

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA E MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

CÍCERA RAQUEL FERNANDES RODRIGUES

**INTERAÇÃO ENTRE Na^+ E K^+ EM PLANTAS JOVENS DE
PINHÃO MANSO EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE**

FORTALEZA

2011

CÍCERA RAQUEL FERNANDES RODRIGUES

**INTERAÇÃO ENTRE Na⁺ E K⁺ EM PLANTAS JOVENS DE
PINHÃO MANSO EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE**

Tese de Doutorado submetida à coordenação de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como do requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim
Albenísio G. da Silveira

FORTALEZA

2011

R612i Rodrigues, Cicera Raquel Fernandes
Interação entre Na⁺ e K⁺ em plantas jovens de pinhão manso em
condições de salinidade / Cicera Raquel Fernandes Rodrigues.
105f: il. color. enc.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Albenisio Gomes da Silveira
Área de concentração: Bioquímica Vegetal
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de
Ciências. Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular, Fortaleza, 2011.

1. Fisiologia vegetal 2. Homeostase iônica 3. Nutrição de plantas I.
Silveira, Joaquim Albenisio Gomes da (orient.) II. Universidade Federal do
Ceará – Curso de Doutorado em Bioquímica III. Título

CDD 574.192

CÍCERA RAQUEL FERNANDES RODRIGUES

**INTERAÇÃO ENTRE Na⁺ E K⁺ EM PLANTAS JOVENS DE PINHÃO MANSO
EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE**

Tese de Doutorado submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Bioquímica, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Bioquímica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará e encontra-se a disposição dos interessados na Biblioteca Central desta Universidade.

Aprovada em 17/02/2011

BANCA EXAMINADORA

Joaquim Albenísio Gomes da Silveira, Dr.

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Professor Orientador

Sérgio Luiz Ferreira da Silva, Dr.

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Conselheiro

Evandro Nascimento da Silva, Dr.

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Conselheiro

Eduardo Luiz Voigt, Dr.

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Departamento de Biologia Celular e Genética

Conselheiro

Ricardo Almeida Viégas, Dr.

Universidade Federal de Campina Grande

Departamento de Engenharia Florestal

Conselheiro

“ Tua caminhada ainda não terminou...
A realidade te acolhe
dizendo que pela frente
o horizonte da vida necessita
de tuas palavras
e do teu silêncio.

Se amanhã sentires saudades,
lembra-te da fantasia e
sonha com tua próxima vitória.
Vitória que todas as armas do mundo
jamais conseguirão obter,
porque é uma vitória que surge da paz
e não do ressentimento.

É certo que irás encontrar situações
tempestuosas novamente,
mas haverá de ver sempre
o lado bom da chuva que cai
e não a faceta do raio que destrói.

Tu és jovem.
Atender a quem te chama é belo,
lutar por quem te rejeita
é quase chegar a perfeição.
A juventude precisa de sonhos
e se nutrir de lembranças,
assim como o leito dos rios
precisa da água que rola
e o coração necessita de afeto.

Não faças do amanhã
o sinônimo de nunca,
nem o ontem te seja o mesmo
que nunca mais.
Teus passos ficaram.
Olhes para trás...
mas vá em frente
pois há muitos que precisam
que chegues para poderem seguir-te.”

Charles Chaplin

*Aos meus pais, ao meu irmão e à minha família,
pelo amor, apoio incondicional,
força, incentivo e amizade sem igual.
Sem eles nada disso seria possível.*

Agradecimentos

Agradeço a Deus, minha força maior, pela família que tenho e pelas amizades verdadeiras que construí durante essa caminhada.

Minha mãezinha amada, Maria, que com amor e dedicação, fez o que pode e o que não pode por mim; e à memória de meu pai, Francisco, que tanto orgulho teve em vida de seus filhos.

Ao meu irmão amado, Ramon, pelo exemplo que é de dedicação e competência, em sua vida profissional e pessoal, e pelo apoio e incentivo que me deu durante essa pesquisa, que torceu tanto por mim.

Ranière da Mata, meu querido noivo, que com paciência e dedicação, cuidou de mim em todos os momentos, principalmente naqueles em que a insegurança e o desânimo falavam mais alto.

Ao Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da Silveira, pela orientação à pesquisa, amizade, disponibilidade de tempo, pelas discussões e sugestões na organização do trabalho.

Aos meus amigos do Departamento de Bioquímica, que sempre me incentivaram, em especial: Cristina, Tathiana, Rafael, Rachel e Cinthya.

Ao prof. Dr. Ricardo Almeida Viégas pelos ensinamentos e amizade desde a minha graduação até o doutorado.

Ao prof. Dr. Eduardo Luiz Voigt pelo “empurrão” inicial nessa pesquisa, carinho e amizade.

Ao prof. Dr. Sérgio Luiz Ferreira da Silva pelos ensinamentos, amizade e pela constante presteza.

Ao Dr. Evandro Nascimento pela atenção e amizade ao longo desses 4 anos.

A Fazenda Tamanduá, situada em Santa Terezinha, Paraíba, Brasil pelo fornecimento de sementes selecionadas de pinhão manso.

A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado e ao LABPLANT pela oportunidade de desenvolver essa pesquisa.

A todos os professores e funcionários que compõem o Departamento de Bioquímica.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. LISTA DE ILUSTRAÇÕES	10
2. LISTA DE ABREVIATURAS	13
3. CAPÍTULO 1	14
3.1. Introdução Geral	14
3.2. Referencial teórico	16
3.2.1. Relevância fisiológica da absorção, distribuição e transporte de K^+ e Na^+	16
3.2.1.2. Exclusão de sal: homeostase iônica.....	17
3.2.1.3. Transporte de K^+ e Na^+	18
3.2.1.4. Relação K^+/Na^+ na tolerância das plantas a salinidade	21
3.2.1.5. Características e importância do pinhão manso	22
4. OBJETIVOS	24
4.1. Objetivo geral	24
4.2. Objetivos específicos.....	24
5. CAPÍTULO 2 - Artigo 1 – Increase of external potassium improves K^+/Na^+ ratios, photosynthesis and NaCl-salinity resistance by antagonistic ionic interaction in <i>Jatropha curcas</i>	25
6. CAPÍTULO 3 - Artigo 2 – Transporte e distribuição de K^+ atenuam os efeitos tóxicos do Na^+ em plantas jovens de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.)	44
7. CAPÍTULO 4 - Artigo 3 - Efeitos da temperatura elevada sobre o transporte e a interação entre Na^+ e K^+ sob condições de salinidade em <i>Jatropha curcas</i>	61
8. CAPÍTULO 5 - Artigo 4 - Efeito da combinação de temperatura e umidade sobre o transporte de Na^+ e K^+ em <i>Jatropha curcas</i> L sob meio salino	77
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	100
REFERÊNCIAS	101

RESUMO

A salinidade é um fator que limita o crescimento e a produtividade das culturas e pode estar associada à escassez de K^+ , além de propiciar estresses interativos sobre a nutrição das plantas. No entanto, a absorção quanto o transporte na planta compreende uma seqüência de processos, que se dão desde o influxo de K^+ e/ou Na^+ ; seu carregamento no xilema; a sua distribuição ou translocação pelos diversos órgãos da planta; a redistribuição entre parte aérea e sistema radicular; e seu efluxo para o meio externo. Portanto, compreender esses processos é decisivo para o estabelecimento das plantas submetidas ao estresse salino, especialmente sob baixa disponibilidade de K^+ . No intuito de caracterizar os mecanismos envolvidos na absorção e no transporte desses íons na planta sob condições de salinidade, foram montados vários experimentos, na presença de diferentes concentrações de NaCl e KCl exógenos, dependendo do objetivo de cada experimento. No primeiro experimento foi caracterizada a diferença no padrão de absorção e/ou acúmulo de K^+ e Na^+ submetidas às doses crescentes de K^+ . Ressaltamos que o fornecimento de concentrações de K^+ elevadas poderia atenuar os efeitos adversos causados por Na^+ . Os efeitos mais favoráveis foram associados com alta seletividade de K^+ em todos os órgãos da planta. No segundo experimento objetivando caracterizar diferenças no padrão de absorção e partição de K^+ e Na^+ , foi observado que os íons K^+ e Na^+ apresentam forte antagonismo em termos de transporte e distribuição nas plantas jovens de pinhão manso. Concentrações elevadas de K^+ no meio externo foram capazes de reduzir o transporte e os efeitos tóxicos do Na^+ nas folhas. Inversamente, níveis elevados de Na^+ e K^+ ausente causaram redução no transporte de K^+ nos diferentes órgãos da planta. No terceiro experimento avaliamos o efeito combinado do KCl e NaCl sobre a absorção e transporte de Na^+ e K^+ submetidas a temperaturas elevadas. Notamos que o fornecimento de concentrações de K^+ elevadas poderia atenuar os efeitos adversos causados por Na^+ . As plantas de pinhão manso apresentaram capacidade de retenção (ou diminuição na absorção) do íon salino Na^+ pelo sistema radicular com conseqüente restrição do fluxo desses íons para a parte aérea da planta, representando um importante mecanismo de resistência à salinidade. No quarto experimento, foi avaliada além do efeito de diferentes temperaturas, umidades relativas do ar em plantas expostas em doses combinadas de KCl e NaCl. Observamos que em níveis adequados de K^+ e expostas ao excesso de NaCl independentemente da temperatura e umidade relativa do ar elevada, reduzem os efeitos adversos do excesso de sódio, possivelmente pela redução no transporte de Na^+ no xilema e menor acumulação nas folhas. Estes dados sugerem que $[K^+]_{ext}$ promovem fortemente a mitigação dos efeitos adversos do excesso de sódio e redução deste íon em plantas de *J. curcas*.

Palavras-chave: Absorção de K^+ e Na^+ ; Transporte de K^+ e Na^+ ; Homeostase iônica; Nutrição mineral; Pinhão manso.

ABSTRACT

Salinity is a factor that limits crop growth and productivity and be associated with lack of K^+ providing interactive stresses on plant nutrition. However, both the absorption and transport in the plant, comprising a sequence of processes that take place since the influx of K^+ and/or Na^+ ; loading into the xylem for distribution or translocation by the various organs of the plant; redistribution across shoots and roots, and its efflux to the external environment. Understanding these processes is crucial for the establishment of plants subjected to salt stress, especially under low K^+ availability of. In order to characterize the mechanisms involved in absorption and transport of ions in the plant under saline conditions, several experiments were assembled in the presence of different concentrations of exogenous NaCl and KCl, depending on the purpose of each experiment. In the first experiment it was characterized the difference in the pattern of absorption and/or accumulation of K^+ and Na^+ submitted to increasing levels of K^+ . We emphasize that the provision of high concentrations of K^+ could alleviate the adverse effects caused by Na^+ . The most favorable effects were associated with high selectivity of K^+ in all plant organs. In the second experiment aiming to characterize differences in the pattern of absorption and partition of K^+ and Na^+ , we found that K^+ and Na^+ have strong differences in terms of transportation and distribution in saplings of *Jatropha curcas*. High concentrations of K^+ in the external environment were able to reduce transport and toxic effects of Na^+ in leaves. Conversely, high levels of Na^+ caused a reduction in the transport of K^+ in different plant organs. The third experiment evaluated the combined effects of KCl and NaCl on the uptake and transport of Na^+ and K^+ at elevated temperatures. That the supply of high concentrations of K^+ could alleviate the adverse effects caused by Na^+ . We can even say that physic nut plants were capable of retaining (or decrease in the absorption) of saline Na^+ ion by the root system with consequent restriction of the flow of these ions to the shoots of the plant, representing an important mechanism of resistance to salinity. In the fourth experiment evaluated beyond the effect of different temperatures, relative humidity in plants exposed to combined rates of NaCl and KCl. Observed that in appropriate levels K^+ and exposed to excess NaCl regardless of temperature and relative humidity high, reduce the adverse effects of excess sodium, possibly by reducing the transport of Na^+ in to the xylem and less accumulation in the leaves. These data suggest that $[K^+]_{ext}$ strongly promote the mitigation of the adverse effects of excess sodium and reduction of this ion in plants *J. curcas*.

Keywords: Uptake of K^+ and Na^+ ; Transport of K^+ and Na^+ ; Ion homeostasis; Mineral nutrition; Physic nut.

1. LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – Referencial teórico

Tabela 1 - Composição de ácidos graxos no óleo de pinhão manso. 23

Capítulo 2 – Artigo 1

Table 1 - The concentrations of Na⁺ and K⁺ in the root, stem and leaf of *Jatropha curcas* subjected to increasing external-medium K⁺/Na⁺ ratios for 12 days. The growth conditions of the reference plants are provided in the Material and Methods. 32

Capítulo 3 – Artigo 2

Tabela 1 - Massa seca das folhas, caule, pecíolos e raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K⁺ e 50 mM de Na⁺ 49

Tabela 2 - Concentrações de Na⁺ e K⁺ em folhas, caule, pecíolos e raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K⁺ e 50 mM de Na⁺ 50

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1 – Referencial teórico

Figura 1 - Transportadores e os fluxos de K⁺ e Na⁺ na célula vegetal. 21

Capítulo 2 – Artigo 1

Figure 1 - (A) The leaf CO₂ assimilation rate – A, (B) transpiration – E, (C) whole-plant dry weight – DW and (D) the correlation between the leaf K⁺/Na⁺ ratios and the leaf CO₂ assimilation in young *Jatropha curcas* plants subjected to increasing K⁺/Na⁺ ratios in the external medium. 32

Figure 2– (A) The uptake of Na⁺ and K⁺ in detached roots, (B) xylem flux of Na⁺ and K⁺ versus the external-medium K⁺/Na⁺ ratios and (C) the correlation between the K⁺/Na⁺ ratios in the xylem sap and in the external-medium K⁺/Na⁺ ratios in young *Jatropha curcas* plants. 33

Figure 3 - (A) The rate of transport of Na⁺ and K⁺ in the stem and (B) leaves of young *Jatropha curcas* plants subjected to increasing external K⁺/Na⁺. The values of the reference plants are presented..... 34

Figure 4 – (A) The selectivity, S_{K - Na} and (B) S_{Na - K}, in the roots and leaves of young *Jatropha curcas* plants for the values of the external-medium K⁺/Na⁺ ratios of

0.25 and 1.0. Means followed by the same letters did not differ significantly at $P > 0.05$ by Tukey's test. 35

Figure 5- Regression analysis between the external medium K^+/Na^+ ratios versus the K^+/Na^+ ratios in the (A) root, (B) stem and (C) leaf tissues of young *Jatropha curcas* plants..... 36

Capítulo 3 - Artigo 2

Figura 1- (A) Fluxo de Na^+ e K^+ na seiva de xilema e (B) transpiração de pinhão manso submetido à concentração externa de 10 mM de K^+ e 50 mM de Na^+ 51

Figura 2- Transporte de Na^+ e K^+ em (A) folhas, (B) caule, (C) pecíolos e (D) raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K^+ e 50 mM de Na^+ 52

Figura 3- Seletividade de K^+ no tratamento K_1Na_1 em (A) folhas, (B) caule, (C) pecíolos e (D) raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K^+ e 50 mM de Na^+ 53

Figura 4- Dados da relação K^+/Na^+ em (A) folhas, (B) caule, (C) pecíolos e (D) raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K^+ e 50 mM de Na^+ 53

Figura 5- A, Crescimento das plantas nos diferentes tratamentos; B e C, sintomas de toxidez em folhas de plantas jovens de pinhão manso causadas por excesso de sais. ... 54

Capítulo 4 - Artigo 3

Figura 1 - Concentrações de K^+ e Na^+ em (A) raízes (tratamento K_1Na_1), (B) raízes (tratamento K_0Na_1), (C) caule (tratamento K_1Na_1), (D) caule (tratamento K_0Na_1), (E) folhas (tratamento K_1Na_1) e (F) folhas (tratamento K_0Na_1) de pinhão manso expostas à temperatura elevada e concentração externa de 10 ou 0 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ ... 66

Figura 2 - Transporte de Na^+ e K^+ em (A) caule (tratamento K_0Na_1), (B) caule (tratamento K_1Na_1), (C) folhas (tratamento K_0Na_1) e (D) folhas (tratamento K_1Na_1) de pinhão manso expostas à temperatura elevada e concentração externa de 10 ou 0 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ 67

Figura 3 - Dados da relação K^+/Na^+ em raízes (A), caule (B) e folhas (C) de pinhão manso expostas à temperatura elevada e concentração externa de 10 ou 0 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ 68

Figura 4 - Seletividade: S_{K-Na} em caule (A), S_{Na-K} em caule (B), S_{K-Na} em folhas (C) e S_{Na-K} em folhas (D) de plantas de pinhão manso submetida a 10 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ 69

Figura 5 - Fotossíntese - A (A) e transpiração - E (B) de pinhão manso expostas à temperatura elevada e concentração externa de 10 ou 0 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ ... 70

Capítulo 5 - Artigo 4

Figura 1 - Massa seca da parte aérea e raiz em umidade relativa do ar 40% e temperatura 27 °C (A), umidade relativa do ar 80% e temperatura 27 °C (B), umidade relativa do ar 40% e temperatura 42 °C (C) e umidade relativa do ar 80% e temperatura 42 °C (D) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ 84

Figura 2 - Dados de fotossíntese em umidade relativa do ar 40% (A), fotossíntese umidade relativa do ar 80% (B), transpiração umidade relativa do ar 40% (C) e transpiração umidade relativa do ar 80% (D) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ 85

Figura 3 - Seiva de xilema em umidade relativa do ar 80% aos 27 °C (A) e umidade relativa do ar 80% aos 42 °C (B) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ 86

Figura 4 – Influxo de K^+ a 27 °C (A), de K^+ a 42 °C (B), de Na^+ a 27 °C (C) e de Na^+ a 42 °C (D) de raízes destacadas de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ 87

Figura 5 – Transporte em folhas de K^+ em umidade relativa do ar 40% (A), de K^+ em umidade relativa do ar 80% (B), de Na^+ em umidade relativa do ar 40% (C) e de Na^+ em umidade relativa do ar 80% (D) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ 88

Figura 6 – Transporte no caule de K^+ em umidade relativa do ar 40% (A), de K^+ em umidade relativa do ar 80% (B), de Na^+ em umidade relativa do ar 40% (C) e de Na^+ em umidade relativa do ar 80% (D) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ 89

Figura 7 – Dados da relação K^+/Na^+ em folhas umidade relativa do ar 40% (A), umidade relativa do ar 80% (B), no caule umidade relativa do ar 40% (C), umidade relativa do ar 80% (D), em raízes umidade relativa do ar 40% (E) e umidade relativa do ar 80% (F) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ 90

Figura 8 – Seletividade: S_{K-Na} em folhas, caule e raízes em umidade relativa do ar 40% (A), S_{Na-K} em folhas, caule e raízes em umidade relativa do ar 80% (B) em plantas de pinhão manso submetidas a 10 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ submetida à diferentes temperaturas. 91

2. LISTA DE ABREVIATURAS

- AKT – Transportador de K^+ de *Arabidopsis*, do inglês *Arabidopsis K⁺ Transporter*
- HATS – Sistema de transporte de alta afinidade
- HAK - Transportador de K^+ de alta afinidade, do inglês *High-affinity K⁺ transporter*
- HKT - Transportador de K^+ de alta afinidade, do inglês *High-affinity K⁺ transporter*
- $[K^+]_{ext}$ – concentração de K^+ na solução externa
- $[Na^+]_{ext}$ – concentração de Na^+ na solução externa
- $[Ca^{2+}]_{int}$ – concentração de Ca^{2+} interno
- K_m – Constante de Michaelis-Menten
- KIRCS – Canais retificadores de entrada de K^+ , do inglês *K⁺ inward-rectifying channels*
- KORCS – Canais retificadores de saída de K^+ , do inglês *K⁺ outward-rectifying channels*
- KT – Transportador de K^+ , do inglês *K⁺ transporter*
- KUP – Transportador para captação de K^+ , do inglês *K⁺ uptake transporter*
- LATS – Sistema de transporte de baixa afinidade
- LCT – Transportador de cátions de baixa afinidade, do inglês *Low-affinity cation transporter*
- LKT – Transportador de K^+ de *Lycopersicon*, do inglês *Lycopersicon K⁺ transporter*
- MS – Massa Seca
- NORC – Canal retificador de saída não seletivo, do inglês *nonselective outward-rectifying channels*
- NSCCs – Canais de Cátions não seletivos, do inglês *nonselective cation channels*
- SKOR – Canal retificador de saída de K^+ do estelo, do inglês *stelar K⁺ outward rectifier*
- SKT – Transportador de K^+ de *Solanum*, do inglês *Solanum K⁺ transporter*
- UR - Umidade Relativa do ar
- T °C – Temperatura do ar
- J_K – Taxa de acumulação de K^+
- J_{Na} – Taxa de acumulação de Na^+
- $S_{K,Na}$ – Seletividade K^+ - Na^+
- $S_{Na,K}$ – Seletividade Na^+ - K^+

3. CAPÍTULO 1

3.1. Introdução Geral

O efeito do estresse salino sobre as plantas induz uma série de respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas. Tais respostas variam amplamente dependendo do genótipo e da fase fenológica da planta (ORCUTT e NILSEN, 2000; PEDROL, 2000). Uma vez a planta submetida ao estresse salino, o seu crescimento é restringido e níveis excessivamente elevados de salinidade causam distúrbios das células tanto no sistema radicular quanto da parte aérea. (EPSTEIN e BLOOM, 2006). Os efeitos da salinidade sobre as plantas são conseqüências de fatores osmóticos e iônicos. O componente osmótico resulta das elevadas concentrações de sais dissolvidos na solução do substrato, os quais reduzem o potencial osmótico, e conseqüentemente o potencial hídrico dessa solução, diminuindo a disponibilidade da água para a planta. O efeito iônico, por outro lado, refere-se aos íons absorvidos pelas plantas, os quais podem provocar um desequilíbrio iônico e/ou efeitos tóxicos para o metabolismo da planta (XIONG e ZHU, 2002; WILLADINO e CÂMARA, 2004).

O excesso de sódio no meio de crescimento afeta o crescimento e a produção da maioria das glicófitas e a intensidade desse efeito varia em função da espécie, genótipo e estágio de desenvolvimento (MUNNS et al., 2002). Os efeitos adversos do excesso de Na^+ sobre a nutrição potássica podem ocorrer tanto na fase de absorção como no metabolismo celular. Durante a absorção os canais responsáveis pela absorção de K^+ podem permitir o influxo de Na^+ em um processo competitivo (XIONG e ZHU, 2002). O acúmulo deste elemento no citosol pode interagir com sítios de ligação específicos para K^+ em enzimas, e reduzir ou bloquear a atividade dessas proteínas, interferindo fortemente no metabolismo celular (MAATHUIS e SANDERS, 1996).

Essas interações competitivas entre os íons Na^+ e K^+ é um fenômeno bastante citado na literatura e é atribuída às similaridades físico-químicas, como raio iônico hidratado e carga elétrica dos dois íons (MAATHUIS e AMTMANN, 1999). Segundo (KOCHIAN e LUCAS, 1988; MAATHUIS e SANDERS, 1996) o íon potássio (K^+) é um macronutriente essencial para todas as espécies vegetais e desempenha funções biológicas que envolvem processos celulares e fisiológicos. O K^+ atua na manutenção do potencial osmótico celular, no balanço de cargas negativas do citosol e na manutenção do potencial de membrana plasmática, e é co-fator enzimático em diversas

enzimas da fotossíntese, da respiração e da biossíntese de proteínas (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; EPSTEIN e BLOOM, 2006).

Resultados obtidos por Silva et al. (2009) demonstraram que plantas jovens de pinhão manso apresentam concentrações muito elevadas de K^+ nas folhas e que na presença de níveis de NaCl na solução nutritiva (50 mM) os níveis de K^+ nas folhas são reduzidos quase 10 vezes. Essa observação sugere duas hipóteses: (1) a espécie deve ser muito exigente por K^+ ; (2) deve existir um intenso antagonismo entre esses dois íons. De fato, é largamente conhecido na literatura que em diversas espécies, níveis elevados de Na^+ podem causar grandes depleções nas concentrações de K^+ , especialmente em raízes. Ato contínuo, mudanças como as observadas por Silva et al. (2009) são singulares para glicófitas. Dessa maneira, parte dos efeitos negativos causados pela salinidade em pinhão manso (especialmente em solos salinos-sódicos) poderia ser causado por carência de K^+ nas folhas, associados com outros efeitos deletérios da salinidade. Nesse caso, o uso de adubações potássicas poderia atenuar tais efeitos.

Com base nessas observações por Silva et al. (2009), pareceu interessante elucidar quais os mecanismos de interação $Na^+ - K^+$ em pinhão manso. Em outras palavras, foi necessário responder as seguintes questões: (a) como se comporta a absorção de K^+ nas raízes dessa espécie em presença e ausência de K^+ na presença de Na^+ ?; (b) qual o mecanismo de interação entre K^+ e Na^+ no sistema raiz-xilema?; (c) como se dá o carregamento de K^+ no xilema radicular na presença de excesso de Na^+ ?; (d) quais níveis de K^+ que poderiam atenuar o fluxo de Na^+ para as folhas jovens? (e) e sendo uma espécie do semiárido, como os fatores da temperatura e umidade relativa do ar podem alterar todos esses processos?

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) está sendo considerada uma opção agrícola para a Região Nordeste por ser uma espécie aclimatada e com forte resistência à seca e alta temperatura (SUJATHA et al., 2008). Atualmente, essa espécie não está sendo explorada comercialmente no Brasil, mas é uma planta oleaginosa viável para a obtenção do biodiesel, pois produz, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectare, levando de três a quatro anos para atingir a idade economicamente produtiva, que pode se estender por 40 anos (BEHERA et al., 2010). As experiências recentes com o pinhão manso, a cargo de algumas instituições agrícolas do país, cujos resultados definitivos ainda demandam algum tempo, comprovam o interesse crescente no conhecimento agrônomo da cultura. No mundo existe pouco conhecimento sobre esta planta, cujo gênero tem mais de 170 espécies, sendo a mais importante *Jatropha curcas* L. e

somente nos últimos 30 anos é que foram iniciados estudos agronômicos sobre a mesma, sendo ainda uma espécie considerada não domesticada (CARNIELLI et al., 2005).

Levando em consideração os aspectos agronômicos do pinhão manso que necessitam de investigação, uma vez que a literatura disponível sobre esta cultura é bastante escassa, bem como a inexistência de cultivares. Neste contexto, compreender a sua caracterização fisiológica em condições de estresses como salinidade é decisivo para o estabelecimento das plantas de pinhão manso, bem como avaliar o papel protetor do K^+ frente à salinidade, como a salinidade poderia alterar os processos de interação K^+-Na^+ e os possíveis reflexos ocasionados pelo Na^+ na aquisição e distribuição de K^+ .

3.2. Referencial teórico

3.2.1. Relevância fisiológica da absorção, distribuição e transporte de K^+ e Na^+ .

3.2.1.1. Estresse salino e toxicidade de Na^+

O estresse salino corresponde a condições adversas para o crescimento, o desenvolvimento ou a produção de plantas devido ao excesso de sais no solo (BRAY et al., 2000). Muitos processos bioquímicos e fisiológicos das plantas podem ser afetados pelo estresse salino devido a distúrbios osmóticos e/ou iônicos. A diminuição do potencial osmótico do solo devido ao excesso de sais pode restringir a absorção de água pelas plantas, afetando o crescimento (BRAY et al., 2000; TESTER e DAVENPORT, 2003). Além disso, a absorção de íons do solo e a sua acumulação nos tecidos podem interferir na nutrição e no metabolismo das plantas (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; TESTER e DAVENPORT, 2003).

A toxicidade iônica associada ao estresse salino causado pelo NaCl pode ser decorrente de efeitos dos íons Na^+ e Cl^- (BLUMWALD et al., 2000). Apesar disso, os efeitos nocivos de Na^+ sobre processos bioquímicos e fisiológicos das plantas são mais conhecidos. Apenas espécies C_4 requerem Na^+ como micronutriente, atuando na fotossíntese durante a translocação de piruvato através do envelope dos cloroplastos (MAATHUIS e AMTMANN, 1999). Para a maioria das espécies, no entanto, a acumulação de Na^+ nos tecidos pode ser prejudicial por afetar principalmente a nutrição

de K^+ (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; BLUMWALD et al., 2000; TESTER e DAVENPORT, 2003).

K^+ é o cátion requerido pelas plantas em maiores quantidades, atuando em diversas funções celulares. A acumulação de K^+ no citosol auxilia no balanço de cargas negativas de proteínas e ácidos nucleicos, enquanto a acumulação de K^+ no vacúolo auxilia na manutenção da pressão de turgescência (MAATHUIS e AMTMANN, 1999). Além disso, K^+ atua como cofator de enzimas da biossíntese de proteínas, da respiração e da fotossíntese (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; TESTER e DAVENPORT, 2003).

Em plantas sob condições normais de crescimento, as células mantêm elevadas concentrações de K^+ e baixas concentrações de Na^+ no citosol. Esta elevada razão K^+/Na^+ é considerada fundamental para a homeostase iônica de células vegetais (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; SERRANO e RODRIGUES-NAVARRO, 2001; ZHU, 2003). Em plantas sob estresse salino causado pelo NaCl, no entanto, as células podem sofrer alterações da homeostase iônica, envolvendo o aumento da concentração de Na^+ no citosol e a diminuição da razão K^+/Na^+ (SERRANO e RODRIGUES-NAVARRO, 2001; ZHU, 2003). Estas alterações podem interferir em processos de transporte através de membranas e em reações metabólicas, devido à competição entre Na^+ e K^+ por sítios de ligação em transportadores de membrana e em enzimas, a qual é propiciada pelas similaridades físico-químicas entre estes íons. Assim sendo, o estresse salino causado pelo NaCl pode afetar a nutrição de K^+ pela toxicidade de Na^+ sobre a absorção, o particionamento e as funções metabólicas de K^+ (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; BLUMWALD et al., 2000; TESTER e DAVENPORT, 2003).

3.2.1.2. Exclusão de sal: homeostase iônica

A elucidação dos mecanismos pelos quais ocorre a absorção de K^+ e Na^+ é essencial para o entendimento do crescimento da planta e a base funcional da absorção de cátions. No nível molecular destacam-se os canais iônicos e os transportadores que regulam o movimento íons através da membrana. Como não existem transportadores específicos de Na^+ , esse cátion é absorvido por competição através de carregadores de K^+ e Ca^{2+} (MASSER et al., 2002). O Na^+ pode também ser absorvido através de canais de cátions de baixa afinidade, os chamados canais não seletivos. Existem já descritas

seis famílias de genes relacionadas ao transporte de K^+ e, dentre essas, quatro famílias são fortes candidatas a transportadores de Na^+ : transportadores HKT, transportadores KUP/HAK/KT e os canais CNGC e LCT1 (MASSER et al., 2002).

Não há evidências de que exista adaptação de enzimas à presença de elevadas concentrações salinas (MUNNS, 1993), portanto os mecanismos de resistência ao nível celular envolvem a manutenção da exclusão do sal do citoplasma. O efluxo de Na^+ do citoplasma ocorre através do antiporte Na^+/H^+ associado a um gradiente de ΔpH formado através da membrana (BLUMWALD, 2000; BLUMWALD et al., 2000). Uma ATPase é a principal responsável pelo ΔpH e o gradiente de potencial de membrana encontrados na membrana plasmática. Uma H^+ - ATPase vacuolar gera um ΔpH e um potencial de membrana através do tonoplasto. A atividade dessas bombas é necessária para o transporte secundário que resulta no efluxo de íons em plantas sob condições de estresse salino (BLUMWALD et al., 2000). O efluxo de Na^+ do citoplasma é mediado por um produto do gene *SOS1* (*Salt Overly Sensitive 1*), que funciona como um transportador Na^+/H^+ do tipo antiporte. A compartimentalização vacuolar de Na^+ resulta, em parte, da atividade de uma família de transportadores $Na^+ - H^+$ do tipo antiporte, tal como *NHX1* identificado em *Arabidopsis* (MUNNS e TESTER, 2008). Indivíduos transgênicos de *Arabidopsis*, com super expressão do gene que codifica *AtNHX1*, exibem acentuada resistência, quando expostos ao NaCl (APSE et al., 1999; HORIE e SCHROEDER, 2004).

