FAO Irrigation and Drainage Paper, 48). Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/t0667e/t0667e00.htm>>. acesso em: 03 ago. 2008.
66. RIBEIRO, J. S.; LIMA, A. B.; CUNHA, P. C.; WILLADINO, L.; CÂMARA, T. R. O estresse abiótico em regiões semi-áridas: respostas metabólicas das plantas. IN: MOURA, A. N.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. (Orgs.) **Biodiversidade, potencial**

**econômico e processos eco- fisiológicos em ecossistemas nordestinos**, Recife: Comunigraf., 2007. 361 p.

67. RICHARDS, L. A. **Diagnostico y rehabilitacion de suelos salinos y sodicos**. Daeua. Mexico. Editorial limusa, 1974, 172P.
68. RODRÍGUEZ-PÉREZ, L. Implicaciones fisiológicas de la osmorregulación en plantas. **Agronomía Colombiana**, v. 24, p. 28-37, 2006.
69. ROLLETSCHEK, H.; HARTZENDORF, T. Effects of salinity and convective rhizome ventilation on amino acid and carbohydrate patterns of phragmites australis populations in the neusiedler see region of austria and hungary. **New Phytologist.**, v. 146, p. 95-105, 2000.
70. RUIZ, H. A.; SAMPAIO, R. A.; OLIVEIRA, M.; FERREIRA, P. A. Características físicas de solos salino-sódicos submetidos a parcelamento da lâmina de lixiviação. **Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal**, v. 6, n. 3, p. 1-12, 2006.
71. SANTOS, C. V. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. **Scientia Horticulturae**, v. 103, p. 93-99, 2004.
72. SATUÉ-GARCIA, M.T.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E.N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 3362-3367, 1997.
73. SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇASVES, N. P. **Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. In: Produção de oleaginosas para biodiesel. Informe agropecuário, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.
74. SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal. Nutr.**, v. 130, p. 2073-2084, 2000.
75. SILVA, M. B. R.; BATISTA, R. C.; LIMA, V. L. A . L.; BARBOSA, E. M. B.; BARBOSA, M. F. N. Crescimento de plantas jovens da espécie florestal favela (*Cnidosc ulus phyllacanthus* pax & k . Hoffm ) em diferentes níveis de salinidade da água **Revista de Biologia e Ciencias da Terra**, v. 5 , n. 2 Universidade Estadual da Paraíba, 2005.

76. SILVEIRA, J.A.G.; LIMA, J.P.M.S.; CAVALCANTI, F.R.; MAIA, J.M.; VIÉGAS, R.A. Salt induced oxidative response in plants: damage or protection? In: Nogueira, R.J.M.C.; Araújo, E. De L.; Willadino, L.; Cavalcante, U.M.T. (eds). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife. MXM Gráfica e Editora. 2005. parte.II, cap.9, p.106-117.
77. SILVEIRA, J.A.G.; VIÉGAS, R.A.; ROCHA, I.M.A.; MOREIRA, A.C.O.M.; MOREIRA, R.A.; OLIVERIA, J.T.A. Proline accumulation and glutamine synthase activity are increased by salt-induced proteolysis in cashew leaves. **Journal Plant Physiology**, v. 160, p. 115-123, 2003.
78. SLUSZZ, T.; MACHADO, J. A. D. **Características das potenciais culturas matérias primas do biodiesel e sua adoção pela agricultura familiar**. Agrened, p. 1-10. 2006.
79. SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, v. 28, p. 1057-1060, 1989.
80. SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n. 1, p. 19, 2007.
81. TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 719.
82. TEIXEIRA, C. T. **Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel**. In: Produção de oleaginosas para biodiesel. Informe agropecuário, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 18-27, 2005.
83. TESTER, M.; DAVENPORT, R.  $\text{Na}^+$  Tolerance and  $\text{Na}^+$  Transport in Higher Plants. **Annals of Botany**, v. 91, p. 503-527, 2003.
84. TONG, L.; SHU-MING, P.; WU-YUAN, D.; DAN-WEI, M.; YING, X.; MENG, X.; FANG, C. Characterization of a new stearyl-acyl carrier protein desaturase gene from *Jatropha curcas*. **Biotechnology Letters**, v. 28, p. 657-662, 2006.
85. VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 35, p. 753-759, 2008.

86. WILLADINO, L; CÂMARA, T. Origen y naturaleza de los ambientes salinos. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; SÁNCHEZ, A. **La Ecofisiología Vegetal**, Una ciencia de síntesis. Madri, Espanha. Editora Thomsom, p. 303-329, 2004.
87. ZHANG, Y.; WANG, Y.; JIANG, L.; XU, Y.; WANG, Y.; LU, D.; CHEN, F. Aquaporin JcPIP2 is Involved in Drought Responses in *Jatropha curcas*. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 39, n. 10, p. 787–794, 2007.
88. ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review, Plant Biology**, v. 53, 247-273, 2002.

---

MANUSCRITO

Aspectos fisiológicos e bioquímicos de *Jatropha curcas* L  
cultivada sob estresse salino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Este manuscrito será enviado para publicação na Revista Journal of Plant Physiology, após aprovação do PPGB/UFRPE.

## Aspectos fisiológicos e bioquímicos de *Jatropha curcas* cultivada sob estresse salino

Patrícia Carneiro da Cunha\* <sup>1</sup>, Gilberto de Souza e Silva Júnior <sup>2</sup>; Terezinha Rangel Camara <sup>3</sup> e Lillia Wiladino <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE, [www.ufrpe.br](http://www.ufrpe.br)), Departamento de Biologia, Rua D. Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife, PE.

<sup>2</sup> Escola Agrotécnica Federal de Vitória de Santo Antão (EAFVSA) – PE.

<sup>3</sup> UFRPE, Departamento de Química.

\* E-mail do autor para correspondência: [patcunha28@hotmail.com](mailto:patcunha28@hotmail.com)

Resumo – A salinidade dos solos é um dos mais sérios problemas para o desenvolvimento das culturas. O presente trabalho objetivou avaliar as respostas fisiológicas e bioquímicas de *Jatropha curcas* L., cultivadas durante 28 dias sob condições salinas. Foram estabelecidos sete tratamentos: 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl por adição deste sal à solução de Hoagland e Arnon (1/2 força iônica). O desenho experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. O incremento da salinidade reduziu o crescimento das plantas em todas as variáveis analisadas. A área foliar foi reduzida a partir da concentração de 45 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl e a produção de matéria fresca e seca, bem como a taxa de crescimento, a partir de 60 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl. Foi observada elevação nos teores de Na<sup>+</sup> e de Cl<sup>-</sup> tanto na folha, como no caule e na raiz, e redução nos teores de K<sup>+</sup> nas folhas e nas raízes à medida que foram incrementadas as concentrações de sal na solução nutritiva. A concentração de carboidratos solúveis aumentou significativamente apenas nas plantas submetidas a 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl e os teores de proteínas solúveis totais, nas concentrações de 15 a 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl. O teor de fenóis totais aumentou nas plantas tratadas com concentração de NaCl igual ou superior a 30 mol.m<sup>-3</sup>. Observou-se redução da integridade da membrana apenas nas concentrações mais severas de salinidade. O acúmulo de solutos orgânicos foi concomitante ao decréscimo do crescimento. Os elevados teores de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> indicam a ausência de mecanismos de extrusão desses íons bem como de translocação para a parte aérea.

