

**MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS DURANTE O ESTABELECIMENTO DE
PLÂNTULAS DE PINHÃO MANSO SUBMETIDAS AO ESTRESSE
SALINO**

EMANUELLA HAYANNA ALVES DE LIRA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAIBA
CAMPINA GRANDE- PB**

FEVEREIRO DE 2016

**MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS DURANTE O ESTABELECIMENTO DE
PLÂNTULAS DE PINHÃO MANSO SUBMETIDAS AO ESTRESSE
SALINO**

EMANUELLA HAYANNA ALVES DE LIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre (M.Sc.) em Ciências Agrárias/Área de concentração: Energias Renováveis e Biocombustíveis.

Orientador: Prof. Dr. Josemir Moura Maia

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino de Gadelha Meneses

CAMPINA GRANDE – PB

FEVEREIRO DE 2016

**MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS DURANTE O
ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DE PINHÃO MANSO
SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO**

EMANUELLA HAYANNA ALVES DE LIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre (M.Sc.) em Ciências Agrárias/Área de concentração: Energias Renováveis e Biocombustíveis.

Aprovada em 17 de fevereiro de 2016

Banca Examinadora



Prof. Liziane Maria de Lima (D.Sc. Ciências Biológicas) – UEPB/EMBRAPA



Prof. Cristiane Elizabeth Costa de Macêdo (D.Sc. Em Ciências) –UFRN



Prof. Carlos Henrique Salvino Gadêna Mendes (D.Sc. Biotecnologia Vegetal) –UEPB
Coorientador



Prof. Josemir Moura Maia (D.Sc. Bioquímica) - UEPB
Orientador

Ao DEUS eterno e poderoso sem o qual eu nada sou.

“Não te mandei eu? Sê forte e corajoso; não temas, nem te espantes, porque o SENHOR, teu Deus, é contigo por onde quer que andares.”

Josué 1: 9

OFEREÇO.

Aos meus pais MANOEL e TEREZINHA que são coautores desta historia sem os quais nada disso seria possível.

Aos meus irmãos Raphaella e Rainilson e a toda minha família por todo apoio e amor sempre.

Ao meu amigo, namorado e companheiro de vida Rodolfo Durand por toda paciência, carinho e compreensão.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre comigo guiando meus passos e protegendo meus caminhos.

Aos meus pais por todos os esforços feitos em prol dessa conquista, por todo apoio, carinho, dedicação, oração, paciência. Obrigada por cumprirem com excelência a missão de ser pais.

Aos meus irmãos e todos os familiares sem exceção que sempre torceram, acreditaram, e contribuíram com esse sonho, vocês são presentes de Deus na minha vida.

Ao meu amor, amigo, companheiro Rodolfo Durand, que tanto me acalmou, me ouviu, enxugou minhas lágrimas e riu comigo dos meus desesperos ao longo desses 2 anos...Obrigada por tudo!

Ao meu orientador Prof. Josemir Moura Maia que foi fundamental para a realização deste trabalho. Sem o seu apoio, esforço, ensinamento e paciência nada disso seria possível. Obrigada pelo interesse no meu crescimento e principalmente por ser esse ser humano maravilhoso de caráter inquestionável e cheio de determinação.

As princesinhas das agrarias e todos os meus amigos e colegas de turma que sempre estiveram presentes dando apoio e força na caminhada, verdadeiros anjos de Deus em minha vida. Em especial agradeço aos meus “brothers” Rayssa e Anselmo que estiveram comigo nos melhores e piores momentos.

Aos amigos do ECOLAB com quem dividi boa parte desses dois anos e a quem dedico um carinho enorme e muita gratidão por toda amizade e aprendizado.

Aos amigos do LAPROV principalmente a Lucas, Joilma e mais uma vez Anselmo que me acolheram com todo amor e carinho em sua cidade e em suas vidas, que sempre se preocuparam comigo e me fizeram sentir em casa. Obrigada por todas as caronas e ajuda nos experimentos sem vocês tudo teria sido muito mais difícil.

Aos amigos de Natal, Profa. Dra. Cristiane Macêdo por ter sido sempre tão solícita e ter aberto as portas do LaBioTec em apoio a esta pesquisa. A Yuri que tanto me ajudou em todas as análises, sempre com sorriso e disposição e tanto contribuiu para o meu aprendizado. A Cibelle, Ingrid, Dulce e Mari por terem me recebido em sua casa, por terem me acompanhado durante o tempo que foi necessário, por todas as risadas e madrugadas compartilhadas, por tanto carinho dado em tão pouco tempo, vocês moram no meu coração.

As minhas amigas de sempre e para sempre Natália Thaynã, Alexandra Leite, Jessica Thays, Dani Durand, Aline Guimarães, Kelly Mendes, Nessa Mendes, Karine Mendes, Histe Barbosa, Rayssa Rayanne, Jully Roberia, Anaize Rocha, Laura Marinho, Tatyuska Gondim, Lorena Correia...

que sempre estiveram ali com uma palavra de incentivo, uma bronca, um sorriso, uma esperança e muito amor. Obrigada por sempre confiarem em mim mais do que eu mesma.

Ao meu mestre e sempre amigo Prof. Dr. Suenildo Josemo Costa Oliveira por se fazer presente mesmo na distância, por todas as palavras de incentivo e confiança.

A Universidade Estadual da Paraíba e a todos que fazem o programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado. A Embrapa algodão em nome da Dra. Nair Helena Castro Arriel pela doação das sementes de *Jatropha* para a criação do BAG. A todos os professores por todos ensinamentos divididos, dúvidas sanadas e momentos compartilhados. A Danilo meu secretário favorito que tanto “aperriei”, obriga pela paciência e por todo carinho.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Muito Obrigada!

*“Sonhos não são desejos, desejos
são intenções superficiais, enquanto sonhos são projetos de vida.
Desejos morrem diante das perdas e contrariedades, sonhos
criam raízes nas dificuldades.”*

Augusto Cury

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	x
Lista de abreviaturas/ siglas.....	xiii
Resumo.....	xv
Abstract.....	xvii
1.Introdução.....	19
1.1 Objetivo geral.....	20
1.2 Objetivos específicos.....	20
2.Revisão de Literatura.....	22
2.1 Impactos da Salinidade no semiárido brasileiro.....	22
2.2 Potencialidades da cultura do Pinhão manso.....	23
2.3 Mobilização de reservas durante o estabelecimento de plântulas.....	24
2.4 Alterações causadas pelo estresse salino em plantas.....	28
3.Material e Métodos.....	30
3.1 Caracterização e localização da pesquisa.....	30
3.2 Experimento 1: Determinação de uma dose severa e uma dose moderada de sal e dos efeitos da salinidade na partição de biomassa de plântulas de pinhão manso.....	30
3.3 Experimento 2: Partição iônica de plântulas de pinhão manso submetidas ao estresse salino.....	31
3.3.1 Conteúdo Relativo de Água (CRA).....	32
3.3.2 Percentual de dano de membranas (DM).....	33
3.3.3 Determinação dos teores de íons inorgânicos.....	33
3.4 Experimento 3: Efeito da salinidade na partição de macromoléculas de plântulas de	

pinhão manso.....	34
3.4.1 Extração e mensuração de açúcares solúveis totais (AST).....	36
3.4.2 Açúcares redutores e não redutores.....	36
3.4.3 Quantificação de amido.....	36
3.4.4 Extração e mensuração de proteínas.....	37
3.4.5 Extração e mensuração de aminoácidos.....	37
3.4.6 Quantificação de lipídios.....	38
3.5 Análises estatísticas.....	38
4.Resultados e Discussão.....	39
4.1 Experimento 1: Determinação da DL 50 e efeitos da salinidade na partição de biomassa de plântulas de pinhão manso.....	39
4.2 Experimento 2: Partição iônica de plântulas de pinhão manso submetidas ao estresse salino.....	46
4.3 Experimento 3: Efeito da salinidade na partição de macromoléculas de plântulas de pinhão manso.....	53
5.Conclusões.....	62
6.Recomendações.....	63
Referências.....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mobilização dos triacilgliceróis (TAGs) envolvendo os corpos lipídicos, os glioxissomos e as mitocôndrias.....	27
Figura 2: Plântulas de pinhão manso aos 8 dias após a semeadura (Genótipos CNPAPM-X e CNPAPM-III) submetidas a 3 diferentes concentrações salinas.....	32
Figura 3: Folhas, caules e raízes de plântulas de pinhão manso em repouso para determinação de massa turgida (MF ₂).....	33
Figura 4: Esquema representativo da preparação do material vegetal pós coleta para a realização das análises bioquímicas.....	35
Figura 5: Extração de material vegetal de plântulas de pinhão manso para quantificação de proteínas.....	37
Figura 6: Taxa de germinação de plântulas de pinhão manso dos genótipos CNPAPM-X (A) e CNPAPM-III (B) submetidas a 5 concentrações de NaCl (0; 50; 100; 150 e 200 mM) de NaCl aos 7 DAS.....	40
Figura 7: Plântulas de pinhão manso dos genótipos CNPAPM-X e CNPAPM-III aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0, 50, 100, 150 e 200 mM de NaCl.....	42
Figura 8: Altura (A) e Diâmetro do caule (B) de plântulas de pinhão manso dos genótipos CNPAPM-X e CNPAPM-III aos 8 DAS, submetidas aos tratamentos 0; 50; 100; 150; 200 mM de NaCl.....	43
Figura 9: Massa Fresca e Seca de folhas (A; B), caule (C; D) e raiz (E; F) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 50; 100; 150; 200 mM de NaCl.....	45
Figura 10: Percentual de Umidade e Conteúdo Relativo de água em folhas (A; B), Caules (C; D) e Raízes (E; F) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras	

- indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$)..... 47
- Figura 11:** Conteúdo de Na^+ , K^+ e Ca^{2+} em folhas (A; D; G), Caule (B; E; H) e Raiz (C; F; I) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$)..... 49
- Figura 12:** Razão K^+ / Na^+ em folhas (A), Caule (B) e raiz (C) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$)..... 51
- Figura 13:** Vazamento de eletrólitos em folhas (A), Caule (B) e raiz (C) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$). 52
- Figura 14:** Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR) e açúcares redutores (AR) em folha (A, D, G); caule (B, E, H) e raiz (C, F, I) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$)..... 54
- Figura 15:** Conteúdo de amido em folhas (A), caule (B) e raiz (C) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$)..... 56
- Figura 16:** Conteúdo de proteínas solúveis (PS) e aminoácidos livres (AALT) em folhas (A, B), caule (C; D) e raiz (E; F) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$)..... 58
- Figura 17:** Conteúdo de Lipídios Neutros em folhas (A), caule (B) e raiz (C) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey (p

$\leq 0,05$)..... 60

LISTA DE ABREVIATURAS/ SIGLAS

% DM	Percentual de Dano de Membrana
% U	Percentual de Umidade
AALT	Aminoácidos Livres Totais
AM	Amido
ANR	Açúcares Não Redutores
AR	Açúcares Redutores
AST	Açúcares Solúveis Totais
Ca²⁺	Cálcio
Cl⁻	Cloreto
CL	Corpos lipídicos
CRA	Conteúdo Relativo de Água
DAS	Dias após a sementeira
DL	Dose Letal
FAO	Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas
K⁺	Potássio
LN	Lipídios Neutros
MF	Massa Fresca
MS	Massa Seca
Na⁺	Sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
PS	Proteínas Solúveis
TAG	Triacilgliceróis
VE	Vazamento de eletrólitos

RESUMO

LIRA, EMANNUELLA HAYANNA ALVES DE. M.Sc., Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, Fevereiro de 2016. **Mobilização de reservas durante o estabelecimento de plântulas de pinhão manso submetidas ao estresse salino**. Campina Grande, PB, 2015. p.76. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Orientador: Prof. Dr. Josemir Moura Maia.

No presente trabalho propôs-se testar a hipótese de que a salinidade afeta a mobilização de reservas durante o desenvolvimento de plântulas de pinhão manso com prejuízos ao crescimento e estabilização das plântulas. A pesquisa constou de 3 experimentos, onde no 1º padronizou-se, as doses de sal e a melhor fase para a coleta das plântulas a serem utilizadas nos experimentos subsequentes. Para tanto, utilizou-se dois genótipos de pinhão manso (CNPAPM-X e CNPAPM-III) e 5 concentrações de NaCl (0; 50; 100; 150; 200 mM) aplicados entre o 4º e 8º dia após a sementeira. Nesse experimento verificou-se que a dose de NaCl que proporcionou maior índice de germinação para o genótipo CNPAPM-X foi a de 200 mM e para o genótipo CNPAPM-III foi a de 50 mM. Ainda, observou-se que o genótipo CNPAPM-X foi mais tolerante à salinidade durante a fase germinativa do que o genótipo CNPAPM-III. Assim, definiu-se as doses de 75 e 150 mM de NaCl como tratamentos moderado e severo, respectivamente, a serem utilizados nos experimentos subsequentes. No experimento 2 para se definir o efeito da salinidade no crescimento inicial de plântulas de pinhão manso avaliou-se o status hídrico através do percentual de umidade, conteúdo relativo de água, partição iônica e os danos fisiológicos em membrana de plântulas tratadas com 0; 75 e 150 mM de NaCl. Nesse experimento é possível sugerir que o status hídrico de plântulas de pinhão manso é prejudicado pelo aumento da salinidade, através de uma redução na capacidade do acúmulo de água pelas plantas e que isso pode estar associado ao aumento do conteúdo de Na⁺ principalmente no caule, indicando que este órgão funciona como acumulador deste íon. A relação entre os efeitos da salinidade no crescimento de plântulas foram avaliados no experimento 3 através da quantificação de açúcares, amido, proteínas, aminoácidos e lipídios em folhas cotiledonares,

caule e raízes. Nesse experimento observou-se aumento no conteúdo de todas as classe de macromoléculas analisadas em ao menos 1 dos órgão estudados. Este experimento permitiu concluir que o acúmulo dos solutos orgânicos analisados podem auxiliar no processo de ajustamento osmótico de plântulas de pinhão manso sob salinidade, embora esse acúmulo não tenha sido capaz de impedir as perdas na biomassa das plântulas. Ainda, verificou-se que a salinidade provocou inibição da mobilização de lipídios e reservas de carbono, fatores que juntamente com a síntese de proteínas e aminoácidos contribuem para a tolerância dessas plantas a salinidade.

Palavras-chave: *Jatropha curcas* L., salinidade, partição de macromoléculas.

ABSTRACT

LIRA, EMANUELLA HAYANNA ALVES DE. M.Sc., Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, Fevereiro de 2016. **Mobilization of reserves for the establishment of *Jatropha* seedlings subjected to salt stress.** Campina Grande, PB, 2015. p.76. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Orientador: Prof. Dr. Josemir Moura Maia.

In the present study is proposed test the hypothesis that salinity affects the mobilization of reserves for the development of *Jatropha* seedlings with damage to the growth and stabilization of the seedlings. The study consisted of three experiments, where in the 1st was standardized the experimental driving time, salt dosages and the best time to collect the seedlings to be used in subsequent experiments. For this purpose, were used two genotypes of *Jatropha* (CNPAPM-X and CNPAPM-III) and 5 concentrations of NaCl (0; 50; 100; 150; 200 mM) applied between the 4th and 8th days after sowing. In this experiment it was found that the NaCl dose which provided the highest germination rate for the CNPAPM-X genotype was 200 mM and for CNPAPM-III genotype was 50 mM. Furthermore, it was observed that the genotype CNPAPM-X was more tolerant to salt stress, during the germination phase, than the CNPAPM-III genotype. Thus, the doses of 75 and 150 mM NaCl were defined such as moderate and severe, respectively, to be used in subsequent experiments. In experiment 2, to define the effect of salinity on the initial growth of *Jatropha* seedlings were evaluated the water status through the moisture percentage, relative water content, ion partition and physiological damage in membrane seedlings treated with 0; 75 and 150 mM NaCl. In this experiment it could be suggested that the water status of *Jatropha* seedlings is hampered by the increasing salinity, by reducing the accumulation capacity of water by plants and this may be associated with increased content of Na⁺ especially on the stem, indicating that this part works like as accumulator of this ion. The relationship between the effects of salinity on growth of seedlings were evaluated in the third experiment through quantification of sugars, starch, proteins, amino acids and lipids in cotyledonary leaves, stem and roots. In this experiment there was an increase in the content of all classes of macromolecules analyzed in at least one of the organs studied. This experiment concluded that the accumulation of these macromolecules in the analyzed parts could assist in osmotic adjustment process *Jatropha* seedlings under salinity, although this accumulation has not

been able to prevent losses in the biomass of plants. Further, it was found that salinity caused inhibition of lipid mobilization and carbon reserves, factors that together with the synthesis of proteins and amino acids contribute to the salinity tolerance of these plants.

Keywords: *Jatropha curcas* L., salinity, macromolecules partition.

1. INTRODUÇÃO

O excesso de sais no solo é um dos principais problemas enfrentados pela agricultura mundial (CHEN et al., 2012). A situação dos solos no Brasil no tocante a salinidade é extremamente preocupante para a produção vegetal, principalmente na região Nordeste do país, onde os fatores climáticos (baixa precipitação e alta evapotranspiração) favorecem a salinização desses solos (COELHO et al., 2014a). Os solos salinos geralmente deixam de ser rentáveis a seus proprietários e conseqüentemente são abandonados, pois, esse excesso de sais acaba por comprometer as funções fisiológicas e bioquímicas das plantas, causando estresse osmótico, o que resulta em distúrbios das relações hídricas, alterações na absorção e utilização de nutrientes essenciais além do acúmulo de íons tóxicos (CALVET et al., 2013).

A solução para a reutilização desses locais está na seleção de espécies rentáveis e que sejam tolerantes as condições preexistentes; uma alternativa seria o aproveitamento dessas terras para a produção de matéria prima para os biocombustíveis dada à importância da produção de energia de formas alternativas, tendo em vista a crise no mercado energético, onde a maior parte da energia consumida no planeta deriva de fontes não renováveis, a exemplo do petróleo, carvão mineral e gás natural. Neste contexto, as plantas oleaginosas, como o pinhão manso, ganham destaque, pois podem ser utilizadas como fontes de energia que além de renováveis, poluem muito menos que os derivados do petróleo contribuindo assim com o meio ambiente (MAIA et al., 2014). O pinhão manso é uma planta perene bastante resistente a condições climáticas adversas como seca e salinidade (SINGH et al., 2007), o que lhe torna uma espécie compatível com as condições de clima e solo brasileiro, principalmente quando se observa as características edafoclimáticas da região nordeste.

Apesar da grande potencialidade observada na cultura do pinhão manso para a produção de biodiesel, ainda são poucas as pesquisas voltadas para a domesticação dessa espécie que ainda é

considerada selvagem e pouco se sabe sobre suas respostas fisiológicas e bioquímicas, principalmente quando expostas a condições de salinidade durante a germinação e o desenvolvimento da plântula, fases que segundo Borges (2003) são consideradas chaves para a estabilização e manutenção da cultura no campo. Sabe-se que o acúmulo de compostos de reservas (carboidratos, proteínas, lipídios) em sementes é um dos processos mais importantes na adaptação das plantas a condições adversas, essas reservas tem a função de servir como fonte de energia e como fonte de esqueletos de carbono para a formação dos tecidos da plântula (BUCKERIDGE et al., 2004; BERNARDES, 2010). Sabe-se que a salinidade causa alterações significativas no metabolismo inibindo a mobilização das reservas e alterando o sistema de membranas do eixo embrionário, porém torna-se imprescindível esclarecer a que se deve de fato esse processo (MARQUES et al., 2011; ARAÚJO, 2013).

