



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

GABRIELA VANESSA SALES DE AMORIM

**DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE PINHÃO MANSO (*JATROPHA
CURCAS L.*), UTILIZADO O SILÍCIO COMO ATENUADOR DO
ESTRESSE SALINO POR MEIO DOS MECANISMOS
ANTIOXIDANTES**

CAMPINA GRANDE-PB

2018

GABRIELA VANESSA SALES DE AMORIM

**DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE PINHÃO MANSO (*JATROPHA
CURCAS L.*), UTILIZANDO O SILÍCIO COMO ATENUADOR DO
ESTRESSE SALINO POR MEIO DOS MECANISMOS
ANTIOXIDANTES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao departamento de biologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), como requisito para Obtenção do título de licenciatura plena em Ciências Biológicas.

Prof. Dr^o. Mario Sergio de Araújo (Orientador)
Prof. Dr^a. Maria do Socorro Rocha (Coorientadora)

CAMPINA GRANDE-PB

2018

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A524d Amorim, Gabriela Vanessa Sales de.
Desenvolvimento de mudas de pinhão manso (*Jatropha Curcas* L.), utilizando o silício como atenuador do estresse salino por meio dos mecanismos antioxidantes [manuscrito] / Gabriela Vanessa Sales de Amorim. - 2018.
31 p.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.
"Orientação : Prof. Dr. Mario Sérgio de Araujo , Departamento de Agroecologia e Agropecuária - CCAA."
"Coorientação: Profa. Dra. Maria do Socorro Rocha , Departamento de Agroecologia e Agropecuária - CCAA."
1. Pinhão manso. 2. Silício. 3. Condutividade elétrica. 4. Irrigação. I. Título

21. ed. CDD 631

GABRIELA VANESSA SALES DE AMORIM

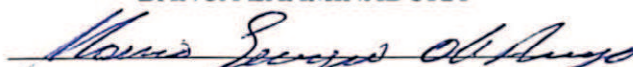
**DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE PINHÃO MANSO (*JATROPHA
CURCAS L.*), UTILIZANDO O SILÍCIO COM ATENUADOR DO
ESTRESSE SALINO POR MEIO DOS MECANISMOS
ANTIOXIDANTES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao departamento de biologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), como requisito para Obtenção do título de licenciatura plena em Ciências Biológicas.

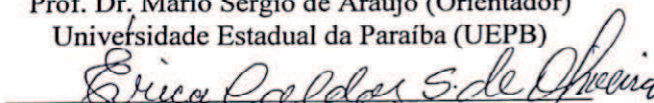
Área de concentração: Ciências Biológicas

Aprovada em: 23/11/2018

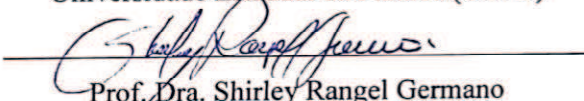
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Mario Sergio de Araújo (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Erica Caldas da Silva
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Shirley Rangel Germano
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Aos meus pais, irmãos, demais familiares,
professores, amigos e todos que contribuíram
direta ou indiretamente para minha formação,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Á Deus todo poderoso onisciente, onipotente, e onipresente pela proteção e sabedoria concedida a mim;

Á minha família por toda paciência oração e conselhos durante minha jornada acadêmica.

Á minha mãe, meu tesouro, por todo apoio, pela compreensão, por enfrentar cada obstáculo junto a mim, pelas suas orações poderosas que me fizeram se sentir forte mesmo frágil, pelos seus conselhos, pela sua dedicação e esforço para me manter na graduação.

Á Mário Sérgio por todo apoio, por ter me acolhido no porter me orientado neste trabalho e por todo apoio e incentivo.

Á Maria do Socorro Rocha pelos conselhos e orientação, pelos ensinamentos e por me orientar no meu primeiro projeto de iniciação científica;

Á todos que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação acadêmica.

Ao meu noivo Rodolfo Almeida por todo amor, apoio e companheirismo.

Aos meus colegas de classe por terem me aguentado durante cinco anos, me apoiando e me ajudando nos momentos difíceis.

Nunca deixe se levar pelo desespero,
siga até o fim! (O Rappa)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	08
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 Pinhão manso	10
2.2 Origem do Óleo Extraído da <i>Jatropha curcas</i> L.....	10
2.3 Importância Econômica da <i>J. curcas</i>	11
2.4 Estresse Abióticos em Plantas.....	12
2.5 Estresse Salino.....	13
2.6 Silício como atenuador estresse em plantas.....	15
3 METODOLOGIA.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5 CONCLUSÕES.....	27
6 REFERÊNCIAS.....	28

RESUMO:

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), o emprego de tecnologias adequadas para a sua conservação é de grande importância para se obter plantas de alta qualidade. Objetivou-se, com este trabalho, verificar o desenvolvimento de mudas de pinhão manso, utilizando o silício como atenuador do estresse salino por meio dos mecanismos antioxidantes. Os tratamentos consistiram de cinco níveis de condutividade elétrica de água de irrigação – CEa (0, 2, 4 e 6 dS m⁻¹), sendo quatro níveis de silício (0; 221,76; 443,52; e 665,28 mg L⁻¹) em acesso de pinhão manso (Garanhuns-PE). O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4 x 4 x 3, quatro concentrações de silício e quatro concentrações de NaCl com três repetições. As águas de irrigação foram preparadas com NaCl. Nos acessos foram avaliados aos 95 dias após a semeadura (DAS), as variáveis: área foliar e fitomassa seca total e enzimáticas, catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e prolina (PROL). O silício proporcionou atenuação do déficit hídrico com aumento na área foliar e na fitomassa seca total. As enzimas antioxidantes CAT e APX foram potencializadas com a aplicação foliar de silício, aumentando a tolerância a salinidade de 6,0 dSm⁻¹. O Acesso de Garanhuns, expressaram aumento no teor de prolina, sob salinidade e suplementadas com Si, o que promoveu maior osmoproteção as plantas de Pinhão-manso. O acesso Garanhuns de Pinhão-manso suporta melhor à níveis de salinidade por meio da aplicação de Si 221,76 mgL⁻¹.

Palavras-chave: irrigação, condutividade elétrica, catalase, área foliar.

1 Introdução

No Brasil o pinhão manso é uma espécie de origem tropical pertencente à família das Euforbiáceas, a mesma da mamona Beltrão et al., 2011, mandioca e seringueira. Localizada naturalmente nas regiões tropicais e subtropicais do Brasil (CARVALHO JÚNIOR, et al., 2014). Cultura exigente em insolação e resistente à seca sobrevive no período de maior déficit hídrico nas regiões semiáridas CARVALHO JÚNIOR, et al., 2014).