Termos para indexação: Compostos orgânicos, crescimento, íons, pinhão-manso, salinidade.

## Introdução

A região Nordeste do Brasil apresenta uma extensa área com ambientes áridos ou semi-áridos, a qual está propensa à salinização dos solos por causa das condições edafoclimáticas da região, como a elevada evapotranspiração associada à escassez e irregularidade das chuvas (Willadino e Câmara, 2004). A prática da irrigação é um instrumento efetivo no aumento da produtividade e na expansão de fronteiras agrícolas, porém sua utilização inadequada, como o uso de água contendo elevados teores de sais, além da drenagem insuficiente, também pode agravar os problemas de salinização nos solos, reduzindo assim os rendimentos das culturas, ou até mesmo resultando no abandono dessas áreas (Ferreira et al., 2005).

As culturas agrícolas em geral respondem diferenciadamente à salinidade, algumas com rendimentos aceitáveis em condições de elevada condutividade elétrica do solo ou da água de irrigação, enquanto outras são sensíveis a concentrações de salinidade relativamente baixas (Gurgel et al., 2003). De uma forma geral, a salinidade afeta a produção da maioria dos vegetais, principalmente através da toxicidade causada pela excessiva absorção de sais, como os íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) (FAO, 2008). Para algumas plantas, a acumulação de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{Cl}^-$  pode auxiliar no ajustamento osmótico e no potencial hídrico, porém o excesso de sais por um longo período pode causar na planta danos por toxicidade, quando não compartimentalizados adequadamente, exportados ou secretados (Fricke et al., 2006). A tolerância ao estresse salino pode ser em função do controle da aquisição e da alocação de  $\text{Na}^+$  na planta, do ajustamento osmótico e de outros processos fisiológicos do vegetal (Cheeseman, 1988).

Alguns organismos vegetais apresentam respostas de tolerância ao estresse salino. Pode-se destacar, na literatura, alterações como redução da área foliar, acarretando em economia de água (Oliveira et al., 2007); aumento na produção de osmorreguladores como prolina (Hanson et al., 1977) e/ou carboidratos solúveis (Oliveira et al., 2006), para reduzir o potencial osmótico das células e favorecer a absorção da água; retenção de íons nas raízes (Munns, 2002), evitando níveis tóxicos no aparato fotossintético que se encontra principalmente na folha. De acordo com Parida e Das (2005), a ativação de sistemas antioxidantes que reduz a ação das espécies reativas de oxigênio (ROS), diminuindo os danos oxidativos causados por essas espécies, como a peroxidação lipídica das membranas e alterações na permeabilidade seletiva das mesmas, são também respostas ao estresse.

A espécie *Jatropha curcas* L. é nativa da América tropical, mas que vive em muitas partes dos trópicos e sub-trópicos da África e da Ásia (Openshaw, 2000), sendo bastante utilizada na medicina doméstica e como cerca viva (Arruda et al., 2004). Sob condições semi-áridas a *J. curcas* tem a

capacidade de recuperação dos solos marginais, explorando o solo com um adequado sistema radicular, o que resulta em reciclagem de nutrientes das camadas mais profundas do solo, bem como proporciona sombreamento para o solo reduzindo assim os riscos de erosão e de desertificação (Jongschaap et al., 2007). Essa espécie apresenta baixa exigência nutricional para a sua sobrevivência (Teixeira, 2005).

Atualmente, com o advento do Programa Brasileiro de Biodiesel e o surgimento de grande demanda por óleos vegetais, a espécie supracitada tem sido divulgada como uma alternativa para fornecimento de matéria-prima, o que se baseia na expectativa de que a planta possua alta produtividade de óleo, tenha baixo custo de produção e seja resistente ao estresse hídrico, o que seria uma vantagem significativa principalmente na região semi-árida do país (Beltrão et al., 2006). Seu cultivo, entretanto, ainda apresenta muitos entraves aos agricultores, já que pesquisas relacionadas com essa espécie aqui no Brasil ainda são bastante escassas, principalmente sob condições de salinidade.

O presente trabalho visou avaliar o efeito de distintas concentrações salinas sobre o crescimento, síntese de solutos orgânicos e equilíbrio iônico ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$ ) na espécie *Jatropha curcas* L.

## **Materiais e métodos**

O trabalho foi realizado na casa de vegetação e nos Laboratórios de Cultura de Tecidos e de Bioquímica Vegetal, na Área de Química Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em Recife, no período de dezembro de 2007 a maio de 2008. As sementes, oriundas do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), foram semeadas em vasos de polietileno (três por vaso) com capacidade para três kg, contendo areia lavada, como substrato, coberta por uma camada de brita para reduzir a transpiração. Após a germinação as plântulas foram regadas diariamente, pela manhã, durante 21 dias, com a solução de Hoagland e Arnon (com metade da sua força iônica). Após esse período foi realizado o desbaste, sendo a seleção das plantas baseada na sanidade e similaridade da altura e do número de folhas das plantas. Em seguida foram estabelecidos sete tratamentos: 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90  $\text{mol.m}^{-3}$  de NaCl (com as respectivas condutividade elétrica (C.E.): 1,0; 2,6; 4,3; 5,9; 7,8; 9,3 e 10,8  $\text{dS.m}^{-1}$ ) por adição deste sal à solução nutritiva de rega. O controle dos tratamentos foi feito, a cada três dias através da medição da C.E. da solução nutritiva drenada do vaso. A drenagem diária da solução evitou o acúmulo de sais no substrato. Nos tratamentos mais severos, de 60 a 90  $\text{mol.m}^{-3}$  de NaCl, a adição do NaCl foi feita gradualmente, inicialmente com 45  $\text{mol.m}^{-3}$  de NaCl, na primeira semana e na semana seguinte, com as concentrações de NaCl

desejadas, para evitar choque osmótico. Foi utilizado o desenho experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, totalizando 35 unidades experimentais, durante o período de 28 dias.

O crescimento da planta foi avaliado, mediante a determinação do número de folhas (NF), área foliar (AF), produções de matéria fresca e seca totais (MFT e MST), taxa de crescimento absoluto e relativo, de acordo com Benincasa (2003). A biomassa da matéria seca foi determinada após secagem das plantas em estufa de aeração a 70 °C, até peso constante.

Foram analisados, nos tecidos foliares, os teores de prolina (Bates et al., 1973), carboidratos solúveis totais (Yemm e Willis, 1954), fenóis totais (A.O.A.C., 1992, método de Folin-Denis), proteínas solúveis totais (Bradford, 1976), assim como, as porcentagens de integridade absoluta, de integridade relativa e de danos das membranas celulares (Pimentel et al., 2002). Todas as análises foliares foram realizadas na terceira folha completamente expandida (a contar do ápice para o colo da planta).