Na literatura existem relatos sobre os prejuízos que a salinidade pode ocasionar a germinação e ao estabelecimento de plântulas de pinhão manso (SILVA et al., 2009; SILVA et al., 2012; CUNHA et al., 2013), porém ainda são poucas as informações sobre os mecanismos utilizados por essa espécie na regulação da mobilização das reservas sob este estresse salino. Essa carência de informações torna importante o estudo dos danos que a salinidade provoca a mobilização de reservas na cultura do pinhão manso visto que, a fase de germinação e estabelecimento de planta é crucial para o sucesso da produção (via produção de mudar por semente) e compreender esses mecanismos possibilitará a domesticação da espécie bem como o melhoramento genético da mesma o que a tornará rentável e competitiva no campo.

1.1 Objetivo geral

Analisar o efeito da salinidade no metabolismo de mobilização de reservas e partição de macromoléculas em plântulas de pinhão manso.

1.2 Objetivos específicos

- Padronizar o método para o estudo dos efeitos da salinidade sob a mobilização de reservas em plântulas de pinhão manso, no tocante a definir as doses de sal a serem utilizadas, o tempo de experimento e a melhor fase para a coleta do material;
- identificar os efeitos da salinidade na germinação e no crescimento inicial de plântulas de pinhão manso;

- determinar os efeitos aparentes da salinidade na mobilização da reserva de açúcares (reduzidos e não reduzidos) e amido, bem como das reservas nitrogenadas (proteínas e aminoácidos) e lipídios em folhas, caule e raiz de plântulas de pinhão manso;
- avaliar a importância dos solutos orgânicos analisados no ajustamento osmótico de plântulas de pinhão manso sob salinidade;
- Indicar se o efeito da salinidade é genotipodependente observando qual dos dois genótipos demonstra maior tolerância ao estresse salino durante a germinação e o crescimento inicial do pinhão manso.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Impactos da Salinidade no semiárido brasileiro

A salinização dos solos é um dos mais graves problemas associados com a produção vegetal em todo globo (CHEN et al., 2012). Segundo dados da FAO (2008), cerca de 20% das terras cultivadas do mundo, o que representa mais de 6% da área total da Terra, está ameaçada pela salinidade. Estima-se que no Brasil há uma ocorrência de 4,5 milhões de hectares comprometidos pela salinização concentrados, sobretudo, no semiárido nordestino (SILVA NETO et al., 2012).

As regiões áridas e semiáridas constituem cerca de 33% da superfície da Terra (FARIAS, 2008). No Brasil essas regiões apresentam predomínio de solos jovens e pouco profundos em áreas que possuem elevadas taxas de evapotranspiração superando os índices de precipitação (COELHO et al., 2014a). Essas condições somadas ao uso indiscriminado dos sistemas de irrigação favorecem a formação de solos salinos e sódicos, pois, os sais não lixiviados acumulam-se em quantidades prejudiciais ao crescimento normal das plantas e favorecem a degradação dos solos (SILVA, 2004; RIBEIRO, 2010). Outros fatores que acarretam a formação deste tipo de solo são o intemperismo mineral, a precipitação atmosférica, os sais fósseis e a atividade antropomórfica, incluindo o uso de águas de irrigação, salmouras altamente salinas ou resíduos industriais (BOHN et al., 1985; QUEIROZ et al., 1997).

Segundo Lima Junior e Silva (2010), os solos das regiões áridas e semiáridas comumente são salinizados por natureza, sem terem sofrido nenhuma intervenção humana para adquirirem esta característica. Esses solos apresentam como características uma baixa permeabilidade e condutividade hidráulica, além de instabilidade dos agregados. Isto acaba por prejudicar a

disponibilidade de água e de nutrientes para as plantas além de comprometer as suas funções fisiológicas e bioquímicas, causando estresse osmótico (SANTOS, 1995; VASCONCELOS et al., 2013; CALVET et al., 2013).

Segundo Holanda et al. (2010), um solo é considerado salino quando a quantidade de sais existentes é capaz de prejudicar o desenvolvimento das plantas, devido a alterações na qualidade física e química desses solos. Para a maioria das culturas isso ocorre quando a condutividade elétrica do extrato de saturação (CEes) é igual ou superior a 2 dS m^{-1} . O acúmulo de sais nos solos da região nordeste acarreta com o decorrer dos anos a inviabilidade do uso desses solos para a maioria das espécies agrícolas (RABBANI et al., 2013); porém nem todas as culturas respondem de maneira semelhante à salinidade, algumas, são capazes de manter uma produtividade adequada mesmo em condições consideradas de estresse salino. Assim, a seleção de espécies tolerantes aos diferentes níveis de salinidade dos solos podem servir como uma atividade rentável para os agricultores aproveitando áreas que por não servirem para o cultivo de espécies alimentícias seriam abandonadas.

2.2 Potencialidades da cultura do pinhão manso

Devido à crise do petróleo e à preocupação com o meio ambiente, a demanda mundial por biocombustíveis tem-se expandido rapidamente nos últimos anos. Neste contexto destaca-se a cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) por ser uma oleaginosa com alto teor de óleo em suas sementes e com grande potencial para produção de biodiesel (PADILLA, 2007; CARREIRA et al., 2012; SILVA et al., 2014).

O pinhão-manso é uma espécie pertencente à família Euphorbiaceae, originária provavelmente das Américas Central e do Sul (ALBUQUERQUE et al., 2008; HELLER, 1996). É um arbusto ou árvore perene que pode atingir até 5 m de altura e viver mais de 50 anos; o diâmetro do tronco mede geralmente 0,20 m, sendo o caule liso, de lenho mole e que produz látex (GOMES, 2013). Seu fruto é carnoso tipo cápsula e contém geralmente três sementes escuras e lisas com alto teor de óleo (LUO et al., 2007; SHAO-CHUN et al., 2007).

Esta planta é encontrada de forma espontânea em quase todas as regiões intertropicais, tendo maior ocorrência nas regiões tropicais (PEIXOTO, 1973). É uma planta que possui como característica principal resistência às condições climáticas e de solo extremas, como a resistência à seca; podendo crescer, ou ser plantado, em solos arenosos, salinos e em fendas de rochas (SINGH et al., 2007). Os únicos tipos de solos que não suporta são aqueles que possuam elevadas concentrações de água ou que tenham uma fraca capacidade de drenagem

(ALBUQUERQUE et al., 2008). Porém apesar desta adaptabilidade a diversas condições de solo e clima a produtividade do pinhão manso ainda é muito variável; em condições de aridez essa produtividade pode atingir até 8.000 kg ha⁻¹ de sementes (HELLER, 1996) e o teor de óleo nas sementes pode variar de 34 a 54% (QUINTILIANO et al., 2006). Essa variabilidade na produtividade depende da região, do método de cultivo e dos tratos culturais, da regularidade pluviométrica e da fertilidade do solo (OLIVEIRA et al., 2012). Esses fatores poderão ser objetos de pesquisas, cujo aprimoramento possibilitará que a produção seja estável e tenha maior viabilidade econômica (GOMES, 2013).

Por outro lado esta fácil adaptação a características marginais é favorável para o cultivo desta oleaginosa no Brasil, principalmente na região nordeste, pois esta região dispõe de solo e clima adequados a esta cultura, além de possuir uma grande faixa de áreas inadequadas ao plantio de culturas de gênero alimentício que podem ser aproveitadas para esta finalidade sem comprometer a produção de alimentos (MIRAGAYA, 2005; OLIVEIRA et al., 2010). Destaca-se ainda que a produção do biocombustível não é o único benefício que o pinhão manso pode trazer ao meio ambiente, como afirmam Mendonça e Laviola (2009), esta planta também pode contribuir para a recuperação de áreas degradadas, pois após a extração do óleo, a torta, que é o subproduto gerado, pode ser utilizada como adubo orgânico, principalmente, por conter elevados teores de nitrogênio, fósforo e potássio.

Tendo em vista o aumento no número de áreas degradadas que precisam de recuperação em todo o território brasileiro, torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas para a obtenção de maiores informações sobre o manejo desta cultura para que o seu cultivo seja difundido em todo território nacional, pois além das melhorias ambientais com a expansão das áreas de plantio, o pinhão manso também tende a contribuir com a fixação do homem no campo, uma vez que a proposta de fornecer matéria-prima para a indústria é uma atividade geradora de renda (GOMES, 2013).

2.3 Mobilização de reservas durante o estabelecimento de plântulas

O estabelecimento de uma espécie envolve a rapidez e a uniformidade na germinação, ou a viabilidade das sementes por períodos mais longos até que as condições ambientais sejam propícias ao desenvolvimento das plântulas (BORGES, 2003). A salinidade é o estresse abiótico tido como maior inibidor da germinação e estabilização das plântulas para muitas espécies (MARQUES et al., 2011). Segundo Bernardes (2010), as plantas apresentam diferentes estratégias de adaptação às alterações dos fatores bióticos e abióticos no meio em que habitam,

portanto, o acúmulo de compostos de reserva em sementes representa parte importante do processo. Estas substâncias são utilizadas durante a germinação e, posteriormente, metabolizadas para o crescimento e desenvolvimento das plântulas.

A mobilização de reservas tem a função de contribuir com o crescimento e o desenvolvimento da plântula através de um sistema sincronizado que envolve a comunicação entre tecidos de reserva e o embrião. Esse processo é controlado por sinais químicos que envolvem os níveis internos e o transporte de hormônios, carboidratos e compostos nitrogenados (PRITCHARD et al., 2002; BUCKERIDGE et al., 2004). Os principais grupos de reserva nutritiva em sementes são os carboidratos, as proteínas e os lipídios (BEWLEY et al., 2013); as proporções destes compostos são definidas geneticamente, e podem ser influenciadas pelas condições ambientais e tratos culturais (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). A reserva dessas substâncias têm como principal função a geração de energia para o embrião e substrato para estruturas celulares (FELIX, 2012). Segundo Bernardes (2010), esses compostos são degradados para as inúmeras finalidades por várias vias metabólicas desde a fase da embebição da semente até a formação das primeiras folhas da nova plântula, implicando assim, em alterações significativas na concentração dessas substâncias de reserva.

Segundo Buckeridge et al. (2000), carboidratos e lipídios atuam como fonte de energia e de carbono, essenciais para a germinação, crescimento e desenvolvimento da plântula; proteínas são importantes como fontes de enxofre e nitrogênio (N), fundamentais para a síntese de novas proteínas, ácidos nucleicos e compostos secundários necessários ao desenvolvimento da plântula. Nas plantas cultivadas para o consumo humano os carboidratos são a principal fonte de reservas (BEWLEY e BLACK, 1994); sendo os principais encontrados a sacarose, os oligossacarídeos da série rafínósica (RFOs), o amido e os polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC) (BUCKERIDGE et al., 2004); destes, o amido é o polissacarídeo de reserva mais encontrado em sementes, sendo o principal depósito de carbono em cereais e algumas leguminosas, mas também pode ser encontrado em sementes oleaginosas (BLACK et al., 2006).

As proteínas são, após a água, os compostos mais importantes do protoplasma, e funcionam como reserva alimentar para a maioria das espécies vegetais. Esses compostos quando acumulados nas sementes podem ser divididas em três categorias, segundo classificação mais moderna: (1) proteínas de reserva, cuja função é armazenar nitrogênio, enxofre e carbono; (2) proteínas estruturais e metabólicas, essenciais para o crescimento e estrutura da semente e (3) proteínas de proteção que podem conferir tolerância à planta ou a semente contra patógenos microbianos, invertebrados ou até mesmo minimizar efeitos inerentes à dessecação (FELIX,

2012). Segundo Savy Filho e Banzatto (1983), as sementes de oleaginosas, a exemplo da mamona, apresentam um alto valor proteico o que confere a essas sementes um grande potencial tanto para a alimentação animal quanto para utilização na indústria.

Os lipídios são compostos que estão presentes em todas as partes da semente, ocorrendo principalmente no embrião (cotilédones) ou no endosperma. Em algumas espécies são predominantes em outras estruturas, como hipocótilo na castanha do Pará (*Benholletia excelsa* Humb et Bonpl) e megagametófito no pinus japonês (*Pinus densiflora* Sieb et Zvec.), que são tecidos de reserva nestas sementes (FELIX, 2012). Os lipídios são armazenados na forma de triglicerídeos, e sua mobilização envolve interações entre os corpos lipídicos, os glioxissomos e as mitocôndrias. O processo de mobilização (Figura 1) ocorre através da hidrólise dos triacilgliceróis (TAGs) nos corpos lipídicos (CLs), resultando em glicerol e 11 ácidos graxos livres; o glicerol é utilizado na síntese de glucose; os ácidos graxos livres são degradados gerando acetil, que também será usado na síntese de glucose ou na respiração (TOZZI, 2010; BEWLEY et al., 2013). Em sementes de oleaginosas, os lipídios são a principal fonte de reserva, sendo os estoques majoritários de carbono (BLACK et al., 2006). Esses lipídios apresentam tamanha importância, pois é a eficiência de sua degradação que vai determinar o estabelecimento das plântulas, seu vigor e bom desempenho no campo (EASTMOND et al., 2000).

Na literatura já existem relatos sobre as alterações causadas pelo estresse salino nos padrões de degradação de reserva para diferentes culturas (ARAÚJO, 2013); como por exemplo, cajueiro anão precoce (MARQUES et al., 2013), sorgo (OLIVEIRA et al., 2011), soja (BERTAGNOLLI et al., 2004), porém para a cultura do pinhão manso o que se sabe é sobre a composição de reservas em suas sementes, bem como sobre a mobilização dessas reservas durante a germinação (SOUZA et al., 2009; LOPES et al, 2013); sobre os efeitos da salinidade na mobilização sabe-se ainda muito pouco, a exemplo temos o estudo de Alencar (2014) que observou inibição do metabolismo lipídico com o aumento da salinidade nessa espécie, sendo portanto necessárias pesquisas para que o processo de mobilização de reservas sob efeito da salinidade seja compreendido para esta espécie acarretando assim uma melhor estabilização e desenvolvimento das plantas no campo .

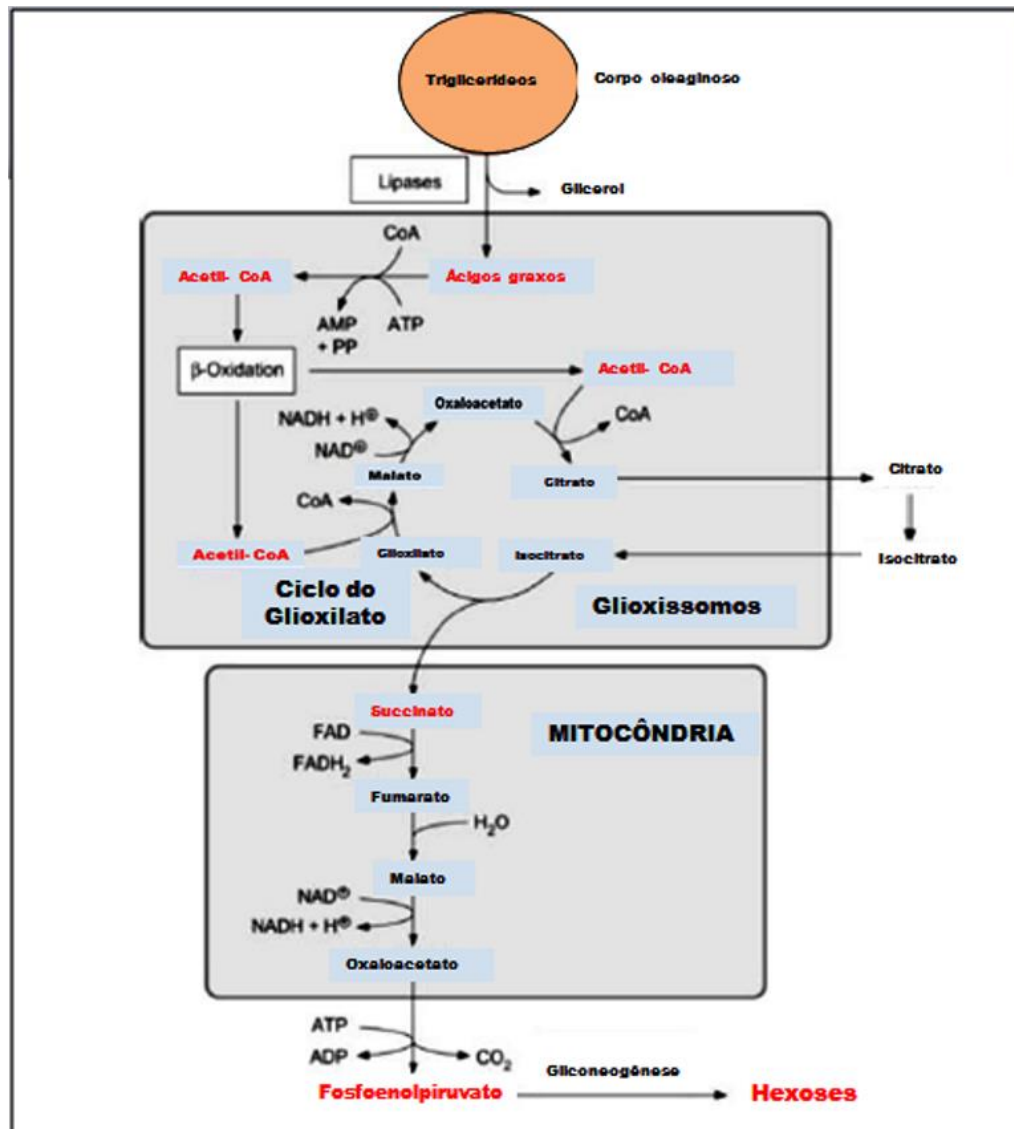


Figura 1: Mobilização dos triacilgliceróis (TAGs) envolvendo os corpos lipídicos, os gloioxissomos e as mitocôndrias (adaptado de ARAÚJO, 2013).

2.4 Alterações causadas pelo estresse salino em plantas

O estresse salino induz uma série de respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas, respostas estas que variam dependendo do genótipo e do estágio de desenvolvimento da planta (UNGAR, 1991). Ele é ocasionado pelo excesso de sais no solo e pode levar as plantas a uma condição de seca fisiológica, onde a água está presente no ambiente, mas não está disponível, devido à hiperosmolaridade da solução do solo (SMITH et al., 2010). Essa condição ocasiona nas plantas reduções no crescimento e essas reduções devem ser proporcionais aos aumentos na concentração de sais da solução do solo (PRISCO e GOMES FILHO, 2010). Além disso, a salinidade elevada exerce efeito prejudicial no processo de abertura estomática, por

aumentar a resistência à difusão de CO_2 o que acaba por comprometer a atividade fotossintética (SILVEIRA et al., 2010).