Os mecanismos de absorção e exclusão de Na^+ atuam simultaneamente e definem o grau de sensibilidade da planta à salinidade. Essas e várias outras evidências sugerem que a resistência à salinidade é um caráter multigênico. Pesquisas em fisiologia da tolerância à salinidade sugerem a existência de vários subcaracteres, os quais, por sua vez, podem ser determinados por um número específico de genes (FLOWERS, 2004).

3.2.1.3. Transporte de K^+ e Na^+

A absorção de K^+ e Na^+ se dá inicialmente pelo contato do íon com a raiz. Para que isso aconteça, os íons percorrem o solo ao encontro do sistema radicular, por movimento de difusão, fluxo de massa e interceptação radicular. No entanto, a absorção quanto o transporte na planta, compreendem uma seqüência de processos, que se dão desde o influxo de K^+ e/ou Na^+ através das células epidérmicas e corticais das raízes;

seu carregamento no xilema com o auxílio das células parenquimáticas do estelo; a sua distribuição ou translocação pelos diversos órgãos da planta; sua redistribuição entre parte aérea e sistema radicular via floema; e seu efluxo para o meio externo (MALAVOLTA et al., 1997; EPSTEIN e BLOOM, 2006).

O influxo de K^+ e Na^+ nas plantas foi caracterizado inicialmente por Epstein et al. (1963), em raízes destacadas de plântulas de cevada (*Hordeum vulgare* L.), onde as mesmas foram germinadas e cultivadas em solução diluída de $CaSO_4$. As raízes apresentaram cinética de saturação dupla, envolvendo mecanismos de transporte de alta e baixa afinidade. O mecanismo de alta afinidade opera em concentrações micromolares de K^+ externo (mecanismo 1) variando de 1 a 200 μM (KOCHIAN e LUCAS, 1988; FOX E GUERINOT, 1998) com um K_m variando de 10-20 μM K^+ (RODRÍGUEZ-NAVARRO e RUBIO, 2006). Este processo de absorção é importante para nutrição de plantas em solos tropicais, principalmente essas localizadas na região nordeste, onde a concentração de K^+ disponível na solução do solo é baixa. Esse sistema é altamente seletivo para o K^+ , apresentando valores de K_m baixos.

O transporte de K^+ de alta afinidade, pela membrana plasmática de células das raízes, pertence a três grupos principais: os canais do tipo *Shaker*, tendo como principal representante os membros da família AKT, identificados inicialmente em *Arabidopsis thaliana* (SENTENAC et al., 1992), os co-transportadores Na^+/K^+ da família HKT, os quais foram isolados em plantas de trigo (RUBIO et al., 1995) os co-transportadores da família KT/HAK/KUP, isolados em cevada (*HvHAK*) e *Arabidopsis* (*AtKT*) (SANTA-MARÍA et al., 1997; KIM et al., 1998).

O mecanismo de transporte de baixa afinidade, por sua vez, opera em concentrações milimolares de K^+ externo (mecanismo 2), sendo considerado pouco seletivo para o K^+ em relação a outros cátions alcalinos. Esse mecanismo não é saturável em concentrações crescentes de K^+ externo, onde o processo de difusão facilitada ocorre através de canais seletivos até o citoplasma (FOX e GUERINOT, 1998). O transporte de baixa afinidade pela membrana plasmática de células de raízes é realizado, principalmente, pelos canais retificadores internos (KIRCs), os canais retificadores externos (KORCs) e canais independentes a voltagem (VICs) (MAATHUIS e AMTMANN, 1999).

Estudos envolvendo cinéticas, propriedades seletivas, condutância de absorção de íons e expressão de genes indicam que os KIRCs expressos em raízes, como AKT1 de *A. thaliana* (HIRSCH et al., 1998), SKT1 em batata (ZIMMERMANN et al., 1998) e

LKT1 em tomate (HARTJE et al., 2000) atuam no transporte de K^+ pelo mecanismo de baixa afinidade. No entanto, experimentos com mutantes com perda da função *akt1* em *A. thaliana*, através da inserção de T-DNA, mostram que este está envolvido também no transporte de K^+ pelo mecanismo de alta afinidade (HIRSCH et al., 1998; SPALDING et al., 1999). Os autores indicam que a absorção de K^+ é possível pelo desenvolvimento de valores de potencial elétrico negativo de membrana (-230mV), desde que, o gradiente eletroquímico de K^+ favoreça seu acúmulo no citosol. Os transportadores HKT pertencem a uma superfamília que inclui membros identificados em bactérias, leveduras e plantas, funcionando como co-transportadores de K^+/H^+ , K^+/K^+ ou K^+/Na^+ , de acordo com as condições iônicas do meio (VÉRY e SENTENAC, 2003; AMRUTHA et al., 2007).

A família de transportadores KT/HAK/KUP inclui transportadores de K^+ que devem catalisar o co-transporte H^+/K^+ , os quais são envolvidos com o influxo de K^+ de alta afinidade (RODRÍGUEZ-NAVARRO, 2000). Os canais KIRCs podem interceder também o transporte de Na^+ em baixa afinidade em condições de salinidade elevada (AMTMANN e SANDER, 1999). A salinidade inibe a expressão de AKT1 alterando desta forma a homeostase do K^+ e na redução do crescimento da planta (FUCHS et al., 2005). Os canais da família AKT/KAT são eficientes na absorção de K^+ , ainda que em concentrações baixas (10 μ M) (HIRSCH et al., 1998). Neste processo, pode interferir o Ca^{2+} , Mg^{2+} , e o Na^+ , que em concentrações elevadas podem inibir a absorção de potássio (Figura 1).

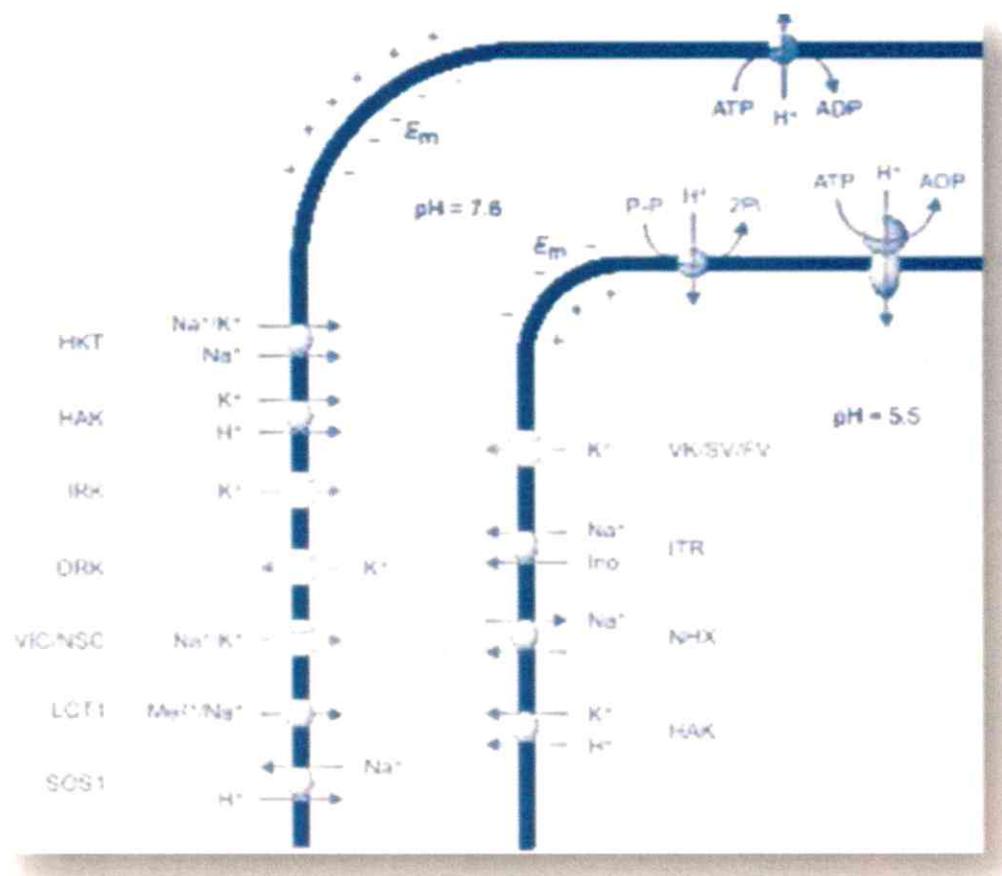


Figura 1 - Transportadores e os fluxos de K^+ e Na^+ na célula vegetal (SERRANO e RODRIGUEZ-NAVARRO, 2001).

3.2.1.4. Relação K^+/Na^+ na tolerância das plantas a salinidade

Muitos autores têm correlacionado à tolerância e/ou resistência à salinidade com uma adequada nutrição potássica, podendo a relação Na^+/K^+ ser utilizada como critério de seleção de materiais sensíveis ou tolerantes ao estresse salino (MAATHUIS e AMTMANN, 1999). Alguns autores têm relatado a existência de múltiplos sistemas de absorção com diferentes seletividades para K^+ e Na^+ o que pode refletir a necessidade da planta para coordenar o influxo desses cátions (SCHACHTMAN e LIU, 1999).

Sob condições de salinidade sódica ou condições sódicas, altas doses de Na^+ não só interferem na aquisição de K^+ pelas raízes, mas também podem provocar danos nas membranas de raízes e alterar sua seletividade (VIÉGAS et al., 2001). A seletividade do sistema radicular para o K^+ sobre o Na^+ deve ser suficiente para satisfazer os teores de K^+ requerido para os processos metabólicos, regulação do transporte de íons e para o

ajustamento osmótico (MAATHUIS e AMTMANN, 1999). Os mecanismos de influxo de K^+ e Na^+ sobre a membrana plasmática não estão bem caracterizados. Sugere-se que a absorção de Na^+ ocorre por um sistema de alta afinidade para absorção de K^+ (HORIE e SCHROEDER, 2004), além de canais não seletivos para absorção de íons (BLUMWALD et al., 2000). A absorção de K^+ ocorre por transportadores seletivos de alta afinidade e por canais seletivos de baixa afinidade (MAATHUIS e AMTMANN, 1999).

Desse modo, a compartimentalização de Na^+ nas raízes aliada à intensificação da transferência de K^+ para a parte aérea deve manter a alta relação K^+/Na^+ nas folhas, evitando a toxicidade de Na^+ nos tecidos fotossintetizantes. A retenção de Na^+ nas raízes e acumulação de K^+ nas folhas de girassol (QUINTERO et al., 2007) expostas ao NaCl indicam que mecanismos similares podem ocorrer em outras dicotiledôneas. Portanto, esses mecanismos podem ser utilizados por essas espécies para evitar distúrbios na homeostase iônica sob estresse salino (MAATHUIS e AMTMANN, 1999).

3.2.1.5. Características e importância do pinhão manso

O pinhão manso é considerado uma planta rústica de fácil adaptação a solos marginais de baixa fertilidade. Segundo Severino et al. (2006) o pinhão manso desenvolve-se sob condições climáticas diversas, desde regiões tropicais muito secas à úmidas, tolerando precipitações pluviométricas entre 600 e 1500 mm ano⁻¹. A elevada tolerância à seca abre novas e amplas perspectivas para o aumento das áreas de plantio em regiões com baixa disponibilidade de recursos hídricos. O aumento da exploração comercial do pinhão manso está relacionado com a alta qualidade do óleo e fácil conversão deste em biodiesel. Análises preliminares mostram que o óleo de pinhão manso tem cerca de 80% do poder calorífico do óleo diesel. Quando utilizado em veículos automotivos, pode gerar a mesma potência com consumo cerca de 20% maior, ruído mais suave e emissão de fumaça semelhante (FURLAN et al., 2006). O óleo de pinhão manso possui cerca de 80% de ácidos graxos insaturados (ABDRABBO et al., 2009), o que confere baixo ponto de solidificação do óleo (-10 °C), podendo esse ser comercializado em diversos locais, inclusive regiões de clima sub-tropical (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição de ácidos graxos no óleo de pinhão manso.

Ácidos graxos	Pinhão Manso	
	CETEC (1983)	Abdrabbo (2009)
Ácido Palmítico	14,3	13,45
Ácido Palmitoléico	1,3	0,78
Ácido Esteárico	5,1	7,24
Ácido Oléico	41,1	47,29
Ácido Linoléico	38,1	30,68
Ácidos Saturados	19,4	20,97
Ácidos Insaturados	80,6	79,03

O Óleo de pinhão manso possui maior qualidade de ignição por ser menos viscoso que os óleos de dendê, babaçu e soja, mas, é muito mais viscoso que o diesel. O co-produto principal do pinhão manso é a torta, rica em N, P, K e matéria orgânica, empregada como fertilizante com efeito nematicida. Quando destoxificada, pode ser usada como ração animal, à semelhança da torta de mamona, contendo 57% de proteína. A casca da planta pode ser usada como carvão vegetal e matéria-prima para papel (ACHTEN et al., 2008; DIVAKARA et al., 2010).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

O objetivo geral dessa tese foi elucidar os mecanismos de interação K^+ - Na^+ em plantas jovens de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a condições de estresse salino causado por NaCl, nos processos de partição, transporte e seletividade. Adicionalmente, retratar o possível papel protetor do K^+ sobre o Na^+ e os possíveis efeitos da salinidade sobre a concentração dos íons K^+ e Na^+ .

4.2 Objetivos específicos

4.2.1. Determinar o padrão de partição de Na^+ e K^+ em plantas de pinhão manso tratadas com NaCl sob doses crescentes de K^+ ;

4.2.2. Determinar o padrão de partição de Na^+ e K^+ em plantas de pinhão manso tratadas com NaCl em diferentes temperaturas e umidades;

4.2.3. Determinar as concentrações de K^+ e Na^+ do xilema radicular;

4.2.4. Determinar a seletividade e a taxa de acumulação de K^+ e Na^+ ;

4.2.5. Determinar as alterações na massa seca, nas taxas fotossintéticas, transpiração e condutância estomática;

4.2.6. Caracterizar a cinética de absorção para K^+ e Na^+ de baixa afinidade em raízes de pinhão manso;

4.2.7. Caracterizar a cinética de absorção de K^+ na presença e ausência de NaCl em raízes destacadas do pinhão manso;

4.2.8. Verificar o efeito competitivo do K^+ sobre o influxo de Na^+ em raízes de pinhão manso.

5. **CAPÍTULO 2 - Artigo 1 – Increase of external potassium improves K^+/Na^+ ratios, photosynthesis and NaCl-salinity resistance by antagonistic ionic interaction in *Jatropha curcas***

Artigo submetido na Journal Plant Physiology no dia 14/02/2011

Increase of external potassium improves K^+/Na^+ ratios, photosynthesis and NaCl-salinity resistance by antagonistic ionic interaction in *Jatropha curcas*

Abstract – This study assessed the relationships between the external K^+/Na^+ ratios, with respect to ion transport and partitioning, photosynthesis, and the growth of *Jatropha curcas* under saline conditions. The seedlings were exposed to increasing external K^+ concentrations (6.25, 12.5, 25.0, 37.5 and 50.0 mM), combined with 50.0 mM NaCl in a nutrient solution. The photosynthesis and plant dry matter progressively increased with the increase of the external K^+/Na^+ ratios up to a ratio of 37.5/50.0 and then decreased. These increases in photosynthesis and growth were directly correlated with K^+ transport and inversely correlated with Na^+ transport from the roots to the leaves. These two ions showed a reciprocal pattern of transport and accumulation in the roots, xylem, stem and leaves. The external K^+/Na^+ ratios presented highly correlated relationships with the K^+/Na^+ ratios in all of the organs examined. Optimal rates of photosynthesis and plant growth occurred in leaves with K^+/Na^+ ratios that ranged from 1.0 to 2.0, indicating that this parameter is a good indicator for K^+/Na^+ homeostasis under salinity conditions. In conclusion, a set of favorable physiological characteristics, which involve a high K^+ affinity and selectivity versus Na^+ , are associated with high rates of root uptake, xylem flux and shoot transport and are essential to optimal adequate K^+/Na^+ ratios in tissues to avoid the adverse effects of Na^+ . These conditions allowed high rates of photosynthesis and growth, even under a potentially toxic NaCl level.

Key words: ion transport, *Jatropha curcas*, K^+/Na homeostasis, salt uptake, salt stress.

Introduction

Salinity is one of the most serious problems that can affect worldwide crop productivity (Munns and Tester, 2008). This problem is most acute in tropical, semi-arid regions, where sodic saline soils are found in large proportion (Ferreira-Silva et al., 2009). In these regions, soil conditions and the climate favor Na^+ accumulation that provokes unfavorable changes in the soil chemical characteristics, such as increased pH and decreased K^+ availability (Tester and Davenport, 2003). An imbalance in K^+/Na^+ ratios in the root medium can cause severe problems to both plant nutrition and metabolism, including Na^+ toxicity, K^+ -deficiency and metabolic disturbances, due to alterations in several biochemical reactions that require potassium as an enzymatic cofactor (Apse and Blumwald, 2007; Shabala and Cuin, 2007).

The competitive interaction between K^+ and Na^+ initially involves the root transport systems, which use transporter proteins and ion channels (Apse and Blumwald, 2007). K^+ -transport systems are relatively well known, but those involved with Na^+ uptake are less well understood (Britto et al., 2010). Experimental evidence has shown that Na^+ influx might be mediated by several transport systems, especially via the high-affinity K^+ -transport channels (Dreyer and Blatt, 2009; Szczerba et al., 2009). At high concentrations in the root medium, Na^+ can also be absorbed by the low-affinity systems via non-selective cation channels (Britto and Kronzucker, 2008; Voigt et al., 2009; Britto et al., 2010).

The absorption and distribution of K^+ and Na^+ in plant tissues and organs involves several steps. Initially, these ions can reach the parenchyma cells around the vessel system by means of root radial transport (Coskun et al., 2010). To arrive at the xylem sap, the ions need to cross the plasma membrane of the parenchyma cells and be loaded into the xylem vessels. This step is critical to determine the flux, the partitioning at the whole-plant level and the accumulation in the leaves (Tester and Davenport, 2003). The selectivity of K^+ and Na^+ in different tissues is widely dependent on the species and cultivar, as well as physiological mechanisms, which are poorly understood (Olías et al., 2009; Coskun et al., 2010).

K^+/Na^+ ratios in plant tissues, despite being a very simple index, have been widely used to assess both selectivity and ion homeostasis under salt stress (Britto and Kronzucker, 2008). In some species, this index in leaves has been utilized as a physiological marker for the selection of salt-tolerant cultivars (Maathuis and

Amtmann, 1999; Flowers, 2004). The K^+/Na^+ homeostasis mechanisms under salinity are very complex and involve several processes, such as cellular compartmentalization (the cytosol and vacuole), the redistribution of ions at the whole-plant level (involving the xylem and phloem), the distribution and recycling between organs and the selectivity at the level of uptake and long-distance transport (Maathuis and Amtmann, 1999; Shi et al., 2002; Zhu, 2003). It has been widely reported that elevated levels of K^+ in the external medium exert beneficial effects on plants exposed to high levels of Na^+ , thus, restricting salt toxicity.

Despite several reports related with molecular aspects of K^+ and Na^+ transport (Davenport et al., 2005; Britto and Kronzucker, 2008), less integrative studies, involving the uptake, xylem flux, transport and selectivity of these two ions, have been performed. Some experimental evidence has indicated that a K^+/Na^+ ratio of approximately 1.0 in the cytosol of plant cells is a minimum value required to maintain an adequate ion homeostasis (Maathuis and Amtmann, 1999; Carden et al., 2003). However, this conclusion was based on rather scarce experimental evidence. Several authors have proposed K^+/Na^+ ratios in the leaves as being a good indicator for the selection of genotypes for salt tolerance (Flowers, 2004). Surprisingly, salinity-induced perturbations in K^+ homeostasis are usually considered of “secondary importance” (Tester and Davenport, 2003) and are frequently ignored by many researchers (Shabala and Cuin, 2007).

This problem is serious because there is little information about the relationships between the K^+/Na^+ ratios in plant tissues, with regard to their physiological significance, and the mechanisms of the amelioration of Na^+ toxicity and plant growth (Kronzucker and Brito, 2011). Understanding the mechanisms involved in the protective role of K^+ against the damage caused by Na^+ excess can be useful to help find physiological markers that are suitable for the selection of salt-tolerant genotypes (Maathuis and Amtmann, 1999; Britto and Kronzucker, 2008). Previous studies with *Jatropha curcas* have shown that this species displays a strong interaction between K^+ and Na^+ at the whole-plant level (Silva et al., 2009), showing that moderate levels of Na^+ (25 mM) in the external medium cause a remarkable decrease in the K^+ concentration, provoking prominent decreases in the leaf K^+/Na^+ ratio.

The present study was carried out to test the hypothesis that adequate K^+/Na^+ ratios in the tissues of *J. curcas*, induced artificially by an increase in the external K^+ levels, is more important to attenuate the stressful effects of NaCl salinity and to

improve growth than is the absolute content of K^+ and Na^+ . We report here that K^+ and Na^+ exhibited a strong and reciprocal interaction at level of the whole plant. Moreover, increases in the external K^+/Na^+ ratios were able to restrict strongly the Na^+ root uptake, xylem flux and transport to the stem and leaves. In addition, an adequate K^+/Na^+ ratio in the leaves (from 1.0 to 2.0) improved the photosynthesis and growth of plants exposed to a condition of 50 mM NaCl in the external medium.

Materials and Methods

Plant growth conditions and treatments

Jatropha curcas seeds, cultivar FT1, supplied by Tamadua Institute (Brazil), were previously selected for size and weight, surface sterilized with a 5% sodium hypochlorite solution, germinated in sand and irrigated daily with distilled water. Eight days after sowing, seedlings were transferred to plastic pots (2 L) containing one-fourth strength Hoagland and Arnon (1950) nutrient solution during the first week and one-half strength thereafter. The solution was changed every week, and the pH was adjusted to 6.0 ± 0.5 every two days with 1 M NaOH or 1M HCl. Seedlings (23 days old) were transferred to solutions containing one of five K^+/Na^+ ratios (0.125, 0.25, 0.50, 0.75 or 1.00) obtained by mixing 6.25, 12.5, 25.0, 37.5 or 50 mM of KCl with the 50 mM NaCl in the nutrient solution. A treatment with plants grown in the nutrient solution in the absence of NaCl was used as a reference treatment. At the onset of the experiment, 23-day-old seedlings, grown in the absence of NaCl, were harvested for the determination of the initial K^+ and Na^+ contents in the roots, stem and leaves and the root dry weight. The salt-treated and reference seedlings remained for 12 days under the treatments. The experiment was carried out in a greenhouse under natural-light conditions, located at the Federal University of Ceará, Brazil ($3^{\circ}45'47''S$, $38^{\circ}32'23''W$, at sea level). The mean environmental conditions inside the greenhouse were as follows: $23^{\circ}C/32^{\circ}C$ (minimum in the night and maximum in the day), 65% relative humidity, an average of maximum photosynthetically active radiation density (PPFD) of approximately $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ supplied by sunlight, and a 12-hour (h) photoperiod. At the end of experimental period, the plants were separated into the leaves, stem and roots and the material was dried for 72 h at $70^{\circ}C$. The dry weight (DW) was determined, and a fine powder was produced and used for the determination of Na^+ and K^+ concentrations.

Determination of Na⁺ and K⁺ uptake rate in excised roots

Excised roots from the 23-day-old seedlings were washed with 0.1 mM CaCl₂ at room temperature (2-4 °C) for 5 minutes to eliminate the apoplastic ions, according to the method of Huang et al. (1992) and as previously described (Voigt et al., 2009). For the dose-dependent assay, roots were placed into 250-mL Erlenmeyer flasks containing 100 mL of 2 mM HEPES buffer (pH 6.0) plus 0.1 mM CaCl₂ and different KCl concentrations (mM), 6.25, 12.5, 25.0, 37.5 or 50.0, all combined with 50 mM NaCl. The flasks were kept at 30 °C on a shaker for 60 min. The net uptake of Na⁺ and K⁺ was determined by the measurement of ion concentrations in the root tissues. The Na⁺ and K⁺ concentrations in the plant tissues were measured by flame photometry, as previously described (Voigt et al., 2009). Net uptake rate was expressed as mmol (kg root DW h)⁻¹.

Determination of the xylem flux, transport rate and selectivity

The xylem sap flux was collected by the vacuum extraction method described by Schurr (1998). The stem was cut in the neck region (three inches above the root), and the xylem sap was collected with a vacuum pump under low pressure (-60 kPa) at 25 °C for 30 minutes. The first portions of the sap were discarded, and the samples were immediately frozen and kept at -20 °C. The root xylem flux (J_v) of K⁺ and Na⁺ was determined after the measurement of the ion concentrations and expressed as mmol (L sap h)⁻¹. The transport rates (J_s) of Na⁺ (J_{Na}) and K⁺ (J_K) in the leaves and stem were calculated from the changes in the contents of Na⁺ and K⁺ in the plant tissues and calculated according to the equation described by Welbank (1962):

$$J_{\text{Na or K}} = \frac{(M_2 - M_1)}{T_2 - T_1} \times \frac{\ln(W_2 - W_1)}{W_2 - W_1},$$

Where J_s was calculated from the change in the ion contents of each plant part (stem and leaves) over the experimental time (12 days) and expressed in terms of the change in the root dry weight;

M₁ and M₂ = K⁺ and Na⁺ contents in different plant parts at the onset of the experiment (M₁) and at the end of the experimental period (M₂);

T₂ - T₁ = the experimental period (12 days); and

W₂ - W₁ = the difference between the root dry weight at the end (W₂) and at the onset of the experimental period (W₁).

The results were expressed as mmol (kg root DW day)⁻¹.

The K^+ and Na^+ selectivity ($S_{K,Na}$) and ($S_{Na,K}$), respectively, was calculated by the K^+/Na^+ ratios (on a mmol basis) and by the formula described by Jeschke and Stelter (1983):

$$S_{K,Na} = \frac{J_K}{J_{Na}} \times \frac{[Na^+]_{ext}}{[K^+]_{ext}}$$

Where:

J_K and J_{Na} represent the K^+ and Na^+ transport rates, respectively, in a specific organ and $[Na^+]_{ext}$ and $[K^+]_{ext}$ correspond to the Na^+ and K^+ concentrations in the nutrient solution, respectively.

The selectivity was expressed in terms of $mmol\ mmol^{-1}$ (dimensionless).

Transpiration and the CO_2 photosynthetic assimilation rate

The leaf CO_2 assimilation rate (A), transpiration (E) and stomatal conductance were measured in fully expanded leaves using an infrared gas analyzer (IRGA, mod LCA-2, ADC, Hoddesdon, UK). All measurements were taken under natural-light conditions (PPFD density of approximately $500\ \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$), between 09:00 and 10:00.

Statistical analysis

The experiment was arranged in a completely randomized design, with six treatments and four replicates, with each individual pot representing a replicate. The data were subjected to an analysis of variance, and the means were compared using Tukey's test at a 0.05 confidence level.

Results

Dry-matter yield, photosynthesis, transpiration and the K^+ and Na^+ contents in response to increasing K^+/Na^+ ratios in the root medium

In this study, young *Jatropha curcas* plants were grown for 12 days in a nutrient solution and exposed to increasing K^+/Na^+ ratios (varying from 0.125 to 1.0) altered by the addition of increasing K^+ concentrations (6.25, 12.5, 25.0, 37.5 and 50 mM) in the presence of 50 mM NaCl. The leaf CO_2 photosynthetic assimilation, transpiration and whole-plant dry weight all progressively increased as the K^+/Na^+ ratio increased from 0.125 to 0.75. The rates of photosynthesis and transpiration did not significantly change

with a ratio from 0.75 to 1.0, whereas the plant growth decreased (Figs. 1A, 1B and 1C). However, the increase in the K^+/Na^+ ratio from 0.125 to 0.75 increased the photosynthesis, transpiration and plant dry weight by 36%, 55% and 41%, respectively (Figs. 1A, 1B and 1C).

Plants grown at 0.125 K^+/Na^+ ratio was unique that exhibited lower photosynthesis rate, transpiration and dry-matter yields, as evidenced by a decrease of 19%, 41% and 29%, respectively, compared with the reference plants. Plants that were exposed to a 0.25 K^+/Na^+ ratio presented photosynthesis, transpiration and dry-matter yield values that were similar to those shown by the control. In contrast, the plants grown at K^+/Na^+ ratios of 0.50 and 0.75 presented higher photosynthesis, transpiration and dry-matter yields, as compared with the reference plants. Our results also showed that only the plants grown at the ratio of 0.125 K^+/Na^+ (6.25 mM K^+ and 50 mM NaCl) exhibited visual symptoms of salt toxicity, indicating a disturbance in the K^+/Na^+ homeostasis (Fig. 1).

The leaf K^+/Na^+ ratios were highly correlated with CO_2 photosynthetic assimilation ($r^2 = 0.87$), and ratios higher than 1.5 afforded photosynthesis rates that were higher than the reference plants (Figure 1D). The K^+ concentrations strongly increased in all parts of the plant with the increase of the K^+/Na^+ ratios in the external medium, whereas the Na^+ content inversely decreased. Overall, the leaf K^+ content increased by approximately 2-fold, whereas the leaf Na^+ decreased in a same magnitude, as the K^+/Na^+ ratios increased from 0.125 to 1.0 (Table 1).

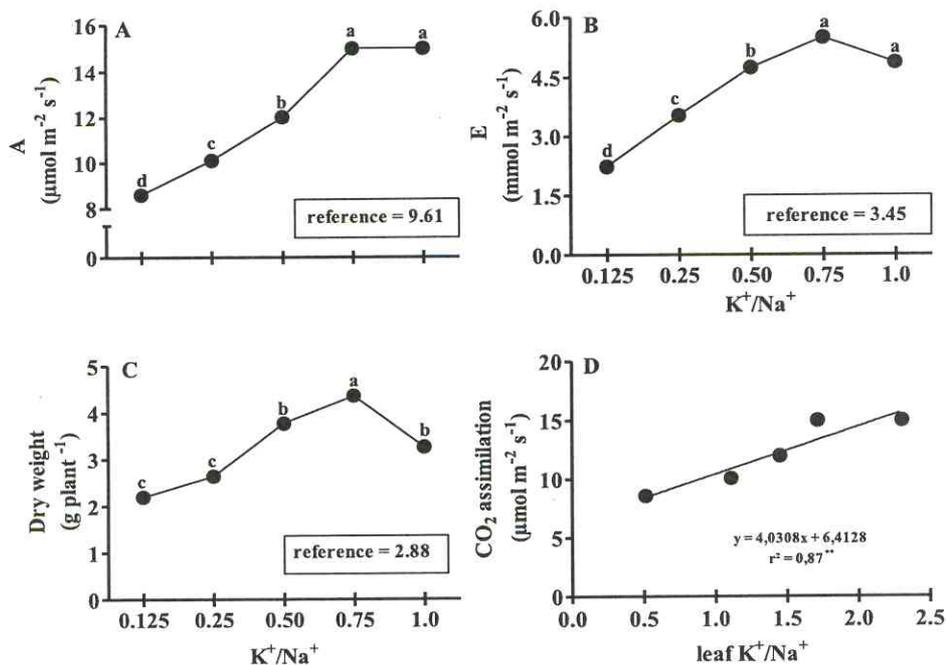


Figure 1 - (A) The leaf CO_2 assimilation rate – A, (B) transpiration – E, (C) whole-plant dry weight – DW and (D) the correlation between the leaf K^+/Na^+ ratios and the leaf CO_2 assimilation in young *Jatropha curcas* plants subjected to increasing K^+/Na^+ ratios in the external medium. Means followed by the same letters did not differ significantly at $P > 0.05$ by Tukey's test.