O silício (Si) está sendo introduzido na legislação para produção, comercialização de fertilizante e corretivo, o silício tem sido utilizado como fertilizantes em países como Japão, Brasil, Ilhas Maurícius, Estados Unidos, Austrália e África do sul. O Japão utiliza Si na cultura do arroz há seis décadas, os Estados Unidos na cultura do arroz e cana-de-açúcar, (RODRIGUES et al.; 2011). São inúmeros os benefícios com aplicação do Silício, tal como o fortalecimento da estrutura das plantas mantendo a estabilidade e a integridade da membrana celular, (CARVALHO JÚNIOR, et al., 2014); aumento da atividade fotossintética e produtividade com a redução da transpiração, melhor desempenho das enzimas antioxidantes, resistência a pragas e doenças, diminuição do efeito tóxico do alumínio, resistência ao estresse salino, hídrico e ao acamamento de plantas (RODRIGUES et al., 2011).

O cultivo de plantas em ambientes protegidos tem sido uma das alternativas para avaliar o comportamento de plantas em relação à aplicação da adubação química e orgânica no solo e via foliar, controle da salinidade e consumo de água, manejo integrado de pragas (CARVALHO JÚNIOR, et al., 2014).

As altas concentrações de sais em áreas irrigadas degradam os solos, diminuindo a porosidade e a permeabilidades tornando impróprio para a agricultura, a transpiração e a evaporação retiram água e as consequências são o armazenamento dos sais no solo, no entanto a condutividade elétrica da água está relacionada com a presença de íons dissolvidos na água, em condições de campo, a salinidade da água do solo é medida em relação à condutividade elétrica ou do potencial osmótico (TAIZ e ZEIGER, 2013).

O pinhão manso tem a capacidade de ajustar osmoticamente a presença de sais, devido à redução do potencial osmótico, o aumento do estado hídrico das folhas está relacionado com altas concentrações de cloreto de sódio, deste modo os íons sódios e cloretos tem a capacidade de ajustar osmoticamente, enquanto as concentrações de íons potássios são influenciadas diretamente pelas concentrações de cloreto de sódio, os sais são armazenados nos vacúolos da célula (ARAÚJO, et al., 2018). Objetivou-se, com este

trabalho, avaliar o desenvolvimento de mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), utilizando o silício como atenuador do estresse salino por meio dos mecanismos antioxidantes e de crescimento do acesso Garanhuns.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Pinhão manso

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), espécie perene nativa da América tropical e Ásia, pertence à Classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Euphorbiales e família Euphorbiaceae (BELTRÃO *et al.*, 2011).

Apresenta hábito arbustivo e produz sementes com alto teor de óleo. O nome *J. curcas* tem origem grega, —jatros (doutor) e —trophé alimento, sugerindo significado para o uso medicinal. Entretanto, devido à toxicidade nas folhas, estas não são utilizadas para alimentação. A principal forma de aplicação do pinhão-manso é pela utilização do óleo extraído das sementes o qual é utilizado desde a fabricação de sabão e aplicações medicinais (CARVALHO JÚNIOR, *et al.*, 2014) até a produção de biodiesel.

2.2 Origem do Óleo Extraído da *Jatropha curcas* L.

Os triacilgliceróis são os maiores componentes das sementes oleaginosas (ROCHA, 2010) e são inicialmente formados nos cloroplastos, a partir de ácidos graxos precursores. Os triacilgliceróis são moléculas constituídas de um glicerol esterificado e três ácidos graxos. A síntese de ácidos graxos nas plantas ocorre no interior dos cloroplastos. São nestas organelas onde ocorrem os processos essenciais e interdependentes da fotossíntese, biossíntese de ácidos graxos e aminoácidos, dentre outras vias de metabolismo secundário (HÖRMANN *et al.*, 2007).

Os ácidos graxos são sintetizados por um complexo proteico multifuncional, onde diferentes enzimas são ligadas covalentemente, principalmente as sínteses de ácidos graxos (FAS) e acetil-CoA carboxilase (ACCase). As ACCases são responsáveis pela carboxilação do acetil-CoA, substrato inicial da síntese de ácido graxos, formando o malonil-CoA. As enzimas da sintase de ácidos graxos catalisam o crescimento da cadeia carbônica adicionando carbonos provenientes da acetil-CoA até atingir 18 carbonos. O alongamento da cadeia de ácidos graxos é dependente da proteína carregadora de acil (ACP) (TAIZ e ZEIGER, 2013). Que depois são exportados para o retículo endoplasmático para serem convertidos em moléculas de triacilgliceróis e destinados a sementes.

O óleo da semente de pinhão-manso é extraído das sementes e, assim como na maioria das plantas oleaginosas, triacilgliceróis (TAG) são armazenados no citoplasma das células do endosperma, em organelas chamadas de oleossomos (TAIZ e ZEIGER, 2009). Ressalta-se ainda que os produtos da fotossíntese e a disponibilidade de agentes fortemente redutores (NADPH) são utilizados para a produção de ácidos graxos, assim como outros metabólitos importados do citossol e de outras organelas podem servir para síntese de ácidos graxos nos cloroplastos (TAIZ e ZEIGER, 2009).

2.3 Importância Econômica da *J. curcas*

O óleo extraído de *J. curcas* tem diversas aplicações industriais, tais como a produção de cosméticos, em que se utilizam alguns dos subprodutos da produção do biodiesel (KAUSHIK et al, 2007). A planta de pinhão-manso também é usada com grande potencial para fitorremediação de metais pesados (BELTÃO et al., 2011).

Na região do oeste africano, as folhas de *J. curcas* são usadas em diferentes formas para curar várias doenças, como: febre, infecções na boca, e reumatismo articular (AIYELAAGBE, 2011). Recentemente, o extrato da raiz tem reduzido o crescimento de células tumorais in vitro, em ratos, demonstrando que possui uma atividade citotóxica forte, ressaltando que o extrato da planta é candidato a droga anticâncer (AIYELAAGBE, 2011).

Além das aplicações citadas, o óleo extraído da semente de *J. curcas* é bastante utilizado para a produção de biodiesel. No Brasil, em 2004, foi criado o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), que é um programa interministerial do Governo Federal objetivando a implementação, de forma sustentável, da produção e uso do Biodiesel, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, apoiando a crescente demanda por combustíveis de fontes renováveis gerando empregos e renda na agricultura familiar, como também reduzindo disparidades regionais. Usando a estratégia de mercado, o governo criou a Lei nº 11097, incentivando a introdução de biodiesel a matriz energética do Brasil, inicialmente a utilização era opcional de B2, 2% de biodiesel e 98% de diesel derivado do petróleo. Em 2008, tornou-se obrigatório a mistura do biodiesel ao diesel de petróleo, em proporções crescentes nos próximos anos. E desde 2010, o teor de biodiesel a ser adicionado ao óleo diesel é de 5%, em volume na mistura com óleo diesel, assim aumentando a demanda do biodiesel no Brasil (BELTRÃO, 2011).