O estresse salino de forma isolada acarreta atrasos na utilização das reservas de carbono, mas não afeta o conteúdo de proteínas, porém, o estresse osmótico que também pode ser consequência do estresse salino (seca fisiológica) propicia efeitos mais marcantes, porque retarda a degradação do amido e dos lipídios e acelera a mobilização das proteínas (ARAÚJO, 2013). As alterações causadas pela salinidade no metabolismo germinativo acarretam uma inibição da mobilização das reservas e alteram o sistema de membranas do eixo embrionário, através de modificações na síntese ou ativação de enzimas envolvidas no processo de mobilização. Altas concentrações de sal e aumento na relação K^+/Na^+ também podem ocasionar perda da seletividade iônica nas membranas das raízes (MAATHUIS e AMATMANN, 1999). A membrana plasmática, em condições normais, tem alta especificidade pelo íon K^+ , a qual é reduzida devido ao deslocamento do íon Ca^{2+} , ocasionado pelo íon Na^+ . Essa perda de seletividade pode acarretar distúrbios no funcionamento enzimático e na síntese proteica e redução no turgor celular (MAATHUIS e AMATMANN, 1999; TESTER e DAVENPORT, 2003).

Algumas plantas são tolerantes a elevadas concentrações de sal, essas são classificadas como halófitas, as quais apresentam a capacidade de acumular uma grande quantidade de Na^+ e Cl^- (UNGAR, 1991). Plantas tolerantes a salinidade quando expostas a esta condição são capazes de acumular íons e solutos e em decorrência disso, diminuir o potencial hídrico celular sem que haja decréscimo na turgidez ou no volume da célula. Este mecanismo denominado ajustamento osmótico acontece a partir da absorção e acúmulo de íons (principalmente os tóxicos) no vacúolo e de íons não tóxicos e solutos orgânicos no citosol, compatíveis com a manutenção da atividade metabólica das células permitindo que as plantas mantenham a atividade fisiológica, ajudando a manter o turgor celular, um fator extremamente importante para o crescimento ou sobrevivência do organismo durante o estresse (TAIZ e ZEIGER, 2009; PRISCO e GOMES FILHO, 2010; MARIJUAN e BOSCH, 2013). Porém, é importante ressaltar que uma exposição prolongada das plantas ao excesso de sais pode causar danos por toxicidade, quando esses sais não são 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).

Segundo Freire et al. (2010), a habilidade das plantas em sobreviver sob condições salinas é um fator extremamente importante para sua distribuição geográfica e para a agricultura

nas regiões salinizadas. Na literatura são inúmeros os relatos sobre os danos causados pelo estresse salino em plantas, a exemplo, Oliveira et al. (2010) e Díaz-López et al. (2012), observaram que plantas de pinhão manso tem inibição no crescimento e redução na produção de fitomassa quando submetidas a salinidade da água de irrigação. Souza et al. (2010) concluíram que sementes de pinhão-manso quando embebidas em solução salina sofrem atraso no processo germinativo. Maia et al. (2012) observaram redução de até 56% no comprimento radicular em plântulas de feijão caupi quando submetidas a concentrações de 100 mM de NaCl. Dentro do exposto, observa-se os inúmeros prejuízos que a salinidade acarreta as culturas agrícolas; assim, destaca-se a importância do desenvolvimento de pesquisas que busquem compreender os mecanismos de defesa fisiológicos e bioquímicos de plantas quando submetidas a estas condições adversas, pois só a partir do conhecimento integral do funcionamento vegetal é que pode-se concentrar estudos voltados tanto para a seleção de espécies quanto para o desenvolvimento de genótipos tolerantes e adaptados as condições de estresse salino.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Caracterização e localização da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual da Paraíba- Campus IV no município de Catolé do Rocha. Esta foi composta por 3 experimentos onde utilizou-se 2 genótipos de pinhão manso do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) mantido pela UEPB e Embrapa Algodão/FINEP/CNPq/MCTI no Setor de Fruticultura da UEPB no mesmo município. A área do BAG está nas coordenadas geográficas 6°20'38' S de latitude e 37°44'48' W de longitude, O Greenwich e altitude de 275 m. O clima do município, de acordo com a classificação de Koppen é do tipo BSW_h, ou seja, quente e seco do tipo estepe.

3.2 Experimento 1: Determinação de uma dose severa e de uma dose moderada de NaCl e dos efeitos da salinidade na partição de biomassa de plântulas de pinhão manso

Para determinar os efeitos da salinidade na mobilização de reservas utilizou-se plântulas aos 8 dias após a semeadura (DAS). Segundo Morais (2008) e Pimenta et al. (2014) até o 11° DAS as plântula encontram-se no estágio de protófilo o que significa que o metabolismo de reservas de sementes ainda está ativo, sendo esta a fase ideal para a realização das análises neste experimento.

Nesse experimento padronizou-se o tempo de condução experimental, as doses de sal e a melhor fase para a coleta das plântulas. Para tanto o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 2 X 5: onde, o primeiro fator corresponde as cultivares estudadas (CNPAPM-X e CNPAPM-III); o segundo fator as concentrações de sal utilizadas (0; 50; 100; 150; 200 mM de NaCl); perfazendo assim um total de 10 tratamentos com 5 repetições cada, totalizando 50 parcelas.

Para o semeio as sementes foram escarificadas em lixa 0,50 na carúncula até o aparecimento do endosperma e posteriormente foram embebidas em água deionizada durante 12 horas, após este período as sementes foram semeadas em substrato de areia lavada (MARTINS et. al., 2008; PASCUALI et. al., 2012) em bandejas de plástico com medidas 365x 235x 70 mm, sendo 30 semente por bandeja. A reposição hídrica foi realizada diariamente com água destilada em todas as parcelas até o 4º dia após a semeadura, mantendo-se a umidade do substrato a 60% da capacidade de campo. O monitoramento do teor de umidade do substrato foi realizado através de pesagens diárias.

Ao 4º DAS foi iniciada a aplicação dos tratamentos de NaCl diariamente até o 8º dia após a semeadura, fase de protófilo (PIMENTA et. al, 2014). Após observações diárias do percentual de germinação, medições de altura, diâmetro, massas seca e fresca foi determinada uma dose severa e uma dose moderada de sal para a cultura do pinhão manso na fase de protófilo aos 8DAS.

As doses severa e moderada de NaCl foram calculadas através das equações:

$$x = -\frac{b}{2a} \text{ para } a > 0$$

$$x = -\frac{(b^2-4ac)}{4a} \text{ para } a < 0.$$

Onde: a, b e c são valores extraídos da equação de segundo grau $x^2 + bx + c = 0$

3.3 Experimento 2: Partição iônica de plântulas de pinhão manso submetidas ao estresse salino

Para o experimento 2 adotou-se a mesma condução experimental utilizada no experimento 1, reduzindo apenas as doses de NaCl para 0, 75 e 150 mM, sendo a dose de 150 mM considerada como dose severa para esta cultura na fase de protófilo. Aos 8 DAS (Figura 2) as plântulas foram coletadas e separadas em folhas, caules e raízes. Após a separação uma parte do material foi utilizada para determinação do conteúdo relativo de água (CRA) e dano de membrana (DM); o material restante foi levado para secar em estufa por 48 horas e após a secagem foi moído e peneirado. O pó resultante deste processo foi utilizado para a determinação de íons inorgânicos (Na^+ , K^+ e Ca^{+2}).



Figura 2: Plântulas de pinhão manso aos 8 dias após a semeadura (Genótipos CNPAPM-X e CNPAPM-III) submetidas a 3 diferentes concentrações salinas.

3.3.1 Conteúdo Relativo de Água (CRA)

Para avaliar o conteúdo relativo de água (CRA.) foi utilizada a metodologia descrita por Cairo (1995). As partes da plântula (folha, caule e raiz) foram separadas e imediatamente pesadas em balança analítica. O valor obtido foi denominado de massa fresca (MF_1). Após essa etapa, o material foi transferido para recipientes, contendo 250 mL de H_2O deionizada e mantido em repouso, com iluminação e temperatura ambiente ($25\text{ }^\circ\text{C}$), durante 6 horas (Figura 3). Após o tempo decorrido, as partes foram enxutas, em papel toalha, sendo levemente pressionadas (para eliminar o excesso de água) e, posteriormente pesadas, para quantificar a massa túrgida (MF_2). Para determinar o valor da massa seca, os órgãos da planta foram transferidos para sacos de papel e colocados em estufa a $75\text{ }^\circ\text{C}$, com ventilação forçada de ar, por um período de 48 horas.

Em seguida, os segmentos foram pesados e o valor obtido denominado de massa seca (MS). O conteúdo relativo de água foi calculado através da fórmula: $MF-MS / MF_2-MS \times 100$.



Figura 3: Folhas, caules e raízes de plântulas de pinhão manso em repouso para determinação de massa turgida (MF_2).

3.3.2 Percentual de dano de membranas (DM)

O grau de integridade das membranas foi estimado pelo vazamento de eletrólitos segundo Lutts et al., (1996), com pequenas modificações. A plântula foi separada em folha, caule e raiz e estes foram colocados em recipientes com 200 mL de água deionizada e incubados em banho-maria a 25 °C durante 6 horas. Em seguida foram realizadas leituras em condutivímetro para determinação da condutividade elétrica das soluções (L_1). Posteriormente os tubos foram colocados novamente em banho-maria por uma hora a 100 °C e foram realizadas novas leituras de condutividade elétrica das soluções (L_2). Os danos de membranas, estimados pelo percentual de vazamento de eletrólitos foram calculados pela relação: $\% VE = (L_1/L_2) \times 100$.

3.3.3 Determinação dos teores de íons inorgânicos

Em tubos de ensaio contendo 100 mg da matéria seca, foram adicionados 10 mL de água deionizada, sendo os tubos mantidos a 45°C, em banho-maria, durante 1 h, com agitações a cada 15 min. Após esse tempo, os tubos foram centrifugados a 3.000 x g, por 15 min, a 20°C. O

sobrenadante foi filtrado em papel de filtro e armazenado a -20°C até sua utilização, sendo o precipitado descartado. Os teores de Na^+ , K^+ e Ca^{+2} foram determinados segundo Malavolta et al. (1989), com o auxílio de um fotômetro de chama.

3.4 Experimento 3: Efeito da salinidade na partição de macromoléculas de plântulas de pinhão manso

O delineamento experimental adotado e a condução do experimento 3 foram as mesmas utilizadas no experimento 2. Após a coleta das plântulas e a separação dos seus órgãos (folhas, caule e raiz), uma parte do material foi imediatamente congelada em nitrogênio líquido para quantificação dos teores de proteínas; o restante do material foi desidratado em estufa por 48 horas a 70°C e após a secagem foi moído e peneirado. O pó resultante deste processo foi utilizado para a determinação dos demais osmocondicionadores. Todos estes procedimentos realizados na preparação do material para as análises bioquímicas estão descritos na Figura 4.

3.4.1 Extração e mensuração de açúcares solúveis totais (AST)

A determinação do conteúdo de carboidratos foi realizada segundo protocolo de Dubois et al. (1956), o método de extração consistiu em transferir 50 mg de massa seca em estufa para tubos de ensaio de 15 mL com tampa rosqueável. Adicionou-se 5 mL de etanol a 80% e foi incubado em banho maria a 100°C por 1 hora. Passado este tempo, coletou-se o sobrenadante, filtrou-se através de algodão e congelou-se o material até a quantificação. Para a mensuração aliquotou-se 0,5 mL do extrato em tubo de ensaio e adicionou-se 0,5 mL de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico. A determinação de AST foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm e a concentração foi estimada através da curva padrão de glicose.

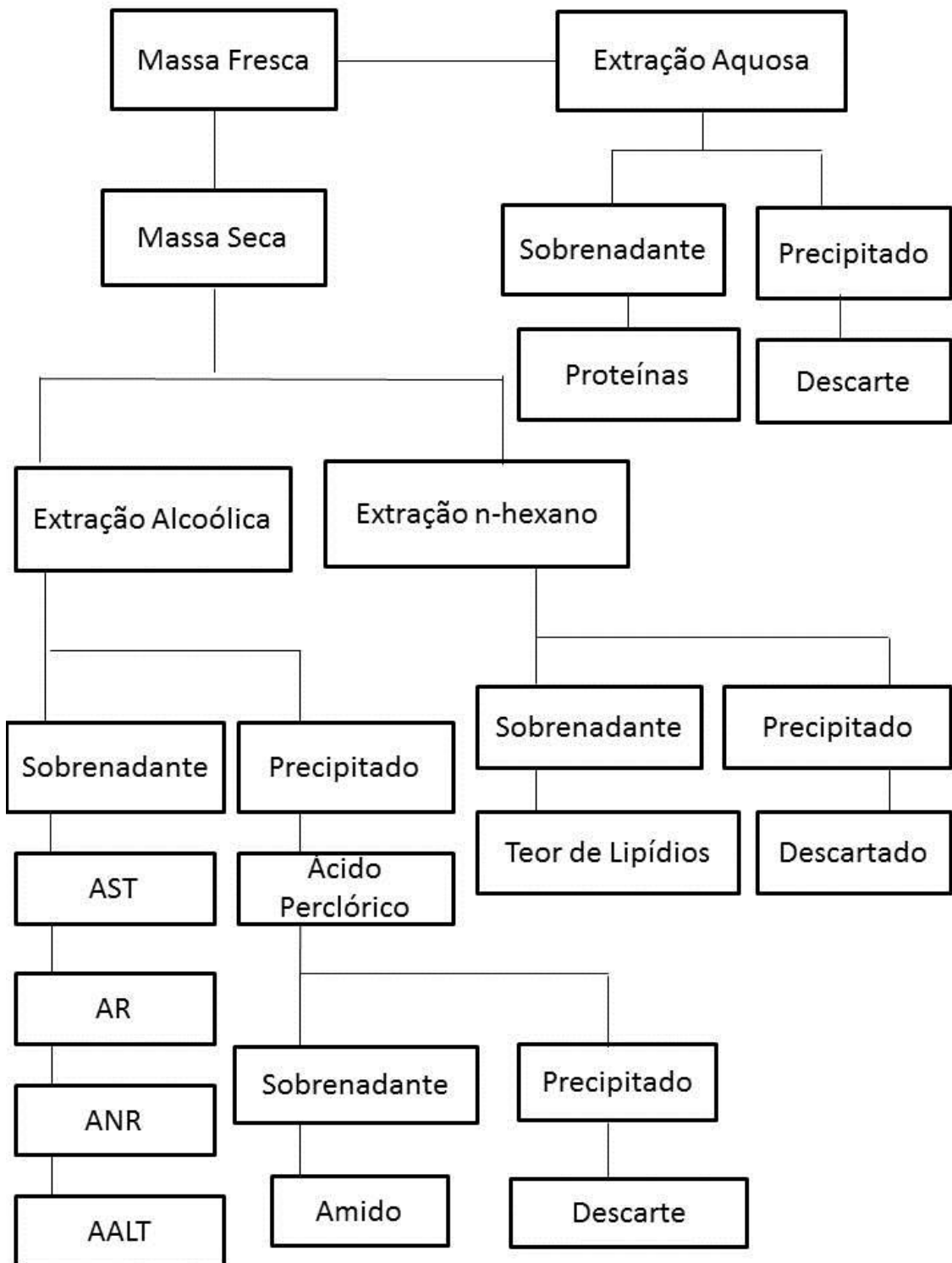


Figura 4: Esquema representativo da preparação do material vegetal pós coleta para a realização das análises bioquímicas. AST: Açúcares solúveis totais; AR: Açúcares redutores; ANR: Açúcares não redutores; AALT: Aminoácidos livres totais.

3.4.2 Açúcares redutores e não redutores (ANR)

Os carboidratos não redutores foram determinados de acordo com Passos (1996). O método de extração foi o mesmo utilizado na determinação dos açúcares solúveis totais. Para a quantificação foi necessária à preparação do reagente antrona segundo Morris (1948); Yemm e Willis (1954), onde 0,1 g de antrona desidratada foi adicionada a 50 mL de ácido sulfúrico 90% (reação no escuro); e do reagente KOH 30% onde pesou-se 30 g de KOH e diluiu em 100 mL com água destilada. Para a determinação foi pipetado para tubos de ensaio 0,9 mL da amostra (diluída) mais 0,1 mL de KOH 30% e incubadas a 100 °C por 10 minutos. Após resfriamento adicionou-se 2,5 mL do reagente antrona. Após esse procedimento realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 620nm. Para a quantificação dos açúcares redutores realizou-se a subtração da quantidade de açúcares solúveis totais pela quantidade de açúcares não redutores.

3.4.3 Quantificação de amido (AM)

O amido foi quantificado pelos métodos de Mccready et al. (1970) e Dubois et al. (1956). Para a extração de amido, utilizou-se o precipitado obtido na extração dos açúcares solúveis totais, macerou-se com gral e pistilo utilizando 1,5 mL de ácido perclórico 30%. Em seguida o material foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos, coletou-se o sobrenadante em ependorffs de 5 mL e adicionou-se mais 1mL de ácido perclorico (repetindo esse procedimento 3 vezes). Para a quantificação foi preparado a reagente antrona segundo Morris (1948); Yemm e Willis (1954), onde 0,1 g de antrona desidratada foi adicionada a 50 mL de ácido sulfúrico 90% (reação no escuro). Após a preparação e resfriamento do reagente pipetou-se 1 mL da amostra (diluída) e mais 2,5 mL do reagente antrona agitou-se em vortex e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 620nm.

3.4.4 Extração e mensuração de proteínas solúveis (PS)

Para a extração de proteínas amostras de 0,1 g de material vegetal fresco (folhas, caule e raiz) foram maceradas em almofariz na presença de N₂ líquido seguido da adição de tampão Tris-HCl 100 mM pH 8,0 (Figura 5). Em seguida o extrato foi centrifugado a 14.000 x g em temperatura de 4°C durante 30 min. O conteúdo de proteínas solúveis foi determinado conforme Bradford (1976), e estimado com base em curva padrão utilizando albumina de suíca bovina P.A.

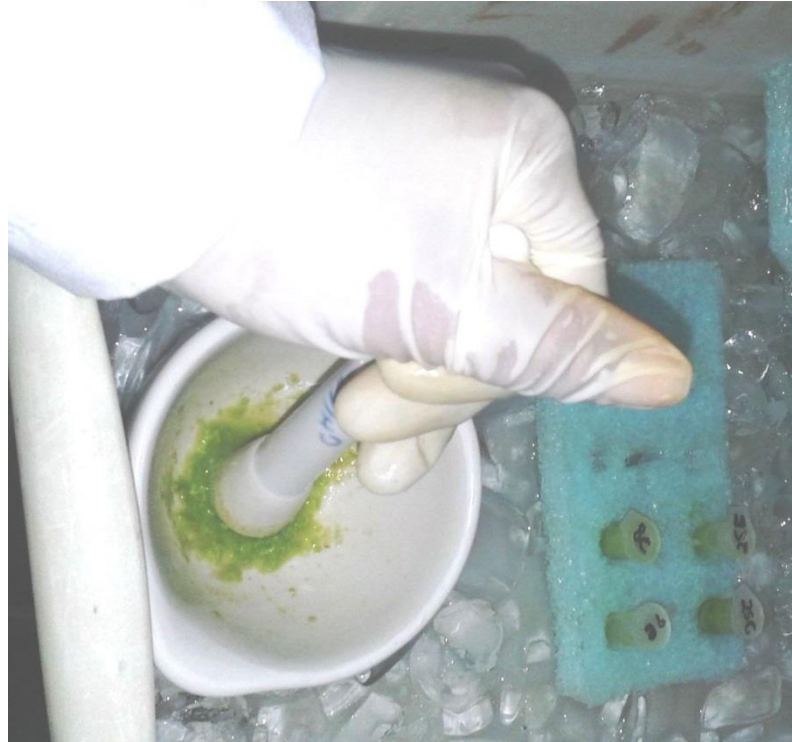


Figura 5: Extração de material vegetal de plântulas de pinhão manso para quantificação de proteínas.