Foram feitas também a determinação dos teores de Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> e K<sup>+</sup> nas folhas, caules e raízes das plantas, a partir do tecido vegetal seco e moído em moinho de facas tipo Willey. O material moído foi então submetido à digestão nitroperclórica para análise dos teores de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>. As determinações analíticas de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> foram feitas por fotometria de chama de emissão conforme descrito por Malavolta et al. (1989) e Miyazawa et al. (1992). O teor de Cl<sup>-</sup> foi determinado por titulometria do nitrato de prata (método de Mohr), segundo Malavolta et al. (1989).

A análise estatística dos dados foi realizada através do programa Assistat, em seguida foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

## **Resultados**

O incremento da concentração de sal à solução nutritiva reduziu todas as variáveis de crescimento analisadas (Tabela 1). O número de folhas (NF) foi afetado nas plantas de *J. curcas* submetidas a partir de 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl, com redução de 24 % em relação às plantas do tratamento controle, chegando em torno de 35 % na concentração de sal mais elevada (90 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl) (Tabela 1). Já nas plantas submetidas a 45 e 75 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl foi observada apenas uma tendência a diminuição dessa variável (Tabela 1).

A matéria fresca total (MFT) das plantas foi reduzida a partir de 60 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl (32,4 %), da mesma forma que a matéria seca total (MST) (35,6 %), conforme mostra a Tabela 1. As plantas submetidas ao tratamento mais severo tiveram redução na MFT e MST, de 37 e 34 %, respectivamente, em relação às plantas submetidas à solução nutritiva não salinizada (Tabela 1).

A taxa de crescimento relativo (TCR) decresceu nas plantas submetidas a concentrações superiores a 45 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl, enquanto que a taxa de crescimento absoluto (TCA) diminuiu apenas nas plantas submetidas a maior concentração salina (90 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl). As plantas submetidas a esse tratamento mais severo apresentaram redução de 36 e 45 % na TCA e na TCR, respectivamente (Tabela 1).

A área foliar (AF) apresentou uma tendência a decrescer à medida que a concentração de sal da solução de rega foi aumentada, sendo observada redução (26 %) significativa nas plantas submetidas a concentrações salinas a partir de 45 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl (Tabela 1). Nas plantas submetidas à concentração mais alta de NaCl ocorreu redução de 39 % da AF em relação às plantas do tratamento controle (Tabela 1).

**Tabela 1.** Número de folhas (NF), matéria fresca total (MFT), matéria seca total (MST), taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR) e área foliar (AF) de plântulas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em casa de vegetação durante 28 dias sob diferentes concentrações de NaCl<sup>(1)</sup>.

NaCl (mol.m <sup>-3</sup> )	NF (unid)	MFT g.planta <sup>-1</sup>	MST g.planta <sup>-1</sup>	TCA cm.dia <sup>-1</sup>	TCR cm.cm <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup>	AF cm <sup>2</sup>
0	9,2a	72,06a	7,44a	0,33ab	0,031a	5866,22a
15	9,4a	71,24a	7,27a	0,34a	0,03a	5492,1ab
30	7,0bcd	59,07ab	6,09ab	0,25bc	0,029ab	4555,61abc
45	8,8abc	54,75abc	5,27ab	0,31ab	0,029ab	4334,3bcd
60	6,8cd	48,74bc	4,79b	0,24bc	0,021c	3853,07cd
75	7,2abcd	39,12c	4,23b	0,26abc	0,022bc	2944,61d
90	6,0d	45,69bc	4,88b	0,21c	0,017c	3585,93cd
<b>C.V. (%)</b>	7,11	16,29	19,45	15,43	14,7	17,07

<sup>(1)</sup> Médias seguidas de letras iguais, entre os tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Os teores de  $\text{Na}^+$  nas folhas das plantas de *J.curcas* cultivadas sob  $15 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl foram oito vezes maiores que os valores encontrados nas plantas controle, sendo observado aumento de até 15 vezes nas folhas das plantas submetidas à concentração mais elevada de NaCl (Tabela 2). Foi observada redução nos teores do  $\text{K}^+$  nas folhas, também a partir de  $15 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl, com redução de 25 %; as plantas cultivadas com  $90 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl apresentaram uma redução de 48 % (Tabela 2). A relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  nas folhas das plantas apresentou um aumento significativo em relação às plantas do tratamento controle a partir de  $30 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl (Tabela 2). Os teores de  $\text{Cl}^-$  aumentaram em função do incremento das concentrações de sal atingindo valores de três a cinco vezes maior nas folhas das plantas submetidas a tratamentos salinos, em relação às plantas tratadas sem NaCl (Tabela 2).

No caule foi observado aumento nos teores do  $\text{Na}^+$  das plantas de *J.curcas* de até 106 vezes na concentração mais elevada de salinidade, porém, os teores de  $\text{K}^+$  não apresentaram diferença significativa entre as plantas submetidas aos tratamentos salinos e o controle. Os teores de  $\text{Cl}^-$  aumentaram de 4 a 5 vezes no caule das plantas dos tratamentos salinizados (Tabela 2).

As raízes das plantas submetidas aos tratamentos salinos apresentaram incremento nos teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  associado a um decréscimo nos teores de  $\text{K}^+$ . No tratamento com  $90 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl as raízes apresentaram aumento de 52 vezes nos teores de  $\text{Na}^+$  e redução de 1,5 vezes (33%) nos teores de  $\text{K}^+$ . Os teores de  $\text{Cl}^-$  das raízes aumentaram proporcionalmente em função do incremento das concentrações salinas na solução, atingindo em torno de 4 a 7 vezes os valores observados nas plantas do tratamento controle (Tabela 2).

**Tabela 2.** Teores de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas folhas, caules e raízes de plântulas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em casa de vegetação durante 28 dias sob diferentes concentrações de NaCl<sup>(1)</sup>.

Folha				
NaCl (mol.m <sup>-3</sup> )	Na <sup>+</sup> g.Kg <sup>-1</sup>	K <sup>+</sup> g.Kg <sup>-1</sup>	Cl <sup>-</sup> g.Kg <sup>-1</sup>	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>
0	2,8d	54,0a	7,9f	0,052e
15	22,4c	40,7b	26,5e	0,550de
30	29,4b	36,3bc	30,3de	0,810cd
45	33,4b	36,5bc	33,6cd	0,915bcd
60	39,4a	31,6bc	42,6a	1,247abc
75	40,2a	29,4bc	35,8bc	1,367ab
90	42,5a	28,1c	37,9b	1,512a
C.V. (%)	7,8	16,0	6,7	29,61
Caule				
0	0,1d	47,4a	5,7c	0,002e
15	4,9c	44,3a	20,4b	0,111d
30	7,6b	41,8a	24,2ab	0,182c
45	9,1ab	43,3a	27,9a	0,210bc
60	10,4a	44,2a	30,7a	0,235ab
75	10,3a	40,6a	29,2a	0,254ab
90	10,6a	38,7a	28,9a	0,274a
C.V. (%)	16,6	10,6	15,5	13,00
Raiz				
0	0,2c	38,1a	4,5e	0,005d
15	5,8b	32,9b	16,7d	0,176c
30	7,4b	29,2bc	21,2c	0,253bc
45	7,0b	29,5bc	24,6bc	0,237bc
60	6,8b	28,6bc	26,4ab	0,238ab
75	7,0b	25,5c	30,1a	0,275b
90	10,5a	25,5c	29,0a	0,412a
C.V. (%)	19,1	7,3	9,3	20,09

<sup>(1)</sup> Médias seguidas de letras iguais, entre os tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

As variações na concentração de prolina não apresentam um padrão de comportamento que indique acúmulo ou decréscimo em função do aumento da salinidade com relação às plantas do tratamento controle. Entretanto, as plantas tratadas com 90 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl apresentaram acúmulo de prolina em relação às plantas dos tratamentos regados com 15, 30 e 45 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl (Tabela 3).