Table 1 - The concentrations of Na^+ and K^+ in the root, stem and leaf of *Jatropha curcas* subjected to increasing external-medium K^+/Na^+ ratios for 12 days. The growth conditions of the reference plants are provided in the Material and Methods.

K^+/Na^+ ratios	Root		Stem		Leaf	
	K^+	Na^+	K^+	Na^+	K^+	Na^+
	mmol (kg DW)^{-1}					
0.125	679d	1326a	653e	1173a	602e	1173a
0.25	1077c	1282a	1089d	804b	1064d	956b
0.50	1243b	1065b	1307c	717c	1166c	804c
0.75	1320ab	869c	1423b	608d	1230b	717d
1.0	1410a	695d	1576a	382e	1294a	565e
Reference	1220b	237e	1248b	291e	1169a	226f

Means followed of same letters, within each column, did not differ significantly at $P > 0.05$ by Tukey's test.

K^+ and Na^+ root uptake and the xylem flux

The root K^+ and Na^+ net uptake showed a reciprocal pattern in response to the increase of the K^+/Na^+ ratios in the root medium. That is, the K^+ showed a progressive increase, whereas the Na^+ showed a strong decrease. The highest increase in the K^+ net uptake coincided with the lowest Na^+ net uptake, which occurred from 0.125 to 0.25 ratios (Fig. 2A). The Na^+ uptake reached only 10% in the K^+/Na^+ ratios ranging from 0.50 to 1.0 ratios, compared to that reached in the ratio of 0.125 (Fig. 2A). The K^+

uptake in the reference plants was lower than that found in the plants grown at K^+/Na^+ ratios of 0.25 or higher. High external K^+ concentration (above 12.5 mM), even in the presence of 50 mM NaCl, was able to restrict the Na^+ accumulation and promote high K^+ net uptake by the roots.

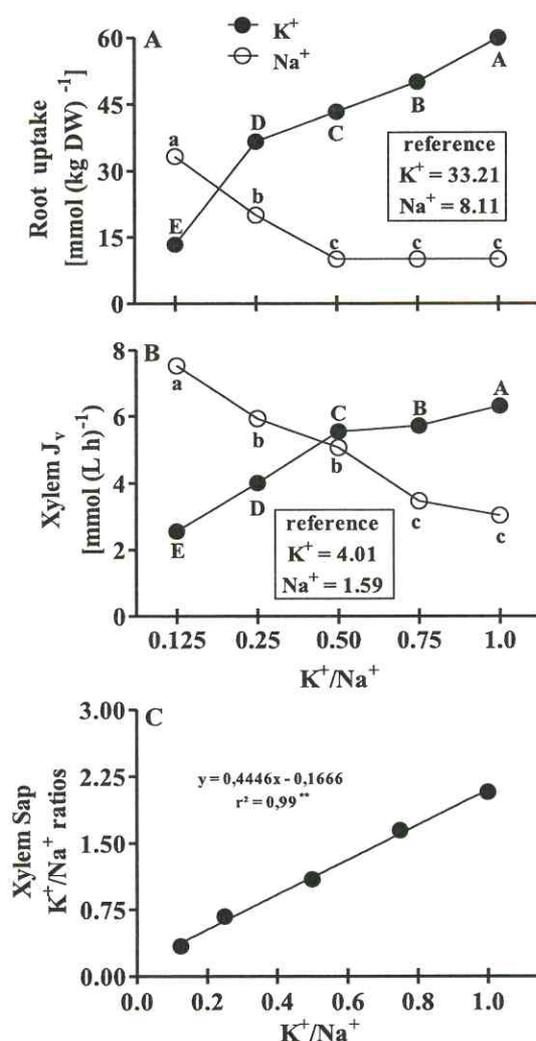


Figure 2 – (A) The uptake of Na^+ and K^+ in detached roots, (B) xylem flux of Na^+ and K^+ versus the external-medium K^+/Na^+ ratios and (C) the correlation between the K^+/Na^+ ratios in the xylem sap and in the external-medium K^+/Na^+ ratios in young *Jatropha curcas* plants. Means followed by the uppercase (K^+) or lowercase (Na^+) letter did not significantly differ at $P > 0.05$ by Tukey's test.

K^+ and Na^+ fluxes in the root xylem (J_v) showed a similar trend as that observed for the root uptake (Fig. 2B). The K^+ xylem flux increased almost linearly from the ratios of 0.125 to 1.0, whereas the Na^+ flux significantly decreased. The K^+/Na^+ ratios in the xylem sap were positively and highly correlated ($r^2 = 0.99$) with the increasing K^+/Na^+ ratios in the external medium (Fig. 2C), indicating that the K^+ and Na^+ loading

into the root xylem was strictly dependent on the K^+/Na^+ ratios in the external medium. The K^+/Na^+ ratios higher than 0.25 showed a xylem K^+ flux higher than the reference plants (Fig. 2B).

Increases in the external K^+/Na^+ ratios inversely affected the transport rates of Na^+ and K^+ to the stem and leaves

The strong antagonism between Na^+ and K^+ , in terms of the concentrations in the different organs, was associated with large differences in the transport rates to the stem and leaves and the root uptake. The patterns of Na^+ and K^+ transport rates (J_S) to the stem and leaves were similar to that previously observed for the ion uptake by the detached roots and the root xylem flux (Fig. 2). The stem Na^+ transport rates decreased strongly with increases in the K^+/Na^+ ratios in the root medium and the K^+ transport rates in the stem (Fig. 3). The largest increase in the K^+ transport rates in both the stem and leaf occurred at 0.125 and 0.25, and the largest decrease in the Na^+ transport rates occurred from the 0.125 to 0.50 ratios.

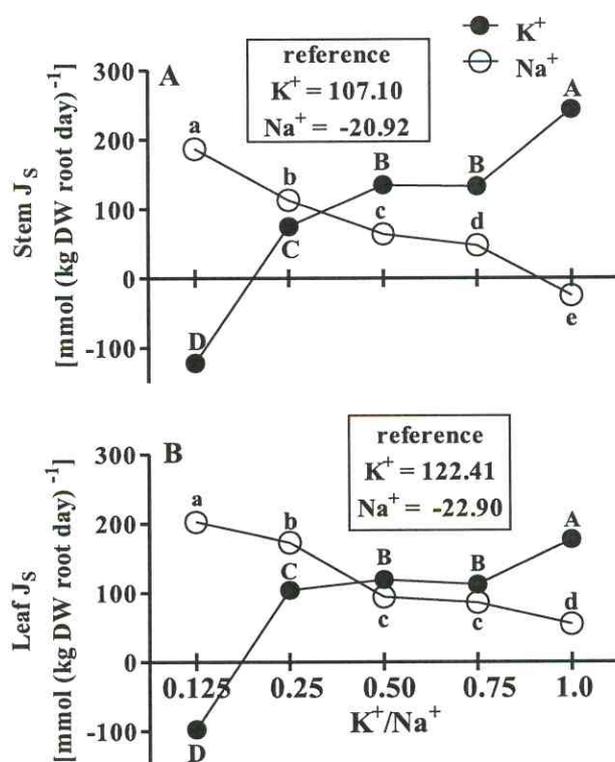


Figure 3 - (A) The rate of transport of Na^+ and K^+ in the stem and (B) leaves of young *Jatropha curcas* plants subjected to increasing external K^+/Na^+ . The values of the reference plants are presented. Means followed by the uppercase (K^+) or lowercase (Na^+) letter did not significantly differ at $P > 0.05$ by Tukey's test.

Favorable K^+/Na^+ ratios and a high K^+ -selectivity were important to protect against the stressful effects of NaCl salinity

K^+ and Na^+ selectivities were determined in the leaves and roots of plants grown at two K^+/Na^+ ratios: 0.25 and 1.0. Despite the higher $[Na^+]_{ext}$ in the root medium (at 50 mM) versus a $[K^+]_{ext}$ of 12.5 mM, the K^+ selectivity was approximately 5-fold higher than that found for Na^+ in both the roots and leaves (Figure 4). Moreover, when the $[Na^+]_{ext}$ and $[K^+]_{ext}$ were equal (at 50 mM), the K^+ selectivity was approximately 10-fold higher than that of Na^+ . Interestingly, the selectivity for K^+ and Na^+ in the roots and leaves showed an opposite pattern. At the low K^+/Na^+ ratio, the K^+ selectivity was higher in the leaves compared to the roots, and an opposite response was observed for the Na^+ selectivity. In contrast, at the high K^+/Na^+ ratio, the K^+ selectivity was higher in the roots compared to the leaves, and the inverse was observed for the Na^+ selectivity.

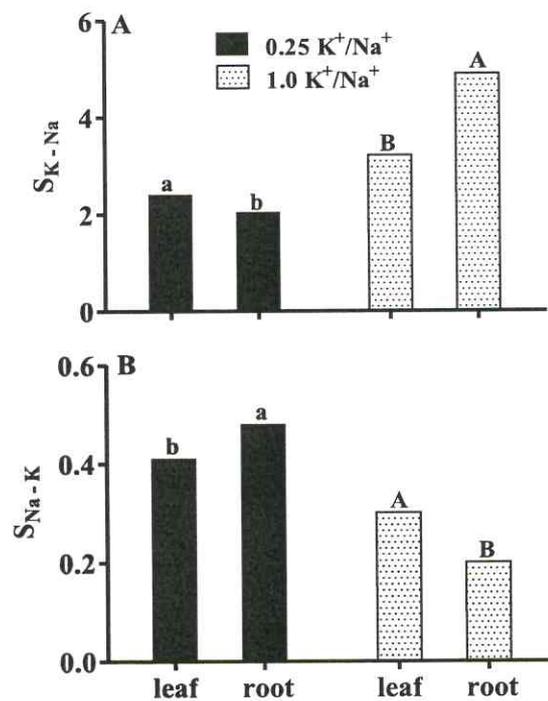


Figure 4 – (A) The selectivity, S_{K-Na} and (B) S_{Na-K} , in the roots and leaves of young *Jatropha curcas* plants for the values of the external-medium K^+/Na^+ ratios of 0.25 and 1.0. Means followed by the same letters did not differ significantly at $P > 0.05$ by Tukey's test.

The K^+/Na^+ ratios in plant tissues are also considered a selectivity indicator. In all of the organs examined, we observed a highly significant correlation between the

(root medium) external K^+/Na^+ ratios and these ratios in the roots, stem and leaves (values of r^2 equal to 0.98, 0.99 and 0.98, respectively) (Figs. 5A-C). The salt-stressed plants (0.125 K^+/Na^+ ratio) showed the following K^+/Na^+ ratios in their roots, stem and leaves, respectively: 0.12; 0.55, and 0.51 (Figs. 5A-C). Indeed, these values progressively increased with the increase in the external K^+/Na^+ ratios, reaching values of 1.01, 2.90 and 2.30, respectively, for the external 1.0 K^+/Na^+ ratio. The plants grown at the 0.25 K^+/Na^+ ratio showed a K^+/Na^+ of 1.13 in their leaves. The reference plants grown in the absence of NaCl presented high values (approximately 5.0 in the leaves) of the K^+/Na^+ ratios.

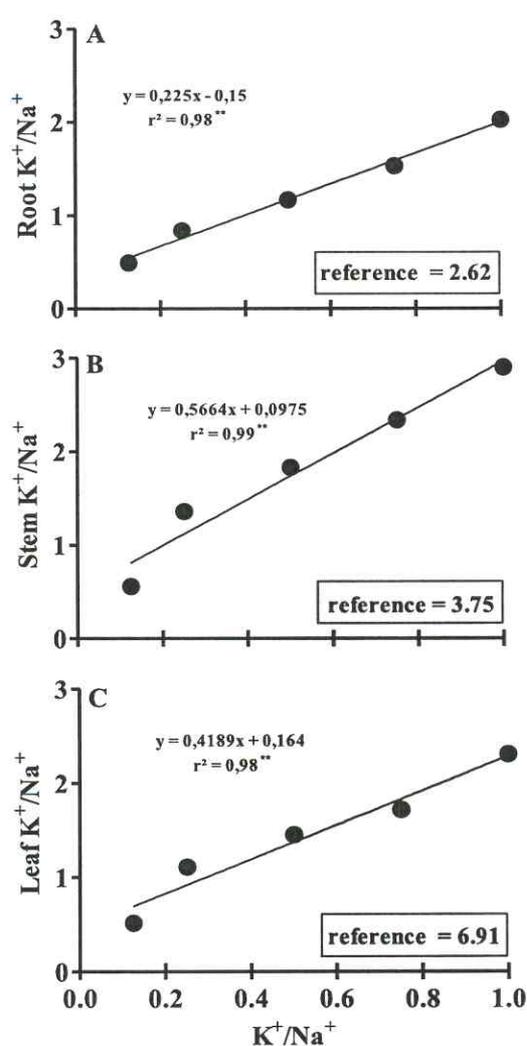


Figure 5 - Regression analysis between the external medium K^+/Na^+ ratios versus the K^+/Na^+ ratios in the (A) root, (B) stem and (C) leaf tissues of young *Jatropha curcas* plants.

Discussion

Increasing the external K^+ concentration restricts the Na^+ uptake and improves photosynthesis and plant growth

K^+ and Na^+ ions exhibited a strong and reciprocal interaction at the level of the whole plant in *J. curcas*. This antagonistic relationship was demonstrated by the observation that increases in the external medium- K^+ levels induced strong decreases in the Na^+ accumulation and increases in the K^+ concentrations in all of the organs examined. This favorable condition occurred because the *J. curcas* tissues exhibited a high selectivity for K^+ over Na^+ , which involved root uptake, xylem loading and transport to the leaves. The resulting optimal balance in the K^+/Na^+ ratios improved the photosynthetic assimilation of CO_2 and plant growth, even under a potentially toxic NaCl level (50 mM). Several reports have been published involving the interactions between K^+ and Na^+ transport at both the cellular and molecular levels (Zhu, 2003; Apse and Blumwald, 2007; Davenport et al., 2007; Munns and Tester, 2008). However, little is known about the relationships involving these ions at the organ and whole-plant levels, specifically regarding the mechanisms underlying the K^+ protection against Na^+ toxicity (Shabala and Cuin, 2007; Britto and Kronzucker, 2008).

Despite the strong antagonism between K^+ and Na^+ displayed in the different organs of *J. curcas*, K^+ selectivity at the organ level was much higher than that for Na^+ . These results suggest that a competitive process among these ions could have occurred, with a great preference for K^+ , even under a lower concentration, compared to Na^+ . Thus, despite the physicochemical similarity between K^+ and Na^+ , our data suggest that regardless of the type of channel or carrier involved in the transport across of the membranes, the K^+ ions have a greater permeability. K^+ -transport systems are relatively well known, but those involved with Na^+ absorption are less understood (Britto et al., 2010). Experimental evidence has shown that Na^+ influx might be mediated by several transport systems, especially via high-affinity K^+ -transport channels (Zhu, 2003; Dreyer and Blatt, 2009; Szczerba et al., 2009). At high concentrations in the root medium, Na^+ can also be taken up by low-affinity, non-selective cation channels (Britto and Kronzucker, 2008; Voigt et al., 2009; Britto et al., 2010).

Several authors have suggested that adequate K^+ levels might alleviate the toxic effects of Na^+ in plant tissues (Davenport et al., 2007; Munns and Tester, 2008). However, experimental evidences showing these beneficial effects on key processes, such as photosynthesis and growth, are scarce (Britto and Kronzucker, 2008). It is also

widely accepted that adequate K^+/Na^+ ratios in plant tissues (in general, values above 1.0 have been suggested) in the presence of NaCl salinity is essential for a favorable K^+-Na^+ homeostasis and salinity tolerance (Apse and Blumwald, 2007; Britto et al., 2010). Nevertheless, this assumption was based on very scarce experimental evidence and indirectly on the relationships among ion concentrations in tissues and plant tolerance (Britto and Kronzucker, 2008). Others have suggested the utilization of K^+/Na^+ ratios in the leaves as a good indicator in the selection of genotypes for salt tolerance (Flowers, 2004; Munns and Tester, 2008).

The competitive mechanisms involved in the Na^+ and K^+ uptake at the level of the plasmalemma have been extensively reported (Zhu, 2003; Yahya, 2010; Yao et al., 2010). Several mechanisms for Na^+ transport have been well documented (Essah et al., 2003; Apshe and Blumwald, 2007), but there is no consensus, and the evidences are contradictory (Britto and Kronzucker, 2008). In addition, the role of the specific transporters and ion channels involved in Na^+ and K^+ competition and transport, especially under high concentrations of both Na^+ and K^+ (low-affinity systems), has not been well studied in recent years (Voigt et al., 2009). There are also scarce experimental data in the available literature regarding the mechanisms involved in the root Na^+ efflux induced by both exogenous and endogenous K^+ . The SOS1 Na^+/H^+ antiporter is postulated to be a protein involved in the Na^+ efflux from the cytosol to the apoplastic space under salt-stress conditions (Zhu, 2003; Munns and Tester, 2008; Olías et al., 2009; Coskun et al., 2010), but its effectiveness has been questioned (Britto and Kronzucker, 2008).

Our data support the idea that K^+/Na^+ ratios in the leaves, ranging from 1.0 to 2.0, were strongly favorable for photosynthesis and plant growth in *J. curcas* that was grown in 50 mM NaCl. *Jatropha curcas* exhibited high photosynthesis rates with leaf K^+/Na^+ ratios near 1.0 and even presented high Na^+ concentrations in leaf tissues combined with high K^+ concentrations. These data reinforce the importance of the K^+/Na^+ ratio as an indicator of ionic homeostasis under NaCl salinity. However, the cellular and tissue basis and the physiological mechanisms that regulate this balance have been insufficiently studied to date. As the leaf tissue might simultaneously present high concentrations of both Na^+ and K^+ without Na^+ toxicity, it is probable that the Na^+ high amounts of this ion is stored in the vacuoles. This mechanism is widely utilized by halophytes (Flowers, 2004; Apshe and Blumwald, 2007; Silveira et al., 2009; Britto et al., 2010).

The interaction mechanisms between K^+ and Na^+ at the cellular level are complex and, as yet, are little understood (Britto and Kronzucker, 2008). Our data show that *J. curcas* was able to display high rates of photosynthesis and dry-matter production though maintaining high concentrations of both K^+ and Na^+ , and K^+/Na^+ ratios above 1.0 in their organs. These data indicate that high concentrations of K^+ in tissues help plants avoid the toxic effects of Na^+ , possibly due to the beneficial effects of K^+ in biochemical processes, as well as an element of protection against the deleterious effects of Na^+ in the cytosol. This late situation could occur by the physicochemical principle, the effect of “mass action”, when a reaction may be favored by the concentration of a reagent. In this situation, high K^+ concentrations in cytosol could be favorable to enzymatic reactions where it is a cofactor. A second possible mechanism, but one not yet demonstrated experimentally, would be that K^+ in high concentrations could trigger mechanisms linked with the accumulation of Na^+ in the vacuoles (over-expression of NHX1 gene) and stimulate the Na^+ efflux and transport to other parts of the plant (over-expression of SOS1 gene).

To maintain normal cell metabolism, the K^+ content in wheat cells is kept at approximately 150 mM, whereas the Na^+ content is kept at approximately 30 mM, resulting in a K^+/Na^+ ratio of approximately 5 (Carden et al., 2003). The ability of a plant to maintain a high K^+/Na^+ ratio in the cytoplasm, so that enzymes can function properly in the presence of high external Na^+ , is a key feature of salt tolerance. For moderate-to-high external Na^+ concentrations, the electrochemical gradient for Na^+ across the plasma membrane favors passive Na^+ entry (Britto et al., 2010). Low cytosolic Na^+ concentrations are sustained by the active transport of Na^+ out of the cytoplasm and across the tonoplast (into the vacuole) by the NHX1 antiporter, though transport across the plasma membrane is probably mediated by the SOS1 antiporter (Davenport et al., 2005; Munns and Tester, 2008; Britto and Kronzucker, 2008; Ape and Blumwald, 2007).

High K^+ concentrations in plant cells are essential for several biochemical and physiological processes, such as stomatal movements, photosynthesis and protein synthesis (Rubio et al., 2003; Ape and Blumwald, 2007; Olías et al., 2009; Yao et al., 2010). The increase in photosynthesis induced by the high K^+/Na^+ ratios occurred in parallel with an increase in the transpiration and stomatal conductance, possibly modulated by increases in the leaf K^+ concentrations. The close correlation observed between the leaf K^+/Na^+ ratios and photosynthesis/plant growth indicates that this ratio

is very important to avoid the deleterious effects of Na^+ . The K^+/Na^+ ratios in the plant tissues were directly associated with high K^+ selectivity rates over Na^+ , which are dependent on the differences in the ion affinity of each tissue, as represented by the membrane permeability.

Ion selectivity is a major factor related with K^+/Na^+ interactions at the whole-plant level. For example, when the external concentrations of Na^+ and K^+ were similar (50 mM), K^+ presented a leaf-selectivity rate approximately 9-fold higher than Na^+ . However, under a lower external K^+ concentration (12.5 mM) and a higher Na^+ concentration (50 mM), the K^+ selectivity was 5-fold higher than the Na^+ selectivity in the leaves. Thus, the high K^+ selectivity over Na^+ in *J. curcas* could explain the effectiveness of the external K^+ in alleviating the Na^+ toxicity. The highlight of this study is that it illustrates an integrated view of the K^+/Na^+ interactions that involve some essential physiological aspects, such as root uptake, xylem loading, transport, selectivity and K^+/Na^+ ratios, at the plant level. More importantly, perhaps, is the observed correlation between these processes and photosynthesis and plant growth, which may be essential traits to salt tolerance in glycophytes.

Here, we present a comprehensive study involving some essential physiological steps involved with the amelioration of Na^+ toxicity by external K^+ , utilizing a plant model that exhibits a strong antagonism among these ions. Taken together, our results show that a supply of high concentrations of K^+ might attenuate the adverse effects caused by Na^+ and allow an adequate ion homeostasis, as determined by the most favorable K^+/Na^+ ratios in all of the examined organs of *Jatropha curcas*.

In conclusion, the favorable physiological characteristics, which resulted from a high K^+ affinity and selectivity over Na^+ , were associated with high rates of root uptake, xylem flux and shoot transport and were essential to promote adequate K^+/Na^+ ratios in the plant tissues and avoid the adverse effects of Na^+ . These conditions allowed high rates of photosynthesis and growth, even at a potentially toxic NaCl level.

Acknowledgements- This work was supported by Brazilian agencies: CNPq, Capes and Funcap. Thanks Institute Tamanduá, Santa Terezinha, Paraiba, Brazil, by kind supply of *Jatropha curcas* seeds.

References

Apse MP, Blumwald E. Na^+ transport in plants. FEBS Letters 2007;581:2247-2254.

- Britto DT, Ebrahimi-Ardebili S, Hamam AM, Coskun D, Kronzucker HJ. ^{42}K analysis of sodium-induced potassium efflux in barley: mechanism and relevance to salt tolerance. *New Phytol* 2010;186:373–384.
- Britto DT, Kronzucker HJ. Cellular mechanisms of potassium transport in plants. *Physiol Plant* 2008;133:637–650.
- Carden DE, Walker DJ, Flowers TJ, Miller AJ. Singlecell measurements of the contributions of cytosolic Na^+ and K^+ to salt tolerance. *Plant Physiology* 2003;131:676–683.
- Coskun D, Britto DT, Kronzucker. Regulation and mechanism of potassium release from barley roots: an in planta $^{42}\text{K}^+$ analysis. *New Phytol* 2010;188:1028-1038.
- Davenport R, James RA, Plogander-Zakrisson A, Tester M, Munns R. Control of Sodium Transport in Durum Wheat. *Plant Physiol* 2005;137:807–818.
- Dreyer I, Blatt MR. What makes a gate? The ins and outs of Kv-like K^+ channels in plants. *Trends in Plant Science* 2009;14:383–390.
- Essah PA, Davenport R, Tester M. Sodium influx and accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2003;133:307-318.
- Ferreira-Silva SL, Voigt EL, Viégas RA, Paiva JR, Silveira JAG. Influence of rootstocks on the resistance of seedlings of cashew plants to salt stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília 2009;44:361-367.
- Flowers TJ. Improving crop salt tolerance. *Journal of Exp Botany* 2004;55:307-319.
- Hoagland DR, Arnon DI. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular* 1950;347:1-32.
- Huang Z Z, Yan X, Jalil A, Norlyn JD, Epstein E Short-term experiments on ion transport by seedlings and excised roots. *Plant Physiology* 1992;100:1914-1920.
- Jeschke WD, Stelter W. Ionic relations of garden orache, *Atriplex hortensis*: Growth and ion distribution at moderate salinity and the function of bladder hair. *Journal of Exp Botany* 1983; 34:795–810.
- Kronzucker HJ, Britto DT. Sodium transport in plants: a critical review. *New Phytol* 2011;189:54–81.
- Maathius FJ, Amtmann A. K^+ nutrition and Na^+ toxicity: the basis of cellular K^+ / Na^+ ratios. *Annals of Botany* 1999;84:123-133.
- Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 2008;59:651-681.

- Oliás R, Eljakaoui Z, Li J, Morales PA, Marín-Manzano MC, Pardo JM, Belver A. The plasma membrane Na^+/H^+ antiporter SOS1 is essential for salt tolerance in tomato and affects the partitioning of Na^+ between plant organs. *Plant, Cell and Environ* 2009;32:904–916.
- Rubio F, Flores P, Navarro J M, Martinez V. Effects of Ca^{2+} , K^+ and cGMP on Na^+ uptake in pepper plants. *Plant Science* 2003;165: 1043-1049.
- Shabala S, Cuin TA. Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiol Plant* 2007;133:651-669.
- Schurr U. Xylem sap sampling – new approaches to an old topic. *Trends in Plant Science* 1998;3:293-298.
- Shi H, Quintero FJ, Pardo JM, Zhu JK. The Putative Plasma Membrane Na^+/H^+ Antiporter SOS1 Controls Long-Distance Na^+ Transport in Plants. *The Plant Cell* 2002;14:465–477.
- Silva EN, Silveira JAG, Rodrigues CRF, Dutra ATB, Aragão RM. Acúmulo de íons e crescimento de pinhão-mansô sob diferentes níveis de salinidade. *Revista Ciência Agronômica* 2009;40:240-246.
- Silveira JAG, Araújo SAM, Lima JPMS, Viégas RA. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. *Environ Exp Bot* 2009;66:1–8.
- Szczerba MW, Britto DT, Kronzucker HJ K^+ transport in plants: physiology and molecular biology. *Journal of Plant Physiol* 2009;166:447– 466.
- Voigt EL, Caitano RF, Maia JM, Ferreira-Silva SL, Macedo CEC de, Silveira JAG. Involvement of cation channels and NH_4^+ -sensitive K^+ transporters in Na^+ uptake by cowpea roots under salinity. *Biologia Plantarum* 2009;53:764-768.
- Tester M, Davenport R. Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. *Annals of Botany* 2003; 91:503-527.
- Yahya A. Selectivity and partitioning of potassium and sodium in sesame. *J Plant Nutr* 2010;33:670–683.
- Yao X, Horie T, Xue S, Leung Ho-Yin, Katsuhara M, Brodsky DE, Wu Y, Schroeder JI. Differential Sodium and Potassium Transport Selectivities of the Rice OshKT2;1 and OshKT2;2 Transporters in Plant Cells. *Plant Physiol* 2010;152:341–355.

- Welbank PJ. The effects of competition with *Agropyron repens* and nitrogen and water on the nitrogen content of *Impatiens parviflora*. *Annals of Botany* 1962;26:361–373.
- Zhu JK Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol* 2003;6:441–445.

Normas de acordo com o periódico em que o artigo foi submetido.

6. **CAPÍTULO 3 - Artigo 2 – Transporte e distribuição de K^+ atenuam os efeitos tóxicos do Na^+ em plantas jovens de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**

Artigo Submetido na Revista Brasileira de Ciência do Solo no dia 24/12/2010

Resumo

O trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar mecanismos fisiológicos envolvidos com a interação entre K^+ e Na^+ em plantas jovens de *Jatropha curcas* expostas a diferentes níveis desses íons. O estudo envolveu uma combinação com dois níveis de KCl e NaCl em solução nutritiva, perfazendo os seguintes tratamentos: K_0Na_0 (ausência de NaCl e KCl), K_0Na_1 (KCl 0 mM/50 mM NaCl), K_1Na_0 (KCl 10 mM/0 mM NaCl) e K_1Na_1 (KCl 10mM/50mM NaCl), com duas épocas de coletas, num esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$. Os resultados mostraram que os íons K^+ e Na^+ apresentaram forte interação antagônica, em termos de taxas de transporte em caule, pecíolos e folhas. Numa condição de $[K^+]_{ext}$ ausente as plantas de pinhão manso apresentaram elevada afinidade por Na^+ em folhas, fato que contribuiu para acumulação excessiva desse íon na parte aérea, induzindo sintomas visuais de toxicidade nas folhas. Inversamente, a presença de níveis adequados de potássio no meio externo foi capaz de contribuir para atenuar a acumulação excessiva de sódio nas diversas partes da planta, causando diminuição na redução das taxas do fluxo de Na^+ no xilema. Em síntese, plantas de pinhão manso com $[K^+]_{ext}$ em níveis adequados e expostas ao excesso de NaCl, reduzem os efeitos adversos do excesso de sódio. Estes dados sugerem que níveis adequados K^+ no meio radicular promovem fortemente a mitigação dos efeitos adversos do excesso de sódio e redução deste íon em plantas de *J. curcas*.

Termos para indexação: absorção, estresse salino, *Jatropha curcas* L, nutrição mineral.

Transport and partitioning of K^+ alleviates toxic effects of Na^+ ions in *Jatropha curcas* young plants

Summary

This study was assessed in order to characterize some physiological mechanisms involved with K^+ and Na^+ interaction in *Jatropha curcas* seedlings exposed to salinity.

The plants were exposed to the following KCl and NaCl combinations: K_0Na_0 (absence of both NaCl and KCl), K_0Na_1 (0 mM KCl/50 mM NaCl), K_1Na_0 (10 mM KCl / 0 mM NaCl) and K_1Na_1 (KCl 10mM/50mM NaCl). The experiment was carried out in nutrient solution in a $2 \times 2 \times 2$ factorial design with two plant harvests. The results show that after the trial period the ions K^+ and Na^+ presented strong antagonistic interaction in terms of rates of transport in roots, stem and leaf. A condition of $[K^+]_{ext}$ absent from physic nut plant showed high affinity for Na^+ in leaves, which contributed to excessive accumulation of this ion in the shoot, inducing symptoms of toxicity in the leaves. Conversely, the presence of adequate levels of potassium in the external environment was able to contribute to alleviating the excessive accumulation of sodium in various parts of the plant, causing a decrease in reduced rates of Na^+ flux in the xylem. In summary, physic nut plant with $[K^+]_{ext}$ at appropriate levels and exposed to excess NaCl, reduce the adverse effects of excess sodium. These data suggest that $[K^+]_{ext}$ strongly promote the mitigation of the adverse effects of excess sodium and reduction of this ion in plants *J. curcas*.

Index terms: ion uptake, *Jatropha curcas* L, nutrition, salt stress.