O pinhão-manso tem sido considerado como uma fonte alternativa de matéria-prima no Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. Essa escolha baseia-se no alto rendimento de óleo gerado por área de cultivo, baixo custo de produção e por ser tolerante a seca, sendo esta última vantagem significativa principalmente em regiões semiáridas do país com condições edafoclimáticas adversas (BELTRÃO et al., 2011). O consumo interno de óleo diesel no Brasil é da ordem de 40 bilhões de litros por ano, sendo 80,3% utilizados em transportes, 16,3% consumidos pela agricultura e 3,4% pela indústria e outros setores. Contudo, o potencial de utilização do biodiesel ainda se mantém pouco explorado, diferente de outros países que atuam nesse sentido em grande escala (RODRIGUES, 2006).

2.4 Estresse Abióticos em Plantas

As plantas estão sujeitas a estresses bióticos e abióticos. Estresses bióticos compreendem aqueles causados por insetos, bactérias, fungos e vírus, enquanto que nos abióticos as plantas estão expostas a estresses ambientais tais como mudanças de temperatura e umidade relativa do ar, radiação solar, deficiência hídrica ou mineral e salinidade no solo (TAIZ e ZEIGER, 2009). Estas condições de estresse são um desvio significativo das condições ótimas para a vida, e induzem mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, as quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanentes (LARCHER et al., 2000).

Os estresses abióticos nas plantas são ocasionados por condições edafoclimáticas em virtude de não poderem evitar condições ambientais adversas, devido à sua natureza sésstil. Esta condição exige que a planta se aclimate, produzindo metabólitos através da alteração da expressão gênica. Esses fatores de estresse abióticos são uma ameaça para as plantas, impedindo as de alcançar seu potencial genético completo e produtividade de culturas de limite em todo o mundo (CARVALHO JÚNIOR et al., 2014).

Para sobreviver, os vegetais desenvolveram durante a evolução alguns mecanismos de defesa, produzindo metabólitos através da alteração da expressão gênica, que podem ser classificadas como estruturais, baseadas em características anatômicas (pêlos, espinhos, tricomas e ceras); e químicas, quando relacionadas a compostos biologicamente ativos de massa molecular variada (aminoácidos não proteicos, alcaloides e proteínas).

Os estresses abióticos em plantas também causam a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que ocorre nos cloroplastos, mitocôndria e peroxissomos; a produção de radical superóxido (O_2^-); o peróxido de hidrogênio (H_2O_2); o radical hidroxila (OH), e o oxigênio singlete (O_2). Esses compostos causam a desnaturação de proteína, entre outros danos, como oxidação de lipídios de membranas (ARAUJO, et al 2018).

A fotossíntese é o processo metabólico que mais produz ROS nas células vegetais (ARAUJO et al., 2018) e quando não é controlada pelos antioxidantes a fotossíntese pode ser inibida, assim como a atividade de algumas enzimas, pelos danos provocados na estrutura de proteínas.

Quando as plantas estão sob condições normais de cultivo, neutralizam esses efeitos das ROS, devido à atividade dos antioxidantes, entretanto quando a produção dos antioxidantes não é suficiente para neutralizar as ROS, as plantas sofrem com estresse oxidativo, simultaneamente, quando submetidas a outros estresses abióticos (DUTRA, 2017).

2.5 Estresse Salino

O estresse salino é caracterizado pelo excesso de íons no do solo, que se dá pelo acúmulo predominantemente dos íons, tais como: Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , CO_3^{2-} , BO_3^- e NO_3^- (FERREIRA et al., 2010), prejudicando expressivamente a produtividade das plantas cultivadas (MUNNS e TESTER, 2008).

A salinidade dos solos pode ser de origem natural (regime pluvial e da alta evaporação) ou antropogênicas. Dentre as antropogênicas, as principais causas são a irrigação com alta concentração de solutos ou mesmo a evaporação, que geram a incorporação de sais aos solos acompanhado de uma deficiência no sistema de drenagem na área agricultáveis, permitindo o acúmulo de íons na superfície do solo e depósito na zona do sistema radicular. Altas concentrações salinas podem causar efeitos diversificados nas plantas derivados por dois componentes principais: o osmótico, que altera drasticamente o balanço hídrico da planta e, o iônico, proveniente do desequilíbrio dos íons, causando efeitos tóxicos e desbalanceamento nutritivo (LAUCHLI e GRATTAN, 2007).

Várias alterações nas células vegetais, quando submetidas ao estresse salino, foram descritas, tais como: a diminuição da fotossíntese e conseqüentemente a menor disponibilidade de carboidratos, substratos necessários para o crescimento do vegetal; a

redução no teor de proteínas, devido ao aumento da proteólise (PARIDA e DAS, 2005); e metabolismo de lipídios em função da maior intensidade de oxidação. Tais processos afetam a área foliar e a taxa de crescimento das plantas, pois a salinidade aumenta o gasto de energia metabólica para absorção de água pelas raízes para realizar os ajustes bioquímicos necessários à sobrevivência sob estresse, portanto desviando a energia do crescimento e dos processos produtivos (ROCHA, 2010).

Algumas estratégias adaptativas são utilizadas pelos organismos vegetais ao estresse salino, como: retenção de íons em raízes ou mesmo o sequestro de íons tóxicos em vacúolos celulares (MUNNS, 2002). Assim, evitando níveis tóxicos no aparato fotossintético, redução da área foliar, trazendo economia de água (DUTRA et al., 2017), ajuste osmótico, através do acúmulo de solutos compatíveis, como prolina (ARAUJO et al., 2018).

2.6 Silício como atenuador estresse em plantas

O Silício (Si) é o segundo elemento mais abundante no solo (ARAUJO, et al., 2018). Devido a sua afinidade com o oxigênio é encontrado na natureza na forma de sílica (SiO_2) ou silicatos, que são ligados quimicamente a diversos metais (ARAUJO et al., 2018), e promove maior eficiência na absorção de água e conseqüentemente na tolerância às condições de estresse hídrico e/ou salino, garantindo assim a integridade e a estabilidade da membrana celular (ROCHA, 2010).

Em vários países, o Si, tem sido utilizado na forma de fertilizante. No Japão e nos Estados Unidos, por exemplo, o Si é incorporado no cultivo do arroz há seis décadas, e na adubação das culturas de arroz e cana-de-açúcar, respectivamente (RODRIGUES et al., 2011).