3.4.5 Extração e mensuração de aminoácidos livres totais (AALT)

Para a extração de aminoácidos utilizou-se o mesmo procedimento realizado na determinação dos açúcares solúveis totais. Para a mensuração foi adicionado 100 μL da amostra ao tubo de ensaio contendo 250 μL de tampão citrato 0,2 M e PH: 5,0 + 250 μL de reagente Ninhidrina. A reação foi misturada em vortex e depois conduzida a banho maria de 10 a 15 minutos. Quando a amostra atingiu a temperatura ambiente, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 570 nm (PEOPLE et al., 1989; YEMM e COCKING, 1955; HERRIDGE, 1984).

3.4.6 Quantificação de lipídios neutros (LN)

Os lipídios neutros foram quantificados pelo método gravimétrico utilizando n-hexano como solvente. Para extração macerou-se 200 mg de massa seca em gral e pistilo e transferiu-se a farinha obtida para tubos de ensaio de 15 mL com tampa rosqueável. Adicionou-se 8 mL de n-hexano e levou-se os tubos a banho maria a 60 °C durante 5 horas agitando em vortex a cada 1 hora. Enquanto isso pesou-se tubos Falcon já identificados e após o banho maria transferiu-se o n-hexano para estes tubos. Colocaram-se os tubos dentro de uma capela e deixou-se o n-hexano

evaporar por completo. Após a evaporação pesou-se novamente os tubos e subtraíram-se as massas para a obtenção da massa de lipídios.

3.5 Análises estatísticas

Os dados foram analisados estatisticamente através do Teste F, a 5% de probabilidade, as variáveis quantitativas foram submetidas à análise de variância com desdobramento dos graus de liberdade em componentes de regressão polinomial (BANZATTO e KRONKA, 1992); e para os fatores de natureza qualitativa foi aplicado o teste de comparação de médias (Tukey) $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1: Determinação de uma dose severa e de uma dose moderada de NaCl e dos efeitos da salinidade na partição de biomassa de plântulas de pinhão manso

Sementes de pinhão manso foram germinadas sob quatro diferentes concentrações de NaCl e o controle (Figura 6). Percebeu-se um efeito significativo de todos os tratamentos salinos na germinação em ambos os genótipos, exceto na concentração de 200 mM para o genótipo CNPAPM-III. O controle e as concentrações de 50 e 100 mM de NaCl causaram efeitos semelhantes em ambos os genótipos, ajustando-se na análise de regressão a uma curva com tendência quadrática, onde o ponto máximo da germinação ocorreu entre o 5° e o 6° DAS. Para o genótipo CNPAPM-X a curva de regressão para a concentração de 150 mM teve um ajuste quadrático e linear crescente para o genótipo CNPAPM-III. Já para a concentração de 200 mM o efeito foi significativo apenas no genótipo CNPAPM-X, com tendência de curva linear crescente.

Ao final da contagem de germinação a dose de NaCl que proporcionou o maior número de plantas germinadas para o genótipo CNPAPM-X foi a de 200 mM e para o genótipo CNPAPM-III foi a de 50 mM conferindo um incremento em germinação de 25,39% e 25,08%, respectivamente, quando comparadas ao controle, revelando certo nível de tolerância da cultura do pinhão manso a salinidade, uma vez que outras euforbiáceas como por exemplo a mamona, podem ter seu processo germinativo comprometido por níveis de salinidade muito menores ($0,3 \text{ dS m}^{-1}$) como foi observado por Lima et al. (2014). Comparando-se os dois genótipos observou-se uma maior tolerância do genótipo CNPAPM-X à salinidade durante o processo germinativo, pois as sementes germinaram mesmo sob o tratamento com 200 mM, o que corresponde a $19,98 \text{ dSm}^{-1}$. De acordo com Silva et al. (2012) a capacidade das sementes absorverem água suficiente

para a germinação e posterior emergência mesmo sob altas concentrações salinas representa um processo alternativo para perpetuação da espécie. Uma hipótese relevante para a germinação de sementes em maior número na concentração mais elevada de NaCl é o efeito de “priming”, onde existiu a ocorrência dos processos preparatórios da germinação, impedindo a emissão da raiz primária, mesmo após o contato entre a semente e a solução salina, assim o tratamento com 200 mM de NaCl reduziu a velocidade de absorção de água e melhorou o processo de germinação (HEYDECKER et al., 1975).

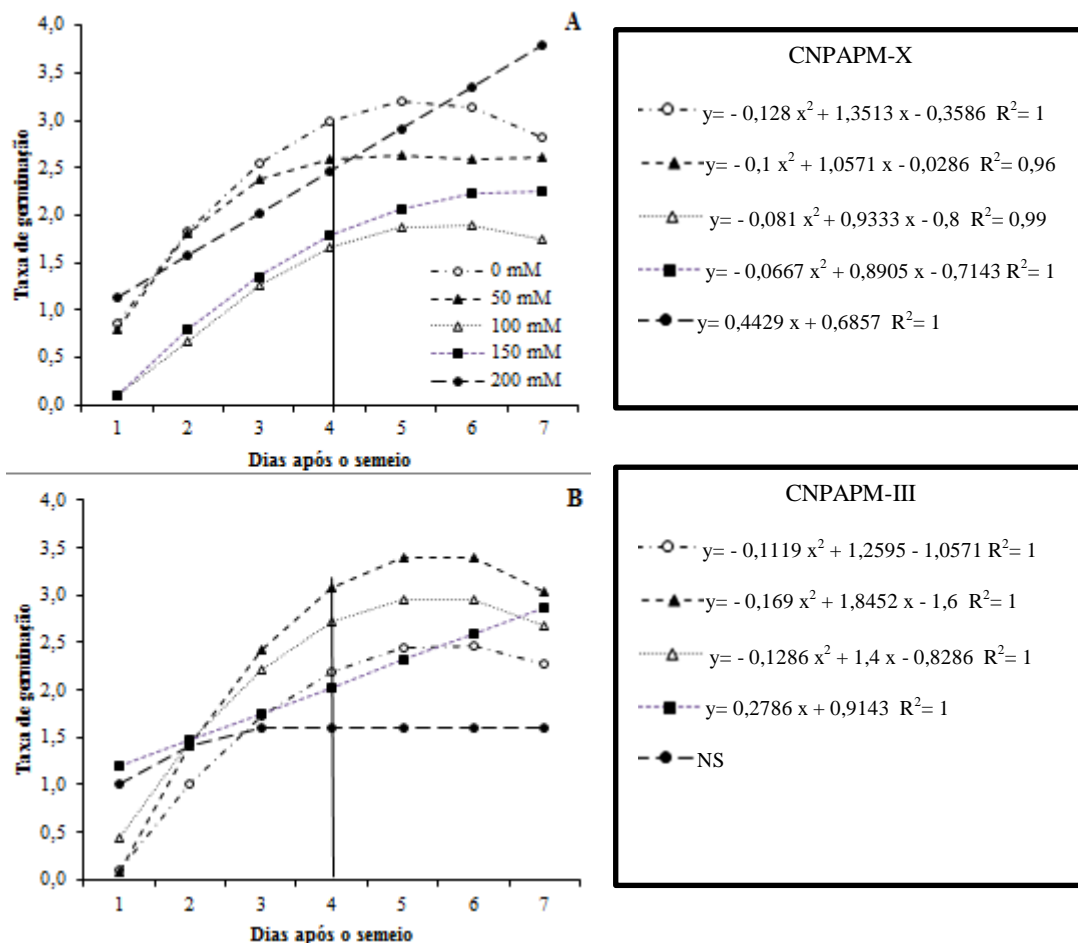


Figura 6: Germinação de plântulas de pinhão manso dos genótipos CNPAPM-X (A) e CNPAPM-III (B) submetidas a 5 concentrações de NaCl (0; 50; 100; 150 e 200 mM) de NaCl aos 7 DAS. NS: Não significativo.

O efeito da salinidade foi visivelmente perceptível mesmo após a germinação (Figura 7). Observou-se que apesar do genótipo CNPAPM-X apresentar um maior número de sementes

germinadas, a concentração de 200 mM inibiu o crescimento das plântulas quando comparada aos demais tratamentos. Esta inibição no crescimento pode ter ocorrido devido a uma mudança no fluxo de massa ou por uma toxicidade causada pela alta concentração de sal. Resultados semelhantes foram observados por Souza et al. (2010) para esta mesma espécie na mesma fase fenológica quando os autores utilizaram em seu experimento soluções de NaCl com condutividade elétrica acima de 6 dS.m⁻¹. No experimento apresentado a dose de 200 mM de NaCl corresponde a 19,98 dSm⁻¹.

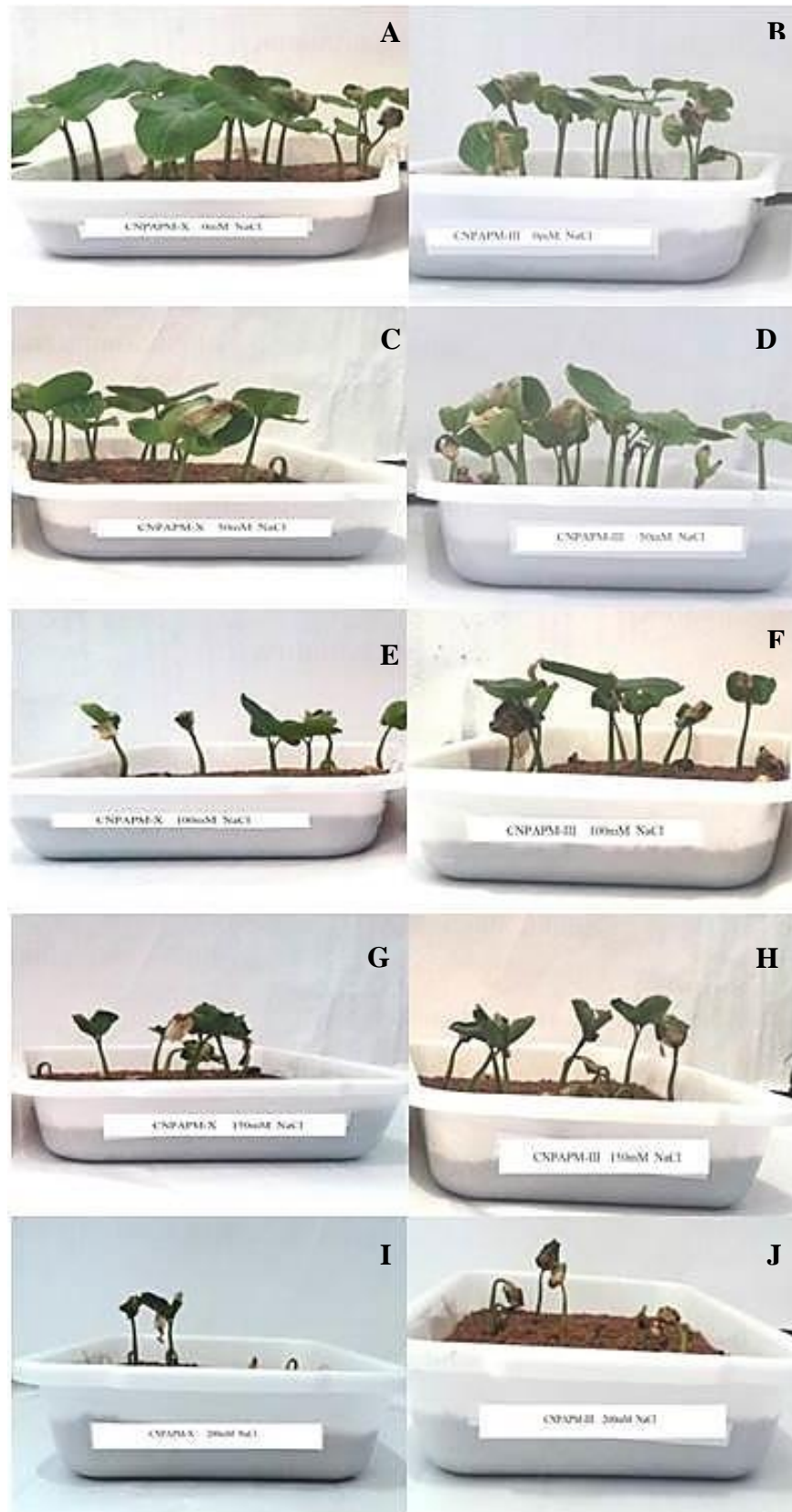


Figura 7: Plântulas de pinhão manso dos genótipos CNPAPM-X e CNPAPM-III aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0, 50, 100, 150 e 200 mM de NaCl (A: genótipo CNPAPM-X no controle; B: genótipo CNPAPM-III no controle; C: genótipo CNPAPM-X na concentração de 50

mM; D: genótipo CNPAPM-III na concentração de 50 mM; E: genótipo CNPAPM-X na concentração de 100; F: genótipo CNPAPM-III na concentração de 100 mM; G: genótipo CNPAPM-X na concentração de 150; H: genótipo CNPAPM-III na concentração de 150 mM; I: genótipo CNPAPM-X na concentração de 200; J: genótipo CNPAPM-III na concentração de 200 mM).

A altura das plântulas (Figura 8A) e o diâmetro caular (Figura 8B) foram afetados significativamente pelas concentrações de NaCl utilizadas. Observou-se redução proporcional na altura das plântulas de pinhão com o aumento da salinidade, chegando a um ponto crítico na concentração de 200 mM, onde constatou-se uma inibição no crescimento, com um redução na altura das plântulas de 81,70% para o genótipo CNPAPM-X e de 78,12% para o genótipo CNPAPM-III em relação aos seus respectivos controles. Para o diâmetro do caule o decréscimo, na concentração mais elevada de sal foi de 40,85% para o genótipo CNPAPM-X e de 65,73% para o CNPAPM-III, em relação aos respectivos controles. Esses resultados sugerem que o excesso de sais provocou um desequilíbrio na concentração intracelular de íons, o que ocasionou um acúmulo de íons tóxicos nas plântulas e posteriormente desencadeou perda de turgescência, desidratação, redução no crescimento, atrofiamento e morte das células (ASHRAF e HARRIS 2004). Diferentemente do que foi observado neste estudo, Veras et al. (2011) não observou efeito significativo entre a salinidade, altura e diâmetro de plantas de pinhão manso no período de 210 aos 360 dias após transplante das mudas. Este fato pode sugerir que a espécie apresenta diferentes níveis de tolerância à salinidade dependendo, da fase fenológica a qual se encontra.

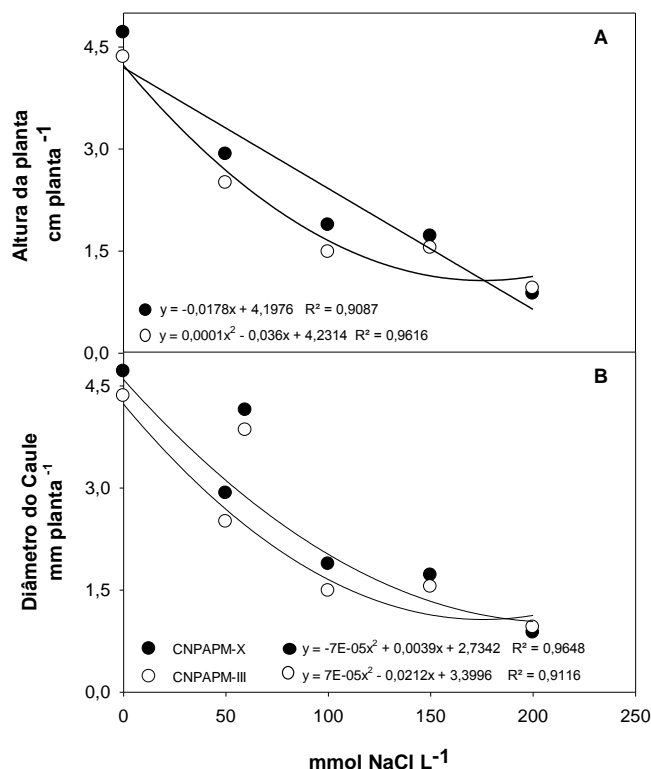


Figura 8: Altura (A) e Diâmetro do caule (B) de plântulas de pinhão manso dos genótipos CNPAPM-X e CNPAPM-III aos 8 DAS, submetidas aos tratamentos 0; 50; 100; 150; 200 mM de NaCl.

Os prejuízos decorrentes da salinidade também foram observados a massa fresca (MF) e seca (MS) de folhas, caule e raiz de pinhão manso. Para massa fresca de folhas (Figura 9A) verificou-se um ajuste de regressão linear com redução gradativa conforme o aumento das concentrações de NaCl para os dois genótipos chegando a uma perda de 60,84% no genótipo CNPAPM-X que foi o mais afetado para esta variável na concentração de 200 mM. O comportamento observado entre os genótipos diferiu para a variável massa fresca em caule (Figura 9C) e Raiz (Figura 9E), onde o genótipo CNPAPM-X ajustou-se linearmente a regressão e o genótipo CNPAPM-III teve um ajuste quadrático. Porém em ambos observou-se redução nos níveis de MF nas concentrações mais elevadas de sal. Biologicamente as equações quadráticas ou lineares representam um tipo de relação especial entre dois acontecimentos, como se fosse uma relação de causa e efeito. Neste caso as variáveis de crescimento relacionam-se com a salinidade e podem ser aumentadas ou reduzidas em função do aumento ou redução da mesma. As raízes do genótipo CNPAPM-III foram as mais afetadas e sofreram redução de até 70,75% no estresse mais severo, enquanto a redução no genótipo CNPAPM-X foi de 47,54%. Esta redução de MF pode ser resultante de uma queda na disponibilidade de água nos tecidos vivos, em consequência da elevação dos níveis de NaCl (SILVA et. al., 2012), e pode ainda indicar que não houve ajustamento osmótico das plântulas com o aumento das concentrações de sal.