Os teores de carboidratos solúveis foram maiores nas plantas submetidas aos níveis de 15 e 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl do que nas plantas tratadas sem NaCl. Os incrementos no teor de carboidratos nos tratamentos com 15 e 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl em relação às plantas regadas com água não salinizada foram de 53 % e 78 %, respectivamente. Nos demais tratamentos salinos não houve diferença estatística nem relação ao tratamento controle nem em relação aos tratamentos com 15 e 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl (Tabela 3).

Observou-se também uma tendência de aumento nos teores de proteínas solúveis totais em função do incremento da concentração salina na solução. Entretanto o aumento só foi significativo nas plantas submetidas a 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl, com incremento da ordem de 38 % em relação às plantas do tratamento não salino (Tabela 3).

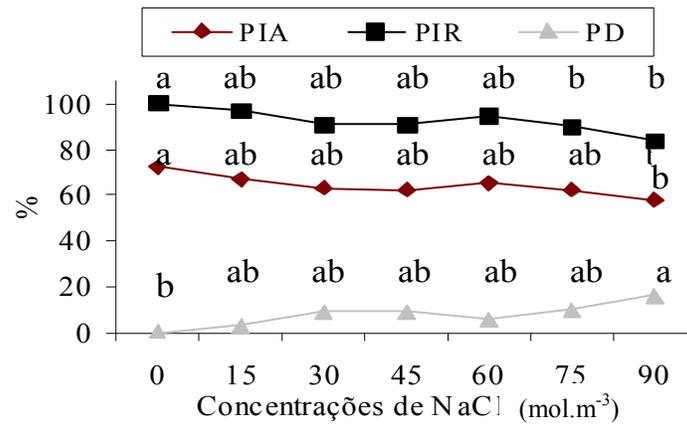
O teor de fenóis totais não variou em função do tratamento com 15 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl, entretanto, aumentos de 88 a 100% foram observados nas plantas tratadas com concentração de NaCl igual ou superior a 30 mol.m<sup>-3</sup> (Tabela 3).

**Tabela 3.** Teores de prolina, carboidratos solúveis totais, proteínas solúveis totais e fenóis totais de plântulas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em casa de vegetação durante 28 dias sob diferentes concentrações de NaCl<sup>(1)</sup>.

NaCl (mol.m <sup>-3</sup> )	Prolina µg.g <sup>-1</sup> MF	Carboidratos solúveis mg.g <sup>-1</sup> MF	Proteínas solúveis mg.g <sup>-1</sup> MF	Fenóis totais mg.g <sup>-1</sup> MF
<b>0</b>	238,37abc	1,12b	4,84b	1,04c
<b>15</b>	217,56bc	1,72a	4,84b	1,43bc
<b>30</b>	218,86bc	2,00a	6,57a	1,96ab
<b>45</b>	212,70c	1,69ab	5,61ab	2,09a
<b>60</b>	282,38a	1,57ab	5,36ab	2,14a
<b>75</b>	259,33ab	1,52ab	5,04b	1,66ab
<b>90</b>	277,37a	1,61ab	5,53ab	1,96ab
<b>C.V. (%)</b>	9,22	18,78	14,23	17,75

<sup>(1)</sup> Médias seguidas de letras iguais, entre os tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

Observou-se uma tendência de redução da integridade de membrana nas plantas de *J. curcas* em função do aumento das concentrações de sal na solução de rega (Figura 1). A porcentagem de integridade absoluta (PIA) das plantas submetidas a 90 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl foi de 54,8% enquanto que nas plantas que não receberam sal a PIA foi de 72,4% (Figura 1). Os valores de porcentagem de integridade relativa da membrana foram inferiores ao controle nas plantas tratadas com 75 e 90 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl. No tratamento mais severo a PIR foi da ordem de 83,5% frente ao controle e essa redução na integridade membranar refletiu-se numa porcentagem de dano (PD) de 16,5% nas plantas desse tratamento salino (Figura 1).



**Figura 1.** Porcentagem de integridade absoluta (PIA), integridade relativa (PIR) e danos (PD) nas membranas celulares em plântulas de *Jatropha curcas* submetidas a diferentes concentrações de NaCl, cultivadas em casa de vegetação durante 28 dias<sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Médias seguidas de letras iguais, entre os tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

## Discussão

O preciso mecanismo pelo qual o excesso de sais dissolvidos no solo provoca reduções no crescimento das plantas superiores é um tema bastante discutido e inclui efeito osmótico, efeito direto de toxicidade iônica, ou ambos (Silva et al., 2005). No presente trabalho, os dados sobre o crescimento das plantas de *J. curcas* submetidas a vários níveis de salinidade mostraram reduções em todas as variáveis analisadas (Tabela 1). É importante destacar que, em condições de estresse salino, é comum ocorrerem alterações morfológicas nas plantas (Lima et al., 2007). A redução no número de folhas (NF) e na área foliar (AF) favorece a diminuição da transpiração e conseqüentemente, a economia de água. As plantas de *J. curcas*, no presente trabalho, apresentaram reduções no NF e na AF das plantas submetidas a concentrações superiores a 30 e 45 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl, respectivamente (Tabela 1). Efeitos da salinidade sobre a redução da área foliar também foram relatados por Silva et al. (2005) em duas cultivares de mamona com reduções de 92 a 99 %, quando submetidas à concentração de 85 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl. Segundo esses autores, reduções na AF ocorrem, principalmente, em função da diminuição do volume das células devido à redução da pressão de turgor. A redução do crescimento das folhas, entretanto, é resultante tanto da divisão quanto do alongamento celular (Munns e Tester, 2008).

Em relação à produção de MFT e MST das plantas, a redução ocorreu a partir do tratamento com 60 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl. Neste mesmo tratamento foi observada também a redução da TCR (Tabela 1). A TCR e a TCA foram calculadas com base na altura das plantas e percebe-se uma tendência à redução do tamanho das plantas na maioria dos tratamentos salinos aplicados. O processo de crescimento é particularmente sensível ao efeito dos sais, de forma que a taxa de crescimento pode servir de critério para avaliar o grau de estresse e a capacidade da planta de superá-lo (Larcher, 2004). Mesmo espécies consideradas tolerantes ao sal apresentam redução do crescimento em presença de salinidade, embora em igual concentração de sal, plantas tolerantes sejam capazes de manter maiores taxas de crescimento em relação às sensíveis (Neumann, 1997).