De acordo com Araújo et al. (2018), plantas que crescem em ambiente rico em silício, diferem daquelas presentes em condições de deficiência, principalmente quanto à tolerância a fatores bióticos e abióticos. Além disso, esse nutriente potencializa a síntese de enzimas antioxidantes relacionadas ao mecanismo de defesa das plantas contra as EROs (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

Pesquisas têm evidenciado que diferentes concentrações de silício potencializam a atividade de enzimas antioxidantes como a catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase (DUTRA et al., 2017), além de promover ajustamento osmótico (ARAÚJO et al., 2017). Para Araújo (2018), esse nutriente torna as células epidérmicas das folhas mais

eretas, o que induz maior absorção de CO₂, em decorrência disso, há um aumento na eficiência fotossintética e no teor de clorofila. Provavelmente isto ocorre pelo acúmulo de Si na superfície foliar, servindo como barreira física e tendo um importante papel na regulação osmótica, diminuindo assim o estresse causado pelo déficit hídrico.

3 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em ambiente protegido no Centro Nacional de Pesquisa de Algodão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPQ/EMBRAPA) situada na microrregião de Campina Grande (PB) sob as coordenadas geográficas: latitude 07°13'S, longitude 53°31'W Greenwich. A cidade está a uma altitude de 551 m com clima equatorial semiárido e temperatura média de 25 °C com umidade relativa do ar variando entre 72 e 91%.

Durante o período de condução do experimento foram quantificadas diariamente por meio de termohigrógrafo as temperaturas máxima (T. máx.), média (T. méd.) e mínima (T. mín.) e a umidade relativa do ar (UR Ar) no interior da casa de vegetação (Figura 1).

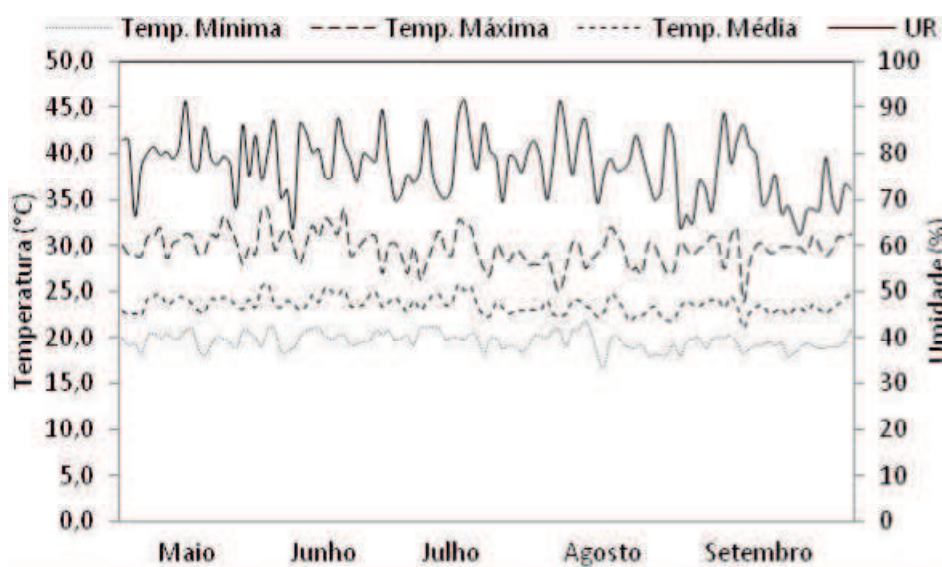


Figura 1- Temperaturas máxima (T. máx.), média (T. méd.) mínima (T. mín.) (°C) e umidade relativa do ar (UR Ar) (%) durante o período de condução do experimento. Campina Grande (PB).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizado com três repetições em esquema fatorial (4 x 4), sendo, quatro níveis de silício (0; 221,76; 443,52 e 665,28 mg L⁻¹), quatro níveis de salinidade CEa (0; 2; 4 e 6 dS m⁻¹) e três repetições. A unidade experimental foi constituída de um vaso de material orgânico polimérico sintético com volume de 20 L.

A fonte de silício utilizada foi o produto comercial Sifol[®] (Silício Foliar) com as seguintes características: Silício (Si) = 12%; Potássio (KO) = 15%; Índice salino= 26; Condutividade elétrica= 1,93 dS m⁻¹; Densidade= 1,40 g L⁻¹; pH= 10,96; Natureza física= Fluido. As concentrações de silício foram obtidas por meio da diluição de Sifol[®] em água destilada.

Os níveis de condutividade elétrica da água de irrigação foram obtidos com o uso de condutivímetro de bancada (MB11, MS Techonopon[®]) através da calibração da solução de cloreto de sódio (NaCl) (SILVA et al., 2011).

Foram utilizadas sementes de pinhão manso provenientes de um lote produzido na safra de 2017 no município de Garanhuns -PE, as quais foram previamente tratadas com fungicida para eliminação de agentes patogênicos às sementes. A semeadura foi realizada com o substrato próximo da capacidade de campo (CC) adotando-se três sementes por unidade experimental em profundidade padrão de 3 cm. Transcorridos 20 dias após a emergência (DAE) foi realizado o desbaste onde preferencialmente a planta mais vigorosa permaneceu para constituição da unidade experimental (CHAVES et al., 2011).

Aos 25 DAE, considerando-se esse tempo suficiente para estabelecimento das plantas, foi iniciada a irrigação com as concentrações salinas correspondentes aos respectivos tratamentos. A reposição da água evapotranspirada foi realizada mediante necessidade hídrica da cultura, com auxílio de proveta graduada em milímetros (COSTA et al., 2011).

A aplicação do silício foliar se deu mediante pulverização direcionada nas abaxiais e adaxiais das folhas do pinhão manso. Para melhor eficiência no uso do silício na superfície foliar, foi utilizado surfactante (SAVIO et al., 2011) na solução de pulverização. Para a pulverização foliar, utilizou-se pulverizador manual de compressão previa com tanque em polietileno de alto peso molecular, com capacidade volumétrica de 3 L e bomba tipo piston com diâmetro do bico de 34 mm.

No estudo do crescimento, de coleta de dados não destrutiva, avaliaram-se as seguintes variáveis: Área foliar planta⁻¹ (AF) (cm²) e Fitomassa seca total (FST) (g) aos 95 dias.

A área foliar foi definida medindo-se todas as folhas completamente expandidas de três plantas por parcela, e foi determinada pela, Equação (1): $A=0,84*(P+L)*0,99$,

Indicada por Severino (2004), em que: A corresponde à área foliar planta⁻¹ em cm² e P, comprimento e L à largura da folha, que foi obtida com uma régua graduada em centímetros.

Atividade das enzimas antioxidantes

Também ao final do experimento (95 dias), foram coletadas ao acaso 5 folhas primárias por tratamento, considerando apenas as folhas primárias mais representativas, as quais foram utilizadas para a quantificação das atividades das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX).