Introdução

A salinização dos solos cultivados tem aumentado principalmente nas áreas irrigadas, causando a redução da produtividade de várias culturas (Munns & Tester 2008), especialmente nas regiões semiáridas. Os prejuízos causados pela salinidade elevada dos solos têm sido atribuídos aos efeitos tóxicos de Na^+ sobre o metabolismo das plantas. No caso da nutrição das plantas, o excesso de Na^+ causa diminuição nos níveis de K^+ , especialmente nas raízes (Alves et al., 2008). Esse efeito pode ser devido à redução no influxo ou aumento no efluxo de K^+ (Ashley et al., 2006; Apse & Blumwald, 2007). A interação entre Na^+ e K^+ ocorre no transporte da membrana plasmática, envolvendo transportadores e canais de K^+ (Buschmann et al., 2000; Voigt et al., 2009).

O mecanismo de interação entre Na^+ e K^+ ainda não são totalmente esclarecidos, mas as similaridades físico-químicas existentes entre eles são preponderantes para aquele processo (Maathius & Amtmann, 1999). A alta concentração de Na^+ , especialmente nos solos sódicos, aliada à baixa concentração de K^+ , poderá aumentar o transporte de sódio, causando carência de potássio na planta (Giert & Maser, 2007; Lebaudy et al., 2007). Ao contrário, evidências experimentais têm mostrado que níveis

adequados de K^+ no meio externo contribuem para atenuar a absorção e os efeitos tóxicos do Na^+ nas plantas (Maathius & Amtmann, 1999; Munns, 2005). Dessa maneira, uma nutrição adequada em K^+ poderá favorecer o crescimento de plantas sob condições de salinidade por meio de uma homeostase mais favorável (Munns, 2008; Munns, 2002; Zhu, 2003).

As plantas podem manter uma homeostase K^+/Na^+ favorável por meio de diversos mecanismos, envolvendo absorção, transporte no xilema, partição entre as partes da planta e compartimentalização entre citosol e vacúolos (Maathius & Amtmann, 1999; Mengel & Kirby, 2001; Zhu, 2003). As estratégias para manter níveis adequados de K^+ e Na^+ no citosol variam amplamente entre espécies e cultivares e esse fator (relação K^+/Na^+) tem sido utilizado como marcador fisiológico na seleção de plantas mais resistentes à salinidade (Flowers, 2004; Ashley et al., 2006; Munns & Tester, 2008). Nesse contexto, os mecanismos de transporte de Na^+ e K^+ exercem papel central na homeostase iônica e na resistência ao estresse salino, sobretudo em plantas cultivadas sob baixo nível de K^+ e em solos salinos (Apse & Blumwald, 2007).

Resultados anteriores têm mostrado que plantas jovens de pinhão manso apresentam concentrações muito elevadas de K^+ nas folhas e que na presença de níveis relativamente baixos de NaCl na solução nutritiva (50 mM) os níveis de K^+ são reduzidos quase 10 vezes (Silva et al., 2009a). Essa observação sugere dois aspectos fisiológicos importantes: (1) a espécie deve ser muito exigente em potássio (alta afinidade); (2) deve existir um intenso antagonismo entre os dois íons (interação do tipo duplamente recíproca). Entretanto, são necessários mais estudos envolvendo a interação entre K^+ e Na^+ , nas plantas em geral, particularmente envolvendo o transporte e a distribuição na planta inteira, para que se esclareça melhor a interação entre esse dois íons ao nível da planta inteira.

Pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie originada provavelmente das Américas e amplamente cultivada em regiões áridas e semiáridas (Silva et al., 2009a). Essa espécie apresenta enorme potencial como produtora de bioenergia em vários países (Behera et al., 2010). Entretanto, diversos problemas agronômicos, incluindo a nutrição mineral e o desempenho da planta em solos salinos, necessitam ser resolvidos. O conhecimento dos mecanismos da interação entre K^+ e Na^+ ainda é pouco conhecido a despeito de diversos trabalhos terem mostrado a forte interação entre eles. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi elucidar mecanismos da interação entre K^+ e Na^+ , em nível de transporte e partição na planta inteira, visando avaliar o papel protetor do

K^+ sobre a acumulação de Na^+ assim como o efeito negativo do excesso de sódio na nutrição potássica.

Material e Métodos

Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente à Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE (3°44'S e 38°33'W). As condições ambientais no interior da casa de vegetação foram: fotoperíodo de 12 horas, temperatura média mínima de 24 °C, temperatura máxima de 36 °C, temperatura média diária de 29 °C, umidade relativa do ar média de 65% e radiação fotossinteticamente ativa máxima média de aproximadamente 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Foram utilizadas sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) da linhagem FT 2 fornecidas pelo Instituto Fazenda Tamanduá, Santa Terezinha-PB. Sementes previamente selecionadas por tamanho e peso foram germinadas em areia e mantidas oito dias após o semeio e irrigadas diariamente com água destilada. Em seguida, as plântulas foram transferidas para vasos de 2 L, contendo solução de Hoagland e Arnon (1950) com diluição de $\frac{1}{4}$ na primeira semana e $\frac{1}{2}$ na segunda semana, com pH 6,0 ajustado a cada dois dias com NaOH 1 mol L⁻¹ ou HCl 1 mol L⁻¹. As soluções foram completamente renovadas a cada semana e mantidas sob aeração forçada. As concentrações de K^+ na solução nutritiva foram de 1,5 mol L⁻¹ e 3,0 mol L⁻¹, na primeira e segunda semana, respectivamente.

Em seguida, plantas com três semanas de idade (após o semeio), foram transferidas para novas soluções nutritivas contendo as seguintes concentrações de K^+ e Na^+ , fornecidos como KCl e NaCl, perfazendo quatro tratamentos: (1) ausências de K^+ e de NaCl (K_0Na_0); (2) ausência de K^+ e presença de 50 mM de NaCl (K_0Na_1); (3) 10 mM de K^+ e ausência de NaCl (K_1Na_0) e (4) 10 mM de K^+ e 50 mM de NaCl (K_1Na_1). O tratamento K_1Na_0 foi adotado como referência ou controle. Os tratamentos permaneceram por oito dias e, após isso, as plantas foram separadas em folhas, caules, pecíolos e raízes e secas em estufa com circulação de ar (70 °C por 72 horas) para as determinações de massa seca e concentrações de Na^+ e K^+ .

Determinação das concentrações de sódio e potássio

As determinações das concentrações de sódio e potássio foram realizadas conforme descrito em Silva et al. (2009a). A extração foi feita utilizando 50 mg material

moído com 20 mL de H₂O deionizada em banho-maria a 100 °C por 1 hora. O extrato obtido foi centrifugado e seu sobrenadante foi analisado em fotômetro de chama (Micronal, modelo B462) para as determinações das concentrações de Na⁺ e K⁺.

Coleta da seiva de xilema

A coleta da seiva do xilema radicular foi realizada pela técnica de extração de vácuo (Schurr, 1998). Para tanto, o caule foi cortado em bixel na altura no colo, a 3 cm da raiz. As primeiras gotas exudadas foram descartadas e as seguintes foram coletadas num intervalo de uma hora. As amostras foram armazenadas em microtubos e as amostras foram congeladas a -20 °C para determinações das concentrações de Na⁺ e K⁺.

Determinação dos fluxos na seiva, taxa de acumulação de K⁺ e Na⁺ e seletividade dos fluxos dos ions K⁺ - Na⁺ em partes da planta

Inicialmente, foi determinado o fluxo da seiva do xilema por meio da pesagem do líquido coletado, assumindo uma densidade de 1,0 para a seiva. O fluxo da seiva radicular foi coleta na região do colo caulinar, por meio de corte em bixel com estilete. As primeiras gotas do exudado foram desprezadas e a coleta durou 60 minutos. As concentrações de K⁺ e Na⁺ foram determinadas por fotometria de chama e o fluxo dos íons na seiva foi expresso em [(mmol kg seiva h)⁻¹]. As taxas de acumulação de Na⁺ (J_{Na}) e K⁺ (J_K) em folhas, caules, pecíolos raízes foram calculados a partir da variação das concentrações de Na⁺ e K⁺ (com oito dias de tratamento) e da variação da massa seca das raízes de acordo com equação descrita por Welbank (1962).

$$J_{Na} \text{ or } J_K = \frac{(M_2 - M_1)}{T_2 - T_1} \times \frac{\ln(W_2 - W_1)}{W_2 - W_1}$$

Onde J_{Na} ou J_K:

M₁ e M₂ = concentrações de K⁺ e Na⁺ nas diferentes partes da planta no tempo inicial (M₁) e tempo final M₂, oito dias;

T = tempo em dias, sendo T₁ o tempo inicial e T₂ o tempo após 8 dias de tratamento.

W = massa seca de raízes, sendo W₁ no tempo inicial e W₂ massa seca no tempo final. Os resultados de fluxo foram expressos como [mmol (kg de massa seca de raiz. dia)⁻¹]. A seletividade de K⁺ - Na⁺ dos fluxos de íons foi descrita pela relação de seletividade descrita por Jeschke & Stelter, (1983):

$$S_{K, Na} = \frac{J_K}{J_{Na}} \times \frac{[Na^+]_{ext}}{[K^+]_{ext}}$$

Taxa de transpiração

Ao final dos oito dias de tratamento, foram realizadas leituras de transpiração em folhas totalmente expandidas do terço médio das plantas, utilizando um analisador de gás no infravermelho (IRGA, mod LCA-2, ADC, Hoddesdon, UK). As leituras foram feitas em condições de casa de vegetação entre 9:00 e 10:00 h da manhã.

Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2×2 (duas doses de potássio e duas de sódio) com cinco repetições, sendo uma planta por vaso representando uma unidade experimental. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados

Acúmulo de massa seca em diferentes partes, fluxo dos íons na seiva do xilema radicular e transpiração

Após exposição às quatro combinações $K^+ \times Na^+$ durante oito dias, as plantas de pinhão manso mostraram diferenças significativas na acumulação de massa seca em folhas, caules, pecíolos e raízes (Tabela 1). Nos dois tratamentos com ausência de K^+ na solução nutritiva (K_0Na_0 e K_0Na_1), a massa seca das folhas foi reduzida por efeito da presença de Na^+ . Esse mesmo efeito foi observado nas duas combinações com a presença de um nível elevado de potássio (10 mM): K_1Na_0 e K_1Na_1 (Tabela 1). As demais partes da planta (caule, pecíolos e raízes) mostraram a mesma tendência observada nas folhas em termos dos efeitos das combinações $K \times Na$. É interessante observar que nas combinações K_0Na_0 e K_1Na_1 as massas secas das diferentes partes foram iguais nesses tratamentos, indicando uma possível compensação da ausência de potássio com a presença do sódio (Tabela 1).

Tabela 1 . Massa seca das folhas, caule, pecíolos e raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K^+ e 50 mM de Na^+ .

Tratamentos	Folhas	Caule	Pecíolos	Raízes
$g \text{ planta}^{-1}$				
K_0Na_0	0,80a	0,47a	0,15b	0,28a
K_0Na_1	0,65b	0,46a	0,15b	0,29a
K_1Na_0	0,9a	0,48a	0,18a	0,30a
K_1Na_1	0,75b	0,37b	0,18a	0,28a

* Médias iguais seguidas com letras minúsculas não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

É importante observar que mesmo na ausência de potássio durante oito dias, as concentrações desse íon, nas diversas partes analisadas das plantas, atingiram níveis adequados de K^+ . De fato, nesses tratamentos, as folhas apresentaram concentrações de 2,81 % e 2,86% na base de massa seca, nos tratamentos K_0Na_0 e K_0Na_1 , respectivamente, indicando que *J. curcas* é uma espécie acumuladora de K^+ , como demonstrado anteriormente (Silva et al., 2009b). Esses valores indicam que as plantas cultivadas na ausência de potássio não apresentaram deficiência desse nutriente, corroborado pelos dados de massa seca que não sofreram redução em folhas e raízes no tratamento K_0Na_0 em comparação ao K_1Na_0 (controle) – Tabela 1. As maiores concentrações de Na^+ foram alcançadas no caule e no tratamento K_0Na_1 , que atingiu valores de 3,76% ou 1.637 mmol kg^{-1} MS (Tabela 2). Apesar dessa concentração Na^+ ter sido elevada, ela acarretou pequenas reduções de massa seca nas diversas partes da planta analisadas, possivelmente devido ao curto período de exposição das plantas – uma semana de tratamento (Tabela 1).

Tabela 2 . Concentrações de Na^+ e K^+ em folhas, caule, pecíolos e raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K^+ e 50 mM de Na^+ .

Tratamentos	Folhas		Caule		Pecíolos		Raízes	
	K^+	Na^+	K^+	Na^+	K^+	Na^+	K^+	Na^+
	mmol kg^{-1} MS							
K_0Na_0	722cA	340dB	961cC	326cB	299bB	282bB	788cA	565bB
K_0Na_1	735cB	1659aA	1064bB	1637aA	194cB	753aA	666cB	1478aA
K_1Na_0	1837aA	405cB	1448aA	391cB	649aA	293bB	1576aA	500bB
K_1Na_1	1444bA	1057bB	1217bB	1043bB	598aB	851aA	1320bA	1282aB

*Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para potássio ou sódio) e maiúsculas (entre potássio e sódio) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

A presença de 10 mM de K^+ na solução nutritiva (K_1) causou intensa redução no fluxo de Na^+ na seiva do xilema (tratamentos K_0Na_1 versus K_1Na_1), uma queda em torno de 50% (Figura 1A). Diferentemente, presença de 50 mM de NaCl causou uma redução menor (17%) no fluxo de potássio na seiva do xilema (tratamentos K_1Na_0 versus K_1Na_1), indicando que a despeito da concentração de sódio na solução ter sido cinco vezes maior do que a de potássio, o K^+ apresentou uma seletividade maior no xilema, comparada ao Na^+ . Como esperado, o tratamento controle (K_1Na_0) apresentou os maiores valores de fluxo de K^+ e os menores para Na^+ . Os tratamentos na ausência de K^+ (K_0Na_0 e K_0Na_1) apresentaram menores fluxos de potássio comparado ao controle. A presença de K^+ foi essencial para as taxas de transpiração as quais foram

reduzidas pela presença do NaCl, tanto na ausência como na presença de potássio. Foi observada uma relação próxima entre as taxas de transpiração e o fluxo de potássio no xilema do que o Na⁺ (Figura 1B).

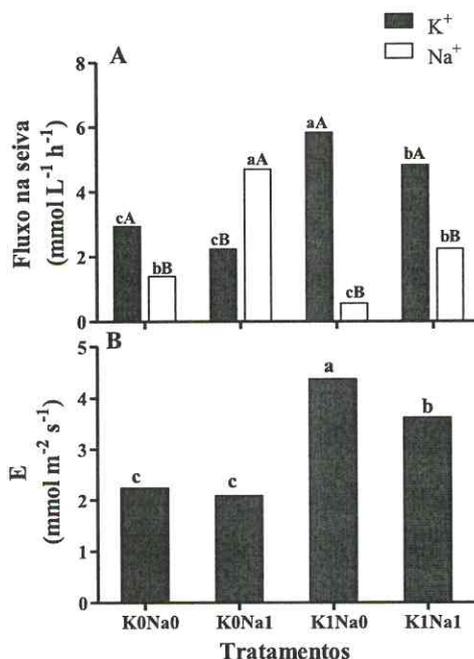


Figura 1 - (A) Fluxo de Na⁺ e K⁺ na seiva de xilema e (B) transpiração de pinhão manso submetido à concentração externa de 10 mM de K⁺ e 50 mM de Na⁺. Os valores representam médias de cinco repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para potássio ou sódio) e maiúsculas (entre potássio e sódio) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Taxas de acumulação de K⁺ e Na⁺ e seletividade de K⁺ em folhas, caule, pecíolos e raízes

As taxas de acumulação de Na⁺, nos tratamentos contendo esse íon, foi maior que o do K⁺ em todas as combinações e em todas as partes analisadas, exceção do tratamento K₁Na₁ nas raízes (Figura 2). A presença de K⁺ na concentração de 10 mM causou uma redução de 52% no transporte de Na⁺ para as folhas (tratamentos K₁Na₁ *versus* K₀Na₁). Enquanto que a presença de 50 mM de Na⁺ apresentou uma menor (28%) influencia na taxa líquida do transporte de K⁺ para as folhas (tratamentos K₁Na₁ *versus* K₁Na₀). Mais uma vez, esses resultados indicam que o potássio possuiu uma maior seletividade nas folhas de pinhão manso quando comparado ao sódio. No caule, o antagonismo entre o transporte foi evidenciado por reduções semelhantes: a presença de K⁺ causou uma redução de 53% no transporte de Na⁺ (combinações K₁Na₁ *versus* K₁Na₀) enquanto que a de Na⁺ induziu redução de 41% (K₁Na₁ *versus* K₀Na₁).

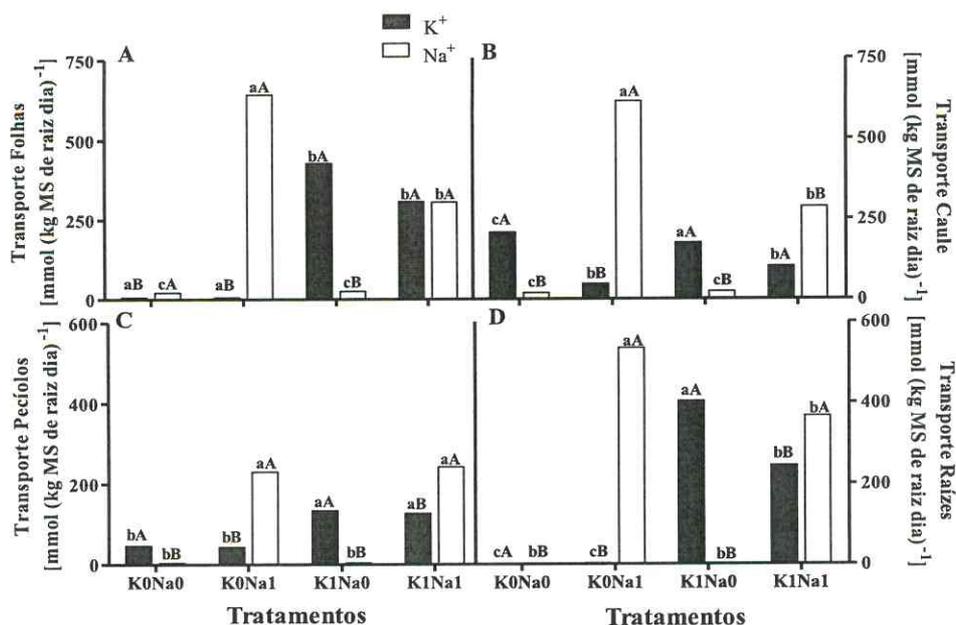


Figura 2 – Transporte de Na^+ e K^+ em (A) folhas, (B) caule, (C) pecíolos e (D) raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K^+ e 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de cinco repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para potássio ou sódio) e maiúsculas (entre potássio e sódio) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Enquanto que, nos pecíolos as taxas de transporte desses dois íons foram muito menores do que nas folhas e caule, devido às baixas concentrações após o período de exposição aos tratamentos. Neste caso, não houve interação significativa, ou seja, a presença de um íon não influenciou a taxa de acumulação do outro. Já as raízes mostraram uma resposta diferencial quando comparada com as folhas, caule e pecíolos. Naquele órgão a presença de K^+ externo causou redução de 31% na taxa de transporte de Na^+ (K_1Na_1 versus K_0Na_1) enquanto que a presença desse íon reduziu (16%) o transporte de K^+ (K_1Na_1 versus K_1Na_0). Em síntese, a despeito da $[\text{K}^+]_{\text{ext}}$ ter sido cinco vezes menor que a $[\text{Na}^+]_{\text{ext}}$, o primeiro mostrou maior seletividade no transporte para a parte aérea a despeito de das menores taxas de transporte apresentadas. Em outras palavras, o K^+ externo foi capaz de reduzir significativamente a taxa de transporte de sódio e conseqüentemente a acumulação de íon salino. Os pecíolos apresentaram uma resposta singular, não apresentando acumulação desses íons em diferenças as taxas de acumulação e seletividade para os mesmos.

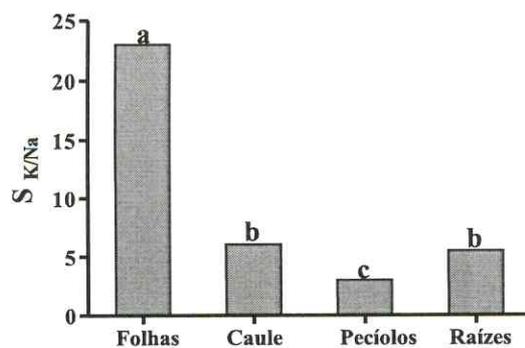


Figura 3 – Seletividade de K⁺ no tratamento K₁Na₁ em (A) folhas, (B) caule, (C) pecíolos e (D) raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K⁺ e 50 mM de Na⁺. Os valores representam médias de cinco repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey (p<0,05).

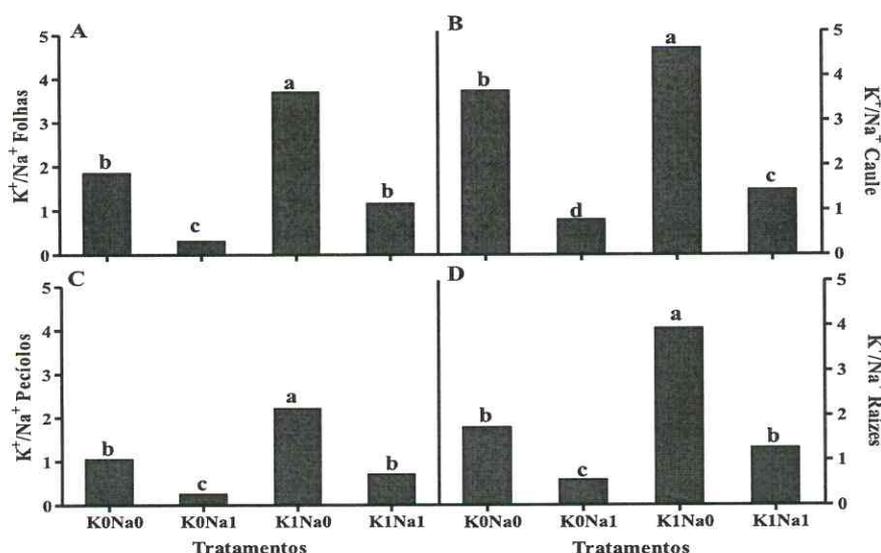


Figura 4 – Dados da relação K⁺/Na⁺ em (A) folhas, (B) caule, (C) pecíolos e (D) raízes de pinhão manso submetidas à concentração externa de 10 mM de K⁺ e 50 mM de Na⁺. Os valores representam médias de cinco repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (entre os tratamentos) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey (p<0,05).

A seletividade K⁺-Na⁺ com base nos fluxos dos dois íons no tratamento K₁Na₁ foi maior nas folhas (23,0), seguido por caule (6,1), raízes (5,5) e pecíolos (3,0) – Figura 3. A seletividade calculada com base na relação entre K⁺/Na⁺ por meio da relação molar (concentração), entre os íons nos tecidos de cada parte da planta, mostrou que comparando as combinações K₁Na₁ ao K₀Na₁, as relações foram reduzidas em 73% (de 1,16 para 0,31), 45% (1,16 para 0,63), 64% (0,70 para 0,25), 55% (1,02 para 0,45) e 53% (2,15 para 0,47), em folhas, caule, pecíolos, raízes e xilema, respectivamente (Figura 4). Os resultados mostraram que as folhas de *J. curcas* apresentaram a maior seletividade para K⁺, mesmo na presença de concentração elevada de Na⁺, enquanto que

os pecíolos funcionaram nitidamente como um sistema de passagem, com baixas taxas de acumulação dos íons e baixa seletividade de K^+ .

A presença de uma concentração elevada (10 mM) de potássio no meio externo foi capaz de reduzir significativamente as taxas de acumulação de Na^+ especialmente nas folhas e caule, comparado com a ausência de potássio na solução (Figura e Tabela 2). Associado com a maior seletividade de K^+ nas folhas, esse nutriente foi capaz de atenuar os efeitos tóxicos causados pelo o Na^+ nas folhas, como pode ser observado nos tratamentos K_1Na_1 e K_0Na_1 no detalhe da Figura 5.

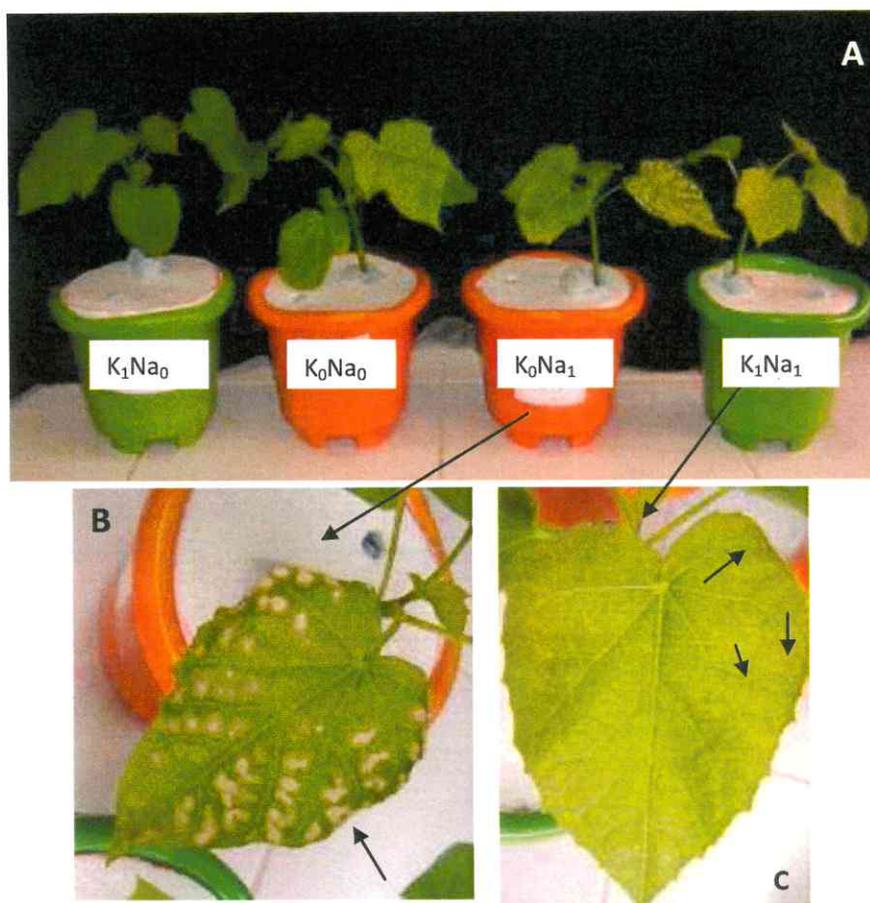


Figura 5 – A, Crescimento das plantas nos diferentes tratamentos; B e C, sintomas de toxidez em folhas de plantas jovens de pinhão manso causadas por excesso de sais.

Discussão

No presente estudo observou-se um antagonismo forte K^+ e Na^+ nas taxas de acumulação desses íons nos diversos órgãos e no fluxo na seiva do xilema. Apesar disso, esses íons atingiram concentrações apreciáveis nas diversas partes vegetativas de plantas jovens de *J. curcas*, mesmo sob condições de competição de ambos. Esses dados mostram que a espécie possui grande afinidade por esses íons conforme foi

demonstrado previamente (Silva et al., 2009a), podendo, portanto, ser classificada como uma espécie concentradora desses íons, especialmente nas folhas. O K^+ externo foi capaz de exercer um efeito significativo na redução das taxas de acumulação do Na^+ na parte aérea, reduzindo significativamente sua toxicidade. A maioria das espécies vegetais responde de maneira similar em termos de antagonismo $K^+ - Na^+$ e esse assunto tem merecido a atenção de diversos grupos nos últimos anos (Maathius & Amtmann, 1999; Zhu, 2003).

Espécies ou cultivares com capacidade para excluir o Na^+ de partes vitais da célula como o citosol e organelas (exceção dos vacúolos) e mantendo uma homeostase favorável são mais aptas a enfrentar a salinidade, especialmente em solos sódicos e salino-sódicos (Munns & Tester, 2008; Munns, 2005; Munns, 2002). Essa característica apresenta grande variabilidade genética e pode ser explorado no desenvolvimento de cultivares resistentes ao estresse salino (Flowers, 2004). A base molecular e fisiológica das interações $K^+ - Na^+$ sob condições de excesso de NaCl é complexa e ainda pouco compreendida (Buschmann et al., 2000; Rubio et al., 2003). Alguns dos mecanismos que controlam essa interação ocorrem no transporte via membrana plasmática, envolvendo canais e transportadores de K^+ (Voigt et al., 2009; Alves et al., 2008; Ebert et al., 2002). Esse primeiro controle é exercido nas raízes e envolvem os processos de influxo e efluxo associados com os sistemas de alta e baixa afinidade (Essah et al., 2003; Ebert et al., 2002). Apesar de ainda não estar totalmente esclarecido, as evidências apontam que o transporte de Na^+ ocorre principalmente através do sistema de baixa afinidade de K^+ , envolvendo canais e transportadores de K^+ , além de canais não seletivos de cátions (Essah et al., 2003; Rubio et al., 2003; Buschmann et al., 2000; Ferreira et al., 2001).

Os resultados apresentados nesse artigo mostram que a presença de concentração elevada de K^+ externo causou um intenso decréscimo no fluxo de Na^+ na seiva do xilema radicular (Figura 1A). Esse tipo de interação é bastante favorável no sentido de controlar o fluxo desse íon para a parte aérea das plantas. De fato, na presença de K^+ as taxas de acumulação de sódio nas folhas foram significativamente diminuídas indicando que a redução no carregamento desse íon no xilema radicular exercida por K^+ foi essencial no processo global de distribuição de Na^+ na parte aérea. A passagem de Na^+ da raiz para os vasos xilemáticos nas plantas, através das células do parênquima, envolve transportadores e canais seletivos de K^+ (Munns & Tester, 2008). Esse passo é considerado crítico para a exclusão de Na^+ da parte aérea e contribui decisivamente para

uma maior tolerância ao estresse salino em algumas espécies como ocorre, por exemplo, em cevada (Munns, 2002). Uma vez atingido o xilema, as espécies vegetais dispõe de mecanismos capazes de excluir o excesso de Na^+ das folhas (Munns e Tester, 2008; Akinci, 2004; Lacerda et al., 2004; Silva et al., 2003)

Os mecanismos mais comuns utilizado para evitar o transporte excessivo de Na^+ do xilema para as folhas são: (1) retenção desse íon nas próprias células do caule; (2) retenção de sódio nos vacúolos das folhas mais velhas; (3) reciclagem xilema-floema, transferindo o excesso desse íon para as raízes (Cabot et al., 2005; Watson et al., 2001; Lacombe et al., 2000). No caso de *J. curcas*, é interessante observar que esses mecanismos aparentemente não são muito efetivos, mesmo na presença de K^+ e baixas concentrações de Na^+ (25 mM), uma vez que as concentrações de sódio nas folhas foram elevadas (Silva et al., 2009a). Os dados do presente estudo corroboram essa resposta e mostram uma possível explicação para esse fato. Apesar da alta seletividade de K^+ nas folhas (Figura 3), as taxas de acumulação e as concentrações de Na^+ nas folhas foram elevadas (Figura e Tabela 2), evidenciando mecanismos pouco eficientes para restringir o fluxo de sódio. Essa explicação é reforçada pelos os dados de baixas taxas de acumulação desse íon nos pecíolos, indicando um baixo controle no fluxo desse nutriente desde as raízes até as folhas.