Os teores de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas folhas, nos caules e nas raízes das plantas aumentaram em função do incremento das concentrações salinas impostas, sendo mais evidente esse incremento nas folhas (Tabela 2). Esses resultados sugerem que *J. curcas* não possui mecanismos efetivos de exclusão de Na<sup>+</sup> após sua absorção mediante o antiporte Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> no plasmalema das células radiculares, nem tampouco mecanismos que evitem o transporte desse cátion para as folhas.

Paralelamente ao aumento de Na<sup>+</sup> ocorreu redução nos teores do K<sup>+</sup> nas folhas e nas raízes (Tabela 2). Os distúrbios metabólicos gerados pelo acúmulo de Na<sup>+</sup> na célula são, em parte, resultantes

da competição com o  $K^+$  pelos sítios ativos das enzimas (Blumwald, 2000) e ribossomos (Tester e Davenport, 2003). O  $K^+$  é ativador enzimático de mais de 50 enzimas do metabolismo vegetal e não pode ser substituído pelo  $Na^+$  nesta função, de modo que uma alta concentração de  $Na^+$  ou uma alta relação  $Na^+/K^+$  acarretará na interrupção de vários processos metabólicos essenciais. Segundo Greenway e Munns (1980), uma relação  $Na^+/K^+$  igual ou menor que 0,6 é necessária para a manutenção da eficiência do metabolismo em plantas não-halófitas. No presente trabalho, foi observado um aumento da relação de  $Na^+/K^+$  acima de 0,6 nas folhas das plantas submetidas a concentrações iguais ou superiores a  $30 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl, coincidindo com o acúmulo de carboidratos solúveis, proteínas solúveis e fenóis totais (Tabela 3), sugerindo um ajuste metabólico em resposta ao aumento da severidade do estresse. A partir dessa concentração salina constatou-se o aparecimento de sintomas como amarelecimento nas bordas das folhas das plantas. Observou-se necrose e redução significativa na produção MST nas plantas submetidas a concentrações iguais ou superiores a  $60 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl. Os aparentes sintomas de toxidez salina provavelmente se deveram aos elevados teores de  $Na^+$  no tecido das plantas, sugerindo que esse acúmulo suplantou a capacidade de acumulação desse cátion no vacúolo. O seqüestro de  $Na^+$  para o vacúolo é um mecanismo de defesa que atua protegendo o citosol contra o excesso do íon, permitindo que as atividades metabólicas da célula ocorram dentro da normalidade (Munns e Tester, 2008). A concentração de  $Na^+$  tóxica para o citosol ainda não está bem definida, entretanto, estudos *in vitro* demonstraram que muitas enzimas são inibidas a concentrações próximas a  $100 \text{ mol.m}^{-3}$  (Munns, 1993).

O teor de  $Cl^-$ , por sua vez, aumentou em função do incremento das concentrações de sal em todas as partes da planta (Tabela 2). As células das raízes absorvem o  $Cl^-$  a partir da solução do solo por meio de um processo denominado de co-transporte  $H^+/Cl^-$  (simporte) quando a concentração externa de cloreto é baixa. Sob condições salinas, entretanto, a absorção do  $Cl^-$  se dá, ademais, por meio de canais aniônicos. A seletividade e a magnitude do transporte de  $Cl^-$  pode ser controlado por transportadores específicos e a habilidade em restringir o fluxo de  $Cl^-$  para a parte aérea e evitar seu efeito tóxico é uma característica genotípica (White e Broadley, 2001). Morais et al. (2007) analisando o efeito da salinidade em *Anacardium occidentale* L submetidos a concentrações de até  $100 \text{ mol.m}^{-3}$  de NaCl, durante 30 dias, relatam que as concentrações de  $Cl^-$  nos tecidos atingiram níveis tóxicos em todos os tratamentos de salinidade aplicados. A concentração a partir da qual o  $Cl^-$  torna-se tóxico para os tecidos vegetais ainda não estão bem definidas, mas acredita-se que sejam semelhantes às de  $Na^+$  (Munns e Tester, 2008).

No que se refere aos teores de prolina no tecido vegetal, não se observou efeito dos tratamentos, sugerindo que esse soluto não atua na osmorregulação dessa espécie (Tabela 3). Embora alguns trabalhos evidenciem a importância do incremento da prolina como osmorregulador para a tolerância à salinidade, o seu significado ainda é controverso (Oliveira et al., 2006). Alguns trabalhos têm demonstrado que o principal papel da prolina consiste na habilidade de estabilizar proteínas, DNA, membranas e estruturas subcelulares (Kavi Kishor et al., 2005) e proteger funções celulares contra danos oxidativos (Bohnert e Shen, 1999).

Apenas nas plantas cultivadas com 15 e 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl os teores de carboidratos solúveis totais aumentaram em relação às plantas regadas com água não salinizada (Tabela 3). A elevação nos teores de carboidratos nas folhas pode estar ligada à indução do ajustamento osmótico da célula e conseqüente manutenção do nível de água da folha (Lacerda et al., 2001). A produção de solutos orgânicos, entretanto, implica num custo metabólico e sua contribuição para a diminuição de ajustamento osmótico celular pode ser restritiva para o crescimento vegetal (Arbona et al., 2005). O aumento da concentração de NaCl na solução de rega acima de 30 mol.m<sup>-3</sup> parece suplantiar a capacidade da planta de acumular carboidratos a uma concentração suficiente para um possível ajuste osmótico, tendo em vista as reduções observadas em variáveis de crescimento acima dessa concentração salina (Tabela 1).

O incremento na concentração de proteínas solúveis nas plantas submetidas a 30 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl foi da ordem de 38 % em relação às plantas do tratamento não salino (Tabela 3). Embora seja freqüente a diminuição no teor de proteína solúvel nas plantas submetidas à salinidade em conseqüência da diminuição da síntese protéica ou pelo aumento da proteólise (Parida e Das, 2005), sabe-se que muitas plantas tem a síntese protéica estimulada quando submetidas a condições salinas (Sen et al., 2002). Pode ocorrer um aumento da síntese de uma ampla variedade de proteínas em resposta ao estresse salino, as quais podem atuar na estabilização das membranas celulares e na sinalização de respostas à salinidade (Tester e Davenport, 2003).

A concentração de fenóis totais aumentou quando as plantas foram submetidas a concentrações salinas superiores a 15 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl (Tabela 3). Segundo alguns autores, geralmente, a síntese e a acumulação de polifenóis são estimuladas em resposta ao estresse, como a salinidade (Navarro et al., 2006). O incremento na síntese ou o acúmulo de substâncias fenólicas em resposta ao estresse salino parece ser um caráter dependente do genótipo, como evidenciado em cana-de-açúcar (Wahid e Ghazanfar, 2006) e em *Cakile marítima*, uma oleaginosa halófito (Ksouri et al., 2007). Os fenóis são substâncias que constituem um grupo quimicamente heterogêneo com várias funções nos vegetais

(Salgado, 2004). Essas substâncias são consideradas como responsáveis pela atividade antioxidante devido a sua propriedade redutora e por desempenhar um importante papel na neutralização e/ou seqüestro de radicais livres (Roesler et al., 2007), bem como na quelação de metais de transição (Sousa et al., 2007). O aumento no teor de compostos fenólicos parece estar relacionado ao incremento da tolerância à salinidade, como constatado em plantas de cana-de-açúcar (Wahid e Ghazanfar, 2006).