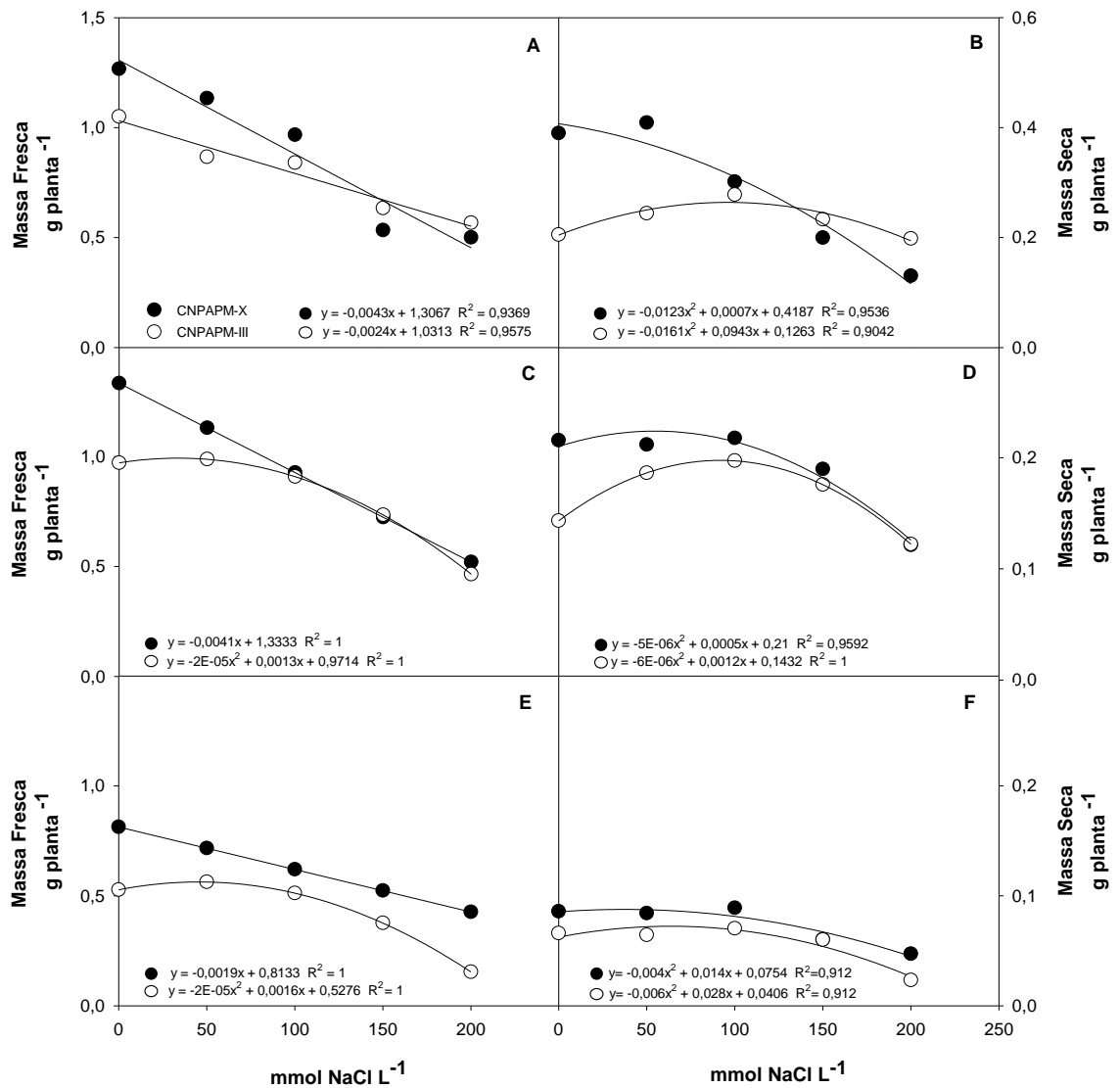


Figura 9: Massa Fresca e Seca de folhas (A; B), caule (C; D) e raiz (E; F) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 50; 100; 150; 200 mM de NaCl.

Para a massa seca de folhas (Figura 9B), caules (Figura 9D) e raízes (Figura 9E) observou-se ajustes de regressão quadráticos das equações para os dois genótipos. A maior diferença no percentual de massa seca entre os genótipos foi observada nas folhas, onde o genótipo CNPAPM-X teve uma redução de 66,61% e o genótipo CNPAPM-III teve uma redução de 3,50% na concentração mais elevada de NaCl em relação ao controle. Os efeitos do NaCl sobre a massa seca de todos os órgãos das plântulas foram semelhantes, atingindo o ponto máximo da curva nas concentrações de 50 mM (CNPAPM-X) e 100 mM (CNPAPM-III) em folhas; 100 mM em caule e raiz; e ponto mínimo na concentração de 200 mM para todos os

órgãos. Essa redução na produção de biomassa seca em concentrações mais elevadas de NaCl para a cultura do pinhão manso também foi observada por Matsumoto et al. (2014). A diminuição no percentual de massa seca pode ocorrer devido à redução do ganho de carbono e ao gasto energético para adaptação à salinidade, envolvendo processos de regulação do transporte e distribuição iônica em vários órgãos e dentro das células, a síntese de solutos orgânicos para osmorregulação e a manutenção da integridade das membranas celulares (LARRÉ et al., 2011).

A partir dos resultados observados e através das equações obtidas nas análises de regressões foi calculada a dose severa de sal para as plântulas de pinhão manso. Esta foi calculada a partir das concentrações de NaCl obtidas pela determinação dos pontos máximos (para parábolas onde $a < 0$) e dos pontos mínimos (para parábolas onde $a > 0$) utilizando as equações:

$$x = -\frac{b}{2a} \text{ para } a > 0$$

$$x = -\frac{(b^2-4ac)}{4a} \text{ para } a < 0.$$

Onde: a, b e c são valores extraídos da equação de segundo grau $x^2 + bx + c = 0$

A dose severa para este estudo foi definida como a dose utilizada mais próxima do valor obtido (166,25) após o cálculo das médias de todos os resultados obtidos nas análises realizadas (altura, diâmetro, massa fresca e seca) para os dois genótipos. Assim, definiu-se a dose de 150 mM de NaCl como a dose severa e metade desta concentração (75 mM) como dose moderada para os dois genótipos. Estas concentrações foram utilizadas para a realização dos experimentos 2 e 3.

4.2 Experimento 2: Partição iônica de plântulas de pinhão manso submetidas ao estresse salino

Para se definir o efeito da salinidade no crescimento inicial de plântulas de pinhão manso avaliou-se o status hídrico através do percentual de umidade (% U), conteúdo relativo de água (CRA), partição iônica e os danos fisiológicos em membranas. O CRA decresceu em ambos os genótipos conforme o aumento da salinidade (Figura 10 B; D; F), isto sugere que os dois genótipos apresentam a mesma capacidade de retenção de água nas células sob condição de disponibilidade hídrica. Nas folhas, o decréscimo do CRA no estresse mais severo quando comparado ao controle foi de 16,81% para o genótipo CNPAPM-X e de 20,22% para o CNPAPM-III. A redução no caule foi de 5,54% (CNPAPM-X) e de 6,97% (CNPAPM-III). Essa

redução na capacidade de acúmulo de água pelas plantas afeta principalmente o sistema nutricional através de prejuízos nas relações de transporte de moléculas (carboidratos, aminoácidos e proteínas) entre os órgãos das plantas. Uma redução significativa no CRA das folhas com o aumento dos níveis de salinidade da água de irrigação também foi observada por Ferraz et al. (2015) na cultura da mamoneira. Matos et al. (2013) afirma que esta deficiência hídrica induzida pelo efeito osmótico caracteriza uma situação de seca fisiológica e provoca alterações morfológicas e anatômicas nas plantas gerando um desequilíbrio na absorção de água e na taxa transpiratória.

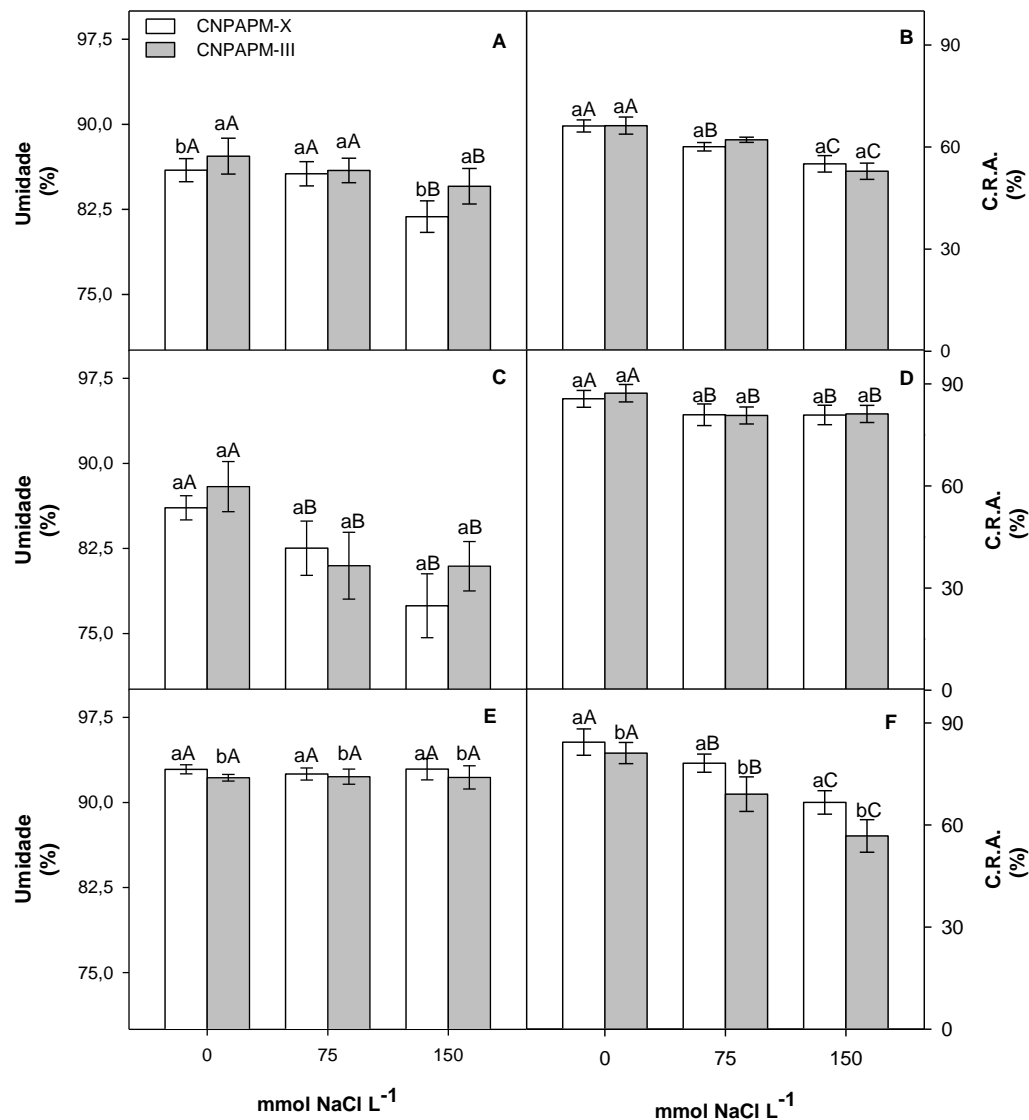


Figura 10: Percentual de Umidade e Conteúdo Relativo de água em folhas (A; B), caules (C; D) e raízes (E; F) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testados por Tukey ($p \leq 0,05$).

O Percentual de umidade nas raízes diferiu estatisticamente entre os genótipos, mas não apresentou efeito significativo entre as concentrações de NaCl (Figura 10E), ao mesmo tempo que o CRA decaiu em 21% para as raízes do genótipo CNPAPM-X e em 24,36% para o genótipo CNPAPM-III (Figura 10F) na concentração de 150 mM. Esse efeito é um indicativo de que o aumento da concentração de sais no solo restringiu a capacidade de absorção das plântulas. Em folhas (Figura 10A) e caule (Figura 10C) houve uma diminuição no percentual de umidade quando as plântulas foram submetidas aos tratamentos salinos. Nas folhas essa diminuição foi de aproximadamente 4% para ambos os genótipos; em caule o decréscimo foi de 10,03% no genótipo CNPAPM-X e de 7,96% no genótipo CNPAPM-III. Essa diminuição no percentual de umidade pode ser indicativo da ineficiência dos mecanismos de ajustamento osmótico, o que causou aumento da transpiração. Resultados diferentes aos observados neste estudo foram obtidos por Coelho et al. (2014b), que não observaram influencia da salinidade do solo na umidade foliar em feijão caupi.

Quanto ao conteúdo de íons (Figura 11. A; D e G), houve decréscimo nos níveis de K^+ (20,12% para CNPAPM-X; 14,48% para CNPAPM-III) e um aumento na concentração de Na^+ (32,83% para CNPAPM-X; 39,47% para CNPAPM-III) e Ca^{2+} (17,71% para CNPAPM-X; 36,86% para CNPAPM-III) em folhas do tratamento mais severo quando comparado ao controle; essa queda na concentração de K^+ pode estar relacionada com o aumento na concentração de Na^+ no meio externo, pois o aumento da salinidade compromete a absorção de K^+ gerando uma deficiência deste íon o que acarreta em distúrbios metabólicos resultantes da competição entre o Na^+ com o K^+ pelos sítios ativos das enzimas (RODRIGUES et al., 2012; MAATHIUS e AMTMANN, 1999). A redução na concentração de K^+ com o aumento das concentrações salinas em pinhão manso também foi observada por Silva et al. (2009) e Cunha et al. (2013); em maracujazeiro amarelo (CRUZ et al., 2006); em jatobá (NASCIMENTO et al., 2015) e faveleira (OLIVEIRA, 2012).

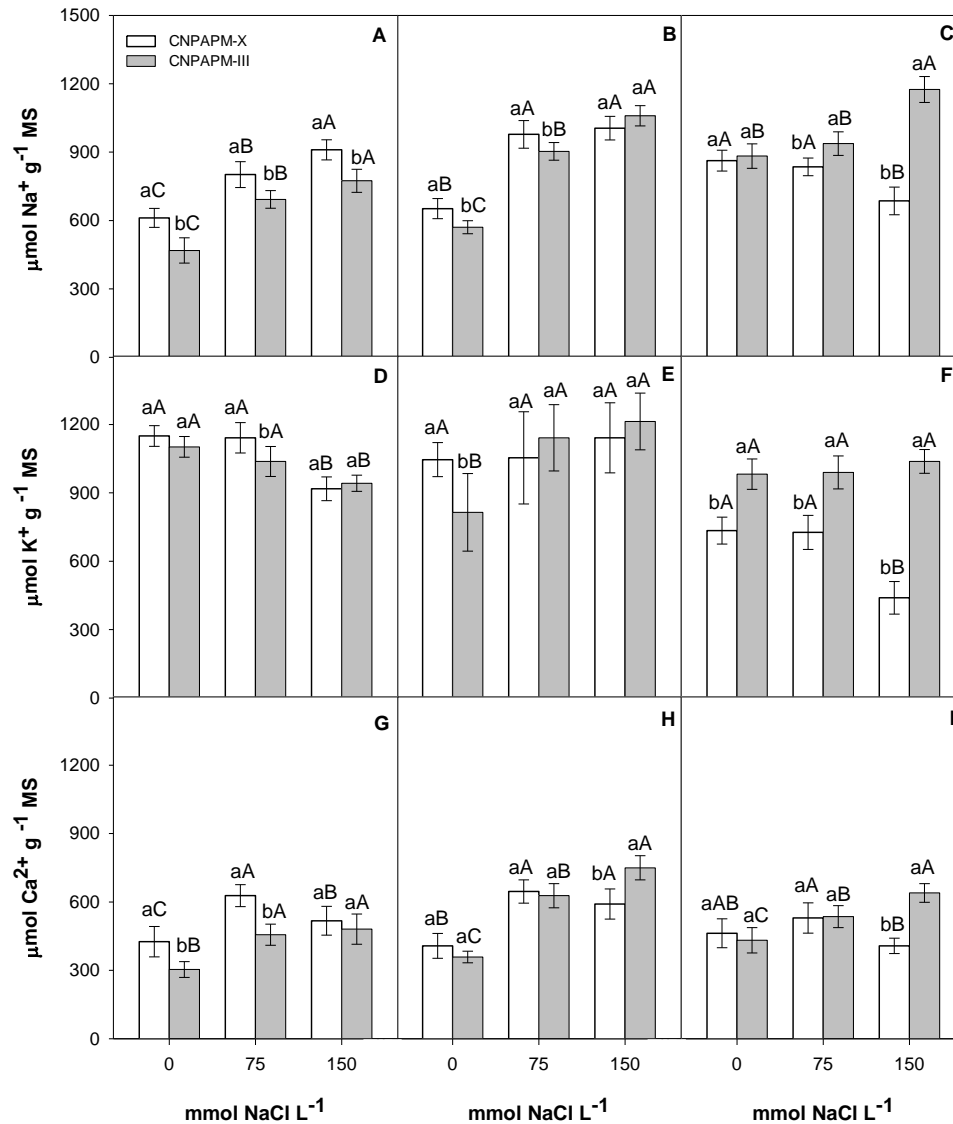


Figura 11: Conteúdo de Na^+ , K^+ e Ca^{2+} em folhas (A; D; G), Caule (B; E; H) e Raiz (C; F; I) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$).

O acúmulo de íons em caule foi relativamente maior do que o acúmulo em folhas. Observou-se uma tendência de incremento nas concentrações de K^+ (8,38% CNPAPM-X; 32,87% CNPAPM-III), Na^+ (35,13% CNPAPM-X; 85,71% CNPAPM-III) e Ca^{2+} (31,03% CNPAPM-X; 52,17% CNPAPM-III) (Figura 11B; E e H) com o aumento da salinidade, sendo a maior concentração de íons encontrada no genótipo CNPAPM-III. É possível que esse acúmulo de íons no caule seja um mecanismo de proteção utilizado nesta espécie para preservar a parte aérea, que é a responsável pela realização de trocas gasosas nas plantas. Como já foi observado

em Euforbiáceas, o caule (LIMA et al., 2015; NOBRE et al., 2013; SILVA JUNIOR et al., 2012) provavelmente atua como acumulador de Na^+ compartimentalizando-o em seus vacúolos e controlando seu fluxo para as partes superiores da planta, reduzindo prováveis danos no aparato fotossintético das folhas.

Nas raízes (Figura 11C; F e I) o comportamento observado entre os genótipos com relação aos tratamentos salinos diferiu, pois o genótipo CNPAPM-X reduziu as concentrações de K^+ (40,17%), Na^+ (20,47%) e Ca^{2+} (11,89%) na concentração mais elevada de sal em relação ao controle; já o genótipo CNPAPM-III teve aumento nas concentrações de Na^+ (24,85%) e Ca^{2+} (32,48%) e estabilidade do íon K^+ . Essa redução na absorção de íons Na^+ pelas raízes do CNPAPM-X quando comparada a elevada concentração de sódio nas folhas indica que o genótipo não apresentou retenção dos íons tóxicos nas células radiculares como mecanismo de defesa (CUNHA et al. 2013), o que reforça a hipótese do caule em *Jatropha curcas* ser a principal barreira de mobilização no Na^+ para as folhas, funcionando como órgão acumulador de íons tóxicos para esta espécie.