Uma vez atingindo a folha, o efeito tóxico do Na^+ dependerá de alguns fatores. Os mais importantes são: (1) capacidade de armazenamento nos vacúolos; (2) manutenção de níveis elevados de K^+ no citosol, resultando numa relação K^+/Na^+ elevada; (3) resistência tecidual à toxicidade de Na^+ (Munns & Tester, 2008; Munns, 2005). No caso de plantas jovens (30 dias de idade) de *J. curcas*, as concentrações de Na^+ nas folhas aumentam intensamente já a partir de 25 mM após 15 dias de exposição com surgimento dos primeiros sintomas visuais de toxicidade e a partir de 50 mM os sintomas se tornam intensos com manchas necróticas. Além disso, à medida que a concentração de Na^+ no meio externo aumenta, a concentração de K^+ nas folhas decrescem abruptamente (Silva et al., 2009a). Comparando esses resultados com os obtidos no presente estudo, foi possível observar que uma concentração maior de K^+ , num tempo de exposição de oito dias, foi capaz de reduzir a taxa de acumulação de Na^+ e evitar o surgimento de sintomas visuais agudos (manchas necróticas) no limbo foliar (Figura 5).

Como ocorre em algumas outras espécies de glicófitas, concentrações adequadas de K^+ podem atenuar parte dos efeitos adversos causados pelo o excesso de

Na^+ em *J. curcas*. É interessante frisar que essa espécie, na fase de planta jovem, apresenta concentrações muito elevadas de K^+ nas folhas, mesmo quando cultivada com níveis moderados desse nutriente (3 mM) na solução nutritiva. Recentemente, foram observados resultados semelhantes com plantas jovens cultivadas em vasos com solos (J.A.G Silveira – comunicação pessoal). São necessários mais estudos com plantas adultas e sob condições de campo para confirmar se pinhão manso é de fato muito exigente em K^+ e se esse nutriente no solo em concentrações elevadas é capaz de atenuar os efeitos tóxicos causados pelo Na^+ . Em síntese, plantas de pinhão manso com $[\text{K}^+]_{\text{ext}}$ em níveis adequados e expostas ao excesso de NaCl, reduzem os efeitos adversos do excesso de sódio, possivelmente pela redução no transporte de Na^+ no xilema e menor acumulação nas folhas. Estes dados sugerem que $[\text{K}^+]_{\text{ext}}$ promovem fortemente a mitigação dos efeitos adversos do excesso de sódio e redução deste íon em plantas de *J. curcas*.

Conclusão

Os íons K^+ e Na^+ apresentam forte antagonismo em termos de transporte e distribuição nas plantas jovens de pinhão manso. Concentrações elevadas de K^+ no meio externo são capazes de reduzir o transporte e os efeitos tóxicos do Na^+ nas folhas. Inversamente, níveis elevados de Na^+ é capaz de causar redução no transporte de K^+ , a despeito de esse nutriente apresentar uma seletividade várias vezes maior do que de Na^+ , nos diferentes órgãos da planta.

Referências

- ALVES, F. A. L.; FERREIRA-SILVA, S. L.; LIMA, J. P. S. & SILVEIRA, J. A. G. Efeitos do KCl e CaCl_2 na absorção e transporte de Na^+ em cajueiro exposto a salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.39, p.287-294, 2008.
- AKINCI, I. E. & SIMSEK, M. Ameliorative Effects of Potassium and Calcium on Salinity Stress in Embryo Culture of Cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Journal of Biological Sciences**, Asian, v. 04, p. 361-365, 2004.
- APSE, M.; AHARON, G. S. & BLUMWALD, E. Salt tolerance conferred by overexpression of vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. **Science**. v. 285, n. 5431, p. 1256-1258, 1999.

- ASHLEY, M. K.; GRANT, M. & GRABOV, A. Plant responses to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 425-436, 2006.
- BEHERA, S. K. Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass – A case study. **Biomass and Bioenergy**. v. 34, p. 30-41, 2010.
- BUSCHMANN, P. H.; VAIDYANATHAN, R.; GASSMANN, W. & SCHROEDER, J. I. Enhancement of Na⁺ uptake currents, time-dependent inward-rectifying K⁺ channel currents, and K⁺ channel transcripts by K⁺ starvation in wheat root cells. **Plant Physiology**, v. 122, p. 1387-1397, 2000.
- CABOT, C.; GARCIA, M. C. & SIBOLE, J. V. Relation between xylem ion concentration and bean growth responses to short-term salinisation in spring and Summer. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 327-334, 2005.
- EBERT, G.; EBERLE, J.; ALI-DINAR, H. & LUDDERS, P. Ameliorating effects of Ca(NO₃)₂ on growth, mineral uptake and photosynthesis of NaCl-stressed guava seedlings (*Psidium guajava* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 93, p. 125-135, 2002.
- ESSAH, P. A.; DAVENPORT, R. & TESTER, M. Sodium influx and accumulation in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 133, p. 307-318, 2003.
- FERREIRA, R. G.; TAVORA, F. J. A. F. & HERNANDEZ, F. F. F. Distribuição da matéria seca e composição química das raízes, caule e folhas de goiabeira submetida a estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 36, p. 78-88, 2001.
- FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.307-319, 2004.
- GIERT, M. & MASER, P. Plant potassium transporters – Involvement in K⁺ acquisition, redistribution and homeostasis. **FEBS Letters**, v. 581, p. 2348-2356, 2007.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley: University of California, (Circular, 347), 1950.
- JESCHKE, W. D. & W. STELTER. Ionic relations of garden orache, *Atriplex hortensis*: Growth and ion distribution at moderate salinity and the function of bladder hair. **Journal of Experimental Botany** v. 34, 795–810, 1983.
- LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M. A. & RUIZ, H. A. Influência do Cálcio sobre o crescimento e solutos em plântulas de sorgo estressadas com Cloreto de sódio. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 28, p. 289-295, 2004.

- LACOMBE, B.; PILOT, G.; GAYMARD, F.; SENTENAC, H. & THIBAUD, J. B. pH control of the plant outward-rectifying potassium channel SKOR. **FEBS Letters**, v. 466, p. 351-354, 2000.
- MAATHUIS, F. J. M. & AMTMANN, A. K^+ Nutrition and Na^+ Toxicity: Bases of Cellular K^+/Na^+ Ratios. **Annals of Botany**, v. 84, p.123-133, 1999.
- MENGEL, K. & KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5. Ed. Dordrecht: Netherlands, 2001. 849 p.
- MUNNS, R. & TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.
- MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **The New Phytologist**, v. 167, p. 645-663, 2005.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002.
- RUBIO, F.; FLORES, P.; NAVARRO, J. M. & MARTINEZ, V. Effects of Ca^{2+} , K^+ and cGMP on Na^+ uptake in peppers plants. **Plant Science**, v. 165, p.1043-1049, 2003.
- SCHURR, U. Xylem sap sampling – new approaches to an old topic: **Trends in Plant Science**, v.3, p.293-298, 1998.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; DUTRA, A. T. B. & ARAGÃO, R. M. Acúmulo de íons e crescimento de pinhão manso sob diferentes níveis de salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v.40, p.240-246, 2009a.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S. & VIEGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão manso submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.44, p.437-445, 2009b.
- SILVA, J. V.; LACERDA, C. F.; COSTA, P. H. A.; FILHO, J. E.; FILHO, E. G. & PRISCO, J. T. Physiological responses of NaCl stressed cowpea plants grown in nutrient solution supplemented with $CaCl_2$. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 15, n. 02, p. 99-105, 2003.
- VOIGT, E. L.; CAITANO, R. F.; MAIA, J. M.; FERREIRA-SILVA, S. L.; MACEDO, C. E. C. de & SILVEIRA, J. A. G. Involvement of cation channels and NH_4^+ -sensitive K^+ transporters in Na^+ uptake by cowpea roots under salinity. *Biologia Plantarum*. v. 53, n. 4, p. 764-768, 2009.

WATSON, R.; PRITCHARD, J. & MALONE, M. Direct measurement of sodium and potassium in the transpiration stream of salt-excluding and non-excluding varieties of wheat. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 1873-1881, 2001.

WELBANK, P. J. The effects of competition with *Agropyron repens* and nitrogen and water on the nitrogen content of *Impatiens parviflora*. **Annals of Botany**, v. 26: 361–373, 1962.

ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**. v.6, p.441-445, 2003.

**Normas de acordo com o
periódico em que o artigo
foi submetido.**

7. **CAPÍTULO 4 - Artigo 3 - Efeitos da temperatura elevada sobre o transporte e a interação entre Na^+ e K^+ sob condições de salinidade em *Jatropha curcas***

Artigo em fase de submissão

Resumo

Objetivou-se, no presente estudo, caracterizar os mecanismos fisiológicos envolvidos na interação entre K^+ - Na^+ sob temperatura elevada, com ênfase sobre a aquisição e distribuição de K^+ em plantas jovens de *Jatropha curcas* e avaliar a extensão com que o sódio é acumulado em diferentes órgãos e os seus possíveis reflexos. O estudo envolveu dois níveis de combinação de KCl e NaCl em solução nutritiva, compreendendo os seguintes tratamentos: (K_0Na_1) 50 mM NaCl + 0 mM de K^+ e (K_1Na_1) 50 mM NaCl + 10 mM de K^+ , com cinco tempos de coleta, em um delineamento inteiramente casualizado. Os resultados mostraram que, após o período de experimentação, os íons K^+ e Na^+ apresentaram forte interação antagonica em termos de taxa de transporte na planta. Em temperaturas elevadas, houve aumento da absorção de Na^+ em todas as partes da planta na ausência de K^+ . Na presença de K^+ , a temperatura influenciou mais fortemente a absorção de K^+ na parte aérea do que a absorção de Na^+ . Em síntese, a presença de níveis de potássio no ambiente externo foi capaz de reduzir o acúmulo excessivo de sódio nas partes da planta. Estes dados sugerem que $[\text{K}^+]_{\text{ext}}$ aliado a alta temperatura promovem fortemente a mitigação dos efeitos adversos do excesso de sódio e redução deste íon em plantas de *J. curcas*.

Palavras-chave: toxicidade iônica, homeostase, seletividade, pinhão manso, nutrição mineral.

Effects of elevated temperature on transport and interaction between Na^+ and K^+ under saline conditions in *Jatropha curcas*

Abstract

The objective of the present study was to characterize the physiological mechanisms involved in the interaction between K^+ and Na^+ under high temperature, emphasis on the acquisition and distribution of K^+ in seedlings of *Jatropha curcas* and assess the extent to which sodium is accumulated in different organs and their possible reflex. The study involved two levels of NaCl and KCl in nutrient solution combination, the following treatments: (K_0Na_1) 50 mM NaCl + 0 mM K^+ and (K_1Na_1) 50 mM NaCl + 10

mM K^+ , with five collection times, in a completely randomized design. The results showed that after the trial period the K^+ and Na^+ showed strong antagonistic interaction between ions in terms of transport rate in the plant. At higher temperatures, increased absorption of Na^+ in all parts of the plant in the absence of K^+ . In the presence of K^+ , the temperature strongly influenced the uptake of K^+ in shoots than the absorption of Na^+ . In summary, the presence of potassium levels in the external environment was able to reduce the excessive accumulation of sodium in all plant parts. These data suggest that $[K^+]_{ext}$ associate to high temperature strongly promote the mitigation of the adverse effects of excess sodium and reduction of this ion in plants *J. curcas*.

Index terms: toxicity ion, homeostasis, selectivity, physic nut, mineral nutrition.

Introdução

As variações climáticas são alguns dos principais fatores que afetam significativamente a produtividade das plantas em regiões áridas e regiões semiáridas (LARCHER et al., 2004). Além desses fatores climáticos tais como temperatura elevada, nessas regiões a prática da irrigação é indispensável devido o déficit hídrico, e o uso de fontes de água com elevados teores de sais é comum. O acúmulo excessivo de sódio afeta as relações K^+/Na^+ , alterando a homeostase iônica e nutricional da célula (APSE e BLUMWALD, 2007; RUBIO et al., 2003). Todos esses fatores podem afetar funções bioquímicas e fisiológicas essenciais ao metabolismo celular, podendo levar a redução da eficiência metabólica e até mesmo, a morte da célula (SHI et al., 2002; ZHU, 2003).

A disponibilidade de potássio (K^+) em ecossistemas agrícolas e naturais freqüentemente limita o crescimento das plantas, o desenvolvimento e a produtividade (VIEGAS et al., 2001; NIEVES-CORDONES et al., 2007). O K^+ é o cátion mais abundante nas células vegetais (LEIGH e SZE, 2001) e comanda uma vasta gama de reações bioquímicas, incluindo muitas que são centrais para o metabolismo primário, além disso, atua como um importante soluto osmótico, (LEIGH e SZE, 2001), e seu fluxo desempenham um papel fundamental nos movimentos estomáticos (LEIGH e SZE, 2001; GIERTH e MASER, 2007; LEBAUDY et al., 2007).

A manutenção de níveis adequados de K^+ é essencial para a sobrevivência das plantas em ambientes salinos. Sob tal estresse, a manutenção de uma alta razão K^+/Na^+ no citosol da célula é relatada por ser um fator determinante na tolerância e/ou aclimação das plantas (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; ZHU, 2003). Além disso, é

possível que elevada disponibilidade de relação K^+/Na^+ é mais importante para muitas espécies do que simplesmente manter uma baixa concentração de sódio (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; CUIN et al., 2008).

No aspecto fisiológico destaca-se Silva et al. (2009), verificou que mudas de pinhão manso possuem concentrações relativamente elevadas de K^+ em folhas e níveis relativamente baixos de NaCl na solução nutritiva (50 mM) reduzem esses níveis de K^+ quase 10 vezes. São poucos os trabalhos envolvidos sobre a caracterização fisiológica dessa espécie em condições de estresse como salinidade e não foram encontrados na literatura relatos sobre pesquisas científicas que envolvem pinhão manso, o efeito do K^+ sobre o Na^+ , principalmente em temperaturas elevadas.

Os aspectos fisiológicos e agrônômicos necessitam de estudos, uma vez que, o pinhão manso é uma espécie que tem um enorme potencial como produtor de bioenergia em muitos países (BEHERA et al., 2010). Diante do exposto, objetivou-se elucidar os mecanismos de interação entre K^+ - Na^+ no nível de particionamento em planta inteira submetida à temperatura elevada, com ênfase sobre a aquisição, distribuição e o possível papel protetor de K^+ em plantas jovens de *Jatropha curcas*, em condições de salinidade. Avaliar a extensão com que o sódio é acumulado em diferentes órgãos e os seus possíveis reflexos, bem como os efeitos negativos do excesso de sódio na absorção de potássio. Este artigo relata a influencia da alta temperatura sobre o transporte e distribuição de Na^+ e K^+ em plantas de jovens de pinhão manso na presença e ausência de K^+ .

Material e Métodos

Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido inicialmente casa de vegetação (3°44'S e 38°33'W) e continuado câmara de crescimento (Fitotron) pertencente à Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE As condições ambientais no interior da casa de vegetação foram: fotoperíodo de 12 horas, temperatura média mínima de 24 °C, temperatura máxima de 36 °C, temperatura média diária de 29 °C, umidade relativa do ar média de 65% e radiação fotossinteticamente ativa máxima média de aproximadamente 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Enquanto que no Fitotron no período de aclimação foram: fotoperíodo de 12 horas, temperatura de 27 °C, umidade relativa do ar média de 70% e radiação fotossinteticamente ativa máxima média de aproximadamente 550 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No

período de experimentação, um fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 42 °C e umidade e radiação as mesmas do período de aclimatação.

Sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) da linhagem FT 2 fornecidas pelo Instituto Fazenda Tamanduá, Santa Terezinha-PB. Sementes previamente selecionadas por tamanho e peso foram germinadas em areia e mantidas oito dias após o semeio e irrigadas diariamente com água destilada. Em seguida, as plântulas foram transferidas para vasos de 2 L, contendo solução de Hoagland e Arnon (1950) diluída na primeira semana $\frac{1}{4}$ e na segunda semana $\frac{1}{2}$, com pH 6,0 ajustado a cada dois dias com NaOH 1 mol L⁻¹ ou HCl 1 mol L⁻¹. As soluções foram completamente renovadas a cada semana e mantidas sob aeração forçada. As concentrações de K⁺ na solução nutritiva foram de 1,5 mol L⁻¹ e 3,0 mol L⁻¹, na primeira e segunda semana, respectivamente.

Em seguida, plantas com 15 dias de idade (após o semeio), foram transferidas para uma nova solução nutritiva modificada sem K⁺ contendo (mM): 0,75 Ca(NO₃)₂; 0,25 NH₄Cl; 0,0625 Ca(H₂PO₄)₂; 0,125 MgSO₄ e micronutrientes (μM) 10 H₃BO₃; 2,25 MnCl₂; 0,75 CuSO₄; 1,75 ZnMoO₄; 0,025 Na₂MoO₄; 25 Fe-EDTA. Logo, essas plantas foram transferidas para a câmara de crescimento (Fitotron - modelo PGW 36), passaram 24 h à temperatura de 27 °C para aclimatação e posteriormente as plantas foram divididas em dois grupos: um subgrupo pré-tratado sem K⁺ que foi exposto à solução modificada sem K⁺ e com 50 mM NaCl (tratamento K₀Na₁) e o outro mantido em solução com 10 mM K⁺ que foi exposto à solução modificada com KCl 1 M com 50 mM NaCl (tratamento K₁Na₁) e submetidas a um aumento gradativo de temperatura até 42 °C por 16 h. As coletas para determinação das concentrações de Na⁺ e K⁺ foram realizadas nos tempos 0, 4, 8, 12 e 16 h. Após isso, as plantas foram separadas em folhas, caules e raízes e secas em estufa com circulação de ar (70 °C por 72 horas) para as determinações de massa seca.

Taxa de transpiração e fotossíntese

Nos tempos de coleta 0 e 8 horas, foram realizadas leituras de transpiração e fotossíntese em folhas totalmente expandidas do terço médio das plantas, utilizando um analisador de gás no infravermelho (IRGA, mod LCA-2, ADC, Hoddesdon, UK).

Determinação das concentrações de sódio e potássio

As determinações das concentrações de sódio e potássio foram realizadas conforme descrito em Silva et al. (2009). A extração foi feita utilizando 50 mg material

moído com 20 mL de H₂O deionizada em banho-maria a 100 °C por 1 hora. O extrato obtido foi centrifugado e seu sobrenadante foi analisado em fotômetro de chama (Micronal, modelo B462) para as determinações das concentrações de Na⁺ e K⁺.

Determinação da taxa de acumulação de K⁺ e Na⁺ e seletividade dos fluxos dos íons K⁺ e Na⁺ em partes da planta

As taxas de acumulação de Na⁺ (J_{Na}) e K⁺ (J_K) em folhas e caules foram calculados a partir da variação das concentrações de Na⁺ e K⁺ (nos tempos de coleta) e da variação da massa seca das raízes de acordo com equação descrita por Welbank (1962).

$$J_{\text{Na or K}} = \frac{(M_2 - M_1)}{T_2 - T_1} \times \frac{\ln(W_2 - W_1)}{W_2 - W_1}$$

Onde J_{Na} ou J_K:

M₁ e M₂ = concentrações de K⁺ e Na⁺ nas diferentes partes da planta no tempo inicial (M₁) e tempo final M₂, 16 horas;

T = tempo em horas, sendo T₁ o tempo inicial e T₂ o tempo após 16 horas de tratamento.

W = massa seca de raízes, sendo W₁ no tempo inicial e W₂ massa seca no tempo final. Os resultados de fluxo foram expressos como [mmol (kg de massa seca de raiz. dia)⁻¹].

A seletividade de K⁺ - Na⁺ dos fluxos de íons foi descrita pela relação de seletividade descrita por Jeschke e Stelter, (1983):

$$S_{K, Na} = \frac{J_K}{J_{Na}} \times \frac{[Na^+]_{ext}}{[K^+]_{ext}}$$

Delineamento experimental

O experimento com plantas inteiras foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 × 1 × 5 (duas doses de potássio, uma de sódio e cinco tempos de coleta) com quatro repetições, sendo uma planta por vaso representando uma unidade experimental. Em experimentos em raízes destacadas, foram realizadas quatro repetições, cada repetição consistia em um frasco contendo um sistema radicular individual. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05).

Resultados

Concentrações de K^+ e Na^+

A presença de 10 mM de K^+ na solução nutritiva (K_1) causou intenso aumento e redução na acumulação de K^+ e Na^+ , respectivamente nas diferentes partes da planta (tratamentos K_1Na_1 - Figura 1) indicando que a despeito da concentração de sódio na solução ser cinco vezes maior do que a de potássio, a planta apresentou uma maior seletividade por esse nutriente, comparada ao Na^+ . O tratamento K_0Na_1 apresentou concentrações de Na^+ crescentes com o tempo de exposição à temperatura elevada, enquanto que as de K^+ decresciam linearmente nas diversas partes da planta.

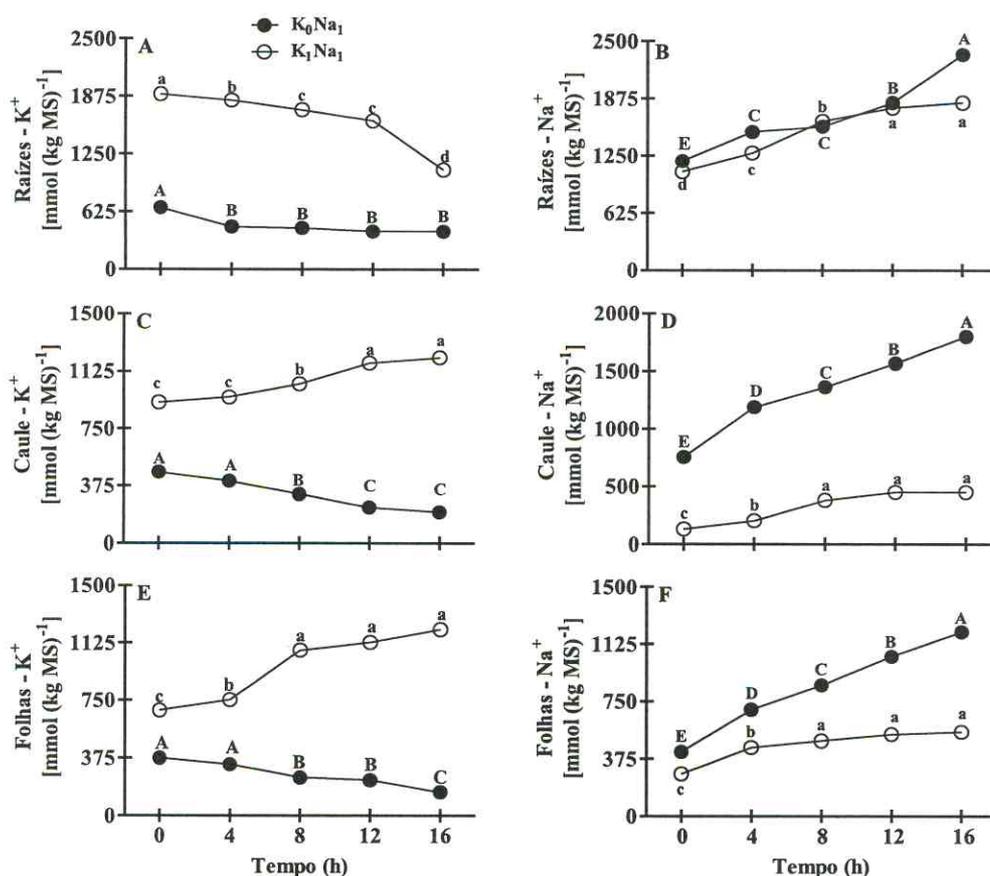


Figura 1 - Concentrações de K^+ e Na^+ em (A) raízes (tratamento K_1Na_1), (B) raízes (tratamento K_0Na_1), (C) caule (tratamento K_1Na_1), (D) caule (tratamento K_0Na_1), (E) folhas (tratamento K_1Na_1) e (F) folhas (tratamento K_0Na_1) de pinhão manso expostas à temperatura elevada e concentração externa de 10 ou 0 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para K_1Na_1) e maiúsculas (para K_0Na_1) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Taxas de acumulação e seletividade de K^+ e Na^+

Na ausência de K^+ , as taxas de acumulação de Na^+ foram maiores em todas as partes da planta analisadas (Figura 1). Ainda nessas condições, os valores das taxas de

acumulação de K^+ no tratamento K_0Na_1 com o tempo de exposição à temperatura elevada atingiram valores insignificantes nas folhas e caule. Diferentemente, a presença de K^+ na concentração de 10 mM causou uma redução cerca de 50% no transporte de Na^+ nas folhas e caule após 16 h exposição à temperatura (tratamento K_1Na_1 – Figura 2A e B). Mais uma vez, esses resultados indicam maior seletividade pelas plantas de pinhão manso por potássio quando comparado ao sódio. Em síntese, a despeito da $[K^+]_{ext}$ ter sido 10 mM e a $[Na^+]_{ext}$ 50 mM, as plantas de pinhão manso apresentaram maior seletividade no transporte de potássio para a parte aérea em virtude das menores taxas de transporte do Na^+ (Figura 2B e C).

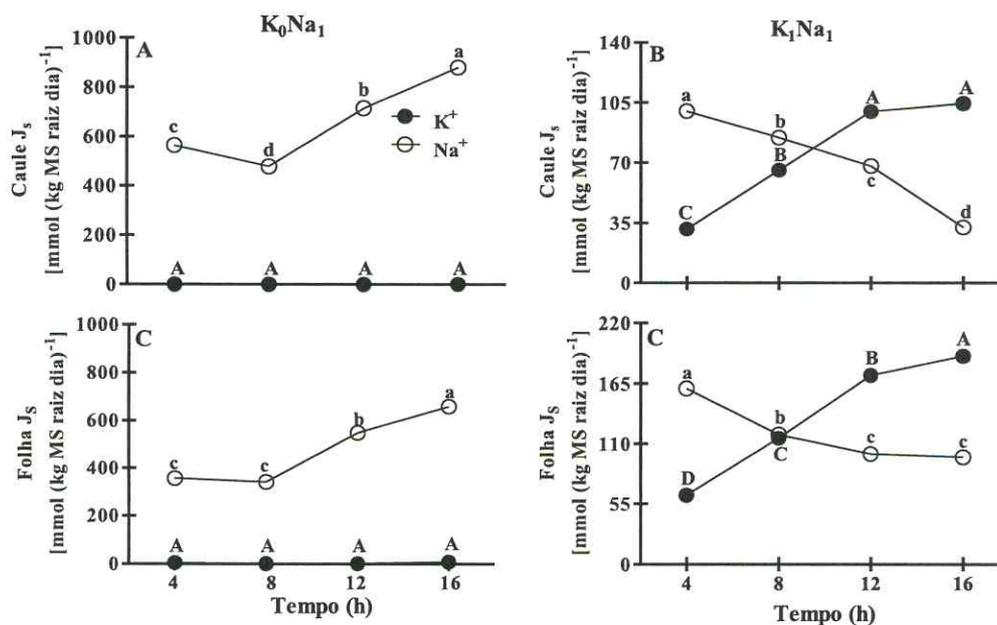


Figura 2 – Transporte de Na^+ e K^+ em (A) caule (tratamento K_0Na_1), (B) caule (tratamento K_1Na_1), (C) folhas (tratamento K_0Na_1) e (D) folhas (tratamento K_1Na_1) de pinhão manso expostas à temperatura elevada e concentração externa de 10 ou 0 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (sódio) e maiúsculas (potássio) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

As relações obtidas mostraram que comparando os tratamentos K_0Na_1 versus K_1Na_1 no último tempo de coleta (16 horas), foram maiores em 80% (de 0,17 - 0,5), 95% (0,11 - 2,7), 88% (0,12 - 1,0), em raízes, caule e folhas, respectivamente (Figura 3). Quanto à seletividade K^+-Na^+ com base nos fluxos dos dois íons no tratamento K_1Na_1 foi maior no caule (16,0), seguido pelas folhas (9,7) após 16 h expostas a temperatura elevada (Figura 4).

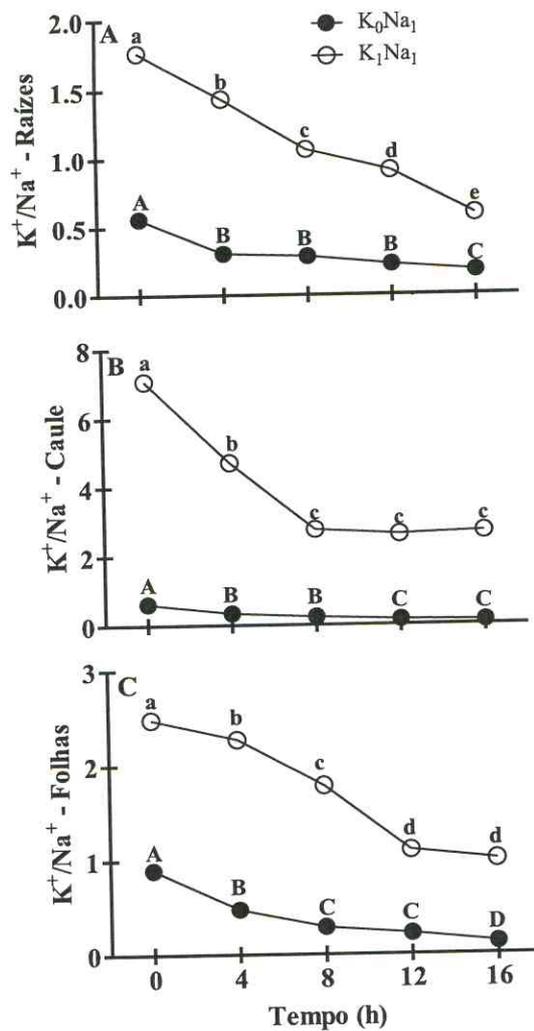


Figura 3 - Dados da relação K^+/Na^+ em raízes (A), caule (B) e folhas (C) de pinhão manso expostas à temperatura elevada e concentração externa de 10 ou 0 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para K_1Na_1) e maiúsculas (para K_0Na_1) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Enquanto que a seletividade Na^+-K^+ além de terem decrescido nas diferentes partes da planta, apresentaram valores inferiores aos comparados à seletividade K^+-Na^+ . Os resultados demonstraram que a temperatura elevada pode ter influenciado positivamente para o K^+ , visto que a parte aérea de *J. curcas* apresentaram a seletividade elevada por K^+ , mesmo na presença do Na^+ . Verifica-se que a presença de uma concentração elevada (10 mM) de potássio no meio externo, foi capaz de aumentar e reduzir significativamente as trocas gasosas e a acumulação de Na^+ , respectivamente (Figura 2 e 5). Portanto, o aumento na seletividade ao K^+ aliado a temperatura elevada pode representar um importante mecanismo para incrementar a tolerância das plantas de pinhão manso ao estresse salino.