Para a extração enzimática, 200 mg de material fresco (CEF e HR) foram triturados, separadamente, em 2 mL de tampão fosfato de potássio (concentração final 50 mM e pH final 7) acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM), EDTA (0,1 mM) e polivinilpirrolidona (5%). Em seguida os extratos foram centrifugados a 20000 g e temperatura de 4 °C durante 15 minutos. O sobrenadante foi aspirado, alocados em tubos tipo eppendorf e mantidos em refrigerador até o momento das análises. O mesmo foi utilizado para a determinação de proteínas solúveis conforme a metodologia de Bradford (1976) e da atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX).

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada com base na capacidade de inibição da fotorredução do cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT) pela enzima presente no extrato (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971). Para tanto, alíquotas de 40 µL do extrato enzimático foram adicionados a tubos de ensaio, protegidos da luz, contendo o meio de reação (1,5 mL) composto por tampão fosfato de potássio (concentração final 100 mM e pH 7,8) acrescido de EDTA (0,1 mM), metionina (13 mM) e cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT) (750 mM). A reação foi iniciada pela adição de riboflavina (concentração final 7 µM) e a concomitante transferência dos tubos para a caixa de reação vedada, com iluminação interna (35W) e temperatura ambiente, onde permaneceram durante 15 minutos. Em seguida, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro regulado em 560 nm. Foram considerados como brancos da reação, os tubos com extrato mantidos no escuro (os quais representam 0% da redução de NBT) (branco do escuro) e os tubos sem o extrato mantidos sob iluminação (os quais representam 100% da redução do NBT) (branco do claro). Uma unidade de SOD foi considerada como a quantidade de enzima necessária inibir em 50% a fotorredução do NBT em comparação com o branco do claro, sendo a atividade expressa em U min⁻¹ mg de proteína⁻¹. Acrescente-se que as reações foram realizadas em triplicata.

A atividade da catalase (CAT) foi quantificada conforme Sudhakar et al. (2001), a qual é definida com base no consumo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela enzima presente no extrato. A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático (50 μL) a cubeta de quartzo contendo o meio de reação (2,95 mL) composto por tampão fosfato de potássio (concentração final 50 mM e pH 7) e acrescido de peróxido de hidrogênio (20 mM). Em seguida, após uma leve agitação, a mistura foi levada a espectrofotômetro onde foi monitorado o decréscimo da absorbância a 240 nm, durante o período de 1,5 minutos, com leituras realizadas a cada 15 segundos. Para a realização dos cálculos utilizou-se da lei de Lambert Beer (Equação 2). Ao final a atividade da catalase foi expressa em μmol de H_2O_2 min^{-1} mg de proteína $^{-1}$.

Equação 2: $A = \epsilon \cdot b \cdot c$

Em que:

A = decréscimo da absorbância (média da triplicata);

ϵ = coeficiente de extinção molar do peróxido de hidrogênio (39,4 mol^{-1} cm^{-1});

b = caminho óptico;

c = concentração da enzima expressa em mol L^{-1} .

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada com base no consumo do ascorbato (NAKANO e ASADA, 1981) por meio do monitoramento do decréscimo da absorbância a 290 nm. Para tanto, 100 μL de extrato enzimático foram misturados ao meio de reação (2,7 mL) composto por tampão fosfato de potássio (concentração final 50 mM e pH 6,0) acrescido de ácido ascórbico (0,8 mM). A reação foi iniciada pela adição de 200 μL de peróxido de hidrogênio (2 mM) a solução e com a concomitante transferência da cubeta de quartzo para o espectrofotômetro, onde foi monitorado o decréscimo da absorbância durante 1 minuto, com leituras realizadas a cada 10 segundos. Para a realização dos cálculos também se utilizou da equação de Lambert Beer (Equação 2), tendo como coeficiente de extinção molar o do ascorbato (2,8 mM^{-1} cm^{-1}). A atividade final de APX foi expressa em nmol de ascorbato min^{-1} mg de proteína $^{-1}$.

Quantificação de prolina livre

Inicialmente foram realizados os mesmos procedimentos de coleta as folhas, conforme descrito para a atividade enzimática. A quantificação de prolina livre nos

tecidos foi realizada pelo método colorimétrico proposto por Bates et al. (1973) e modificado por Bezerra Neto e Barreto (2011). Para tanto 250 mg de material fresco foram triturados em ácido sulfossalicílico a 3% (5 mL) e centrifugado a 2000 g por 10 minutos, o sobrenadante foi aspirado e utilizado nas determinações. O desenvolvimento da cor foi obtido por meio do aquecimento, em banho-maria regulado a 100 °C, dos tubos de ensaio rosqueáveis contendo a mistura extrato + ninhidrina ácida + ácido acético glacial, na proporção 1:1:1 (volume total 3 mL), durante uma hora. Após esse período os tubos foram resfriados em banho de gelo, sendo posteriormente adicionado 2 mL de tolueno aos mesmos, os quais foram agitados vigorosamente por 20 segundos e mantidos e repouso por 10 minutos, para que ocorresse a separação das fases. Acrescente-se que o sobrenadante foi aspirado, alocado em cubeta de vidro e transferido para espectrofotômetro onde se obteve a leitura da absorbância no comprimento de onda de 520 nm, utilizando o tolueno puro como branco. Em seguida, a concentração de prolina livre foi quantificada com base na curva padrão de L- prolina (0, 5, 10, 15, 20, 25, 50 mg L⁻¹) e expressa em µmol g de matéria fresca⁻¹. Para o cálculo de prolina foi utilizada a média da absorbância obtida na triplicata.

Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental adotado foi em blocos inteiramente casualizados com três repetições, sendo a parcela experimental composta por plantas. Os dados das variáveis respostas foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e os modelos de regressão, para o fator quantitativo, foram ajustados de acordo com o coeficiente de determinação até 5% de significância. Para as análises e confecção dos gráficos utilizou-se os *Softwares* Sisvar, 5,3 Excel e Table Curve 2D.

4 RESULTADOS DISCUSSÃO

Observou-se, nas plantas do Pinhão Manso no acesso Garanhuns na Figura 1 - A e B, um aumento de 12,09% ($221,76 \text{ mg L}^{-1}$) no nível de salinidade $1,15 \text{ dSm}^{-1}$, ocorrendo um acréscimo de nível de salinidade 6 dSm^{-1} , de 42,52% na área foliar.

Na figura 1- B, C e F na Fitomassa Seca Total (FST) ocorreu um acréscimo de nos quatro doses de silício de 22,18; 9,57; 20,41 e 15,59% no nível de 2 a 4 dSm^{-1} , quando irrigado com salinidades de 6 dSm^{-1} ocorreu um decréscimo de 29,25; 11,97; 18,70 e 26,09%.