A relação K^+/Na^+ das plântulas tratadas com NaCl decresceu em relação às plântulas do tratamento controle (Figura 12), principalmente no caule (Figura 12B). O decréscimo na relação K^+/Na^+ foi diretamente proporcional ao aumento da concentração externa de NaCl em todos os tecidos das plântulas. Na concentração de 150 mM, o caule do genótipo CNPAPM-X apresentou redução na relação K^+/Na^+ igual a 29,31% e o genótipo CNPAPM-III igual a 26,81%. Nas raízes (Figura 12C) o decréscimo ficou em 18,85% no genótipo CNPAPM-X e 20,61% no genótipo CNPAPM-III. O decréscimo na razão K^+/Na^+ também foi observado em folhas (Figura 12A), porém neste tecido a relação foi superior a 1 em todos os tratamentos.

Na relação K^+/Na^+ valores inferiores a 1 indicam um acúmulo de Na^+ em detrimento ao K^+ , o que é indício de toxicidade iônica (MAATHUIS e AMTMANN, 1999). Em plântulas de pinhão manso, a razão K^+/Na^+ inferior a 1 observada nas raízes e no caule; e superior a 1 nas folhas sugerem uma possível toxicidade iônica, onde provavelmente as raízes e principalmente o caule tenham sido eficientes em prevenir um acúmulo excessivo de Na^+ na parte aérea e em garantir a manutenção de uma relação K^+/Na^+ compatível com os requerimentos metabólicos da planta até no estresse mais severo (OLIVEIRA, 2012).

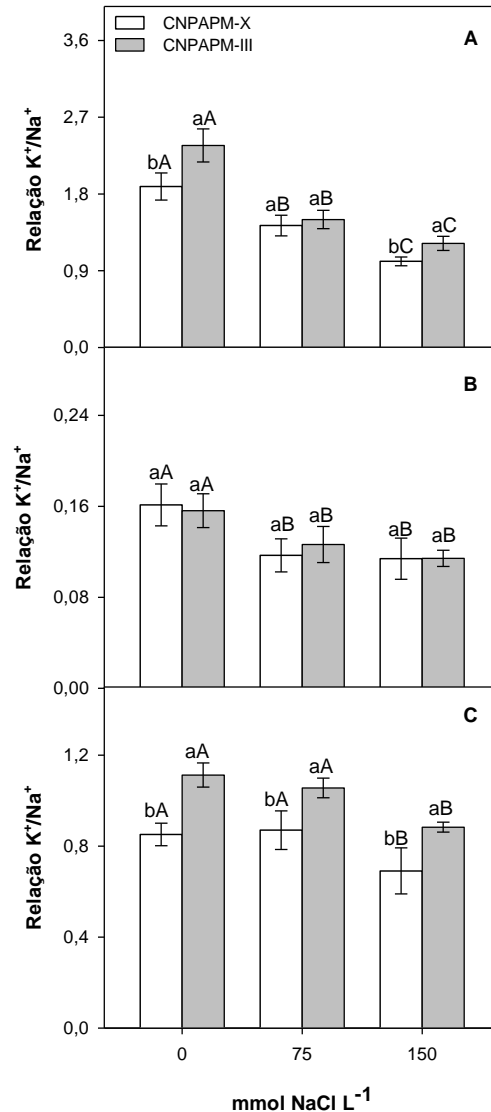


Figura 12: Razão K^+/Na^+ em folhas (A), Caule (B) e raiz (C) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$).

O vazamento de eletrólitos é uma variável amplamente utilizada para mensurar danos em membranas de diversos tecidos vegetais sob estresses ambientais (OLIVEIRA, 2012; MAIA et al., 2012; LOBO, 2012; BRILHANTE et al., 2013). Observando a Figura 13 pode-se constatar a partir do vazamento de eletrólitos (VE) que não ocorreram danos aparentes as membranas Foliares (A) e Caulinares (B), onde constatou-se redução no VE para o genótipo CNPAPM-X e estabilidade para genótipo CNPAPM-III nos dois tecidos. A integridade dessas membranas pode ter sido preservada por uma forte proteção oxidativa, enzimática e não enzimática características

desta espécie. Porém, esta hipótese só pode ser confirmada com estudos posteriores, visto que o mecanismo antioxidante não foi objeto deste estudo.

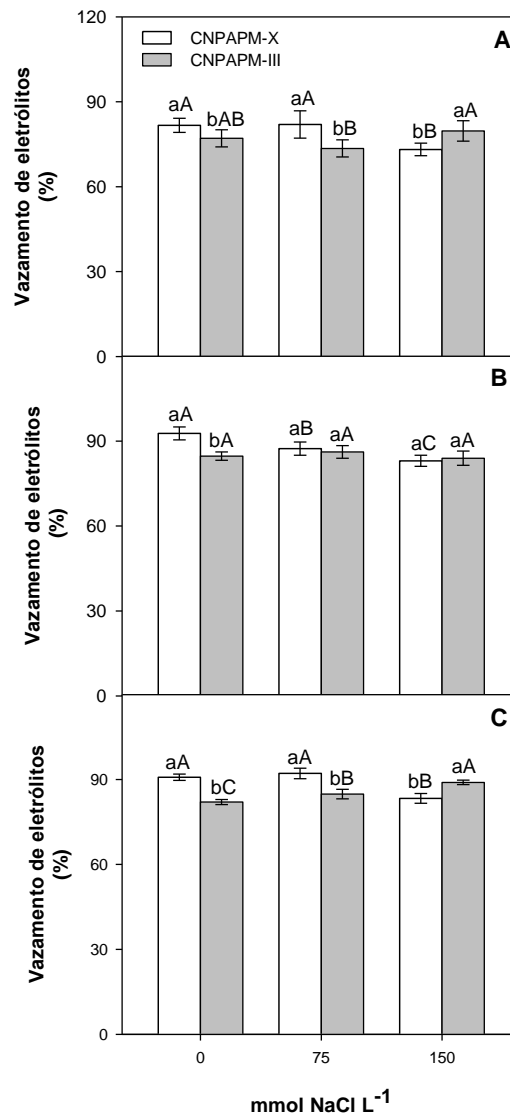


Figura 13: Vazamento de eletrólitos em folhas (A), Caule (B) e raiz (C) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testados por Tukey ($p \leq 0,05$).

Os danos em membranas foram aparentes somente nas raízes (Figura 13C) do genótipo CNPAPM-III no qual houve um aumento de 7,79% na dose de 150 mM em relação ao controle. Este fato pode indicar que as raízes do genótipo CNPAPM-III são mais sensíveis à salinidade que as do genótipo CNPAPM-X. Esse vazamento de eletrólitos nas raízes no genótipo

CNPAPM-III pode estar relacionado ao estresse iônico, pois o excesso tanto de Na^+ quanto de Cl^- no protoplasma causam toxicidade e geram distúrbios no balanço iônico, provocando alterações na estrutura das membranas (SHABALA et al., 2012).

4.3 Experimento 3: Efeito da salinidade na partição de macromoléculas de plântulas de pinhão manso

O efeito da salinidade na mobilização de reservas em plântulas de pinhão manso foi definido por meio da avaliação de macromoléculas através da quantificação de açúcares, amido, proteínas, aminoácidos e lipídios. Nas folhas o conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) apresentou acréscimo significativo no genótipo CNPAPM-III (39,21%) e se manteve estável para o genótipo CNPAPM-X na concentração mais elevada de sal em relação ao controle (Figura 14A). É comum este acúmulo de AST em plantas submetidas a condições de estresse salino como foi observado em pinhão manso por Sousa et al. (2012), feijoeiro caupi por Souza et al. (2011) e milho por Gomes et al. (2011). Este aumento na concentração de AST nas folhas pode estar relacionado à indução de um ajustamento osmótico visando o equilíbrio osmótico celular (LACERDA et al., 2001), fato que só pode ser confirmado através de análises de quantificação de outros solutos como por exemplo a prolina.

Os níveis de açúcares não redutores (ANR) em folhas (Figura 14D) aumentam para os dois genótipos, 22,95% (CNPAPM-X) e 17,14% (CNPAPM-III); já para os açúcares redutores (AR), também em folhas, observou-se uma tendência a aumento de 86,22% no genótipo CNPAPM-III e um decréscimo de 19,91% no genótipo CNPAPM-X (Figura 14G) na concentração de 150 mM de NaCl em relação ao controle. O acúmulo de ANR (ex: sacarose) e AR (ex: glicose e frutose) em folhas pode estar relacionado a uma menor utilização desses carboidratos quando o crescimento é inibido ou reduzido, ou ainda a uma inibição da atividade enzimática da sacarose sintase ou invertase (MUNNS e WEIR 1981; STURM e TANG, 1999). O aumento na produção de ANR e AR proporcionalmente ao aumento das concentrações de NaCl na fase de estabelecimento das plântulas também foi observado em trigo (LIN, 2012) e em copaíba (AMARO, 2012).

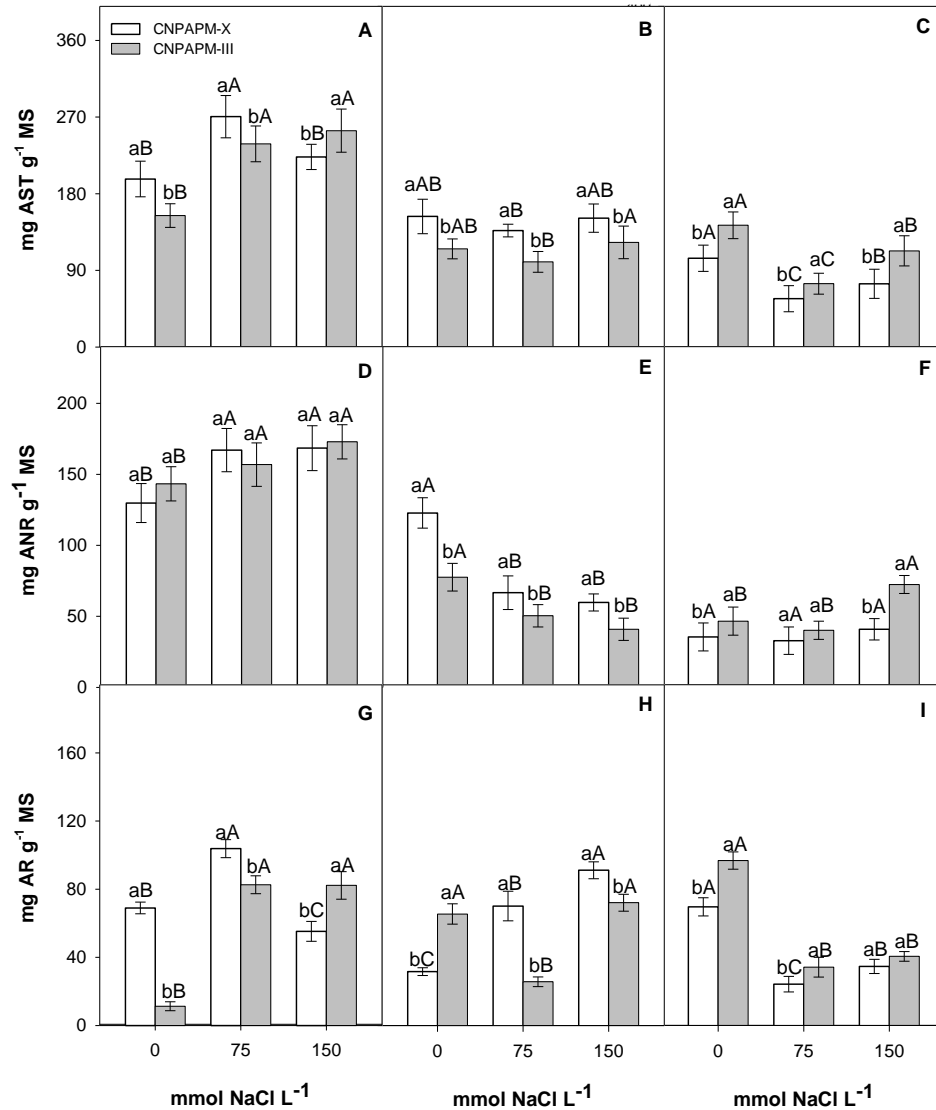


Figura 14: Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR) e açúcares redutores (AR) em folha (A, D, G); caule (B, E, H) e raiz (C, F, I) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$).

No caule houve uma estabilidade na concentração de AST (Figura 14B); um decréscimo no conteúdo de ANR de 51,33% para o genótipo CNPAPM-X e de 47,21% para o CNPAPM-III (Figura 14E); e uma estabilidade nos AR para genótipo CNPAPM-III e aumento de 9,16% no genótipo CNPAPM-X (Figura 13H) na concentração mais elevada de NaCl, em relação aos respectivos controles. Essa estabilidade no conteúdo de AST pode ser indicativa de que as concentrações salinas não exercem influência sob o conteúdo de AST nesse tecido.

O conteúdo de amido em folha (Figura 15A) teve um aumento de 24,39% (CNPAPM-X) e 34,94% (CNPAPM-III), sendo a maior quantidade de amido encontrada em folhas de CNPAPM-III. No caule houve um aumento significativo na concentração de amido de 47,17% para CNPAPM-X e 22,50% para o genótipo CNPAPM-III (Figura 15B). Observando o quadro geral dos carboidratos notou-se que existe uma grande produção de açúcares não redutores em folhas, porém de acordo com o observado em caule esses açúcares não estão sendo transcolados. Notou-se ainda um aumento na concentração de AR e um acúmulo de amido até 4,5 vezes maior em caule que em folhas, ao mesmo tempo em que se observou uma queda na concentração de ANR no caule. Este conjunto de fatores pode ser um indicativo de que os ANR estão sendo mobilizados para a produção de amido e este amido não está sendo convertido em açúcares solúveis por um desajuste provocado pelo estresse salino na degradação desta molécula, visto que a salinidade causa a inibição da atividade das amilases que são enzimas chave neste processo (AMARO, 2012). Outra hipótese relevante seria que poderia estar havendo uma menor exigência dessa substância pelos tecidos do caule ocorrendo assim o acúmulo.

Nas raízes (Figura 14C) houve decréscimo de AST em 28,77% (CNPAPM-X) e 21,01% (CNPAPM-III). Para a concentração de ANR (Figura 14E) o comportamento observado no genótipo CNPAPM-X é de estabilidade e no genótipo CNPAPM-III é de acréscimo em relação ao controle. Na Figura 14I observou-se diminuição na concentração de AR para ambos os genótipos. O conteúdo de amido nas raízes apresentou valores significativos apenas para o genótipo CNPAPM-III com decréscimo em relação ao controle (Figura 15C). Essa queda nos níveis de AR e amido nas raízes indica que esses carboidratos, quando transcolados das folhas, se acumularam no caule o que ressalta a hipótese de que o caule funcione como órgão acumulador não, só de íons tóxicos, como também de outros solutos orgânicos. Essa função do caule como provável acumulador de substâncias também foi observada em plantas de girassol por Rocha et al. (2014). A redução progressiva na concentração de amido em raízes provavelmente ocorreu devido a um atraso na mobilização desta reserva acarretado pela salinidade, este atraso pode ter sido a responsável pela inibição no crescimento das plântulas observada neste estudo, segundo Araújo (2013).

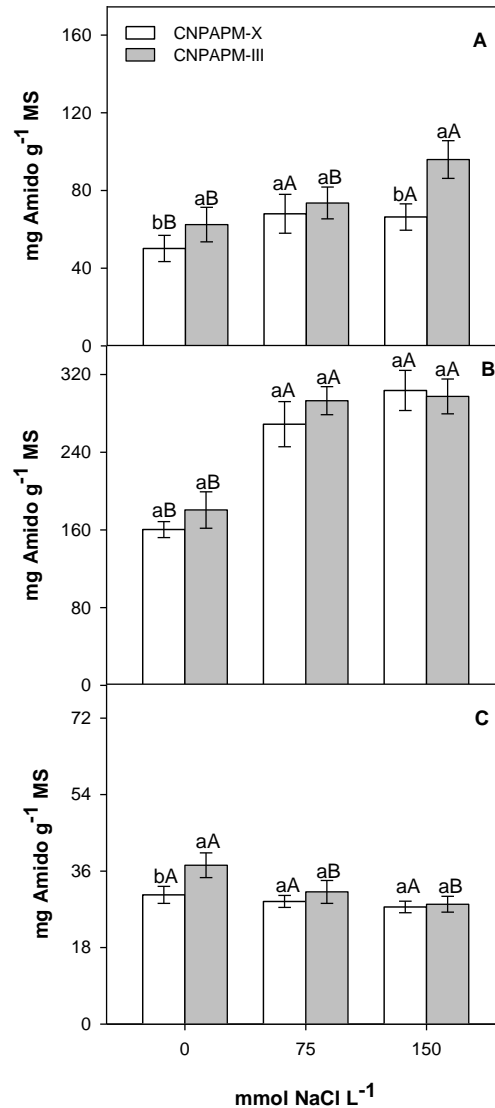


Figura 15: Conteúdo de amido em folhas (A), caule (B) e raiz (C) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$).

Para o conteúdo de proteínas observou-se respostas diferentes das plântulas de pinhão manso quando expostas as concentrações de 75 e 150 mM de NaCl. Na concentração de 75 mM, notou-se um decréscimo no conteúdo de proteínas para folhas (Figura 16A), caule (Figura 16C) e raiz (Figura 16E) em relação ao controle. O decréscimo mais expressivo foi observado nos caules, sendo de 22,77% para o genótipo CNPAPM-X e 39,90% para o genótipo CNPAPM-III. Condições de estresse salino podem acarretar em plantas uma redução no conteúdo de proteínas, através de prejuízos na síntese proteica, ou pelo aumento da proteólise devido ao aumento nas

concentrações de Na^+ em detrimento de K^+ (SILVEIRA et al., 2003). Essa redução no conteúdo de proteínas com o aumento da salinidade também foi observada em plantas de sorgo (LOBO et al., 2011) e feijão de corda (CALVET et al., 2013).