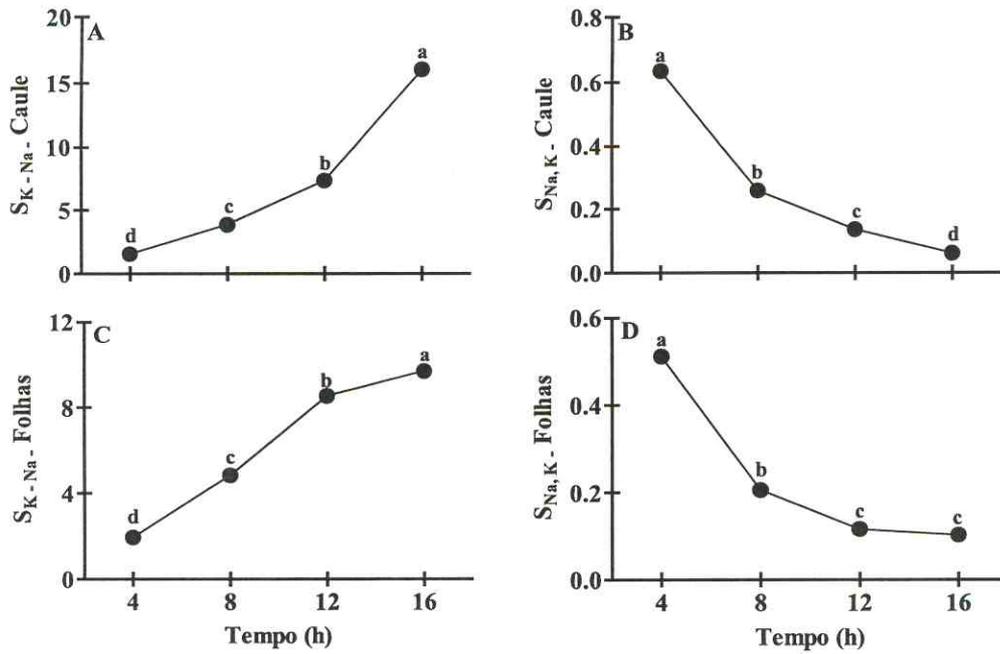


Figura 4 – Seletividade: S_{K-Na} em caule (A), S_{Na-K} em caule (B), S_{K-Na} em folhas (C) e S_{Na-K} em folhas (D) de plantas de pinhão manso submetida a 10 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com as mesmas letras não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fotossíntese e Transpiração

Após exposição às duas combinações $K^+ \times Na^+$ submetidas à temperatura elevada, as plantas de pinhão manso mostraram aumentos e diferenças significativas nas trocas gasosas (Figura 5). No tratamento K_0Na_1 , a fotossíntese e transpiração aumentaram após 8h expostas a temperatura elevada, mas com valores inferiores aos comparados ao tratamento K_1Na_1 (Figura 5). No tratamento K_1Na_1 , a presença de K^+ aliada a exposição à temperatura elevada, as trocas gasosas foram beneficiadas, as quais foram maiores a aquelas encontradas pelo tratamento somente com NaCl – K_0Na_1 (Figura 1 e 5).

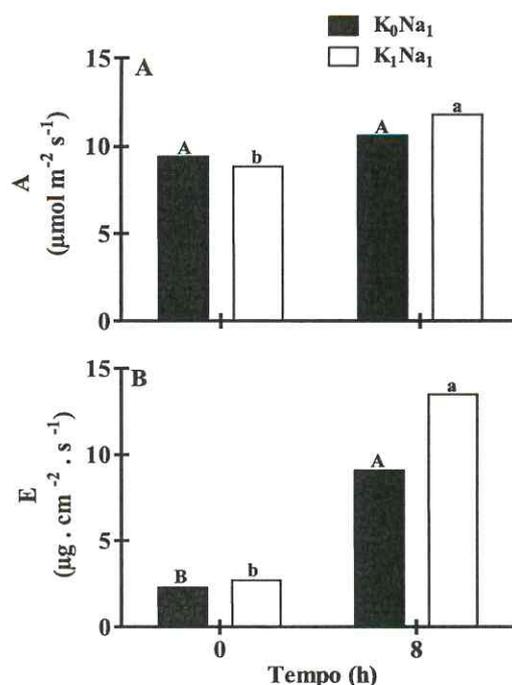


Figura 5 - Fotossíntese – A (A) e transpiração – E (B) de pinhão manso expostas à temperatura elevada e concentração externa de 10 ou 0 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para K₁Na₁) e maiúsculas (para K₀Na₁) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Discussão

Os mecanismos de tolerância ocorrem em três níveis de organização: nível de planta inteira, nível celular e nível molecular. Ao nível de planta inteira a resistência depende da habilidade da planta em controlar o transporte de sal em cinco pontos específicos: 1- Seletividade no processo de absorção pelas células das raízes; 2- Carregamento do xilema preferencialmente com K^+ mais do que com Na^+ ; 3- Remoção do sal do xilema na parte superior das raízes, caules, pecíolos ou bainhas foliares; 4- Pequena re-translocação de Na^+ e Cl^- no floema, garantindo a ausência de translocação para tecidos da parte aérea em processo de crescimento. A tolerância em glicófitas depende dos três primeiros mecanismos, sendo ocorrem em diferentes graus, em função da espécie e/ou cultivar (DASGAN et al., 2002; MUNNS, 2002; DAVENPORT et al., 2007).

Nesse estudo, o tratamento K₁Na₁ (10 mM de K^+ + 50 mM de Na^+) aliado a temperatura elevada foi capaz de induzir alterações favoráveis na taxa de assimilação de CO_2 e transpiração. Foi demonstrado recentemente que as plantas *J. curcas* cultivadas sob condições de salinidade severa (100 mM NaCl) apresentaram redução significativa nos parâmetros de trocas gasosas e no crescimento devido ao alto acúmulo de Na^+ e redução do conteúdo do K^+ nas folhas (SILVA et al. 2009b). Em geral, as plantas

requerem uma relação K^+/Na^+ adequada em seus tecidos, especialmente nas folhas, a fim de preservar a homeostase iônica e manutenção do equilíbrio osmótico e metabólico nas células vegetais, principalmente nas reações enzimáticas que requerem o K^+ como cofator (YAO et al., 2010). Além disso, um suprimento adequado de K^+ para as plantas é essencial para vários processos fisiológicos como fotossíntese, síntese protéica, transpiração e ajustamento osmótico (OLIAS et al., 2009).

Observa-se o efeito antagônico do Na^+ sobre o K^+ , visto que foi capaz de causar uma diminuição nas diversas partes da planta no tratamento K_0Na_1 . Voigt et al., (2009) relataram que a ausência de K^+ pode aumentar a susceptibilidade do estresse salino em plantas de feijão caupi desde a raiz, apresentando uma menor K^+/Na^+ , e isso é fator que pode contribuir para uma maior acumulação de Na^+ na parte aérea, como foi visto no tratamento K_0Na_1 . As plantas que estavam privadas de K^+ sob estresse salino e temperatura elevada, em virtude de uma maior demanda evaporativa, favoreceram a acumulação de Na^+ na parte aérea (tratamento K_0Na_1). A fome de potássio acompanha regularmente a toxicidade de sódio (APSE e BLUMWALD, 2007) e Peng et al. (2004) têm mostrado que o declínio da tolerância à salinidade em baixas concentrações de K^+ , que embora o influxo de Na^+ sobre a membrana plasmática não esteja bem caracterizado, poderia resultar em um aumento de entrada de Na^+ que ocorre por um sistema de alta afinidade para absorção de K^+ (FLOWERS, 2004; HORIE e SCHROEDER, 2004), além de canais não seletivos para absorção de íons (BLUMWALD et al., 2000). A acumulação de Na^+ na parte aérea está relacionada com o fluxo de transpiração (a maior absorção de água, maior acúmulo de Na^+ na parte aérea). Portanto, os resultados corroboram parcialmente os efeitos da transpiração na acumulação de Na^+ na parte aérea, acima referido. Em complemento, no presente estudo, que esse efeito pode ser dependente do status de K^+ , pelo menos em plantas de pinhão manso, visto que quando supridas de K^+ , o inverso ocorre, ou seja, a temperatura elevada contribuiu favoravelmente ao K^+ .

Os dados mostram que existe um forte antagonismo entre K^+ e Na^+ em plantas de *J. curcas*, corroborando com os resultados anteriores (SILVA et al., 2011). Como consequência, quando a concentração de K^+ foi 10 mM, a absorção de Na^+ pelas raízes e as taxas de transporte nas folhas foram diminuídas. A elevada concentração de K^+ induziu restrição na acumulação de Na^+ e evitando os seus efeitos danosos, permitindo um aumento da fotossíntese, aliada a elevada temperatura. Esses efeitos benéficos desencadeados pelo K^+ foram comprovadamente associados com aumento no efluxo e

diminuição do influxo de Na^+ nas raízes, como já observado em outros estudos (OLIAS et al., 2009; COSKUN et al., 2010).

Os sistemas de absorção de K^+ são altamente seletivos na zona radicular e as concentrações de K^+ e Na^+ são semelhantes. (HORIE e SCHROEDER, 2004; MARTÍNEZ CORDERO et al., 2005; NIEVES-CORDONES et al., 2007). Os mecanismos de concorrência envolvendo Na^+ e K^+ , em nível de transporte ou influxo na plasmalema são intensamente relatados (ESSAH et al., 2003; TESTER e DAVENPORT, 2003; DAVENPORT et al., 2005; APSE e BLUMWALD, 2007; YAO et al., 2010). No entanto, o papel de transportadores específicos e canais iônicos envolvidos com Na^+ e K^+ e aos transportes sob elevadas concentrações de ambos é pouco estudado (MAATHIUS e AMTMANN, 1999). Quanto aos mecanismos envolvidos no influxo de Na^+ pelas raízes induzido pelo K^+ exógenos e endógenos, os dados experimentais disponíveis na literatura são escassos (ASHLEY et al., 2006; SHABALA e CUIN, 2007). Sabe-se que o antiporte Na^+/H^+ é postulado como uma proteína (SOS1) envolvida no influxo de Na^+ no citosol para apoplasto em condições de estresse salino (SERRANO e RODRIGUEZ-NAVARRO, 2001; SHI et al., 2002; DAVENPORT et al., 2005; OLIAS et al., 2009; COSKUN et al., 2010).

Foi relatado por vários autores que a resistência da planta a salinidade pode estar associada a manter uma relação K^+/Na^+ adequada especialmente no citosol (RUS et al., 2004). Os dados mostraram que a relação K^+/Na^+ decresceu nas diversas partes da planta nos dois tratamentos estudados, sendo que o tratamento K_0Na_1 alcançou relações próximas de zero no ultimo tempo de coleta (16 h), enquanto que no tratamento K_1Na_1 , apresentou valores acima de 1,0 nas folhas, caule e raízes. Alguns autores relatam que valores menores que 1,0 são indício de um desequilíbrio nutricional e reforça a maior intensidade de toxicidade iônica (DASGAN et al., 2002; ASHLEY et al., 2006; FERREIRA-SILVA et al., 2009). Em *J. curcas* foi demonstrado anteriormente (SILVA et al., 2009a; SILVA et al., 2011.) que plantas estressadas podem apresentar uma relação de K^+/Na^+ em folhas de cerca de 0,20 comparada com os valores aproximados de 4,0 em plantas não estressadas. Corroborando com diversos autores que têm correlacionado a resistência a estresses ambientais com a manutenção de uma nutrição adequada de potássica dentro da planta, podendo em alguns casos esse parâmetro ser utilizado como critério de seleção de materiais sensíveis e resistentes a determinado tipo de estresse (MAATHUIS e AMTMANN, 1999). Apesar da interação $\text{K}^+ - \text{Na}^+$ ser intensamente estudada em condições de estresse salino (SHABALA e CUIN, 2007;

CUIN et al., 2008.), poucos trabalhos mostram as relações entre as taxas K^+/Na^+ , seletividade iônica aliado a altas temperaturas e desempenho da planta, como fotossíntese.

Na maioria das espécies cultivadas a tolerância e/ou a resistência a salinidade é baixa, podendo ocorrer grande variabilidade genética não apenas entre espécies, mas também, entre cultivares dentro de uma espécie. Deste modo, a seleção de espécies tolerantes e/ou resistentes é um fator importante para a produção agrícola em regiões áridas e semiáridas. Apresentamos um estudo abrangente envolvendo alguns processos fisiológicos essenciais envolvidos com o melhoramento da toxicidade de Na^+ por K^+ , utilizando um modelo de planta que apresenta um forte antagonismo entre esses íons. Tomados em conjunto, os resultados mostraram que o fornecimento de concentrações de K^+ elevadas poderia atenuar os efeitos adversos causados por Na^+ . De acordo com os resultados, as plantas de pinhão manso apresentaram capacidade de retenção (ou diminuição na absorção) do íon salino Na^+ pelo sistema radicular com conseqüente restrição do fluxo desses íons para a parte aérea da planta, representando um importante mecanismo de resistência a salinidade. Baseado nisso, as plantas de pinhão manso permitiram uma homeostase iônica que pode estar associado à alta seletividade de K^+ e que, em condições de temperatura elevada, o transporte de K^+ foi beneficiado ao invés do Na^+ em todos os órgãos da planta

Referências

- APSE, M. P., BLUMWALD, E. Na^+ transport in plants. **FEBS Letters**. 581, 2247-2254. 2007.
- ASHLEY, M. K.; GRANT, M.; GRABOV, A. Plant response to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 425-436, 2006.
- BEHERA, S. K. Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass – A case study. **Biomass and Bioenergy**. 34, 30-4, 2010.
- BRAY, E. A., BAILEY-SERRES, J., WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses, in: W. Gruissem, B. Buchanan, R. Jones (Eds.), **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, p. 158–1249. 2000.

- CUIN, T. A., BETTS, S. A., CHALMANDRIER, R., SHABALA, S. A root's ability to retain K^+ correlates with salt tolerance in wheat. **Journal of Experimental Botany**. 59, 2697–2706. 2008.
- COSKUN, D., BRITTO, D. T., KRONZUCKER. Regulation and mechanism of potassium release from barley roots: an in planta $^{42}K^+$ analysis. **New Phytologist**. 188, 1028-1038, 2010.
- DAVENPORT R. J., MUNOZ-MAYOR A., JHA D., ESSAH P.A., RUS A.; TESTER M. The Na^+ transporter AtHKT1;1 controls retrieval of Na^+ from the xylem in Arabidopsis. **Plant, Cell & Environment** 30, 497–507. 2007.
- DASGAN, H.Y., AKTAS, H., ABAK, K., CAKMAK, I. Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses, **Plant Science**. 163, 695-703. 2002.
- ESSAH, P. A., Davenport, R., Tester, M. Sodium influx and accumulation in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**. 133, 307-318, 2003.
- FLOWER, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**. v. 55, n. 396, p. 307-319, 2004.
- HAGEMAN, R. H.; HUCKLESBY, D. P. Nitrate reduction from higher plants. **Methods Enzymology**, v. 23, p. 491-503, 1971.
- HOAGLAND, D. R., ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station Circular**. 347, 1-32, 1950.
- HORIE, T.; SCHROEDER, J.I. Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. **Plant Physiology**, Rockville, v.136, n.6, p.2457-2462, 2004.
- HUANG, Z. Z., YAN, X., JALIL, A., NORLYN, J. D., Epstein, E. Short-term experiments on ion transport by seedlings and excised roots. **Plant Physiology**. 100, 1914-1920, 1992.
- FERREIRA-SILVA S. L.; VOIGT E. L.; VIÉGAS, R. A.; PAIVA J. R.; SILVEIRA, J. A. G. Influência de porta-enxertos na resistência de mudas de cajueiro ao estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.4, p.361-367, 2009.
- JESCHKE, W. D., W. STELTER. Ionic relations of garden orache, *Atriplex hortensis*: Growth and ion distribution at moderate salinity and the function of bladder hair. **Journal of Experimental Botany**. 34, 795–810, 1983.
- LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal, São Carlos, SP: Rima artes, 2004. 531 p.
- LEIGH, R. A.; SZE, H. Membrane transport meets plants nutrition. **Trends in Plant Science**, v. 6, p. 47-48, 2001.

- LEBAUDY, A.; VÉRY, A-A.; SENTENAC, H. K^+ channel activity in plants: Genes, regulations and function. **FEBS Letters**, v. 581, p. 2357-2366, 2007.
- MAATHIUS, F. J., AMTMANN, A. K^+ nutrition and Na^+ toxicity: the basis of cellular K^+ / Na^+ ratios. **Annals of Botany**. 84, 123-133, 1999.
- MARTINEZ-CORDERO, M.; MARTINEZ, V.; RUBIO, F. Cloning and functional characterization of the high-affinity K^+ transporter KAK1 of pepper. **Plant Molecular Biology**. v. 56, p. 413-421, 2004.
- MUNNS, R.; HUSAIN, S.; RIVELLI, A. R.; JAMES, R. A.; CONDON, A. G. T.; LINDSAY, M. P.; LAGUDAH, E. S.; SCHACHTMAN, D. P.; HARE, R. A. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Plant and Soil**, v. 247, n. 01, p. 93-105, 2002.
- MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**. 59, 651-681, 2008.
- NIEVES-CORDONES, M.; MARTINEZ-CORDERO, M. A.; MARTINEZ, V.; RUBIO, F. $Na^+ NH_4^+$ -sensitive component dominates high-affinity K^+ uptake in tomato plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 172, p. 273-280, 2007.
- OLÍAS, R., ELJAKAOUI, Z., LI J., MORALES, P. A., MARÍN-MANZANO, M. C., PARDO, J. M. BELVER, A. The plasma membrane Na^+ / H^+ antiporter SOS1 is essential for salt tolerance in tomato and affects the partitioning of Na^+ between plant organs. **Plant, Cell and Environment**. 32, 904–916, 2009.
- RUBIO, F., FLORES, P., NAVARRO, J. M., MARTINEZ, V. Effects of Ca^{2+} , K^+ and cGMP on Na^+ uptake in pepper plants. **Plant Science**. 165, 1043-1049, 2003.
- SHABALA, S., CUIN, T. A. Potassium transport and plant salt tolerance. **Physiologia Plantarum**. 133, 651-669, 2007.
- SERRANO, R.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. Ion homeostasis during salt stress in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 13, p. 399-404, 2001.
- SILVA, E. N., RIBEIRO, R. V., FERREIRA-SILVA, S. L., VIÉGAS, R. A., SILVEIRA, J. A. G. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. **Scientia Agricola**, 68, 62 – 68, 2011.
- SILVA, E. N., RIBEIRO, R. V., FERREIRA-SILVA, S. L., VIÉGAS, R. A., SILVEIRA, J. A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**. 74, 1130-1137, 2010.

- SILVA, E. N., SILVEIRA, J. A. G., RODRIGUES, C. R. F., DUTRA, A. T. B., ARAGÃO, R. M.. Ions accumulation and growth of *Jatropha curcas* under different salinity levels. **Revista Ciência Agronômica**, 40, 240-246, 2009^a.
- SILVA, E. N., SILVEIRA, J. A. G., RODRIGUES, C. R. F., LIMA, C. S., VIEGAS, R. A. Contribution of organic and inorganic solutes to osmotic adjustment of *Jatropha curcas* under salinity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 44, 437-445, 2009^b.
- TESTER, M., DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**. 91, 503-527, 2003.
- VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G.; JUNIOR, A. R. L.; QUEIROZ, J. E.; FAUSTO, M. J. M. Effect of NaCl-salinity on growth and inorganic solute accumulation in young cashew plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, v. 5, n. 2, p. 216-222, 2001.
- VOIGT, E. L.; CAITANO, R. F.; MAIA, J. M.; FERREIRA-SILVA, S. L.; MACEDO, C. E. C. DE; Silveira, J. A. G. Involvement of cation channels and NH₄⁺-sensitive K⁺ transporters in Na⁺ uptake by cowpea roots under salinity. **Biologia Plantarum**. 53, 764-768, 2009.
- YAO, X., HORIE, T., XUE, S., LEUNG, HO-YIN, KATSUHARA, M., BRODSKY, D. E., WU, Y., SCHROEDER, J. I. Differential Sodium and Potassium Transport Selectivities of the Rice OsHKT2;1 and OsHKT2;2 Transporters in Plant Cells. *Plant Physiology*. 152, 341–355, 2010.
- ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology*. 6, 441–445, 2003.
- WELBANK, P. J. The effects of competition with *Agropyron repens* and nitrogen and water on the nitrogen content of *Impatiens parviflora*. *Annals of Botany* 26: 361–373, 1962.

8. **CAPÍTULO 5 - Artigo 4 - Efeito da combinação de temperatura e umidade sobre o transporte de Na^+ e K^+ em *Jatropha curcas* L sob meio salino**

Artigo em fase de submissão

Resumo

Objetivou-se com esse estudo, caracterizar diferenças no padrão de absorção e/ou taxa de acumulação de potássio (K^+) e sódio (Na^+) em raízes destacadas e planta inteira em plântulas de pinhão manso expostas ao estresse salino, na presença e ausência de K^+ , sob diferentes temperaturas e umidades relativas do ar. O estudo envolveu quatro níveis de combinação de KCl e NaCl em solução nutritiva, compreendendo os seguintes tratamentos: (1) K_0Na_0 , (2) K_0Na_1 , (3) K_1Na_0 e (4) K_1Na_1 . Esses tratamentos foram novamente divididos e expostos a temperatura de 27 °C e 42 °C e umidade relativa do ar de 80% e 40%. Os resultados mostraram que, após o período de experimentação os íons K^+ e Na^+ apresentaram forte interação antagônica em termos de taxa de transporte na planta. Em temperaturas elevadas, houve aumento da absorção de K^+ e Na^+ em todas as partes da planta, sendo que independentemente da temperatura e umidade relativa do ar aos 80% favoreceu a absorção de K^+ e aos 40% a de Na^+ . Baseado nisso, as plantas de pinhão manso permitiram uma homeostase iônica adequada, que pode estar associado à alta seletividade de K^+ em todos os órgãos da planta, mesmo em temperaturas elevadas. Em síntese, plantas de pinhão manso com $[\text{K}^+]_{\text{ext}}$ em níveis adequados e expostas ao excesso de NaCl independentemente da temperatura e umidade do ar elevada, reduzem os efeitos adversos do excesso de sódio, possivelmente pela redução no transporte de Na^+ no xilema e menor acumulação nas folhas. Estes dados sugerem que $[\text{K}^+]_{\text{ext}}$ promovem fortemente a mitigação dos efeitos adversos do excesso de sódio e redução deste íon em plantas de *J. curcas*.

Palavras-chave: homeostase iônica, temperatura elevada, umidade relativa do ar, nutrição mineral, pinhão manso.

Effect of combination of temperature and air humidity on the transport of Na^+ and K^+ in *Jatropha curcas* L in saline

Abstract

The aim with this study was to characterize differences in the pattern of absorption and/or rate of accumulation of potassium (K^+) and sodium (Na^+) in excised

roots and whole plant of seedlings of physic nut exposed to salt stress in the presence and absence of K^+ , different temperatures and relative humidity. The study involved four levels of NaCl and KCl combination in nutrient solution, the following treatments: (1) K_0Na_0 , (2) K_0Na_1 , (3) K_1Na_0 and (4) K_1Na_1 . These treatments were again divided and exposed to 27 °C and 42 °C and relative humidity of 80% and 40%. The results showed that after the trial period the ions K^+ and Na^+ showed strong antagonistic interaction in terms of transport rate in the plant. Under at higher temperatures, increased absorption of K^+ and Na^+ in all parts of the plant, and regardless of temperature and relative humidity at 80% favored the absorption of K^+ and 40% to Na^+ . Based on this, *Jatropha* plants allowed a proper ion homeostasis, which may be due to high selectivity of K^+ in all plant organs, even at high temperatures. In summary, *J. curcas* plant with $[K^+]_{ext}$ at appropriate levels and exposed to excess NaCl regardless of temperature and high humidity and reduce the adverse effects of excess sodium, possibly by reducing the transport of Na^+ in the xylem and less accumulation in leaves. These data suggest that $[K^+]_{ext}$ strongly promote the mitigation of the adverse effects of excess sodium and reduction of this ion in plants *J. curcas*.

Index terms: ion homeostasis, high temperature, relative humidity, mineral nutrition, physic nut.

Introdução

Estresses abióticos, como salinidade, temperaturas extremas e baixa umidade relativa do ar são ameaças à agricultura como redução de crescimento e resulta na deterioração do meio ambiente. Esses tipos de estresses são a principal causa da perda de produção em todo o mundo, reduzindo o rendimento médio da maioria das principais culturas por mais de 50% (BRAY et al., 2000; CAVALCANTE, 2000; WANG et al., 2001). A salinidade e temperaturas extremas bem como uma umidade do ar baixa são freqüentemente interconectadas, e pode induzir dano celular bastante similar. Por exemplo, umidade baixa, temperatura elevada e/ou salinização se manifesta principalmente como estresse osmótico, resultando na interrupção da homeostase e distribuição irregular de íons na célula (SERRANO et al. 1999, ZHU, 2001; APSE e BLUMWALD, 2007), no caso da salinidade aliada a condições ambientais desfavoráveis, o excesso de íons como Na^+ e Cl^- pode ser agravado, levando a redução do crescimento e desenvolvimento do vegetal (FLOWERS et al., 2004; FAO, 2009; MUNNS e TESTER, 2008).

Slabu et al. (2009) concluiu que com alta concentração de NaCl, o Na^+ é um íon primário tóxico, que interfere na absorção de K^+ e conseqüentemente interrompe a resposta estomática, resultando em perda de água, improdutividade e necroses. Baseado nisso, a homeostase de Na^+ e K^+ é um importante mecanismo para reduzir o estresse salino em plantas superiores, apresentando um fator que contribuiria para tolerância à salinidade (ASHLEY et al., 2006; HONG et al., 2009). Segundo Flowers, (2004); Horie e Schroeder, (2004), o íon potássio (K^+) é um macronutriente essencial para todas as espécies vegetais e desempenha funções biológicas que envolvem processos celulares e fisiológicos. O K^+ atua na manutenção do potencial osmótico celular, no balanço de cargas negativas do citosol, na manutenção do potencial de membrana plasmática e na manutenção do pH nos níveis adequados, e é co-fator enzimático em diversas enzimas da fotossíntese, da respiração e da biossíntese de proteínas, (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; EPSTEIN e BLOOM, 2006; NIEVES-CORDONES et al., 2007).

A resposta ideal das plantas ao estresse salino seria manter uma baixa $[\text{Na}^+]$ e uma alta $[\text{K}^+]$ citosólica. Assim, a discriminação dos transportadores e canais de proteínas aos íons nas raízes se torna importante, e é considerado um índice de resistência a salinidade (GUILLERMO et al., 2001; DASGAN et al., 2002; CUIN et al., 2008). De forma, a compartimentalização e exclusão do sódio também podem levar à baixa $[\text{Na}^+]$ citosólica, e outra alternativa seria o aumento na oferta de K^+ no ambiente radicular (TESTER e DAVENPORT, 2003; ZHU, 2003; COSKUN et al., 2010). Para muitas espécies, o aumento na relação K^+/Na^+ , é um fator tão importante quanto simplesmente manter uma baixa concentração de sódio (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; RUBIO et al, 2003; HORIE e SCHROEDER, 2004; CUIN et al., , 2008; VOIGT et al., 2009).

Recentemente Silva et al., (2009) demonstraram que plantas de pinhão manso apresentam concentrações relativamente elevadas de K^+ em folhas e, em níveis baixos de NaCl na solução nutritiva (50 mM), as concentrações de K^+ são reduzidas quase 10 vezes. Considerando os poucos estudos relacionados ao uso de pinhão manso em solos salinos sódicos, com enfoque fisiológico e a interação desses processos com variações climáticas, os resultados obtidos por Silva et al. (2009) sugerem relevantes hipóteses: (1) há um antagonismo intenso entre K^+ e Na^+ ?; (2) Como a nutrição de potássio adequada pode atenuar os efeitos negativos do Na^+ e como o excesso de Na^+ pode causar problemas na absorção de K^+ ?; (3) sendo uma espécie do semiárido, e além do aspecto da salinidade, como os fatores de diferentes temperaturas e umidades do ar

podem ocasionar alterações nos processos de aquisição de potássio e redução na absorção de Na^+ ?

O pinhão manso é uma espécie que tem um enorme potencial como produtor de bioenergia em muitos países (BEHERA et al., 2010). Diante do exposto, diz-se que a tolerância e/ou resistência à salinidade pode estar correlacionado a uma adequada nutrição potássica. Na tentativa de se estabelecer relações entre o acúmulo e a distribuição desses íons e os mecanismos de tolerância dessa espécie, objetivou-se, portanto, no presente trabalho elucidar os mecanismos de interação entre K^+ - Na^+ no nível de partição em planta inteira submetidas a diferentes temperaturas e umidades do ar, o efeito do Na^+ sobre a absorção de K^+ . Avaliar qual temperatura e umidade relativa do ar poderia causar a extensão ou diminuição com que os íons salinos são acumulados, o papel do K^+ na minimização dos efeitos do excesso de Na^+ e suas respectivas contribuições para o ajustamento osmótico. Este artigo relata a influência da temperatura e umidade do ar sobre a distribuição e translocação de Na^+ e K^+ em plantas de pinhão manso.

Material e Métodos

Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido inicialmente em casa de vegetação e em seguida na câmara de crescimento (Fitotron) pertencente à Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE (3°44'S e 38°33'W). As condições ambientais no interior da casa de vegetação foram: fotoperíodo de 12 horas, temperatura média mínima de 24 °C, temperatura máxima de 36 °C, temperatura média diária de 29 °C, umidade relativa do ar média de 65% e radiação fotossinteticamente ativa máxima média de aproximadamente $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Enquanto que no Fitotron no período de aclimatação foram: fotoperíodo de 12 horas, temperatura de 27 °C, umidade relativa do ar média de 70% e radiação fotossinteticamente ativa máxima média de aproximadamente $550 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para o período de experimentação, as plantas foram divididas em quatro lotes: (1) Temperatura de 27 °C – umidade relativa do ar de 40%, (2) Temperatura de 27 °C – umidade relativa do ar de 80%, (3) Temperatura de 42 °C – umidade relativa do ar de 80% e (4) Temperatura de 42 °C – umidade relativa do ar de 40% em todas as condições um fotoperíodo de 12 horas, com radiação fotossinteticamente ativa máxima média de aproximadamente $550 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Foram utilizadas sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) da linhagem FT 2 fornecidas pelo Instituto Fazenda Tamanduá, Santa Terezinha-PB. Sementes previamente selecionadas por tamanho e peso foram germinadas em areia e mantidas oito dias após o semeio e irrigadas diariamente com água destilada. Em seguida, as plântulas foram transferidas para vasos de 2 L, contendo solução de Hoagland e Arnon (1950) com diluição de $\frac{1}{4}$ na primeira semana e $\frac{1}{2}$ na segunda semana, com pH 6,0 ajustado a cada dois dias com NaOH 1 mol L⁻¹ ou HCl 1 mol L⁻¹. As soluções foram renovadas a cada semana e mantidas sob aeração forçada. As concentrações de K⁺ na solução nutritiva foram de 1,5 mol L⁻¹ e 3,0 mol L⁻¹, na primeira e segunda semana, respectivamente.

Em seguida, plantas com três semanas de idade (após o semeio), foram transferidas para solução nutritiva modificada sem K⁺ contendo (mM): 0,75 Ca(NO₃)₂; 0,25 NH₄Cl; 0,0625 Ca(H₂PO₄)₂; 0,125 MgSO₄ e micronutrientes (μM) 10 H₃BO₃; 2,25 MnCl₂; 0,75 CuSO₄; 1,75 ZnMoO₄; 0,025 Na₂MoO₄; 25 Fe-EDTA. Logo, essas plantas foram transferidas para a câmara de crescimento (Fitotron - modelo PGW 36), passaram 24 h a uma temperatura de 27 °C para aclimação e posteriormente as plantas foram divididas em quatro grupos: um subgrupo pré-tratado sem K⁺ que foi exposto à solução modificada sem K⁺ e NaCl (tratamento K₀Na₀), sem K⁺ e adição de 50 mM de NaCl (tratamento K₀Na₁), e o outro mantido em solução com 10 mM K⁺ que foi exposto à solução modificada com KCl 1 M, na ausência de NaCl (tratamento K₁Na₀) e 10 mM de K⁺ e adição de 50 mM de NaCl (tratamento K₁Na₁). As plantas submetidas aos seus respectivos tratamentos foram colocadas nas câmaras de crescimento e expostas as suas respectivas temperaturas e umidades relativas do ar como dito anteriormente. Após 48 horas, as plantas foram separadas em folhas, caules e raízes e secas em estufa com circulação de ar (70 °C por 72 horas) para as determinações K⁺, Na⁺ e massa seca.