Em trabalho com pinhão-manso, Carvalho Júnior et al. (2014) verificaram redução de 50% na massa seca com uma concentração estimada em 47 mM de NaCl. Portanto, de acordo com a classificação de Rocha (2010), utilizada para indicar a tolerância de várias culturas a salinidade, pode-se classificar o pinhão-manso como uma espécie sensível à salinidade devido à redução significativa de todas essas variáveis de crescimento analisadas nesse estudo já a partir do nível de salinidade $1,5 \text{ dS m}^{-1}$ durante o período de estresse. Rocha (2010), estudando o estresse salino em mudas de pinhão-manso, afirmaram que as plantas irrigadas com água de condutividade elétrica de 0,06 a $4,2 \text{ dS.m}^{-1}$, apresentaram redução da altura da planta, do diâmetro do caule, do número de folhas, sugerindo então, que as mesmas não podem ser cultivadas em solos salinos. Contrariamente, Andréo-Souza et al. (2010), trabalhando com concentrações de sal que proporcionassem condutividades elétricas de 2, 4 e 6 dS.m^{-1} , em dois lotes de sementes, concluíram o favorecimento no desenvolvimento inicial das plântulas de Pinhão - manso.

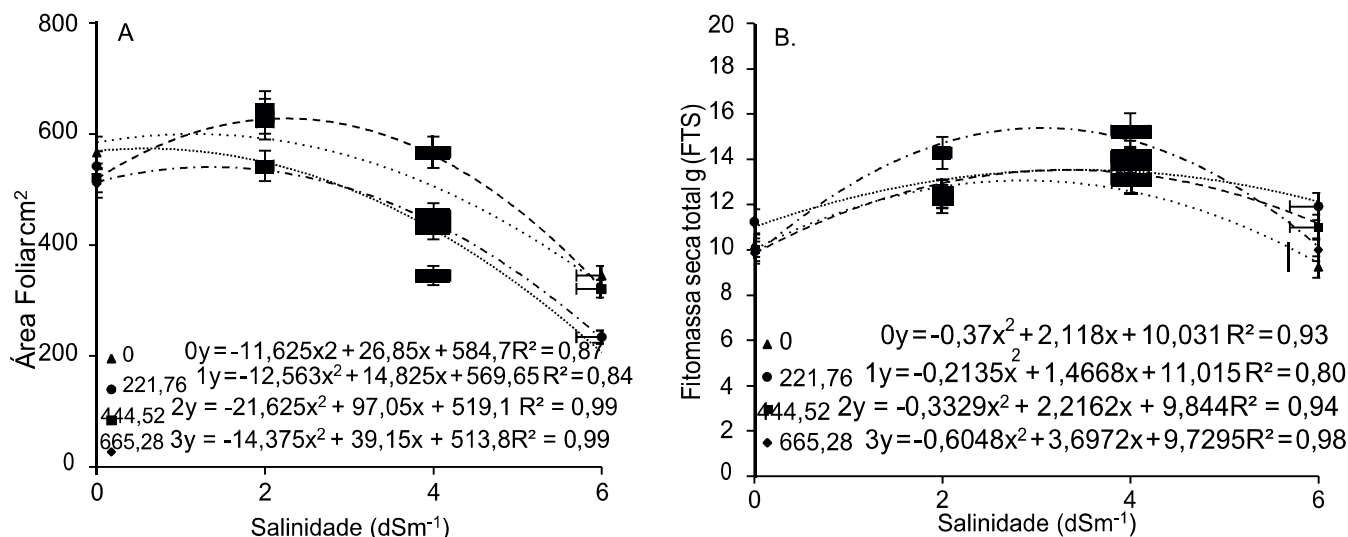


Figura 2 Área foliar AF - (A), Fitomassa seca total FST- (B) dos acessos de pinhão manso: Garanhuns-PE, acondicionadas doses de silício em diferentes níveis de salinidades. Campina Grande, PB, aos 95 dias.

A salinidade de 6,0 dSm⁻¹ diminui significativamente a atividade da CAT (Figura 3 A), com incremento de 18,77, 29,46, 35,33 e 34,69%, nos níveis de salinidades de 3,59; 3,03; 2,40 e 2,42 dSm⁻¹. Destaque-se, o silício na concentração de 665,28 mg L⁻¹ resultou em menor atividade da CAT, (Figura 3 B), ocorreu um aumento no incremento de 38,00; 30,63; 7,33 e 38,54%, nos níveis de salinidades de 6,0 dSm⁻¹.

O Silício juntamente desenvolvimento das plantas alterando a atividade da superóxido dismutase nas folhas (SOD) do Pinhão Manso, (Figura 3 B). De maneira geral, a aumentou a atividade da SOD no acesso Garanhuns (Figura 3 B), com aumento de no Acesso de Garanhuns (37,84;42,45; 44,47 e 22,74%) .

Com a aplicações de silícios, observou-se um acréscimo significativo da atividade da SOD em todas os acessos (Figura 3 B), quando expostas 4,0 dSm⁻¹, referente à 665,28 mg L⁻¹. Destaque-se, que o maior valor de SOD (48,26 U Ag⁻¹MF.mim⁻¹) com a aplicação de silício. Rocha (2010), quando submeteram o pinhão-manso a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação, em casa de vegetação, na fase inicial de crescimento (30 dias após a emergência) e verificaram que a altura foi afetada pela condutividade da água de irrigação; entre as plantas irrigadas com águas de condutividade elétrica de 0,06 e 4,2 dS m⁻¹, constaram redução da altura da planta de 19,7 para 13,3 cm, correspondendo a cerca de 7,85% por aumento unitário de condutividade elétrica. Ainda com relação a

pinhão-manso, Nery et al. (2009), verificaram aos 163 dias após a semeadura, redução linear da altura da planta, com decréscimos de 3,78%, por aumento unitário da condutividade elétrica da água de irrigação, em ambiente protegido.

Nery et al. (2009), verificaram redução de 17,74% por aumento unitário da condutividade elétrica da água de irrigação. Segundo Andréo- Souza et al. (2010), trabalhando com pinhão manso, observou maior expansão das folhas na condutividade elétrica de 4 dS.m⁻¹. Silva et al. (2011), verificaram, também, com pinhão-manso que o diâmetro caulinar sofreu redução de 50% na dose mais elevada de NaCl (100 mM) em relação às plantas controle.

Nery et al. (2009) constataram redução de 9,75% do número de folhas por aumento unitário da condutividade elétrica da água de irrigação. Segundo Rocha, 2010, essa redução significativa do número de folhas com o incremento do nível de salinidade ocorre como forma de adaptação, no sentido de minimizar as perdas de água por transpiração.