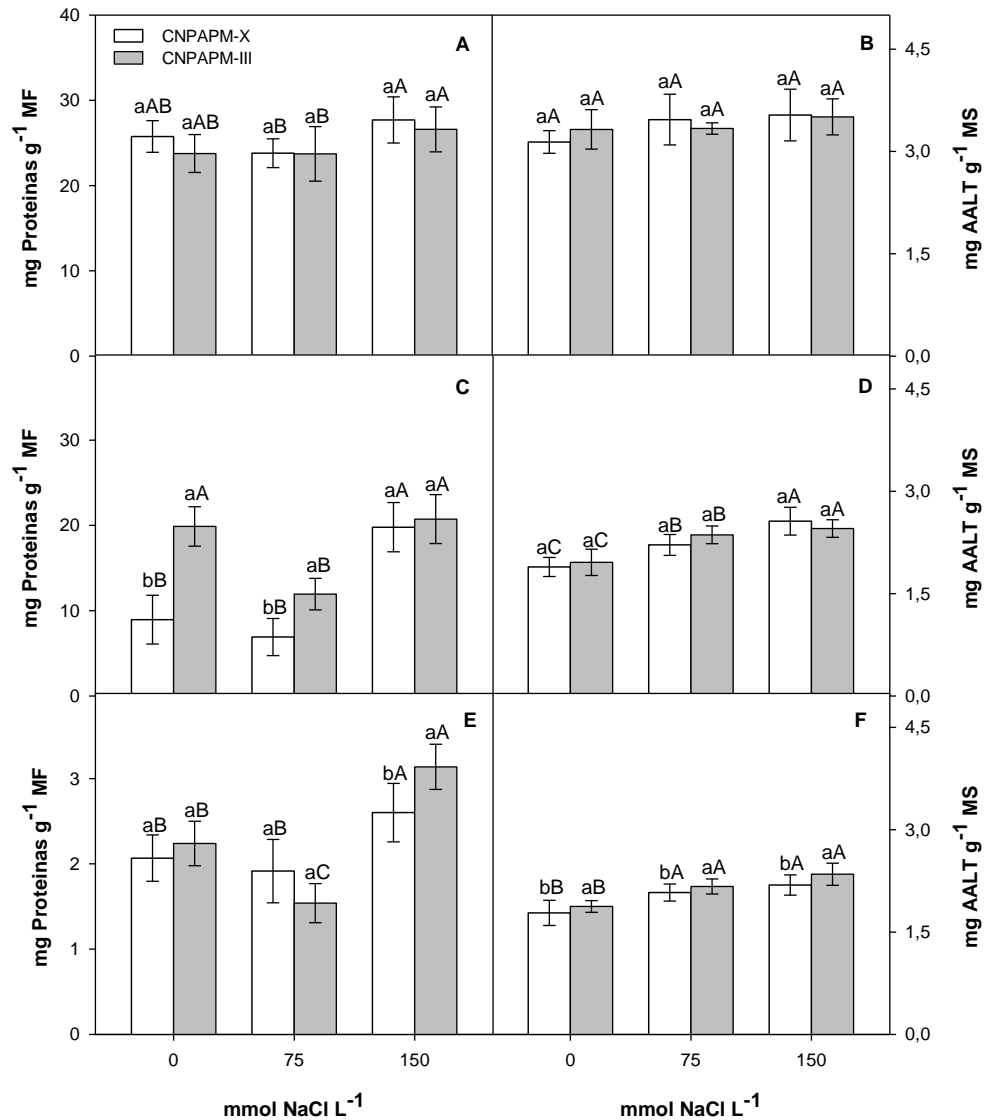


Figura 16: Conteúdo de proteínas solúveis (PS) e aminoácidos livres (AALT) em folhas (A, B), caule (C; D) e raiz (E; F) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$).

Para a concentração de 150 mM, também em relação ao controle, percebeu-se estabilidade do conteúdo de proteínas em folhas; aumento em raízes de 20,55% para o genótipo CNPAPM-X e 28,60% para o CNPAPM-III; e aumento significativo de 54,79% no caule para o

genótipo CNPAPM-X. A síntese de proteínas observada na concentração de 150 mM em raízes e caules juntamente com a inexistência de danos em membranas indicam uma tolerância dessas plantas a condição de salinidade, já que certas proteínas responsivas ao estresse podem contribuir na tolerância ao sal, como por exemplo as chaperonas que possuem um papel importante na proteção de proteínas contra estresses; e as proteínas LEA (Late Embryogenesis Abundant) que são geralmente acumuladas em sementes durante a fase de maturação, porém elas também acumulam-se em tecidos vegetativos durante períodos de seca, o que é indicio de proteção contra a dessecação (MOHAMMADKHANI e HEIDARI, 2008; BENKO-ISEPPON et al., 2011). O acúmulo de proteínas em condições de estresses severo em plantas também foi relatada por Oliveira (2012) e Nascimento et al. (2015). As diferenças observadas no comportamento das plantas em relação às concentrações salinas inferem que o conteúdo de proteínas solúveis no pinhão manso não respondem proporcionalmente ao aumento da salinidade, sendo cada resposta específica para determinada dose de sal, fato que também foi observado por Cunha et al. (2013).

O conteúdo de aminoácidos livres totais (AALT) aumentou nas raízes para os dois genótipos estudados, sendo um aumento de 26,17% para o CNPAPM-X e de 20,19% para o CNPAPM-III em relação ao controle na presença de 150 mM de NaCl (Figura 16F). No caule das plantas submetidas ao estresse salino houve aumento no conteúdo de AALT entre 16,5% e 126% quando comparado a plantas controle (Figura 16D). Nas folhas, o conteúdo de AALT permaneceu inalterado, em relação aos respectivos controles (Figura 16B). Esse estímulo a fixação de nitrogênio observado em caule e raiz pode estar relacionado a uma tolerância a salinidade (MANSOUR, 2000). Além disso, pode-se dizer que o incremento verificado no teor de aminoácidos é resultante da biossíntese deste composto, pois não houve indícios de degradação proteica.

Um dos papéis dos aminoácidos seria atuar como fonte de nitrogênio e carbono prontamente utilizáveis na tentativa de reverter os efeitos causados pelo estresse salino (HANDA et al., 1983). O acúmulo de aminoácidos em plantas submetidas a diversos estresse já foi relatado por vários autores (MELO, 2012; OLIVEIRA, 2012; SOUSA et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2015). Esse aumento nos níveis de aminoácidos pode ter efeito benéfico durante a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas, propiciando, em algumas espécies, aclimatação ao estresse (KRASENSKY e JONAK, 2012).

O conteúdo de lipídios neutros em folhas (Figura 17A) teve acréscimo significativo de 34,81% no genótipo CNPAPM-III na dose de 150 mM em relação ao controle. No caule não houve diferença quanto à quantificação de lipídios em nenhum dos tratamentos para os dois

genótipos (Figura 17B). Em raiz houve decréscimo significativo de 8,30% para o CNPAPM-X e de 20,50% para o CNPAPM-III (Figura 17C). O aumento do conteúdo de lipídios em folhas pode ser uma consequência no atraso da mobilização desta molécula com o aumento da salinidade. Esse aumento na concentração de lipídios em plantas tratadas com NaCl também foi observado em girassol por Araújo (2013).

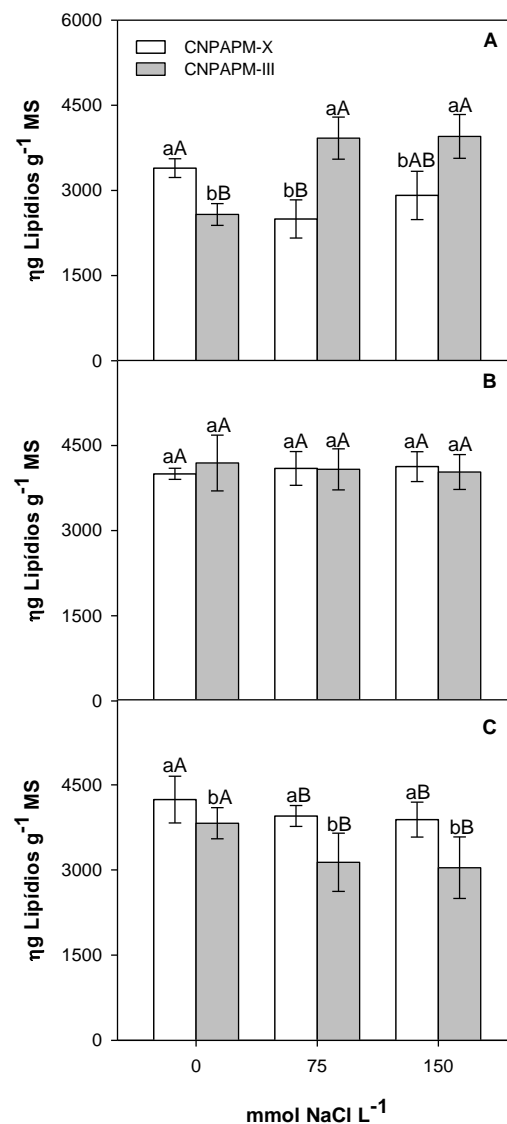


Figura 17: Conteúdo de Lipídios Neutros em folhas (A), caule (B) e raiz (C) de plântulas de pinhão manso aos 8 DAS submetidas aos tratamentos 0; 75 e 150 mM de NaCl. As letras maiúsculas sobre as barras indicam as diferenças entre as doses de NaCl e as minúsculas indicam as diferenças entre os genótipos testadas por Tukey ($p \leq 0,05$).

Durante a germinação sementes oleaginosas metabolizam os triacilgliceróis convertendo-os em uma forma mais móvel de carbono no ciclo do glioxalato, onde a principal enzima envolvida é a lipase (TAIZ e ZEIGER, 2009; KRASENSKY e JONAK, 2012), assim o fato do metabolismo das oleaginosas funcionar em torno dos carboidratos pode justificar a baixa concentração lipídica encontrada nos diversos tecidos das plântulas quando comparadas a outras macromoléculas. Porém, os processos de degradação de lipídios são altamente sensíveis a estresses, inclusive o salino. A desordem desencadeada pela salinidade pode gerar atraso no metabolismo lipídico comprometendo o crescimento das plantas, como foi observado por Amaro (2012) em plantas de *Copaiifera langsdorffii*, por Aghaleh et al (2011) em plantas de *Salirconia pérsica* e *Salirconia europaea* e por Alencar (2014) em *jatropha curcas* L..

O acúmulo de carboidratos e lipídios em condições de estresse salino tem relação direta com a redução na taxa de crescimento das plântulas (COELHO et al., 2014a; AMARO, 2012). No entanto apesar da redução no crescimento houve aumento nos teores de proteínas e aminoácidos. Essa síntese de aminoácidos e proteínas tem sido relatada como uma estratégia de proteção osmótica das plantas (CUNHA et al., 2013; GOMES et al., 2012).

Embora na literatura pouco seja encontrado sobre a relação entre o acúmulo de carboidratos e lipídios e a síntese de proteínas e aminoácidos, suspeita-se que devido aos prejuízos nas rotas de produção de energia, haja um desvio na rota de mobilização dedicando esqueletos de carbono para a síntese de aminoácidos e proteínas, sendo as principais proteínas sintetizadas aquelas envolvidas com o ajustamento osmótico (TESTER e DAVENPORT, 2003), aumentando assim a tolerância das plântulas ao estresse salino. Contudo são necessários mais estudos para a confirmação destas hipóteses, principalmente para a cultura do pinhão manso.

5. CONCLUSÃO

A mobilização de reservas em plântulas de pinhão manso é melhor analisada nas doses de 0; 75 e 150 mM de NaCl, aos 8 dias após a semeadura. A salinidade afetou a germinação e o crescimento inicial das plântulas, dados a redução na altura, diâmetro caulinar e biomassa fresca e seca. A dose de sal definida como severa para as plântulas de pinhão manso foi a de 150 mM de NaCl. O acúmulo dos orgânicos auxiliam no processo de ajustamento osmótico, porém esse acúmulo não foi capaz de impedir a redução de biomassa. A salinidade provoca a inibição da mobilização de lipídios e reservas de carbono, fatores que juntamente com a síntese de proteínas e aminoácidos contribuem para a tolerância dessas plantas a salinidade. O genótipo CNPAPM-X foi menos afetado pelo estresse salino durante a germinação e o estabelecimento de plântulas de pinhão manso.

RECOMENDAÇÕES

O pinhão manso possui mecanismos de tolerância às condições impostas por estresses salinos e hídricos severos, porém, ainda existe a necessidade de realização de novos estudos para uma melhor compreensão dos mecanismos de defesa utilizados por essa espécie. Recomenda-se, portanto a realização de estudos com uma maior variabilidade genética, visto que entre os dois genótipos estudados já foram observadas diferenças relevantes no tocante as respostas ao estresse salino, sendo o genótipo CNPAPM-X menos afetado pela salinidade durante o estabelecimento das plântulas. Recomenda-se também que sejam analisados os conteúdos de prolina e glicina betaina visto que esses aminoácidos tem a função de auxiliar no ajustamento osmótico atenuando os efeitos do estresse salino, assim esses resultados trariam respostas conclusivas sobre o ajustamento osmótico e a tolerância à salinidade durante a estabilização das plântulas nesta espécie. Por fim seria interessante a repetição deste trabalho em outras fases fenológicas da planta, com o intuito de compreender se a salinidade afeta da mesma maneira a mobilização de solutos orgânicos em todos os estágios de vida da planta.

REFERÊNCIAS

AGHALEH, M. NIKNAM, V. EBRAHIMZADEH, H. RAZAVI, K. Effect of salt stress on physiological and antioxidative responses in two species of *Salicornia* (*S. persica* and *S. europaea*). **Acta physiol plant**, v. 33, p. 1261- 1270, 2011.

ALBUQUERQUE, F. A. de; OLIVEIRA, M. I. P. de; LUCENA, A. M. A. de; BARTOLOMEU, C. R. C.; BELTRÃO, N. E. de M. **Crescimento e Desenvolvimento do Pinhão Manso: 1º Ano Agrícola**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008.

ALENCAR, N. L. M. **Mobilização de reservas endospermicas de pinhão-manso durante a germinação e desenvolvimento da plântula sob condições de estresse salino**. Fortaleza, 2014. Tese (Doutorado em Bioquímica Vegetal). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica. Universidade Federal do Ceará- UFC.

AMARO, M. S. **Germinação de sementes e mobilização de reservas em plantas de copaíba sob estresse hídrico e salino**. Fortaleza, 2012. Tese (Doutorado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Fitotecnia. Universidade Federal do Ceará- UFC.

ARAÚJO, J. L. O. **Mobilização de reservas durante o crescimento pós-germinativo em girassol sob estresse salino e osmótico aplicados de forma isolada e combinada**. Mossoró, 2013. Dissertação (Mestrado em Agronomia: fitotecnia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal Rural do Semi-árido- UFERSA.

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

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 2ª ed.. Jaboticabal – FUNEP, 1992. 247p.

BENKO-ISEPPON, A. M. CAVALCANTI, N. M. S. BERLARMINO, L. C. BEZERRA NETO, J. P. AMORIM, L. L. B. FERREIRA NETO, J. R. PANDOLFI, P. AZEVEDO, H. M. S. A. SILVA, R. L. O. SANTOS, M. G. ALVES, M. V. S. KIDO, E. A. Prospecção de Genes de Resistência à Seca e à Salinidade em Plantas Nativas e Cultivadas. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 06, p. 1112-1134, 2011.

BERNARDES, R. S. A. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe precatoria* Mart.) submetidas ao aumento de temperatura**. Manaus, 2010. Dissertação (Mestrado em Botânica). Programa de Pós-Graduação em Botânica. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia- INPA.

BERTAGNOLLI, C. M. CUNHA, C. S. M. MENEZES, S. M. MORAES, D. M. LOPES, N. F. ABREU, C. M. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de soja submetidas ao estresse salino. **Revista brasileira de Agrociência**, v.10, n. 3, p. 287-291, 2004.

BEWLEY, J. D. BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BEWLEY, J. D. BRADFORD, K. J. HILHORST, H. W. M. NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3. ed. New York: Springer, 2013.

BLACK, M.; BEWLEY, J.D.; HALMER, P. **The encyclopedia of seeds: science, technology and uses**. Wallingford: CAB International, 2006. 828 p.

BOHN, H. L. McNEAL, B. L. O'CONNOR, G. A. **Soil Chemistry**. New York, John Willey & Sons, 1985. 341p.

BORGES, E.E.L. **Comportamento bioquímico e fisiológico de sementes florestais nativas durante a embebição**. 2003. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais). Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais. Universidade Federal de São Carlos- UFSCAR.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRILHANTE, J. C. A. OLIVEIRA, A. B. SILVA, J. W. L. ENÉAS FILHO, J. Ação do ácido ascórbico exógeno na qualidade fisiológica de sementes de feijão de corda envelhecidas artificialmente. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 985-994, 2013.

BUCKERIDGE, M. S. AIDAR, M. P. M. SANTOS, H. P. TINÉ, M. A. S. Mobilização de reservas. In: FERREIRA, A. G. BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 163- 188.

BUCKERIDGE, M. S.; TINÉ, M. A. S.; SANTOS, H. P. LIMA, D. U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, Edição Especial, p. 137-162, 2000.

CAIRO, P. A. R. **Relações hídricas de plantas**. Vitoria da Conquista: UESB, 1995. 32p.

CALVET, A. S. F.; PINTO, C. M.; LIMA, R. E. M.; MAIA-JOCA, R. P. M.; BEZERRA, M. A. Crescimento e acumulação de solutos em feijão-caupi Irrigado com águas de salinidade crescente em diferentes fases de desenvolvimento. **Revista Irriga**, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 148-159, 2013.

CARREIRA, R. A. B. VELOSO, C. M. KNUPP, L. S. SOUZA JUNIOR, A. H. DETMANN, E. LANA, R. de P. Protein co-products and by-products of the biodiesel industry for ruminants feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 1202-1211. 2012.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

CHEN, B. H. YANG, H. L. LI Y. L. LI, X. Z. ZHOU, J. G. Variation characteristics of soil water-soluble salts of large plastic house vegetable field for different cultivation year. **Journal Soil Water Conservation**, v. 26, n. 1, p. 241–245, 2012.

COELHO, D. S. SIMÕES, W. L. MENDES, A. M. S. DANTAS, B. F. RODRIGUES, J. A. S. SOUZA, M. A. Germinação e crescimento inicial de variedades de sorgo forrageiro submetidas ao estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v.18, n.1, p.25-30, 2014a.

COELHO, J. B. M. BARROS, M. F. C. BEZERRA NETO, E. SOUZA, E. R. Ponto de murcha permanente fisiológico e potencial osmótico de feijão caupi cultivado em solos salinizados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.7, p.708–713, 2014b.

CRUZ, J. L. PELACANI, C. R. COELHO, E. F. CALDAS, R. C. ALMEIDA, A. Q. QUEIROZ, J. R. Influência da salinidade sobre o crescimento, absorção e distribuição de sódio, cloro e macronutrientes em plântulas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Bragantia**, Campinas, v.65, n.2, p.275-284, 2006.

CUNHA, P. C. MENDES, B. S. S. OLIVEIRA FILHO, R. A. CAMARA, T. R. WILLADINO, L. G. Crescimento, síntese de solutos orgânicos e equilíbrio iônico de plântulas de pinhão-manso sob estresse salino. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 26, n. 3, p. 46 – 52, 2013.

DÍAZ-LÓPEZ, L. GIRMEMO, V. LIDÓN, V. SIMÓN, I. MARTÍNEZ, V. GARCÍA-SÁNCHEZ, F. To tolerance of *Jathopha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological analysis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.54, p.34-42, 2012.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

EASTMOND, P. J.; GERMAIM, V.; LANGE, P. R.; BRYCE, J. H.; SMITH, S. M.; GRAHAM, I. A. Postgerminative growth and lipid catabolism in oilseeds lacking the glyoxylate cycle. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **Plant Biology**, v. 97, p. 5669-5674, 2000.

FAO. Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas. **FAO land and plant nutrition management service 2008**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>>. Acesso: 15 de Dezembro de 2015.

FARIAS, S. G. G. **Estresse osmótico na germinação, crescimento e nutrição mineral da gliricídia (*Gliricidia sepium* Jacq. Walp)**. Patos, 2008. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Campina Grande- UFCG.

FELIX, R. A. Z. **Efeito alelopático de extratos de *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C sobre a germinação e emergência de plântulas**. Botucatu, 2012. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas/ Botânica. Universidade Paulista Julio de Mesquita Filho- UNESP.