Taxa de transpiração e fotossíntese

Após 30 horas de exposição aos tratamentos tanto das doses de K⁺ e Na⁺, temperaturas e umidades relativas do ar, foram realizadas leituras de transpiração e fotossíntese em folhas totalmente expandidas do terço médio das plantas, utilizando um analisador de gás no infravermelho (IRGA, mod LCA-2, ADC, Hoddesdon, UK).

Determinação das concentrações de sódio e potássio

As determinações das concentrações de sódio e potássio foram realizadas conforme descrito em Silva et al. (2009). A extração foi feita utilizando 50 mg material moído com 20 mL de H₂O deionizada em banho-maria a 100 °C por 1 hora. O extrato obtido foi centrifugado e seu sobrenadante foi analisado em fotômetro de chama (Micronal, modelo B462) para as determinações das concentrações de Na⁺ e K⁺.

Determinação da cinética de absorção de Na⁺ e K⁺

Plantas com 23 dias, tiveram suas raízes destacadas da parte aérea, foram lavadas com 0,1 mM de CaCl₂ em temperatura ambiente (23 °C) por 4 minutos, de acordo com o metodologia Huang et al. (1992) e Voigt et al. (2009). Em seguida, as raízes foram secas suavemente com papel toalha e foram transferidas para *Erlenmeyer* de 250 mL de meio de incubação contendo ácido 2-[N-morfolino]-etanossulfônico (MES) 2,0 mM pH 6,0 CaCl₂ 0,1 mM. As raízes foram expostas a meio de incubação adicionado de KCl 0 e 10 mM por 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 minutos e adição de 0 e 50 mM NaCl a 27 °C e 42 °C, denominados de tratamentos K₀Na₁ – 27 °C, K₀Na₁ – 42 °C, K₁Na₁ – 27 °C e K₁Na₁ – 42 °C. Ao final da realização desses experimentos, as raízes foram lavadas em CaCl₂ 0,1 mM gelado por 4 minutos para o deslocamento do Na⁺ apoplástico. O tempo de curso de absorção de Na⁺ e K⁺ foi determinado pela depleção da concentração dos íons na solução de incubação em cada tempo. O influxo foi expresso em [mmol (kg MS h)⁻¹].

Determinação dos fluxos na seiva, taxa de acumulação de K⁺ e Na⁺ e seletividade no fluxo dos íons K⁺ e Na⁺ em partes da planta

Inicialmente, foi determinado o fluxo da seiva do xilema por meio da pesagem do líquido coletado, assumindo uma densidade de 1,0 para a seiva. O fluxo da seiva radicular foi coleta na região do colo, por meio de corte em bizel com estilete. As primeiras gotas do exudado foram desprezadas e a coleta durou 60 min. As concentrações de K⁺ e Na⁺ foram determinadas por fotometria de chama e o fluxo dos íons na seiva foi expresso em [(mmol kg seiva h)⁻¹]. As taxas de acumulação de Na⁺ (J_{Na}) e K⁺ (J_K) em folhas e caules foram calculados a partir da variação das concentrações de Na⁺ e K⁺ e da variação da massa seca das raízes de acordo com equação descrita por Welbank (1962).

$$J_{Na} \text{ or } J_K = \frac{(M_2 - M_1)}{T_2 - T_1} \times \frac{\ln(W_2 - W_1)}{W_2 - W_1}$$

Onde J_{Na} ou J_K :

M_1 e M_2 = concentrações de K^+ e Na^+ nas diferentes partes da planta no tempo inicial (M_1) e tempo final M_2 , 24 horas;

T = tempo em horas, sendo T_1 o tempo inicial e T_2 o tempo após 24 horas de tratamento.

W = massa seca de raízes, sendo W_1 no tempo inicial e W_2 massa seca no tempo final. Os resultados de fluxo foram expressos como [mmol (kg de massa seca de raiz. dia)⁻¹].

A seletividade de K^+ - Na^+ dos fluxos de íons foi descrita pela relação de seletividade descrita por Jeschke e Stelzer, (1983):

$$S_{K, Na} = \frac{J_K}{J_{Na}} \times \frac{[Na^+]_{ext}}{[K^+]_{ext}}$$

Delineamento experimental

O experimento com plantas inteiras foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial $2 \times 2 \times 2 \times 2$ (duas doses de potássio, duas de sódio, duas temperaturas e duas umidades relativas do ar) com quatro repetições, sendo uma planta por vaso representando uma unidade experimental. Em experimentos em raízes destacadas, foram realizadas com quatro repetições, cada uma consistia em um frasco contendo um sistema radicular individual. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados

Massa seca, parâmetros de trocas gasosas, fluxo dos íons na seiva do xilema radicular e influxo em raízes destacadas

Após exposição às combinações $K^+ \times Na^+ \times T \text{ } ^\circ\text{C} \times \text{UR}$, as plantas de pinhão manso apresentaram comportamento diferenciado na massa seca, nas trocas gasosas, na seiva do xilema e no influxo em raízes destacadas. As plantas supridas com K^+ na ausência de NaCl apresentaram maior massa seca, tanto na parte aérea como nas raízes e crescimento foi mais pronunciado em uma umidade relativa do ar 80% independentemente da temperatura. A segunda maior produção de massa seca, foram das plantas submetidas aos 10 mM de K^+ com 50 mM de NaCl. Como esperado, a menor produção de massa seca foram das plantas expostas na ausência de K^+ , com 50

mM de NaCl, aos 42 °C de temperatura e umidade relativa do ar 40% (Figura 1). O DPV atua como indicador do equilíbrio térmico entre a planta e o meio. Em geral, a diminuição do DPV aumenta o crescimento das plantas, por mudanças fisiológicas, como incremento da fotossíntese e eficiência do uso da água. Os dados obtidos do DPV nas combinações de temperatura e umidade relativa do ar foram: 42 °C/ 80% = 1,11; 42 °C/ 40% = 3,3; 27 °C/ 80% = 0,5; 27 °C/ 40% = 1,62 kPa. Esses dados corroboram os encontrados pelo menor valor de DPV, dita como uma condição ambiental favorável, visto que de acordo com os resultados, a maior produção de massa seca foi das plantas submetidas à umidade relativa do ar de 80%. Diferentemente, as plantas submetidas a uma umidade relativa do ar de 40%, no caso de um DPV elevado, apresentaram menor fotossíntese, conseqüentemente menor produção de massa seca (Figura 1 e 2).

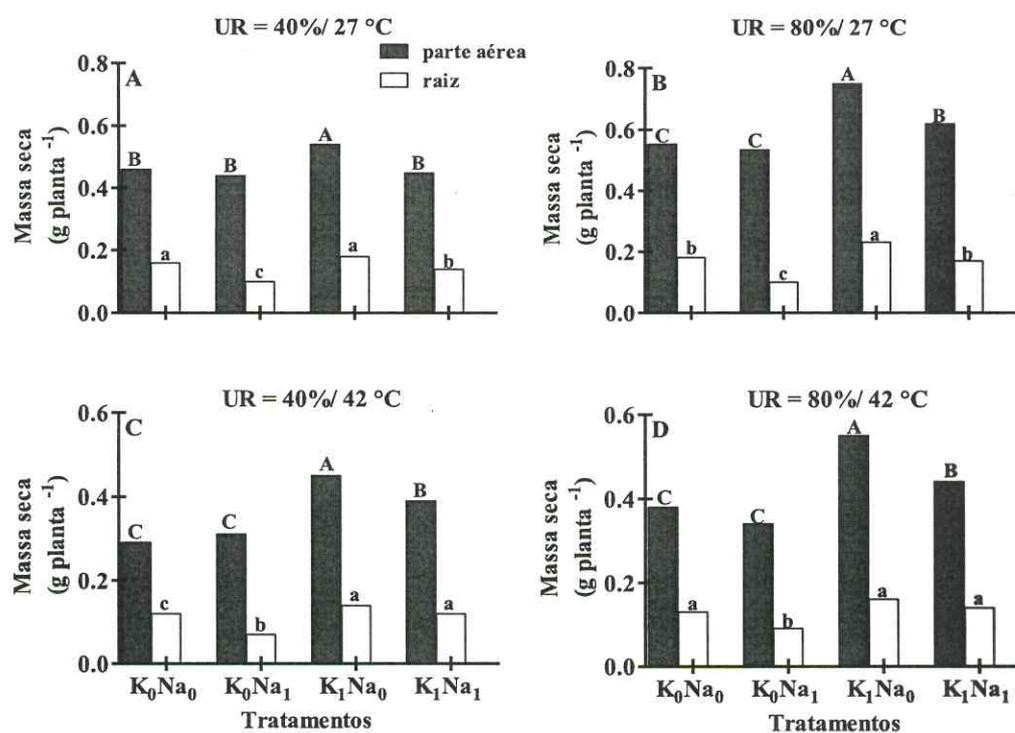


Figura 1 - Massa seca da parte aérea e raiz em umidade relativa do ar 40% e temperatura 27 °C (A), umidade relativa do ar 80% e temperatura 27 °C (B), umidade relativa do ar 40% e temperatura 42 °C (C) e umidade relativa do ar 80% e temperatura 42 °C (D) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K⁺ + 0 e 50 mM de Na⁺. Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para raiz) e maiúsculas (para parte aérea) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey (p<0,05).

Nos tratamentos sem K⁺, 0 e 50 de NaCl na solução nutritiva (tratamentos K₀Na₀ e K₀Na₁), a fotossíntese e a transpiração foram inferiores aos comparados aos tratamentos na presença de K⁺ (K₁Na₀ e K₁Na₁). Aos 42 °C as trocas gasosas sofreram influência

positiva quando comparados a uma condição mais amena (27 °C). Como consequência a manutenção das taxas fotossintéticas das plantas e a massa seca da parte aérea e raiz, nos tratamentos com ausência de K^+ , aos 42 °C e umidade relativa do ar 40% foram os mais prejudicados em comparação as demais condições ambientais e combinações $K^+ \times Na^+$, reforçando a natureza danosa das condições de K^+ ausente, temperatura elevada e umidade do ar baixa.

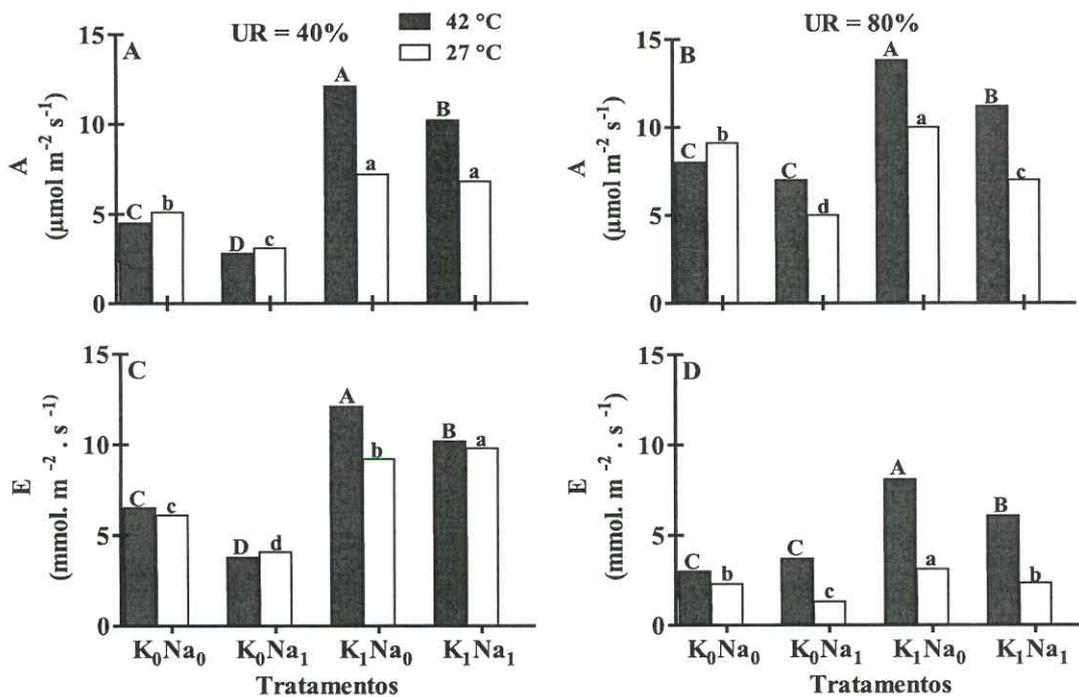


Figura 2 - Dados de fotossíntese em umidade relativa do ar 40% (A), fotossíntese umidade relativa do ar 80% (B), transpiração umidade relativa do ar 40% (C) e transpiração umidade relativa do ar 80% (D) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para 42 °C) e maiúsculas (para 27 °C) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Submetidas as temperaturas em que essas plantas foram expostas em UR 80%, a presença de 10 mM de K^+ na solução nutritiva (K₁) causou intensa redução no fluxo de Na^+ na seiva do xilema (tratamentos K₀Na₁ versus K₁Na₁), uma queda em torno de 50% nas duas temperaturas (Figura 3A e B). Diferentemente a presença de 50 mM de NaCl causou uma menor redução (11% aos 27 °C) e maior (43% aos 42 °C) no fluxo de potássio na seiva do xilema (tratamentos K₁Na₀ versus K₁Na₁), indicando que a despeito da concentração de sódio na solução ter sido cinco vezes maior do que a de potássio, a planta apresentou uma seletividade maior por K^+ no xilema aos 27 °C de temperatura, comparada ao Na^+ . Nas duas temperaturas, o tratamento K₁Na₀ apresentou os maiores

valores de fluxo de K^+ e os menores para Na^+ . Observa-se que a presença de K^+ foi essencial para as taxas de transpiração, as quais foram reduzidas pela presença do NaCl (Figura 2 e 3).

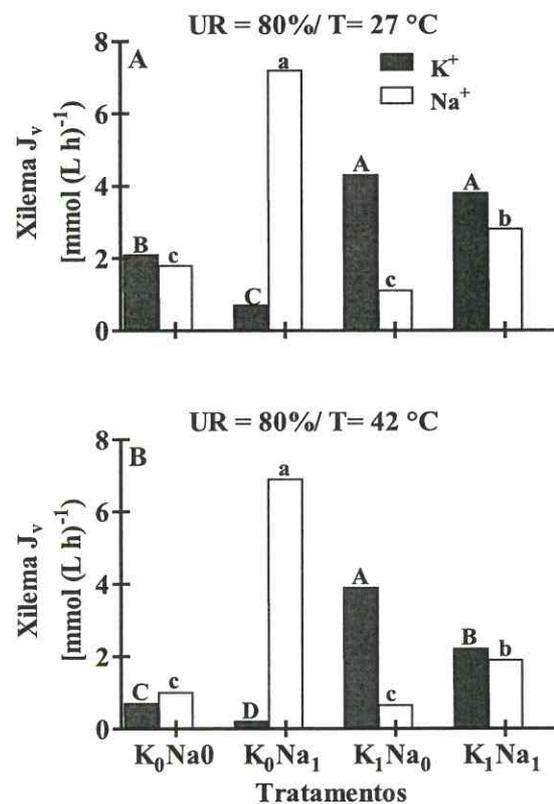


Figura 3 - Seiva de xilema em umidade relativa do ar 80% aos 27 °C (A) e umidade relativa do ar 80% aos 42 °C (B) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para 42 °C) e maiúsculas (para 27 °C) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tanto o influxo de K^+ como o de Na^+ , foram menores aos 42 °C comparado aos 27 °C. O influxo de Na^+ nas raízes destacadas aumentou na presença e ausência de KCl 10 mM ao longo do tempo. O influxo de K^+ foi fortemente diminuído na presença de 50 mM de NaCl ao longo dos minutos. Na ausência de K^+ na solução, houve uma redução de 47% aos 27 °C e 26% aos 42 °C após 60 min de incubação (tratamento K_0Na_1 versus K_1Na_1 - Figura 4A e B). Em contrapartida, após 60 min de incubação da raiz, no tratamento salino (NaCl 50 mM), o influxo de Na^+ foi menor, cerca de 9% aos 27 °C e 31% aos 42 °C em relação ao tratamento na presença de KCl (tratamento K_1Na_1 versus K_0Na_1 - Figura 4C e D) evidenciando um forte antagonismo entre esses íons.

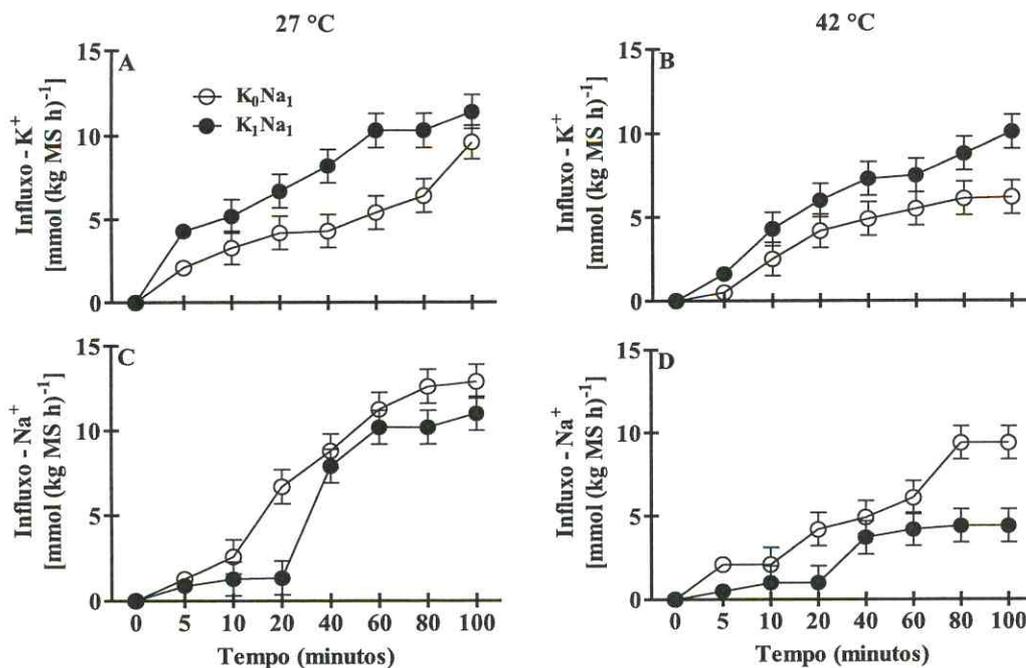


Figura 4 – Influxo de K⁺ a 27 °C (A), de K⁺ a 42 °C (B), de Na⁺ a 27 °C (C) e de Na⁺ a 42 °C (D) de raízes destacadas de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K⁺ + 50 mM de Na⁺. Médias de quatro repetições ± desvio padrão.

Taxas de acumulação de K⁺ e Na⁺ e seletividade de K⁺

As taxas de acumulação de K⁺, nos tratamentos contendo esse íon, tanto isolado como combinado ao NaCl na solução, foi maior que o do Na⁺ nas folhas e no caule, independentemente da temperatura na UR de 80% (tratamento K₁Na₁ e K₁Na₀), enquanto que na UR 40% as taxas de acumulação de Na⁺ foram maiores do que as taxas de K⁺ (tratamento K₁Na₁ e K₀Na₁ - Figura 5). Os valores das taxas de acumulação de K⁺ no tratamento K₀Na₁ submetido às duas temperaturas e UR, atingiu valores insignificantes nas folhas e caule. Em contra partida, a presença de K⁺ na concentração de 10 mM na solução nutritiva causou uma redução de cerca 50% no transporte de Na⁺ para as folhas e o caule nas duas temperaturas estudadas e UR 80% (tratamento K₁Na₁ - Figura 5A e D e Figura 6B e D). Mais uma vez, esses resultados indicam que as plantas de pinhão manso possuem uma maior seletividade por potássio. Em síntese, o K⁺ indicou maior seletividade no transporte para a parte aérea por ter mostrado menores taxas de transporte do Na⁺ em UR 80%. Em outras palavras, o K⁺ externo foi capaz de reduzir significativamente a taxa de transporte de sódio e conseqüentemente a acumulação do íon salino na parte aérea independentemente da temperatura e UR 80% (Figura 5 e 6). Já na UR 40%, o Na⁺ apresentou maior taxa de acumulação, esses dados mostram que a umidade relativa do ar apresentou maior efeito sobre a taxa de

acumulação dos íons do que a temperatura. Resultados estes que poderiam ser relacionados à menor produção de massa seca e taxas fotossintéticas e com isso ter impossibilitado a coleta da seiva do xilema, sugestão reforçada pelos baixos níveis foliares de K^+ sob essas condições.

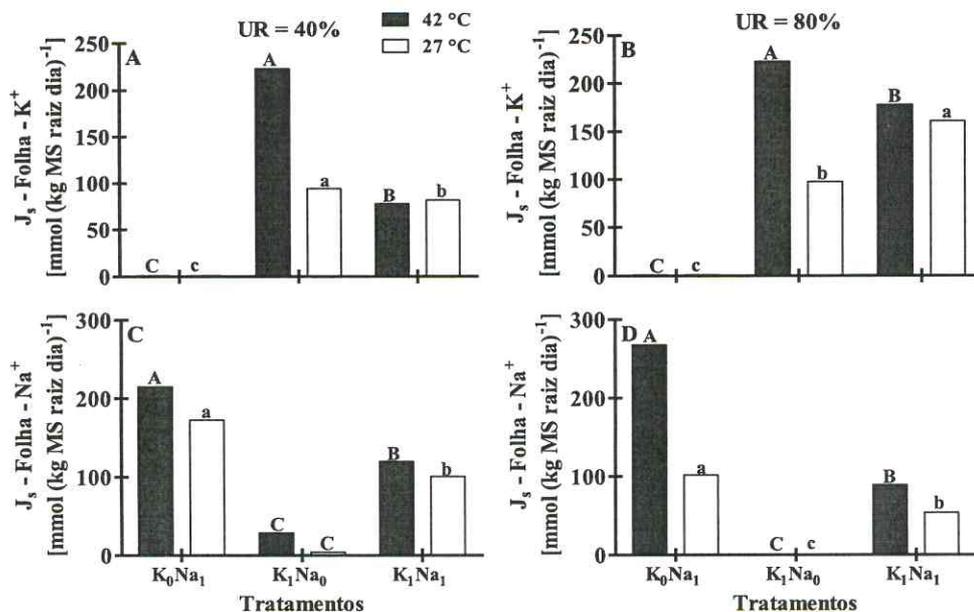


Figura 5 – Transporte em folhas de K^+ em umidade relativa do ar 40% (A), de K^+ em umidade relativa do ar 80% (B), de Na^+ em umidade relativa do ar 40% (C) e de Na^+ em umidade relativa do ar 80% (D) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para 42 °C) e maiúsculas (para 27 °C) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

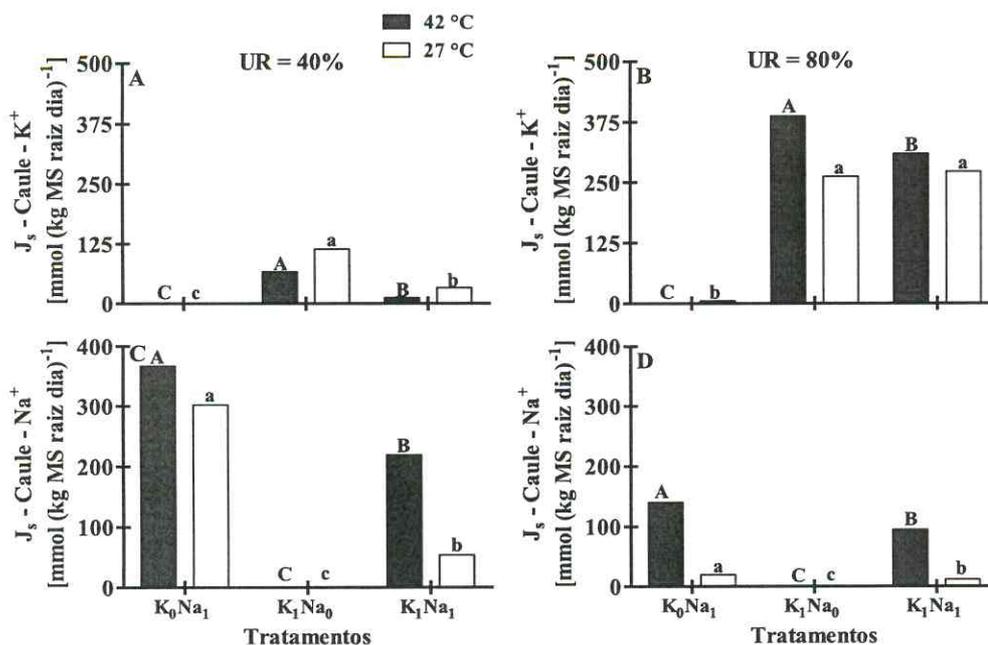


Figura 6 – Transporte no caule de K^+ em umidade relativa do ar 40% (A), de K^+ em umidade relativa do ar 80% (B), de Na^+ em umidade relativa do ar 40% (C) e de Na^+ em umidade relativa do ar 80% (D) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para 42 °C) e maiúsculas (para 27 °C) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos mostraram que comparando as combinações K_1Na_1 versus K_0Na_1 na UR 80% as relações foram maiores em 77% (42 °C), 81% (27 °C) em folhas, 65% (42 °C), 75% (27 °C) no caule, 77% (42 °C), 82% (27 °C) em raízes (Figura 7). O mesmo ocorreu sob uma condição de UR 40%, a relação aumentou em 90% (42 °C), 75% (27 °C) em folhas, 60% (42 °C), 62% (27 °C) no caule, 86% (42 °C), 84% (27 °C) em raízes (Figura 7). Embora as relações tenham aumentado em comparação as com as combinações K_1Na_1 versus K_0Na_1 , verifica-se que nos dois tratamentos, os valores foram maiores em uma UR de 80%, principalmente na parte aérea das plantas.

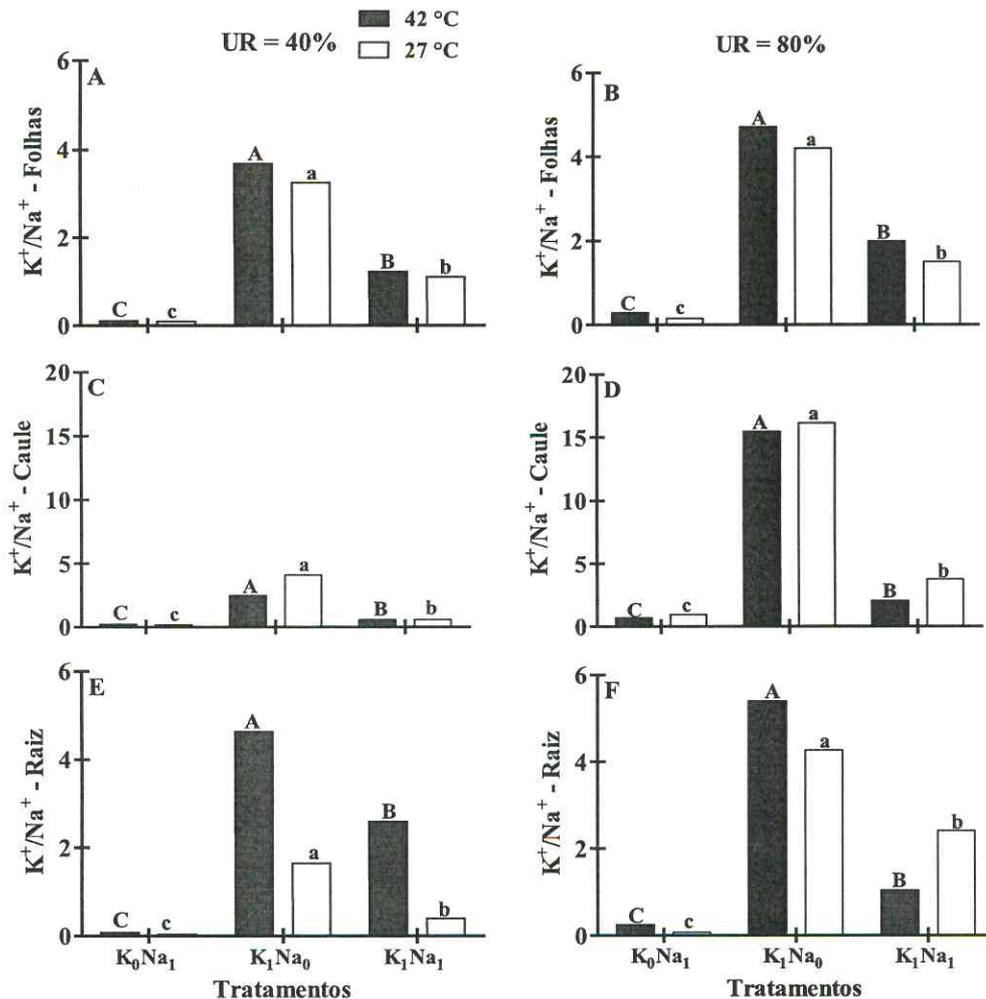


Figura 7 – Dados da relação K^+/Na^+ em folhas umidade relativa do ar 40% (A), umidade relativa do ar 80% (B), no caule umidade relativa do ar 40% (C), umidade relativa do ar 80% (D), em raízes umidade relativa do ar 40% (E) e umidade relativa do ar 80% (F) de plantas de pinhão manso expostas a diferentes temperaturas e umidades relativas do ar submetida à concentração externa de 0 ou 10 mM de K^+ + 0 e 50 mM de Na^+ . Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para 42 °C) e maiúsculas (para 27 °C) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

A seletividade K^+-Na^+ com base nos fluxos dos dois íons no tratamento K_1Na_1 em UR 80% aos 27 °C foi maior no caule (14,6), seguido pelas folhas (5,6) e raízes (1,4) aos 27 °C. Já em uma temperatura elevada (42 °C) e UR de 80% foi maior no caule (11,2), seguido pelas raízes (3,3) e folhas (1,7). Sob uma condição de umidade relativa do ar baixa (40%) veja que aos 27 °C foi maior no caule (3,04), seguido pelas folhas (2,6) e raízes (0,7) e aos 42 °C foi maior nas folhas (1,8), seguido pelas raízes (1,7) e caule (0,28), note que a seletividade como a relação K^+/Na^+ na UR baixa os valores obtidos foram inferiores aos comparados a UR alta (Figura 8).

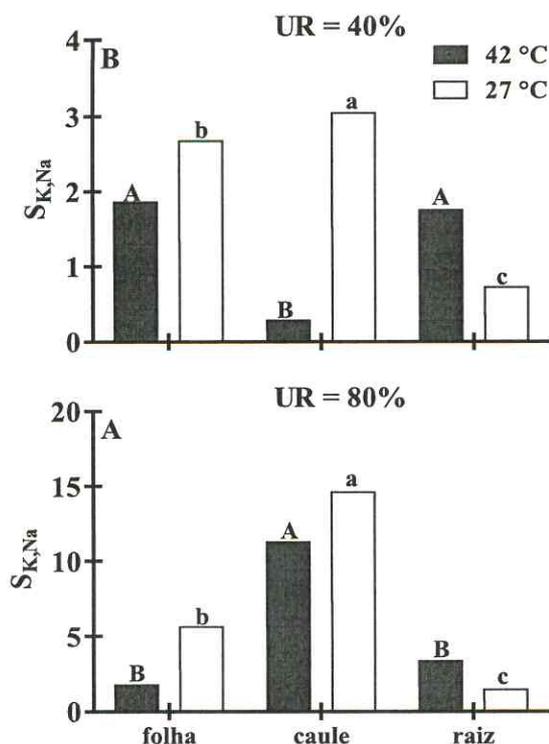


Figura 8 – Seletividade: S_{K-Na} em folhas, caule e raízes em umidade relativa do ar 40% (A), S_{Na-K} em folhas, caule e raízes em umidade relativa do ar 80% (B) em plantas de pinhão manso submetidas a 10 mM de K^+ + 50 mM de Na^+ submetida à diferentes temperaturas. Os valores representam médias de quatro repetições. Médias iguais seguidas com letras minúsculas (para 42 °C) e maiúsculas (para 27 °C) não denotam diferenças significativas conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados mostraram que a parte aérea de *J. curcas* apresentou seletividade elevada para K^+ , mesmo na presença de Na^+ , e em diferentes temperaturas. Verifica-se que a presença de uma concentração elevada (10 mM) de potássio no meio externo comparado ao tratamento na ausência de potássio na solução, em umidade relativa do ar elevada, foi capaz de aumentar e reduzir significativamente as trocas gasosas e a acumulação de Na^+ , respectivamente (Figuras 2, 5 e 6). Portanto, o aumento na seletividade ao K^+ em condições de umidade relativa elevada, pode representar um importante mecanismo para incrementar a tolerância das plantas de pinhão manso ao estresse salino.