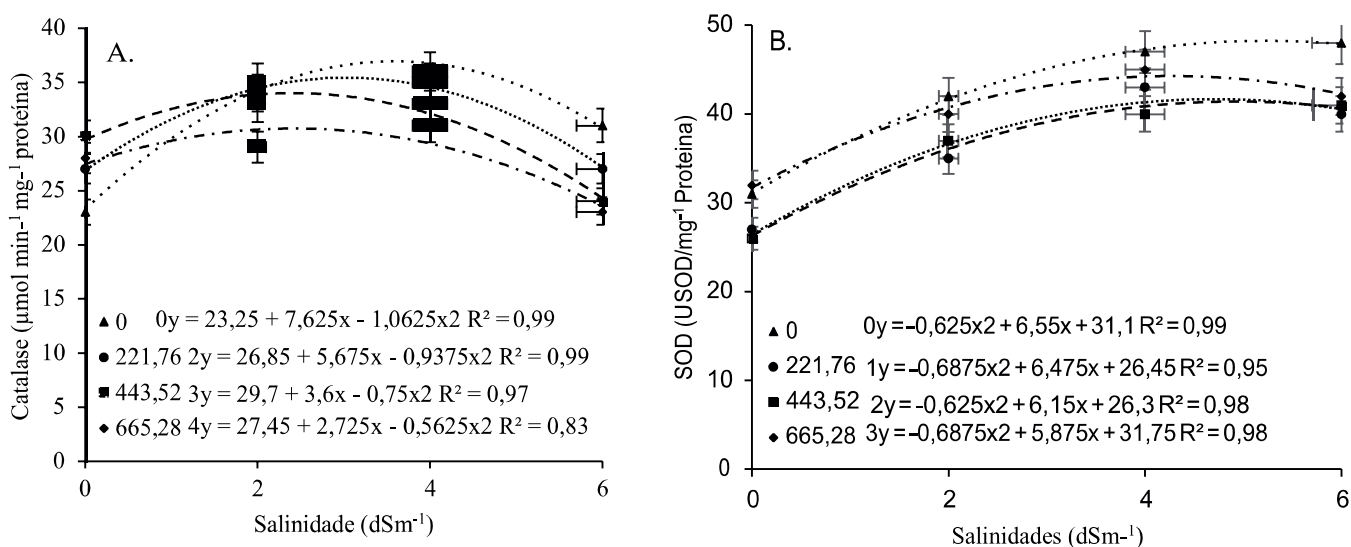


Figura 3. Atividade da catalase CAT- (A), SOD- (B) dos acessos de pinhão manso: Garanhuns-PE, acondicionadas doses de silício em diferentes níveis de salinidades. Campina Grande, PB, aos 95 dias.

A salinidade de 6,0 dSm⁻¹ aumentou significativamente a atividade da APX (Figura 4 A), com incremento de 8,40; 29,31; 27,65 e 27,97%, nos níveis de salinidades de 3,90; 6,0; 3,92 e 4,11 dSm⁻¹.

O Silício ajusta o desenvolvimento das plantas alterando o sistema de estresse na APX no Pinhão manso, (Figura 4 B), com aumento APX de no Acesso de Garanhuns (42,27; 43,35; 38,11 e 42,72%), nos níveis de salinidade de 3,92; 4,51; 4,15 e 4,33 dSm⁻¹, Com a aplicações de silícios, observou-se um acréscimo significativo da atividade da APX em todas os acessos (Figura 3 A, B), no nível de 4,0 dSm⁻¹, referente à 665,28 mg L⁻¹, obteve o valor de APX (71,03 μ mol g MF⁻¹) com a aplicação de silício.

O correu um aumento com concentração na Prolina (PROL) nos níveis de salinidade na folha do Pinhão manso, (Figura 4 B), o aumento PROL de no Acesso de Garanhuns (77,78; 82,76; 57,751 e 71,59%), nos níveis de salinidade de 6,0; 4,46; 5,92 e 5,33 dSm⁻¹.

Sendo assim, diversos estudos foram realizados para compreender os efeitos benéficos do Si, a saber: maior produtividade de grãos das culturas da soja, feijão e amendoim (ARAÚJO et al., 2018).

Conforme Dutra et al. (2017) as espécies reativas de oxigênio (ERO) mais comuns são: oxigênio singleto (¹O₂), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radical hidroxila (OH•) e ânion superóxido (O₂•⁻). Entretanto, as plantas possuem sistemas de defesa enzimáticos e não enzimáticos que neutralizam a citotoxicidade dessas espécies (ARAÚJO et al., 2018), essenciais para a proteção das células. Entre as enzimas antioxidantes, destaca-se a superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), a ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1) e a catalase (CAT, EC 1.11.1.6).

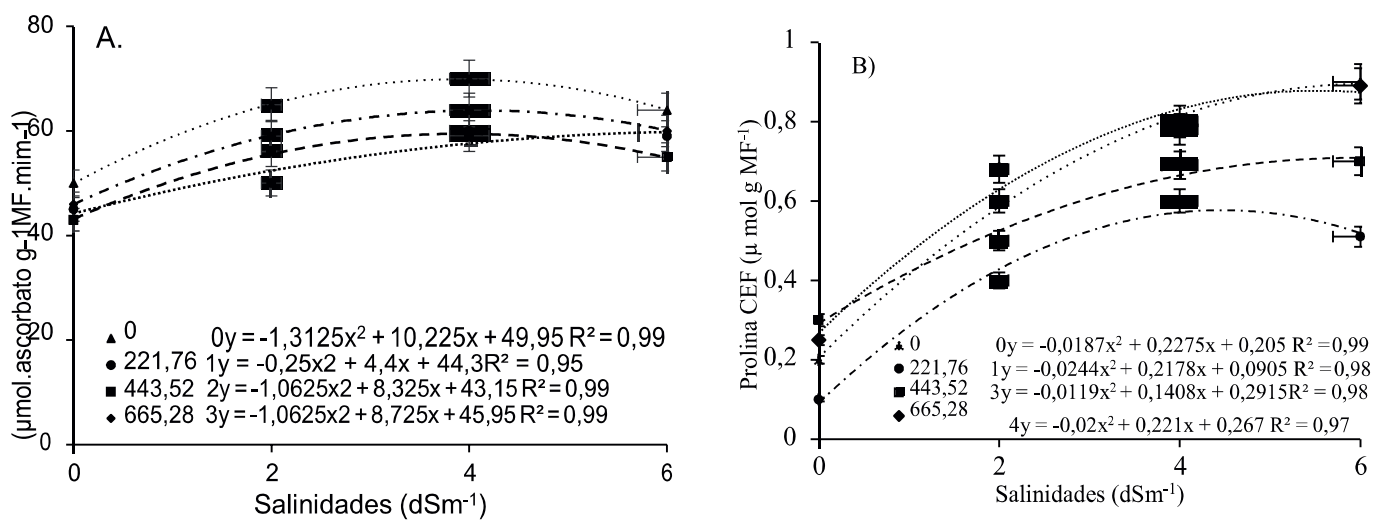


Figura 4. Atividade da enzima ascorbato peroxidase APX (A), Prolina PRO-(B) dos acessos de pinhão manso: Garanhuns-PE (A-B), acondicionadas doses de silício em diferentes níveis de salinidades. Campina Grande, PB, aos 95 dias.