FERRAZ, R. L. S. MAGALHÃES, I. D. BELTÃO, N. E. M. MELO, A. S. M. BRITO NETO, J. F. ROCHA, M. S. Photosynthetic pigments, cell extrusion and relative leaf water content of the

castor bean under silicon and salinity. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.9, p.841–848, 2015.

FREIRE, A. L. O. RODRIGUES, T. J. D. MIRANDA, J. R. P. Crescimento e nutrição de plantas de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) R. de Vit) sob salinidade. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n.4, p. 1-6, 2010.

GOMES, A. D. V. LEITE, M. J. H. FREIRE, A. L. O. Acúmulo de solutos orgânicos em plantas de munquêm (*Albizia inundala* (Mart)) submetido a estresse salino em diferentes níveis de cloreto de sódio. **Revista Verde**, Mossoró, v. 7, n. 3, p. 54-56, 2012.

GOMES, K. R. AMORIM, A. V. FERREIRAM F. J. FILHO, F. L. A. LACERDA, C. F. GOMES-FILHO, E. Respostas de crescimento e fisiologia do milho submetido a estresse salino com diferentes espaçamentos de cultivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.4, p.365–370, 2011

GOMES, S. O. **Caracterização molecular em acessos de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) por meio de marcadores ISSR**. Teresina, 2013. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal). Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal do Piauí- UFPI.

HANDA, S.; BRESSAN, R. A.; HANDA, A. K.; CARPITA, N. C.; HASEGAWA, . M. Solute contributing to osmotic adjustment to plant cells adapted to water stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 73, n. 4, p. 834-843,1983.

HELLER, J. Physic nut (*Jatropha curcas*): promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. **Rome: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research**, 1996. 66 p.

HERRIDGE, D. F. Effects of nitrate and plant development on the abundance of nitrogenous solutes in root-bluding and Vacuum-extracted exudates of soybean. **Crop Science**, v. 25, p. 173-179, 1984.

HEYDECKER, W. HIGGINS, J. TURNER, Y. J. Invigoration of seeds? **Seed Science Technology**, v. 3, p. 881-888, 1975.

HOLANDA, J.S.; AMORIM, J.R.A.; FERREIRA-NETO, M.; HOLANDA, A.C. Qualidade de água para irrigação. In: GHERY, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza: INCT Sal, 2010. 472 p.

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

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.

LARRÉ, C. F. MORAES, D. M. LOPES, N. F. Qualidade fisiológica de sementes de arroz tratadas com solução salina e 24-epibrassinolídeo. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, n. 1 p. 086 - 094, 2011.

LIMA, G. S. NOBRE, R. G. GHEYI, H. R. SOARES, L. A. A. SILVA, S. S. Respostas morfofisiológicas da mamoneira, em função da salinidade da água de irrigação e adubação nitrogenada. **Revista Irriga**, Botucatu, v. 19, n. 1, p. 130-136, 2014.

LIMA, G. S. NOBRE, R. G. GHEYI, H. R. SOARES, L. A. A. PINHEIRO, F. W. A. DIAS, A. S. Crescimento, teor de sódio, cloro e relação iônica na mamoneira sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 212-223, 2015.

LIMA JUNIOR, J. A. SILVA, A. L. P. Estudo do processo de salinização para indicar medidas de prevenção de solos salinos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, vol.6, n.11; p. 1-21. 2010.

LIN, J. LI, X. ZHANG, Z. YU, X. GAO, Z. WANG, Y. WANG, J. LI, Z. MU, C. Salinity-alkalinity tolerance in wheat: Seed germination, early seedling growth, ion relations and solute accumulation. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 3, p. 467-474, 2012.

LOBO, A. K. M. **Modulação da fotossíntese por açúcares e deficiência hídrica em plantas de cana-de-açúcar**. Fortaleza, 2012. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Vegetal. Universidade Federal do Ceará- UFC.

LOBO, A. K. M. MARTINS, M. O. LIMA NETO, M. C. BONIFÁCIO, A. SILVEIRA, J. A. G. Compostos nitrogenados e carboidratos em sorgo submetido à salinidade e combinações de nitrato e amônio | Nitrogenous compounds and carbohydrates in sorghum subjected to salinity and combinations of nitrate and ammonium. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 390-397, 2011.

- LOPES, L. S. GALLÃO, M. I. BERTINI, C. H. C. M. Mobilisation of reserves during germination of *Jatropha* seeds. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 2, p. 371-378, 2013.
- LUO, C. W.; LI, R.; CHEN, Y.; SUN, Y. Y. Floral display and breeding system of *Jatropha curcas* L. **Forestry Studies in China**, Beijing, v. 9, n. 2, p.114-119, 2007.
- MAATHUIS, F. J. M. AMTMANN, A. K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: The basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. **Annals of Botany**, v.84, p.123-133, 1999.
- LUTTS S, KINET JM, BOUHARMONT J. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. **Annals of Botany**, v. 78, p. 389 – 398, 1996.
- MAIA, J. M. FERREIRA-SILVA, S. L. VOIGT, E. L. MACÊDO, C. E. C. PONTE, L. F. A. SILVEIRA, J. A. G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v.26, n.2, 2012.
- MAIA, J. T. L. S. BONFIM, F. P. G. GUANABENS R. E. M. TRENTIN, R. MARTINEZ, H. E. P. PEREIRA, P. R. G. FONTES, P. C. R. Omissão de nutrientes em plantas de pinhão-manso cultivadas em solução nutritiva. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n.5, p. 723-731, 2014.
- MALAVOLTA, E. VITTI, G. C. OLIVEIRA, A. S. **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. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. **Biologia Plantarum**, v. 43, p. 491-500, 2000.
- MARIJUAN,M.P.;BOSCH,S.M.Ecophysiologyofinvasiveplants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, p.660-666, 2013
- MARQUES, E. C. FREITAS, V. S. BEZERRA, M. A. PRISCO, J. T. GOMES-FILHO, E. Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento da plântula de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 4, p. 993-999, 2011.
- MARQUES, E. C.; FREITAS, P. A. F.; ALENCAR, N. L. M.; PRISCO, J. T.; GOMESFILHO, E. Increased Na⁺ and Cl⁻ accumulation induced by NaCl salinity inhibits cotyledonary reserve mobilization and alters the source-sink relationship in establishing dwarf cashew seedlings. **Acta Physiol Plant**, Kraków, v 35, p. 2171-2182, 2013.

- MARTINS, C. C. MACHADO, C. G. CAVASINI, R. Temperatura e substrato para o teste de germinação de sementes de pinhão manso. **Ciência agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 863-868, 2008.
- MATOS, F. S. ROCHA, E. C. CRUVINELL, C. K. L. RIBEIROLL, R. A. RIBEIROLL, R. P. TINOCOLL, C. F. Desenvolvimento de mudas de pinhão-manso irrigadas com água salina. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.37 no.4, p.947-954, 2013.
- MATSUMOTO, H. YEASMIN, R. KALEMELAWA, F. WATANABE, T. ARANAMI, M. NISHIHARA, E. Evaluation of NaCl tolerance in the Physical Reduction of *Jatropha Curcus* L. Seedlings. **Agricultural Science**, v. 2, n. 3, p. 23-35, 2014.
- MCCREADY, R. M. GUGOOLZ, J. SILVEIRA, V. OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156- 1158, 1970.
- MELO, Y. L. **Desempenho agrônômico e caracterização de genótipos de girassol (*Helianthus annus* L.) quanto a marcadores fenológicos, fisiológicos e bioquímicos em duas microrregiões edafoclimáticas do Rio Grande do Norte**. Mossoró, 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia). Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Universidade Federal Rural do Semi Árido- UFERSA.
- MENDONÇA, S.; LAVIOLA, B. G. **Uso potencial e toxidez da torta de pinhão manso**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2009. 8 p. (Embrapa Agroenergia. Comunicado técnico, 001).
- MIRAGAYA, J. C. G. **Biodiesel: tendências no mundo e no Brasil**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 7-13, 2005.
- MOHAMMADKHANI, N. HEIDARI, R. Effects of Drought Stress on Soluble Proteins in two Maize Varieties. **Turkish Journal of Biology**, v. 32, n. 1, p. 23, 2008.
- MORAIS, E. B. S. D. **Padronização do teste de germinação e qualidade de sementes de pinhão- manso (*Jatropha curcas* L.) durante o armazenamento**. Janaúba, 2008. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Universidade Estadual de Montes Claros.
- MORRIS, D.L. Quantitative determination of carbohydrates with Drywood's anthrone reagent. **Science**, Washigton, v.107, n.3, p. 254-255, 1948.

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.

MUNNS, R. WEIR, R. Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. **Aust. J. Plant Physiol.**, v.8, p. 93-105, 1981.

NASCIMENTO, H. H. C. SANTOS, C. A. FREIRE, C. S. SILVA, M. A. NOGUEIRA, R. J. M. C. Ajustamento osmótico em mudas de jatobá submetidas à salinidade em meio hidropônico. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.39, n.4, p.641-653, 2015.

NOBRE, R. G. SOARES, L. A. A. GHEYI, H. R. LIMA, G. S. LOURENÇO, G. S. SOARES, S. S. Acúmulo de NPK e sódio na mamoneira sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p.1066–1073, 2013.

OLIVEIRA, A. B. ALENCAR, N. L. M. GALLÃO, M. I. GOMES FILHO, E. Avaliação citoquímica durante a germinação de sementes de sorgo envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas, sob salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, vol.42 no.1 Fortaleza Jan./Mar. 2011.

OLIVEIRA, E. L. FARIA, M. A. EVANGELISTA, A. W. P. MELO, P. C. Resposta do pinhão-manso à aplicação de níveis de irrigação e doses de adubação potássica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 3, p. 593–598. 2012.

OLIVEIRA, I. R. S. OLIVEIRA, F. N. MEDEIROS, M. A. TORRES, S. B. TEIXEIRA, F. J. V. Crescimento inicial do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) em função da salinidade da água de irrigação. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 4, p. 40-45, 2010.

OLIVEIRA, M. D. M. **Indicadores de estresse salino em faveleira [*cnidoscolus phyllacanthus* (m. arg.) pax et k. hoffm], espécie promissora para produção de biodiesel**. Mossoró, 2012. (Doutorado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Fitotecnia. Universidade Federal Rural do Semi-Árido- UFERSA.

PADILLA V. M. Microbial inoculant for growth and development of Physic nut (*Jatropha curcas* L.). In: 5th Asia-Pacific Biotechnology Congress, Tagbilaran. Proceedings, **Philippine Society for Microbiology**. p.33, 2007.

PASCUALI, L. C. SILVA, F. S. PORTO, A. G. SILVA FILHO, A. MENEGHELLO, G. E. Germinação de sementes de pinhão manso em diferentes temperaturas, luz e substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 1435-1440, 2012.

PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em Fisiologia Vegetal**. Coronel Pacheco: EMBRAPA- CNPGL, 1996. 223 p.

PEIXOTO, A. R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. 284p.

PEOPLES, M. B. FAIZAH, A. W. RERKASEM, B. G. HERRIDGE, D. F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Australian Center for International Agricultural Research Canberra, 1989. 76p. (p. 35).

PIMENTA, A. C. ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. LAVIOLA, B. G. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Jatropha curcas*. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 44, n. 1, p. 73 - 80, 2014.

PRISCO, J. T. GOMES-FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. IN: **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. UFC. ISBN 978-85-7563-489-9 Fortaleza, 2010.

PRITCHARD, S. L. CHARLTON, W. L. BAKER, A. GRAHAM, L. A. Germination and storage reserve mobilization are regulated independently in Arabidopsis. **The Plant Journal**. Vol. 31, n.5, 639-647, 2002.

QUEIROZ, J.E.; GONÇALVES, A.C.; SOUTO, J.S.; FOLEGATTI, M.V. Manejo e controle da salinidade na agricultura irrigada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 26, 1997. Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: UFPB/SBEA. 1 CD.

QUINTILIANO, A. A. DEPERON JUNIOR M. A. AVELAR, R. C. JUNCO, B. B. ARAÚJO, J. C. FRAGA, A. C. CASTRO NETO, P. Avaliação do teor de óleo de pinhão manso extraído em lotes de baixa qualidade física. In: 3º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas. Óleos, Gorduras e Biodiesel, Varginha. **Anais...** UFLA. p.1242, 2006.

RABBANI, A. R. C. SILVA- MANN, R. FERREIRA, R. A. CARVALHO, S. V. A. NUNES, F. B. S. BRITO, A. S. Efeito do estresse salino sobre atributos da germinação de sementes de girassol., **Scientia Plena**, v. 9, n. 5, 2013.

RIBEIRO, M. R. Origem e classificação dos solos afetados por sais. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. da S.; LACERDA, C. F. de (Ed). **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza, INCTSal, 2010. p.11-19.

ROCHA, J. G. FERREIRA, L. M. TAVARES, O. C. H. SANTOS, A. M. SOUZA, S. R. Cinética de absorção de nitrogênio e acúmulo de frações solúveis nitrogenadas e açúcares em girassol. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 4, p. 381-39, 2014.

RODRIGUES, C. R. F. SILVEIRA, J. A. G. SILVA, E. N. DUTRA, A. T. B. VIÉGAS, R. A. Transporte e Distribuição de Potássio atenuam os Efeitos Tóxicos do Sódio em plantas Jovens de Pinhão-Manso. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.36, p.223-232, 2012.

SANTOS, R. V. **Correção de um solo salino-sódico e absorção de nutrientes pelo feijoeiro Vigna (*Vigna unguiculata* L. Walp)**. Piracicaba, 1995. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia- ESALQ.

SAVY FILHO, A. BANZATTO, N. V. O Mercado esta para a mamona. **Casa da Agricultura**, v.5, n.5, 1983.

SHABALA, L. MACKAY, A. TIAN, Y. JACOBSEN, S. E. ZHOU, D. SHABALA, S. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia Plantarum**, v. 146, n.1, p. 26-38, 2012.

SHAO-CHUN, M.; ZHU-YING, L.; CONG, L. Application of biodiesel produced from *Jatropha curcas* L. seed oil. **Zhongguo Youzhi / China Oils and Fats**, Beijing, v. 32, n. 7, p. 40-42, 2007.

SILVA, E. M. SOARES, J. A. PEREIRA FILHO, R. R. SOUSA JUNIOR, J. R. NOBRE, R. G. Emergência e crescimento inicial de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) cultivado sob diferentes níveis de salinidade da água de irrigação. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v. 7, n. 4, p. 44-50, 2012.

SILVA, E. N. SILVEIRA, J. A. G. FERNANDES, C. R. R. DUTRA, A. T. B. ARAGÃO, R. M. MORAIS, D. L. VIEGAS, R. A. MARINHO, R. F. Acumulação de íons em plantas de pinhão-manso cultivadas em salinidade crescente. In: I Congresso Brasileiro de Pesquisas de Pinhão Manso, 4., 2009, Brasília, DF. **Anais...** Brasília-DF.

SILVA JUNIOR, F. J. OLIVEIRA FILHO, R. A. PEREIRA, J. A. F. CUNHA, P. C. SOUZA, L. C. WILLADINO, L. Acúmulo de íons sódio e potássio e relação sódio/potássio em folhas e caules de pinhão-manso submetidos a diferentes níveis de salinidade, Guarapari, ES, 2012. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE

OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS & I FÓRUM CAPIXABA DE PINHÃO MANSO, Guarapari. Desafios e Oportunidades: **Anais...** Campina grande: Embrapa Algodão, 2012. p. 106.

SILVA, I. P. RODAS, C. L. FERREIRA, E. D. CARVALHO, J. G. Crescimento e nutrição de mudas de pinhão manso influenciados pela substituição do potássio pelo sódio. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 1, p. 194 – 199, 2014.

SILVA NETO, M. F. MACEDO, M. L. A. ANDRADE, A. R. S. FREITAS, J. C. PEREIRA, E. R. R. Análise do perfil agrícola do perímetro irrigado de São Gonçalo-PB. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v.5, n.2, p. 155-172, 2012.

SILVA, S. L. F. **Transpiração e Partição de Sódio e Cloreto em Mudas e Porta-Enxertos de Cajueiro Anão-Precoce Submetidos Ao Estresse Salino**. Fotalenza, 2004. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia- Fitotecnia. Universidade Federal do Ceará- UFC.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. p. 161 - 180, 2010. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (editores). **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010. 472 p.

SILVEIRA, J.A.G.; VIÉGAS, R.D.; ROCHA, I.M.A. da; MOREIRA, A.C.D.M.; MOREIRA, R.D.; OLIVEIRA, J.T.A. Proline accumulation and glutamine synthetase activity are increased by salt-induced proteolysis in cashew leaves. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p.115-123, 2003.

SINGH, R. A. KUMAR M. HAIDER, E. Synergistic cropping of summer groundnut with *Jatropha curcas* – A new two-tier cropping system for Uttar Pradesh. **Journal of SAT Agricultural Research**, v.5, p.1-2, 2007.

SOUSA, A. E. C. SILVA, J. A. G. GHEYI, H. R. LIMA NETO, M. C. LACERDA, C. F. SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados em pinhão manso irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.47, n.10, p.1428-1435, 2012.

SOUZA, A. D. V. FÁVARO, S. P. ÍTAVO, L. C. ROSCOE, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-manso, nabo-forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.10, p.1328-1335, out. 2009.

SOUZA, R. P. MACHADO, E. C. SILVEIRA, J. A. G. RIBEIRO, R. V. Fotossíntese e acúmulo de solutos em feijoeiro caupi submetido à salinidade. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.46, n.6, p.586-592, jun. 2011

SOUZA, Y. A. PEREIRA, A. L. SILVA, F. F. S. REIS, R. C. R. EVANGELISTA, M. R. V. CASTRO, R. D. DANTAS, B. F. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, vol.32 no.2, 2010.

STURM, A. TANG, G-Q. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. **Trends in Plant Science**, v.4, p.401-407, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: ArtMed, 2009.

TESTER, M. DAVENPORT, R. Na⁺ Tolerance and Na⁺ Transport in Higher Plants. **Annals of Botany**, v. 91, n. 5, p. 502-527. 2003.

TOZZI, H. H. **Caracterização da mobilização das reservas das sementes do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis sims f. Flavicarpa o. Deg*) durante a germinação**. Rio Claro, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- UNESP.

UNGAR I. A. (1991) Ecophysiology of vascular halophytes. CRC Press, Boca Raton, Florida. Vitória AP, Lea PJ, Azevedo RA (2001) Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. **Phytochem**. 57:701-710.

VASCONCELOS, R. R. A. BARROS, M. F. C. SILVA, E. F. F. GRACIANO, E. S. A. ANGELA, J. P. P. Características físicas de solos salino-sódicos do semiárido pernambucano em função de diferentes níveis de gesso. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande v.17, n.12, p.1318–1325, 2013.

VERAS, R. P. LAIME, E. M. O. FERNANDES, P. D. SOARES, F. A. L. FREIRE, E. A. Altura de planta, diâmetro caulinar e produção do pinhão-manso irrigado sob diferentes níveis de salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.6, p.582–587, 2011.

YEMM, E. W. COCKING, E. C. The determination of amino acids with ninhydrin. **The Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.

YEMM, E.W.; WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, Colchester, v.57, n. 4, p.508-514, 1954.