Discussão

A salinidade em solos de regiões áridas e semiáridas além da taxa de evapotranspiração são aumentadas pelas condições opostas, ou seja, baixa umidade relativa do ar, alta radiação e elevadas temperaturas, situações que são comuns nas regiões áridas e semiáridas e constitui-se em fator limitante da produção agrícola e expressa preocupação social, uma vez que milhões de hectares de terra em todo o

mundo são afetados por sais e condições de elevação de temperatura (TAIZ e ZEIGER, 2004; LIMA et al., 2006). Segundo Cavalcante (2000), essas áreas a cada ano estão potencializando a redução de sua capacidade produtiva, devido à concentração de sais nas águas de irrigação ou por efeitos da intensa evaporação, ocasionados por altas temperaturas, ou pela solubilização dos sais existentes no solo.

Os resultados têm demonstrado que o estresse salino afeta drasticamente o balanço nutricional do pinhão manso, ocorrendo um forte acúmulo dos íons Na^+ e Cl^- em todos os órgãos da planta e promovendo significativa redução do conteúdo de potássio radicular da espécie (SILVA et al., 2011). Interações competitivas entre os íons Na^+ e K^+ durante a fase de absorção iônica pelo sistema radicular de plantas é um fenômeno bastante citado na literatura e é atribuída às similaridades físico-químicas, raio iônico hidratado e carga elétrica dos dois íons (MAATHUIS e AMTMANN, 1999).

Dentre os efeitos mais estudados destaca-se a redução da concentração de K^+ em função do incremento da salinidade sendo reconhecida como mecanismo de tolerância, a capacidade de algumas plantas de absorção seletiva de K^+ associada à exclusão de Na^+ (SILVA, 2004). No presente estudo, o tratamento K_1Na_1 (10 mM de K^+ + 50 mM de Na^+) foi capaz de induzir alterações favoráveis na massa seca, taxa de assimilação de CO_2 e transpiração. Foi demonstrado que as plantas de *J. curcas* cultivadas sob condições de salinidade severa (100 mM NaCl) apresentaram redução significativa nos parâmetros de trocas gasosas e no crescimento devido ao alto acúmulo de Na^+ e redução do conteúdo do K^+ nas folhas (SILVA et al., 2009b, 2010). Em geral, as plantas requerem uma relação K^+/Na^+ adequada em seus tecidos, especialmente nas folhas, a fim de preservar a homeostase iônica e manutenção do equilíbrio osmótico e metabólico nas células vegetais, principalmente nas reações enzimáticas que requerem o K^+ como cofator (YAO et al., 2010). Além disso, um suprimento adequado de K^+ para as plantas é essencial para vários processos fisiológicos como fotossíntese, síntese protéica, transpiração e ajustamento osmótico (OLIAS et al., 2009).

Em uma situação de K^+ ausente e com 50 mM de NaCl, observa-se que o K^+ apresentou reduções nas diversas partes da planta no tratamento K_0Na_1 . Ashley et al. (2006) relataram que a fome de K^+ pode aumentar a susceptibilidade do estresse salino nas plantas e que proporcionam regulações de proteínas de transporte e o ajuste dos processos metabólicos. E que o status de K^+ pode ser diferenciado na presença de elevados níveis de outros cátions monovalentes, como sódio que interferem com a absorção de potássio (QI e SPALDING, 2004; RUS et al., 2004) ocasionando uma

menor K^+/Na^+ , e isso pode contribuir para uma maior acumulação de Na^+ na parte aérea como foi visto no tratamento K_0Na_1 . As plantas que estavam submetidas à elevada temperatura e UR baixa sofreram maior demanda evaporativa, reduziram a taxa de acumulação de K^+ (em comparação ao K_1Na_1 UR 80%) favorecendo a acumulação de Na^+ na parte aérea tanto na ausência e presença de K^+ , (tratamento K_0Na_1 e K_1Na_1 principalmente no caule). Spalding et al. (1999) relatou que a acumulação de Na^+ na parte aérea é proporcional ao fluxo de transpiração (a maior absorção de água, maior acúmulo de Na^+ na parte aérea). Portanto, os resultados corroboram parcialmente com os efeitos da transpiração e acumulação de Na^+ na parte aérea conforme acima referido, uma vez que a UR baixa induziu maior acúmulo de Na^+ . Além disso, podemos dizer no presente estudo, que esse efeito pode ser dependente do status de K^+ e da umidade relativa do ar, visto que quando supridas de K^+ e UR alta (80%), o inverso ocorreu, ou seja, uma diminuição no acúmulo de Na^+ e um aumento na absorção de K^+ . Curiosamente, Quintero et al. (2007) demonstraram que a translocação Na^+ para a parte aérea foi independente da taxa de transpiração em uma cultivar de soja tolerante tratadas com 40 e 80 mM de NaCl, enquanto que a translocação de Na^+ foi dependente da transpiração em uma cultivar sensível a salinidade.

Os dados mostram que existe um forte antagonismo entre K^+ e Na^+ em plantas de *J. curcas*, corroborando com os resultados anteriores (SILVA et al., 2011). Como consequência, quando a concentração de K^+ foi 10 mM, a absorção de Na^+ pelas raízes (dados não mostrados) e as taxas de transporte nas folhas foram fortemente diminuídas (Figura 5). A elevada concentração de K^+ induziu uma restrição na acumulação de Na^+ e evitando os seus efeitos danosos, permitindo um aumento da fotossíntese aliada a uma temperatura e umidade elevada. Estes efeitos benéficos desencadeados pelo K^+ foram comprovadamente associados com aumento no efluxo e diminuição do influxo de Na^+ nas raízes, como já observado em outros estudos (OLIAS et al., 2009; COSKUN et al., 2010).

O excesso de sódio no meio afeta o crescimento e a produção da maioria das glicófitas e a intensidade desse efeito varia em função da espécie, genótipo e estágio de desenvolvimento (MUNNS et al., 2002). Os efeitos adversos do excesso de Na^+ sobre a nutrição potássica podem ocorrer tanto na fase de absorção como no metabolismo celular. Durante a absorção os canais responsáveis pela absorção de K^+ podem permitir o influxo de Na^+ em um processo competitivo (XIONG e ZHU, 2002). O acúmulo desse elemento no citosol pode interagir com sítios de ligação específicos para K^+ em enzimas

e reduzir ou bloquear a atividade dessas proteínas, interferindo fortemente no metabolismo celular. Diversos relatos da literatura têm demonstrado que uma alta relação K^+/Na^+ no tecido vegetal é um elemento chave para resistência ao estresse salino (MAATHUIS e AMTMANN, 1999; RUS et al., 2004). Os dados mostraram que a relação K^+/Na^+ , diminuiu nas diversas partes da planta no tratamento K_0Na_1 nas duas temperaturas e umidade, enquanto que no tratamento K_1Na_1 as relações foram maiores aos 42 °C, que apresentou valores próximos de 1,0 nas folhas, caule e raízes. Em *J. curcas* foi demonstrado anteriormente (SILVA et al., 2009a; SILVA et al., 2011) que plantas estressadas podem apresentar uma relação de K^+/Na^+ em folhas de cerca de 0,20 comparados com os valores de aproximados de 4,0 em plantas não estressadas. Corroborando com Maathuis e Amtmann, (1999) que têm correlacionado a resistência a estresses ambientais com a manutenção de uma adequada nutrição potássica dentro da planta, podendo em alguns casos este parâmetro ser utilizado como critério de seleção de materiais sensíveis e resistentes a determinado tipo de estresse. Apesar da interação $K^+ - Na^+$ ser intensamente estudada em condições de estresse salino (SHABALA e CUIN, 2007; CUIN et al., 2008.), poucos trabalhos mostram as relações entre as taxas K^+/Na^+ , seletividade iônica, desempenho da planta, como fotossíntese aliada a interações entre diferentes condições ambientais.

Múltiplos sistemas de absorção com seletividades para K^+ e Na^+ podem refletir a necessidade da planta em coordenar o influxo desses cátions (SCHACHTMAN e LIU, 1999). Na maioria das espécies cultivadas a tolerância e/ou a resistência a salinidade é baixa, podendo ocorrer grande variabilidade genética não apenas entre espécies, mas também, entre cultivares dentro de uma espécie. Deste modo, a seleção de espécies tolerantes e/ou resistentes é um fator importante para a produção agrícola em regiões áridas e semiáridas. Em nosso trabalho apresentamos um estudo envolvendo alguns processos fisiológicos essenciais envolvidos com o melhoramento da toxicidade de Na^+ por K^+ , utilizando um modelo de planta que apresenta um forte antagonismo entre esses íons.

Os resultados mostraram que o fornecimento de concentrações de K^+ elevadas poderia atenuar os efeitos adversos causados por Na^+ aliado a diferentes temperaturas e umidades. De acordo com os resultados, podemos dizer que as plantas de pinhão manso apresentaram capacidade de retenção (ou diminuição na absorção) do Na^+ pelo sistema radicular com conseqüente restrição do fluxo desses íons para a parte aérea da planta em UR de 80% representando um importante mecanismo de resistência à salinidade. E

submetida à baixa umidade, as plantas apresentaram menores taxas de fotossíntese e consequentemente menor crescimento, que pode ter sido atribuído pela redução na taxa de acumulação de K^+ e um aumento do Na^+ . Baseado nisso, as plantas permitiram uma homeostase iônica adequada, que pode estar associado à alta seletividade de K^+ em todos os seus órgãos, mesmo em temperaturas elevadas e umidade do ar 80% (Figura 8). Em síntese, plantas de pinhão manso com $[K^+]_{ext}$ em níveis adequados e expostas ao excesso de NaCl independentemente da temperatura e umidade relativa do ar elevada, reduzem os efeitos adversos do excesso de sódio, possivelmente pela redução no transporte de Na^+ no xilema e menor acumulação nas folhas. Estes dados sugerem que $[K^+]_{ext}$ promovem fortemente a mitigação dos efeitos adversos do excesso de sódio e redução deste íon em plantas de *J. curcas*.

Referências

- APSE, M. P., BLUMWALD, E. Na^+ transport in plants. **FEBS Letters**. 581, 2247-2254. 2007.
- ASHLEY, M. K.; GRANT, M.; GRABOV, A. Plant response to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 425-436, 2006.
- BEHERA, S. K. Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass – A case study. **Biomass and Bioenergy**. 34, 30-4, 2010
- BRAY, E. A, BAILEY-SERRES, J, WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses, in: W. Gruissem, B. Buchanan, R. Jones (Eds.), **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, p. 158–1249. 2000.
- CAVALCANTE, L. F. **Sais e seus problemas nos solos irrigados**. Areia, PB: Centro de Ciências Agrárias / Universidade Federal da Paraíba, 2000. 71 p.
- CUIN, T. A., BETTS, S. A., CHALMANDRIER, R., SHABALA, S. A root's ability to retain K^+ correlates with salt tolerance in wheat. **Journal of Experimental Botany**. 59, 2697–2706. 2008.
- COSKUN, D., BRITTO, D. T., KRONZUCKER. Regulation and mechanism of potassium release from barley roots: an in planta $^{42}K^+$ analysis. **New Phytologist**. 188, 1028-1038, 2010.

- DAVENPORT R. J., MUNOZ-MAYOR A., JHA D., ESSAH P.A., RUS A.; TESTER M. The Na⁺ transporter AtHKT1;1 controls retrieval of Na⁺ from the xylem in *Arabidopsis*. **Plant, Cell & Environment** 30, 497–507. 2007.
- DASGAN, H.Y., AKTAS, H., ABAK, K., CAKMAK, I. Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses, **Plant Science**. 163, 695-703. 2002.
- FAO - Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>. Acesso em 12/12/2010.
- Flowers, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**. v. 55, n. 396, p. 307-319, 2004.
- HOAGLAND, D. R., ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular. 347, 1-32, 1950.
- HORIE, T.; SCHROEDER, J.I. Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. **Plant Physiology**, Rockville, v.136, n.6, p.2457-2462, 2004.
- HUANG, Z. Z., YAN, X., JALIL, A., NORLYN, J. D., Epstein, E. Short-term experiments on ion transport by seedlings and excised roots. **Plant Physiology**. 100, 1914-1920, 1992.
- FERREIRA-SILVA S. L.; VOIGT E. L.; VIÉGAS, R. A.; PAIVA J. R.; SILVEIRA, J. A. G. Influência de porta-enxertos na resistência de mudas de cajueiro ao estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.4, p.361-367, 2009.
- HONG C-Y, CHAO Y-Y, YANG M-Y, CHO S-C, HUEI KAO C. Na⁺ but not Cl⁻ or osmotic stress is involved in NaCl-induced expression of glutathione reductase in roots of rice seedlings. **Journal of Plant Physiology** 166, 1598–1606, 2009.
- JESCHKE, W. D., W. STELTER. Ionic relations of garden orache, *Atriplex hortensis*: Growth and ion distribution at moderate salinity and the function of bladder hair. **Journal of Experimental Botany**. 34, 795–810, 1983.
- LEBAUDY, A.; VÉRY, A-A.; SENTENAC, H. K⁺ channel activity in plants: Genes, regulations and function. **FEBS Letters**, v. 581, p. 2357-2366, 2007.
- MAATHIUS, F. J., AMTMANN, A. K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: the basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. **Annals of Botany**. 84, 123-133, 1999.
- MUNNS, R.; HUSAIN, S.; RIVELLI, A. R.; JAMES, R. A.; CONDON, A. G. T.; LINDSAY, M. P.; LAGUDAH, E. S.; SCHACHTMAN, D. P.; Hare, R. A. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Plant and Soil**, v. 247, n. 01, p. 93-105, 2002.

- MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**. 59, 651-681, 2008.
- NIEVES-CORDONES, M.; MARTINEZ-CORDERO, M. A.; MARTINEZ, V.; RUBIO, F. Na NH₄⁺-sensitive component dominates high-affinity K⁺ uptake in tomato plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 172, p. 273-280, 2007.
- OLÍAS, R., ELJAKAOUI, Z., LI J., MORALES, P. A., MARÍN-MANZANO, M. C., PARDO, J. M. BELVER, A. The plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 is essential for salt tolerance in tomato and affects the partitioning of Na⁺ between plant organs. **Plant, Cell and Environment**. 32, 904–916, 2009.
- QI, Z, SPALDING EP. 2004. Protection of plasma membrane K⁺ transport by the salt overly sensitive1 Na⁺-H⁺ antiporter during salinity stress. **Plant Physiology** 136, 2548–2555.
- QUINTERO, J. M.; FOURNIER, J. M.; BENLLOCH, M. Na⁺ accumulation in shoot is related to water transport in K⁺-starved sunflower plants but not in plants with a normal K⁺ status. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 60-67, 2007.
- RUBIO, F., FLORES, P., NAVARRO, J. M., MARTINEZ, V. Effects of Ca²⁺, K⁺ and cGMP on Na⁺ uptake in pepper plants. **Plant Science**. 165, 1043-1049, 2003.
- RUS, A., YOKOI, S., SHARKHUU, A., REDDY, M., LEE, B. H., MATSUMOTO, T. K., KOIWA, H., ZHU, J. K., BRESSAN, R. A., HASEGAWA, P.M. AtHKT1 is a salt tolerance determinant that controls Na⁺ entry into plant roots. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA** 98, 14150–14155. 2001.
- SHABALA, S., CUIN, T. A. Potassium transport and plant salt tolerance. **Physiologia Plantarum**. 133, 651-669, 2007.
- SERRANO, R.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. Ion homeostasis during salt stress in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 13, p. 399-404, 2001.
- SLABU, C. Zo^o rb C, Steffens D, Schubert S. Is salt stress of faba bean (*Vicia faba*) caused by Na⁺ or Cl⁻ toxicity? **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 172, 644–650, 2009.
- SPALDING, E. P., HIRSCH, R. E., LEWIS, D. R., QI, Z., SUSSMAN, M. R, LEWIS, B. D.. Potassium uptake supporting plant growth in the absence of AKT1 channel activity: inhibition by ammonium and stimulation by sodium. **Journal of General Physiology** 113, 909–918. 1999.

- SILVA, E. N., RIBEIRO, R. V., FERREIRA-SILVA, S. L., VIÉGAS, R. A., SILVEIRA, J. A. G. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. **Scientia Agricola**, 68, 62 – 68, 2011.
- SILVA, E. N., RIBEIRO, R. V., FERREIRA-SILVA, S. L., VIÉGAS, R. A., SILVEIRA, J. A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**. 74, 1130-1137, 2010.
- SILVA, E. N., SILVEIRA, J. A. G., RODRIGUES, C. R. F., DUTRA, A. T. B., ARAGÃO, R. M.. Ions accumulation and growth of *Jatropha curcas* under different salinity levels. **Revista Ciência Agronômica**, 40, 240-246, 2009a.
- SILVA, E. N., SILVEIRA, J. A. G., RODRIGUES, C. R. F., LIMA, C. S., VIEGAS, R. A. Contribution of organic and inorganic solutes to osmotic adjustment of *Jatropha curcas* under salinity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 44, 437-445, 2009b.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia do estresse**. In: Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, p. 613-643. 2004.
- TESTER, M., DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**. 91, 503-527, 2003.
- TSAI, Y. C, HONG, C. Y, LIU, L. F, KAO H. Relative importance of Na⁺ and Cl⁻ in NaCl-induced antioxidant systems in roots of rice seedlings. **Physiologia Plantarum** 122, 86–94, 2004.
- VOIGT, E. L.; CAITANO, R. F.; MAIA, J. M.; FERREIRA-SILVA, S. L.; MACEDO, C. E. C. De; Silveira, J. A. G. Involvement of cation channels and NH₄⁺-sensitive K⁺ transporters in Na⁺ uptake by cowpea roots under salinity. **Biologia Plantarum**. 53, 764-768, 2009.
- YAO, X., HORIE, T., XUE, S., LEUNG, HO-YIN, KATSUHARA, M., BRODSKY, D. E., WU, Y., SCHROEDER, J. I. Differential Sodium and Potassium Transport Selectivities of the Rice OsHKT2;1 and OsHKT2;2 Transporters in Plant Cells. **Plant Physiology**. 152, 341–355, 2010.
- ZHU, J. K. Plant salt tolerance. **Trends Plant Sci** 6:66–71. 2001.
- ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**. 6, 441–445, 2003.
- WANG, W. X., VINOCUR, B., SHOSEYOV, O., ALTMAN, A. Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. **Acta Hort** 560:285–292. 2001.

WELBANK, P. J. The effects of competition with *Agropyron repens* and nitrogen and water on the nitrogen content of *Impatiens parviflora*. **Annals of Botany** 26: 361–373, 1962.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados evidenciam que íons K^+ e Na^+ apresentam forte antagonismo em termos de transporte e distribuição nas plantas jovens de pinhão manso. As concentrações elevadas de K^+ no meio externo foram capazes de reduzir o transporte e os efeitos tóxicos do Na^+ , a despeito de as plantas apresentarem seletividade por K^+ várias vezes maior do que de Na^+ . Ainda, as plantas de pinhão manso independentemente da temperatura e umidade relativa do ar elevada apresentaram capacidade de retenção (ou diminuição na absorção) do íon salino Na^+ pelo sistema radicular com conseqüente restrição do fluxo desse íon para a parte aérea da planta, representando um importante mecanismo de resistência a salinidade. Estes dados sugerem que $[K^+]_{ext}$ contribuem para a mitigação dos efeitos adversos do excesso de sódio e redução deste íon, bem como induzir o crescimento da planta e favorecer trocas gasosas em *J. curcas*.

REFERÊNCIAS

- ABDRABBO, A.; ABOU KHEIRA,.; NAHED M. M Response of *Jatropha curcas* L. to water deficits: Yield, water use efficiency and oilseed characteristics. **Biomass and Bioenergy** 33: 1343 – 1350. 2009.
- ACHTEN, W.; M. J.; VERCHOT, L.; FRANKEN, Y. J.; MATHIJS, E.; SINGH, V. P.; AERTS, R. *Jatropha* bio-diesel production and use. **Biomass Bioenergy**, 32 (12):1063–84. 2008.
- AMORIM, J. R. A.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R. Efeito da salinidade e modo de aplicação da água de irrigação no crescimento e produção de alho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 2, p.167-176, 2002.
- AMRUTHA, R. N.; SEKHAR, P. N.; VARSHNEY, R. K.; KISHOR, P. B. K. Genome-wide analysis and identification of genes related to potassium transporter families in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Science**. v. 172, p. 708-721, 2007.
- AMTMANN, A.; SANDERS, D. Mechanisms of Na⁺ uptake by plant cells. **Advances in Botanical Research**. v. 29, p. 75-112, 1999.
- ARAÚJO, C. A. S. **Avaliação de feijoeiros quanto à tolerância à salinidade em solução nutritiva**. Viçosa: UFV, 1994. 87p. Dissertação Mestrado.
- APSE, M.; AHARON, G. S.; BLUMWALD, E. Salt tolerance conferred by overexpression of vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. **Science**. v. 285, n. 5431, p. 1256-1258, 1999.
- BEHERA, S. K. Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass – A case study. **Biomass and Bioenergy**. 34, 30-4, 2010.
- BLUMWALD, E. Sodium transport and salt tolerance in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 12, p. 431-434, 2000.
- BLUMWALD, E.; AHARON, G. S.; APSE, M. P. Sodium transport in Plant cells. **Biochimics and Biophysics Acta**. v. 1465, p. 140-151, 2000.
- BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNIK, E. Responses to abiotic stresses. In: Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R.L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.
- CABOT, C.; GARCIA, M. C.; SIBOLE, J. V. Relation between xylem ion concentration and bean growth responses to short-term salinisation in spring and Summer. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 327-334, 2005.
- CARNIELLI, F. **O combustível do futuro**. 2003. Disponível em: www.ufmg.br/boletim/bul1413.

DANTAS, J. P.; MARINHO, F. J. L., FERREIRA, M. M. M. Avaliação de genótipos de caupi sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 425-430, 2002.

DIVAKARA, B. N.; UPADHYAYA, H. D.; WANI, S. P.; LAXMIPATHI GOWDA, C.L. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. V. 87, p. 732–742, 2010.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas**. 2. ed. Londrina, 2006. 401p.

FAIRBAIN, D. J.; LIU, W.; SCHACHTMAN, D. P.; GOMEZ-GALLEGOS, S.; DAY, S. R.; TEASDALE, R. D. Characterization of two distinct HKT1-like potassium transporters from *Eucalyptus camaldulensis*. **Plant Molecular Biology**. v. 43, p. 515-525, 2000.

FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**. v. 55, n. 396, p. 307-319, 2004.

FOX, T. C.; GUERINOT, M. L. Molecular biology of cation transport in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 49, p. 669-696, 1998.

FU, H.; LUAN, S. AtKUP1: dual-affinity K⁺ transporter from Arabidopsis. **The plant Cell**. v. 10, p. 63-73, 1998.

FUCHS, I.; STOLZLE, S.; IVASHIKINA, N.; HEDRICH, R. Rice K⁺ uptake channel OsAKT1 is sensitive to salt stress. **Planta**. v. 221, p. 212-220, 2005.

FUNDAÇÃO CENTRO TECNOLÓGICO DE MINAS GERAIS. Programa Energia – Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais: Volume 1 – Estudo de oleaginosas nativas de Minas Gerias. Belo Horizonte – MG: CETEC-MG, 1983. 152p.

FURLAN, J.; KALTNER, F. J.; AZEVEDO, G. F. P.; Campos, I.A (2006) Cultivo do Pinhão Manso. **In Biodiesel 1ª Ed**, Belém, 134-150.

HARTJE, S.; ZIMMERMANN, S.; KLONUS, D.; MULLER-ROBER, B. Functional characterization of LKT1, a K⁺ uptake channel from tomato root hairs, and comparison with the closely related potato inwardly rectifying K⁺ channel SKT1 after expression in *Xenopus oocytes*. **Planta**. v. 210, p. 723-731, 2000.

HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J.-K.; BOHNERT, H. J. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity. **Annual Review of Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 51, p. 463-499, 2000.

HIRSCH, R. E.; LEWIS, B. D.; SPALDING, E. P.; SUSSMAN, M. R. A role for the AKT1 potassium channel in plant nutrition. **Science**. v. 280, p. 918-921, 1998.

HORIE, T.; SCHROEDER, J. I. Sodium transporters in Plants. Diverse Genes and Physiological Functions. **Plant Physiology**, v. 136, p. 2457-2462, 2004.

KIM, E. J.; KWAK, J. M.; UOZUMI, N.; SCHROEDER, J. I. AtKUP1: An Arabidopsis gene encoding high affinity potassium transport activity. **The Plant Cell**, v. 10, p. 51-62, 1998.

KOCHIAN, L. V.; LUCAS, W. J. Potassium transport in roots. **Advances in Botanical research**, v. 15, p. 93-178, 1988.

PEDROL, B. N. **Caracterización ecofisiológica de gramíneas. Competencia y estrés hídrico**. 2000. 223p. Tese de doutorado – Faculdade de ciências de Vigo, Vigo.

LÄUNCHLI, A.; EPSTEIN, E. Plant responses to saline and sodic conditions. In: TANJI, K. K. **Agricultural salinity assessment and management**. New York: American Society of Civil Engineers. Chap. 6, p. 113-137, 1990.

LAZOF, D. B.; BERNSTEIN, N. Effects of salinization on nutrient transport to lettuce leaves: consideration of leaf developmental stage. **The New Phytologist**, v. 144, n. 1, p. 85-94, 1999.

MAATHUIS F. J. M.; SANDERS D. Mechanisms of potassium absorption by higher plant roots. **Physiologia plantarum**, v. 96, p. 158-168, 1996.

MAATHUIS, F. J. M.; AMTMANN, A. K^+ Nutrition and Na^+ Toxicity: Bases of Cellular K^+/Na^+ Ratios. **Annals of Botany**, v. 84, p.123-133, 1999.

MALAVOLTA, E. VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e Aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MÄSER, P.; GIERTH, M.; SCHROEDER, J. I. Molecular mechanisms of potassium and sodium uptake in plants. **Plant and Soil**, v. 247, n. 1, p. 43-54, 2002.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell and Environment**, v.25. p. 239-250, 2002.

NERY, A.R.; RODRIGUES, L. N.; SILVA, M. B. R.; FERNANDES, P.D.; CHAVES, L. H. G.; DANTAS NETO, J.; CHEYI, H. R. 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.

ORCUTT, D. M.; NILSEN, E. T. **Physiology of Plant Under Stress: Soil and Biotic factors**. New York : John Willey, 2000. 696 p.

QUINTERO, J. M.; FOURNIER, J. M.; BENLLOCH, M. Na^+ accumulation in shoot is related to water transport in K^+ -starved sunflower plants but not in plants with a normal K^+ status. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 60-67, 2007.

RODRÍGUEZ-NAVARRO, A. Potassium transport in fungi and plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1469, p. 1-30, 2000.

RUBIO, F.; GASSMANN, W.; SCHROEDER, J. Sodium-driven potassium uptake by the plant potassium transporter HKT1 and mutations conferring salt tolerance. **Science**. v. 270, p. 1660-1663, 1995.

RUS, A.; YOKOL, S.; SHARKHUU, A.; REDDY, M.; LEE, B.; MATSUMOTO, T. K.; KOLWA, H.; ZHU, Z.-K.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. AtHKT1 is a salt tolerance determinant that controls Na⁺ entry into plant roots. **Proceeding of the National Academy of Sciences**. v. 98, p. 14150-14155, 2001.

SAIRAM, R. K.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Current Science**, v. 86, n. 3, p. 407-421, 2004.

SANTA-MARIA, G.; RUBIO, F.; DUBCOVSKY, J. RODRIGUEZ-NAVARRO, A. The HAK1 gene of barley is a member of large gene family and encodes a high-affinity potassium transporter. **The Plant Cell**. v. 9, p. 2281-2289, 1997.

SCHACHTMAN, D. P.; SCHRODER, J. I. Structure and transport mechanism of a high-affinity potassium uptake transporter from higher plants. **Nature**. v. 370, p. 655-658, 1994.

SEVERINO, L.S (2006) Viagem à Índia para prospecção de tecnologias sobre mamona e pinhão manso. Campina Grande: **Embrapa do algodão**. Documento, 153: 56p.

SERRANO, R.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. Ion homeostasis during salt stress in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 13, p. 399-404, 2001.

SILVA, D.; PRUSKI, F. F. Recursos hídricos e desenvolvimento sustentável da agricultura. Brasília: MMA, SBH, ABEAS, 1997. 252 p.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; DUTRA, A. T. B.; ARAGÃO, R. M. **Acúmulo de íons e crescimento de pinhão manso sob diferentes níveis de salinidade**. Revista Ciência Agronômica, v. 40, n. 2, p.240-246, abr-jun, 2009.

SILVA, S. L. F. **Transpiração e Partição de Na⁺ e Cl⁻ em mudas e porta-enxerto de diferentes genótipos de cajueiro-anão precoce submetidos ao estresse salino**. 2004. 124 p. Dissertação de mestrado –Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SPALDING, E.; HIRSCH, R.; LEWIS, D.; QI, Z.; SUSSMAN, M.; LEWIS, B. Potassium uptake supporting plant growth in the absence of AKT1 channel activity. **Journal of General Physiology**. v. 113, p. 909-918, 1999.

SUJATHA, M.; REDDY, T. P.; MAHASI, M. J. Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 5, p. 424-435, 2008.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, p. 503-527, 2003.

UOZOMI, N.; KIM, E. J.; RUBIO, F.; YAMAGUCHI, T.; MUTO, S.; TSUBOI, A.; **BAKKER, E. P.**; NAKAMURA, T.; SCHROEDER, J. I. The *Arabidopsis HKT1* gene homolog mediates inward Na^+ currents in *Xenopus laevis* oocytes and Na^+ uptake in *Sccharomyces cerevisiae*. **Plant Physiology**. v. 122, p. 1249-1259, 2000.

VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G.; JUNIOR, A. R. L.; QUEIROZ, J. E.; FAUSTO, M. J. M. Effect of NaCl-salinity on growth and inorganic solute accumulation in young cashew plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, v. 5, n. 2, p. 216-222, 2001.

VOIGT, E. L. **Transporte e homeostase Na^+/K^+ sob condições de sodicidade em feijão caupi**. 2008. 124 p. Tese de Doutorado – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R.; BOGET, N.; SANTOS, M.; TORNE, J. M. Polyamines and free amino acid variation in NaCl-treated embryogenic maize callus from sensitive and resistant cultivars. **Journal of Plant Physiology**. v. 149, p. 179-185, 1996.

XIONG, L. e ZHU, J.K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. **Plant Cell Environmental**, v. 25, p. 131-139. 2002.

ZHU, J.-K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, p. 441-445, 2003.

ZIMMERMANN, S.; TALKELL, I.; EHRHARDT, T.; NAST, G.; MULLER-ROBER, B. Characterization of SKT1, an inwardly rectifying potassium channel from potato, by heterologous expression in insect cells. **Plant Physiology**. v. 116, p. 879-890, 1998.