5 CONCLUSÕES

O silício proporcionou atenuação do déficit hídrico com aumento na área foliar e na fitomassa seca total.

As enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX foram potencializadas com a aplicação foliar de silício, aumentando a tolerância a salinidade de 6,0 dSm⁻¹.

O Acesso de Garanhuns, expressaram aumento no teor de prolina, sob salinidade e suplementadas com Si, o que promoveu maior osmoproteção as plantas de Pinhão manso.

O acesso Garanhuns de Pinhão -Manso suporta melhor à níveis de salinidade por meio da aplicação de Si 221,76 mgL⁻¹.

ABSTRACT –

Jatropha (*J. curcas* L.), the use of appropriate technologies for its conservation is of great importance to obtain high quality plants. The objective of this work was to verify the development of seedlings of *Jatropha curcas* L., using silicon as an attenuator of saline stress by means of antioxidant mechanisms. The treatments consisted of five levels of electrical conductivity of irrigation water - CEa (0, 2, 4 and 6 dS m⁻¹), with four silicon levels (0, 221,76, 443,52, and 665,28 mg L⁻¹) in the access of jatropha (Garanhuns-PE,). The experimental design was completely randomized blocks, in a 4 x 4 x 3 factorial scheme, four silicon concentration and four NaCl concentrations with three replicates. Irrigation water was prepared with NaCl. In the accessions, the following variables were evaluated: leaf area and total dry matter and enzyme, catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and proline (PROL). Silica provided attenuation of water deficit with increase in leaf area and total dry matter. The antioxidant enzymes CAT and APX were potentiated with foliar application of silicon, increasing the salinity tolerance of 6.0 dSm⁻¹. The access of Garanhuns, expressed increase in the content of proline, under salinity and supplemented with Si, which promoted greater osmoprotection the *Jatropha* plants. The Garanhuns access to *Jatropha* supports better the salinity levels through the application of Si 221.76 mgL⁻¹.

Key-words – irrigation, electrical conductivity, catalase, leaf area

6 REFERÊNCIAS

- AIYELAAGBE O, HAMID A, FATTORUSSO, TAGLIALATELA-SCAFATI O, SCHRODER H.; MULLER W. Cytotoxic Activity of Crude Extracts as well as of Pure Components from *Jatropha* Species, Plants Used Extensively in African traditional Medicine. **Evid Based Complement Alternat Med** 2011:134954.
- ARAÚJO, E. D.; MELO, A. S.; ROCHA, M. S.; CARNEIRO R. F.; ROCHA, R. F. Germination and initial growth of cowpea cultivars under osmotic stress and salicylic acid. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 1, p. 80 – 89, 2018.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO - ANP. Gás natural e biocombustíveis. Disponível em: Acesso em: 16 maio 2017.
- ANDRÉO-SOUZA, Y. et al. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 83-92, 2010.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil**, v.39, n.1, p.205-207, 1973.
- BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. Recife: UFRPE, 2011. 267 p.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the determination of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase – improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, n.1, p.276-287, 1971.
- BELTRÃO N. E. M.; OLIVEIRA M.I.P. **Biossíntese e Degradação de Lipídios, Carboidratos e Proteínas em Oleaginosas**. CNPA/Embrapa, Campina Grande, p 61. 2011.
- CARVALHO JÚNIOR, S. C.; LIMA, M. S. R.; ROCHA, M.S.; BELTRÃO, N. E. M.; NEGREIROS, K. V. Crescimento do pinhão-mansão sob diferentes níveis de salinidade e silício. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 4., 2014, p. 39 – 46
- DUTRA, W. F. et al. Antioxidative responses of cowpea cultivars to water deficit and salicylic acid treatment. **Agronomy Journal**, Madison, v.109, n.3, p.895-905, 2017.
- HÖRMANN F, SOLL J; BÖLTER B. The Chloroplast Protein Import Machinery: A Review. **Methods Mol Biol** 619: 2007, p.307-21.
- KRISHANIA S. DWIVEDI P. AGARWAL K . Strategies of adaptation and injury exhibited by plants under a variety of external conditions: a short review. **Comunicata**

Scientiae 4: 2013, 103-110.

LARCHER W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos, **Rima**, 531 p. 2000.

EPSTEIN Z.; BLOOM A. *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. **Editora Planta**, Londrina, 403 p. 2006.

KAUSHIK N. KUMAR K. KUMAR S. KAUSHIKB N. ROYB S. Genetic variability and divergence studies in seed traits and oil content of *Jatropha (Jatropha curcas L.)* accessions. **Biomass Bioenergy** 31: 2007, 497-502.

MILLER G. SUZUKI N. CIFTCI-YILMAZ S. MITTLER R. Reactiveoxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. **Plant Cell Environ** 33: 2010, 453-467.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplast. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n.5, p. 867-880, 1981.

NERY, A. R. et al. Crescimento do pinhão-manso irrigado com águas salinas em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 13, n. 5, p. 551-558, 2009.

ODONNE G, BERGER F, STIEN.; GRENAND P. BOURDY G. Treatment of leishmaniasis in the Oyapock basin (French Guiana): A K.A.P. survey and analysis of the evolution of phytotherapy **knowledge amongst Wayãpi Indians**. *J Ethnopharmacol* 137:2011, 1228-39.

ROCHA, M. S. **Caracterização morfofisiológica de acessos de pinhão manso (*Jatropha curcas L.*), criopreservação *in vitro* de embrião e resposta a salinidade**. Tese de doutorado UFPB. p.210, 2010.

RODRIGUES R.A. Biodiesel no Brasil: diversificação energética e inclusão social com sustentabilidade. In: Ferreira JR, Cristo CMPN O futuro da indústria: biodiesel. Brasília, MDIC-STI/IEL, 145 p. 2006.

SÁVIO, S. L. et al.. Produção de biomassa e conteúdo de silício em gramíneas forrageiras sob diferentes fontes de silicato. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 103-110, 2011.

SILVA E.N.; FERREIRA-SILVA, S.L.; FONTENELE A. D.; RIBEIRO R.V.; VIEGAS R. A.; SILVEIRA J.A .Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. **J Physiol** 167: 2010 p.1157-1164.

SOMERVILLE, C.; BROWSE. J.; JAWORSKI, J.; OHLROGGE, J.; LIPIDS IN:

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES. R. *Biochemistry e molecular biology of*

plants. Rockville. **American Society of Plant Physiologist**, 2000, p. 10:456.

SUDHAKAR, C.; LAKSHMI, A.; GIRIDARAKUMAR, S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science**, v.161, n.3, p.613-619, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 4.ed. Porto Alegre, **Artmed**, p. 719, 2009.