Foi observada uma redução significativa da porcentagem de integridade absoluta (PIA) e relativa (PIR) das membranas celulares nas plantas submetidas a concentrações de 75 e 90 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl, respectivamente. A porcentagem de dano nas membranas (PD) apresentou tendência a aumentar em função do incremento das concentrações salinas aplicadas (Figura 1). A salinidade pode causar efeitos hiperiônicos e hiperosmóticos que levam à desorganização da membrana (Hasegawa et al., 2000). Vários estudos sugerem que a membrana plasmática é o principal local de injúria pelo sal (Mansour 1998). A permeabilidade à água e a não-eletrólitos é marcadamente alterada pela exposição à salinidade (Parvaiz e Satyawati, 2008). A estabilidade das membranas biológicas tem sido considerada uma importante ferramenta na avaliação dos efeitos da salinidade sobre as plantas (Kukreja et al., 2005). Farooq e Azam (2006) registraram incremento nos danos na membrana celular de variedades de trigo sob estresse salino.

Os danos nas estruturas das membranas celulares ocasionados pela salinidade são decorrentes do aumento na produção das espécies reativas de oxigênio (ROS) como o radical superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ) (Parida e Das, 2005), que alteram sensivelmente a permeabilidade das membranas. As ROS são produzidas de forma controlada nos processos fisiológicos normais das plantas, como na fotossíntese e na respiração, mas, durante os estresses abióticos, ocorre uma maior produção acarretando em diminuição na integridade e permeabilidade das membranas celulares (Mittler, 2002). O aumento no teor de fenóis registrado neste trabalho pode estar relacionado com a manutenção da integridade das membranas celulares das plantas de *J. curcas* submetidas às concentrações de NaCl inferiores a 75 mol.m<sup>-3</sup> de NaCl pois, de acordo com Wahid e Ghazanfar (2006), o aumento da síntese de fenóis no citosol pode proteger a planta do estresse oxidativo induzido pelo efeito iônico dos sais, ligando-se a esses íons e reduzindo a toxidez sobre as estruturas citoplasmáticas.

Em síntese, a magnitude do aumento dos teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nas folhas, caules e raízes nas plantas submetidas ao estresse salino indicam que não há mecanismos que evitem a translocação dos íons para as folhas nem a extrusão dos mesmos pelas células radiculares. Em função do incremento da concentração salina as plantas acumularam compostos orgânicos, sobretudo quando submetidas a concentrações iguais ou superiores a  $30 \text{ mol.m}^{-3}$ . Concentrações superiores a  $30 \text{ mol.m}^{-3}$ , entretanto, resultam em reduções do crescimento das plantas e a relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  é superior a 0,6 sugerindo alterações em vários processos metabólicos primários e secundários.

### **Agradecimentos:**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) pelo apoio fornecido.

### **Referências**

- A.O.A.C. - Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis of the Association of the Agricultural Chemists. 12 ed. Washington: 1992.
- Arbona V, Marco AJ, Iglesias DJ, Lopez-Climent MF, Gomez Cadena A. Carbohydrate depletion in roots and leaves of salt-stressed potted *Citrus clementina* L. Plant Growth Reg 2005; 130: 267-72.
- Arruda FO, Beltrão NEM, Andrade AP, Pereira WE, Severino LS. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas 2004; 8: 789-99.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 1973; 39: 205-7.
- Beltrão NEM, Severino Veloso JF, Junqueira N, Fidelis M, Gonçalves NP, Saturnino HM, Roscoe R, Gazzoni D, Duarte JO, Drumond MA, Anjos JB. Alerta sobre o Plantio de Pinhão-manso no Brasil. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Algodão. Campina Grande, Documento 155, 2006; 1:16.

- Benincasa MMP. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). Jaboticabal: FUNEP, SP, 2003. 41 p.
- Blumwald E. Sodium transport and salt tolerance in plant cells. *Current Opinion of Cell Biology* 2000; 12: 76-112.
- Bohnert HJ, Shen B. Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae* 1999; 78: 237-60.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding . *Analytical Biochemistry* 1976; 72: 248-54.
- Cheeseman JM. Mechanisms of Salinity Tolerance in Plants. *Plant Physiology* 1988; 87: 547-50.
- Fao: Extent and Causes of Salt-affected Soils in Participating Countries. FAO - Land and Plant nutrition management service. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/topic2.htm#top>. Acesso em: Mar/2008.
- Farooq S, Azam F. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. *J Plant Physiol* 2006; 163: 629–37.
- Ferreira PA, Moura RF, Santos DB, Fontes PCR, Melo RF. Efeitos da lixiviação e salinidade da água sobre um solo salinizado cultivado com beterraba. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2005; 10: 570-8.
- Fricke W, Arova GA, Wei W, Alexandersson E, Miller A, Kjellbom PO, Richardson A, Wojciechowski T, Schreiber L, Veselov D, Kudoyarova G, Volkov V. The short-term growth response to salt of the developing barley leaf. *Journal of Experimental Botany. Plants and Salinity Special Issue*, 2006; 57: 1079-95.
- Greenway H, Munns R. Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu Rev Plant Physiol* 1980; 31: 149-90.
- Gurgel MT, Fernandes PD, Gheyi H, Santos FJS, Bezerra IL, Nobre RG. Índices fisiológicos e de crescimento de um porta-enxerto de aceroleira sob estresse salino. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2003; 7: 451-6.
- Hanson A, Nelsen CE, Everson EH. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop Science* 1977; 17: 720-6.
- Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. Plant cellular and molecular responses to high salinity, *Annu Rev Plant Physiol. Plant Mol Biol* 2000; 51; 463–99.
- Jongschaap REE, Corre WJ, Bindraban PS, Brandenburg WA. Claims and facts on jatropha curcas. *Plant Research International B.V., Wageningen. Stichting Het Groene Woudt, Laren, 2007; 1:37.*

- Kavi Kishor PB, Sangam S, Amrutha RN, Sri Laxmi P, Naidu KR, Rao KRSS, Sreenath Rao, Reddy KJ, Theriappan P, Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science* 2005; 88: 424-738.
- Ksouri R, Megdiche W, Debez A, Falleh H, Grignon C, Abdelly C. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. *Plant Physiology and Biochemistry* 2007; 45: 244-49.
- Kukreja S, Nandwal AS, Kumar N, Sharma SK, Unvi V. Plant water status, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biol Plant* 2005; 49: 305-8.
- Lacerda CF, Cambraia J, Cano MAO, Ruiz HA. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes, under NaCl stress. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 2001; 13: 270-284.
- Larcher W. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: Rima, 2004. 531 p.
- Lima CB, Santos Filho SV, Santos MA, Oliveira M. Influência da água salina nas características físico-químicas do solo e no desenvolvimento da mamoneira cultivada em vasos. *Revista Caatinga* 2007; 20: 132-136.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato 1989; 201p.
- Mansour M.M.F. Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiol Biochem* 1998; 36: 767-72.
- Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 2002; 7: 405-10
- Miyazawa M, Pavan MA, Bloch M F M. *Análise química de tecido vegetal*. Londrina: IAPAR, 1992.
- Morais DL, Viégas RA, Silva LMM, Lima Jr AR, Costa RCL, Rocha IMA, Silveira JAG. Acumulação de íons e metabolismo de N em cajueiro anão em meio salino. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2007; 11: 125-33.
- Munns R. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environment* 1993; 16: 15-24.
- Munns R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 2002; 25: 239-50.
- Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Reviews Plant Biology* 2008; 59: 651-81.

- Navarro JM, Flores P, Garrido C, Martinez V. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem* 2006; 96: 66-73.
- Neumann P. Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant Cell and Environ* 1997; 20:1193-98.
- Oliveira FA, Medeiros FJ, Oliveira MKT, Lima CJGS, Galvão DC. Desenvolvimento inicial do milho-pipoca ‘jade’ irrigado com água de diferentes níveis de salinidade. *Revista Verde* 2007; 2: 45-52.
- Oliveira, LAA, Barreto LP, Bezerra Neto E, Santos MVF, Costa JCA. Solutos orgânicos em genótipos de sorgo forrageiro sob estresse salino. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2006; 41: 31-5.
- Openshaw K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass and Bioenergy* 2000; 19: 1-15.
- Parida AK, Das AB. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2005; 60: 324-49.
- Parvaiz A, Satyawati S. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review. *Plant Soil Environ* 2008; 54: 89–99.
- Pimentel C, Sarr B, Diouf O, Abboud ACS, Roy-Macauley H. Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo. *Revista Universidade Rural, Série. Ciências da Vida*, 2002; 7:14 - 22.
- Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, Holanda RB, Sousa CAS, Pastore GM. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciências e Tecnologia de Alimentos* 2007; 27: 53-60.
- Salgado PR. Fenóis totais no cafeeiro em razão das fases de frutificação e do clima. *Dissertação em Agronomia*. São Paulo, Piracicaba, 2004.
- Sen DN, Kasera PK, Mohammed S. *Biology and Physiology of Saline Plants*. In Pessarakli, M. (Ed). *Handbook of Plant and Crop Physiology*. New York, Marcel Dekker, Inc.2002. p:563-581.
- Silva SMS, Alves AN, Gheyi HR, Beltrão NEM, Severino LS, Soares FAL. Germinação e crescimento inicial de duas cultivares de mamoneira sob estresse salino. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental (Suplemento)* 2005; 347:52.
- Sousa CMM, Silva HR, Vieira Jr GM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, Cavalcante LCD, Barros EDS, Araújo PBM, Brandão MS, Chaves MH. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova* 2007; 30: 351-5.
- Teixeira CT. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. In: *Produção de oleaginosas para biodiesel*. Informe agropecuário, Belo Horizonte, 2005; 26: 18-27.

- Tester M, Davenport R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Annals of Botany* 2003; 91: 503-527.
- Wahid A, Ghazanfar A. Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *Journal of Plant Physiology* 2006; 163: 723-30.
- White PJ, Broadley MR. Chloride in Soils and its Uptake and Movement within the Plant: A Review. *Annals of Botany* 2001; 88: 967-88.
- Willadino L, Camara TR. Origen y naturaleza de los ambientes salinos. In: REIGOSA. M. J.; PEDROL, N.; SÁNCHEZ, A. *La Ecofisiología Vegetal, Una ciencia de síntesis*. Madrid, España. Editora Thomsom, 2004; 303:329.
- Yemm EB, Willis AJ. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. *Department of Botany, University of Bristol*, 1945; 57: 508-14.

## 1. General

The "Journal of Plant Physiology" publishes, in English, original papers, short communications and reviews in all areas of plant physiology, plant biochemistry, plant molecular biology and functional biotechnology of plants. Manuscripts from applied fields and certain comparative studies can be accepted only if they contribute to the understanding of physiological mechanisms. Studies that merely confirm known facts in just another species will normally not be considered for publication.

### Submission of a manuscript implies:

- that the submitted work has not been published before (except as part of a thesis, lecture note or in the form of an abstract)
- that it is not under consideration for publication elsewhere
- that its publication has been approved by all co-authors as well as by the authorities of the institution(s) in which the work has been carried out
- that written permission of copyright holders was obtained by the authors for material used from other copyrighted sources
- that, if and when the manuscript is accepted for publication, the authors hand over the transferable copyrights of the accepted manuscript to the publisher and that the manuscript, or parts thereof, will thus not be published elsewhere in any language without the consent of the copyright holder. Copyrights include, without spatial or timely limitation, the mechanical, electronic and visual reproduction and distribution; electronic storage and retrieval; and all other forms of electronic publication or any other types of publication including all subsidiary rights. For more information on copyright, see <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

### Invited reviews (IR)

Authors interested in writing a review article should contact the Review Editor in advance by submitting a summary of the intended manuscript. The Editor may then send an official letter of invitation with further instructions.

### Original Papers (OP)

Original Papers should not exceed 25 double-spaced pages with 2 cm margins including tables and figures (approximately 43,000 characters; how to count these characters: see the electronic version of the instructions to authors at [www.elsevier.de/jplph](http://www.elsevier.de/jplph)). Manuscripts not meeting these specifications will be returned.

### Short Communications (SC)

Short Communications should not exceed 6 double-spaced pages with 2 cm margins including tables and figures (approximately 21,500 characters; how to count these characters: see the electronic version of the instructions to authors at [www.elsevier.de/jplph](http://www.elsevier.de/jplph)). Manuscripts not meeting these specifications will be returned.

## 2. Submission

All manuscripts must be submitted electronically via internet to the Journal of Plant Physiology through the Author Gateway for Elsevier Journals at <http://ees.elsevier.com/jplph>.

## 3. Manuscript Organization

Authors should consult papers in a recent issue for details of manuscript style and formatting that are not printed below.

Authors are responsible for submitting well-written manuscripts. Authors who are not fluent in English should have their manuscripts read by English-speaking colleagues or seek commercial help (see below). Manuscripts that do not meet these standards will be returned to the authors.

**Language Polishing:** Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/wps/find/authorhome.authors/language-polishing> or contact [authorsupport@elsevier.com](mailto:authorsupport@elsevier.com) for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions [http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws\\_home/termsconditions](http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws_home/termsconditions).

**Cover Page:** Short running title (no abbreviations); name, mailing address, phone and FAX numbers and e-mail address of corresponding author.

Provide contact information for the corresponding author only. Give no more than one email address. Communication between the authors is in the sole responsibility of the corresponding author.

**Title Page:** Title of the article; name(s), including full first name, institution(s) and address(es) of author(s)

Title must be informative and should express data rather than the type of experiment. Avoid titles like "The effect of...on..." or similar. Do not use abbreviations and formulae. Do not include the authority if a Latin species name is given. Avoid unnecessary cultivar (or similar) information. The corresponding author must be indexed.

**Page 1:** Summary; five key words (in alphabetical order); abbreviations (in alphabetical order)

**Summary:** The summary should state the purpose of the study, the major results and conclusions. Do not exceed 300 words. Since the summary is often read without the information given in the article it must be written to stand on its own. Therefore, avoid references, non-standard abbreviations and acronyms.

**Key words:** Since key words are used for indexing, avoid terms that are too general (e.g. plant). Abbreviations should only be used as key words if firmly established; in any case of doubt avoid abbreviations as key word.

**Abbreviations:** List all abbreviations used which are non-standard. Abbreviations used for the axes of graphs should be listed in the abbreviation list not the figure legend. Use abbreviations consistently after the first introduction.

**Following Pages:** Introduction; Materials and Methods; Results; Discussion; Acknowledgments; References; Tables; Legends of figures; Figures

## 4. Manuscript Preparation

**Text:** Style should be concise and clear. Correct English spelling, syntax and grammar is the sole responsibility of the author(s). Genera must be spelled out when first mentioned and experimental plants defined by taxonomic names and authority in Material and Methods. Genus and species names and words to be emphasized should be printed in italics. Footnotes are not permitted.

### A List of Most Common Problems

- do not start sentence with an abbreviation or a numeral
- abbreviation for "liter" always capital (upper case) "L", for example mL
- always insert space between numeral and unit, for example 1 mL, 1 mM, 1 h, 1 min
- use consistently h for hour(s), min for minute(s), s for second(s), d for day(s); note: h not hs for hours, no period
- do not use "&" for "and"
- do not use terms Southern/Northern/Western, instead: DNA/RNA/protein gel blot analysis/hybridization
- use nomenclature, including gene names and symbols and other genetic terms, in a scientifically accurate manner according to nomenclature conventions adopted by the scientific community

**Introduction:** State the rationale of your work and provide the appropriate background information. Do not give a literature survey but cite all previous publications that form a basis for the work presented. Do not summarize results in the Introduction. Conclude by stating a clear hypothesis of your work, which will be tested and discussed in the Discussion section.

**Materials and Methods:** Methods should be described tersely, but precisely enough to permit replication. References to methods already described are allowed if already published in literature easily accessible to the scientific community. SI units should be used throughout and decimals instead of fractions; see J Plant

Physiol (1992) 139 p 128. Enzymes should be given with the EC-number when first mentioned. Accession numbers should be provided for any data or materials available in a public repository. If new sequence data are reported, insert the following: "Sequence data from this article have been deposited at XXX under accession number(s) YY000000."

**Results:** Report results only. Do not include rationales and interpretations. Normally results should be separated from the discussion section. However, in some cases the combination of both into a common section might be appropriate.

**Discussion:** Do not repeat the results but refer to the hypothesis formulated at the end of the introduction and discuss the arguments, taken from your data or from the literature, which are in agreement/disagreement with your hypothesis.

## 5. References

Do not overload the paper with citations. In most cases, approximately 20 references for a full-lengths paper are probably sufficient. Avoid web citations because the web site might not be accessible in the future. Please check references carefully. Text citations and references listed in the reference list must perfectly match. Mismatches, including year of publication and misspelling of names, will considerably delay the publication of the manuscript.

**Citations in the text:** Name(s) of author(s) followed by the year of publication: (Takami and Takio, 1987) or Takami and Takio (1987). Where there are more than two authors, only the first should be named followed by et al. (Takami et al., 1992) or Takami et al. (1992). Separate citations by semicolon: Takami and Takio, 1987; Takami et al., 1992; 1995a; b) chronologically listed.

**References list:** Should be formatted as shown below (please note punctuation and capitalization) and listed alphabetically.

In "Original Papers" the long form should be used (list all authors):

Takami SA, Takio S. Establishment of cell suspension cultures of *Hedwigia ciliata*. *J Plant Physiol* 1987;130:267-72.

Krause GH, Weis E. The photosynthetic apparatus and chlorophyll fluorescence. In: Lichtenthaler KH, editor. *Applications of Chlorophyll Fluorescence*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1988. p 3-11.

Simons P. *The Action Plant*. Oxford: Blackwell, 1992.

In "Short Communications" the short form should be used (list all authors):

Takami SA, Takio S. *J Plant Physiol* 1987;130:267-72.

Krause GH, Weis E. In: Lichtenthaler KH, editor. *Applications of Chlorophyll Fluorescence*. Dordrecht: Kluwer, 1988, p 3-11.

Simons P. *The Action Plant*. Oxford: Blackwell, 1992.

References should be listed alphabetically. When more than one paper has the same first author, papers with one author should be listed first (chronologically), followed by papers with two authors (alphabetically according to second author), followed by papers with more than three authors (chronologically).

Adams AB. (2000)

Adams AB. (2001)

Adams AB, Baker C. (2001)

Adams AB, Smith D. (2000)

Adams AB, Smith D, Baker C, Miller E. (2000)

Adams AB, Baker C, Smith D. (2001)

**Note:** References are listed chronologically even if the list contains different first authors with identical family names:

Adams CD, Smith D, Baker C, Miller E. (2000)

Adams AB, Baker C, Miller E. (2001)

## 6. Tables

Should be numbered as they appear in the text. Avoid extensive tables and duplication of data presentation in graphs and tables. If statistical treatment has been applied, explain the test method used and the levels of significance in the legends to tables. The placement of the tables should be indicated in the left margin.

## 7. Figures

Submit illustration files separately from text files. Files for full colour images must be in a CMYK colour space. All illustration files should be in TIFF or EPS formats. Journal quality reproduction will require greyscale and colour files at resolutions yielding approximately 300 dpi. Bitmapped line art should be submitted at resolutions yielding 600-1200 dpi.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Please visit this site and follow the instructions carefully. Figures should be preferentially in black-and-white. Colour should only be used if it is necessary for scientific reasons. If, together with the accepted article, usable colour figures are submitted, Elsevier will, at no additional charge, publish these figures in colour in the on-line version of the manuscript (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are in colour in the printed version. Colour figures can be printed only if the costs are covered by the author (EUR 450.00 for first colour page, EUR 350.00 for every additional colour page). The publisher will try to keep the costs for the authors down by printing the colour figures on as few pages as possible. The authors should keep this in mind when organizing their manuscript and also may consider to mount several colour figures into plates where advisable. For invited reviews, the Editor in Chief can reduce the charge. Authors who agreed to pay the production costs for colour figures will automatically receive 50 additional free offprints (total of 75).

If the printed version of the figures is to be black-and-white, authors must submit black-and-white figures for review. If a manuscript was reviewed and accepted with color figures, it must be published in color.

## 8. Supplementary data

Elsevier now accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more.

## 9. Proofs and Offprints

Galley proofs will be sent to the corresponding author for final corrections via email as pdf-file. Alterations other than the correction of printing errors may require the approval of the editor and will be charged to the corresponding author. The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail or, alternatively, 25 free paper offprints. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional offprints may be ordered when proofs are returned. Additional offprints can be ordered on an offprint order form. Until publication of the print edition, corrected proofs will be available at online first ([www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)).

## 10. Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscripts archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

The Journal of Plant Physiology carries no page charges.

updated January 17th, 2008