

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DILLIANI FELIPE BARROS DE OLIVEIRA

**MICORRIZAÇÃO AUMENTA A TOLERÂNCIA DE MUDAS DE *Jatropha curcas* L.
À SALINIDADE**

Rio Largo - Alagoas

2016

DILLIANI FELIPE BARROS DE OLIVEIRA

**MICORRIZAÇÃO AUMENTA A TOLERÂNCIA DE MUDAS DE *Jatropha curcas* L.
À SALINIDADE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Laurício Endres

Co-orientador: Prof. Dr. José Vieira Silva

Rio Largo

2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- O48m Oliveira, Dilliani Felipe Barros de.
 Micorrização aumenta a tolerância de mudas de *Jatropha curcas* L. à salinidade salinidade / Dilliani Felipe Barros de Oliveira. – 2016.
 57 f. : il. tabs., grafs.
- Orientador: Laurício Endres.
 Coorientador: José Vieira Silva.
- Dissertação (mestrado em Agronomia : Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2016.
- Bibliografia: f. 44-51.
 Apêndices: f. 52-57.
1. Pinhão manso. 2. *Jatropha curcas* L. 3. Salinidade. 4. Fungos. 5. Micorrízicos. arbusculares. I. Título.

CDU: 633.912

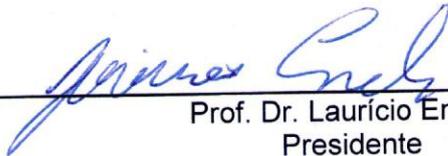
TERMO DE APROVAÇÃO

DILLIANI FELIPE BARROS DE OLIVEIRA

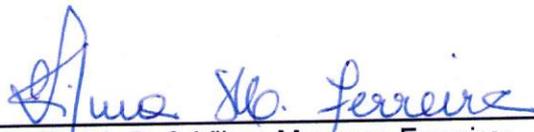
(Matrícula 14230043)

“MICORRIZAÇÃO AUMENTA A TOLERÂNCIA DE MUDAS DE JATROPHA CURCAS L. À SALINIDADE”

Dissertação apresentada e avaliada pela banca examinadora em treze de outubro de 2016, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal do Programa de Pós-Graduação em Agronomia “Produção Vegetal” da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS.



Prof. Dr. Laurício Endres
Presidente



Prof.ª Dr.ª Vilma Marques Ferreira
Membro



Dr.ª Claudiana Moura dos Santos
Membro

RIO LARGO – AL
Outubro/2016

À Deus, fonte de toda sabedoria

AGRADECIMENTOS

Ao meu esposo e companheiro Zivaldo por todo apoio. Você foi meu braço direito durante toda essa empreitada. Te amo.

Aos meus pais por cuidarem de minha filha Isabela para que eu pudesse concluir este curso.

Ao Prof. Dr. Laurício Endres pela confiança depositada em mim.

Ao Prof. Dr. José Vieira pelos desafios colocados a cada conversa.

À CICG, na pessoa do Prof. Sidney Stürmer, por ter gentilmente fornecido as micorrizas.

Ao Prof. Dr. Júlio Cardoso pelas valiosas contribuições e por participar da banca.

Às alunas do IFAL, Elmadã Pereira Gonzaga, Lívia Maria dos Santos, Juliany Mayra Teixeira de Moura Barros, Andréa Francisca da Silva Santo e Sylmara Oliveira de Lima, porque eu não teria conseguido sem vocês.

A todos os amigos do Laboratório de Fisiologia Vegetal do CECA-UFAL, pelo carinho, pelas risadas e desabafos, pelas dicas, orientações e tantos galhos quebrados. Vocês são especiais.

Às Dras. Vilma Marques Ferreira e Claudiana Moura, por aceitarem avaliar e contribuir com este estudo.

Agradeço especialmente a Técnica Isabella Cardoso Pereira da Silva, pelo auxílio, boa vontade, bom humor e disposição. Você é sem dúvida a melhor funcionária pública com quem já convivi e merece ser valorizada.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a associação de três espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) (*Rhizophagus intraradices*; *Gigaspora albida* e *Claroideoglossum etunicatum*) com *Jatropha curcas* L., e o efeito desta simbiose no desenvolvimento de mudas pré-micorrizadas, submetidas a estresse salino, em casa de vegetação. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro para verificar a associação dos fungos à planta, em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (controle, espécies isoladas e as três inoculadas em conjunto-MIX) e seis repetições. O segundo experimento foi em blocos inteiramente casualizados, num esquema fatorial 4 x 2, com quatro níveis de NaCl (2, 5, 8 e 10 dS / m), e presença ou não de micorrizas (MIX), onde foram avaliados a dependência micorrízica (DM) e o desenvolvimento das mudas em solo salinizado. As três espécies de FMAs se associam a *J. curcas* tanto de forma isolada, como quando inoculadas em conjunto. A interação entre os fatores mostrou que plantas do tratamento controle não diferem quanto presença de micorrizas, enquanto que, nos tratamentos salinos, as mudas pré-micorrizadas se desenvolveram melhor que as não micorrizadas. A DM foi maior nos tratamentos salinos e o estresse moderado (5 dS / m) proporcionou o melhor resultado para este índice. A salinidade reduziu o tamanho das plantas, o desempenho fotossintético, o teor de pigmentos fotossintéticos, a quantidade de cálcio, potássio, fósforo e magnésio nas folhas, e aumentou a absorção de sódio e cloro, a peroxidação de lipídios, a atividade das enzimas antioxidantes e a concentração de prolina. As plantas pré-micorrizadas apresentaram maior massa, altura, diâmetro do coleto, número de folhas, área foliar, razão de área filar, área foliar específica, menor alocação de biomassa nas folhas e maior, na raiz, aumento da relação raiz/parte aérea, maior taxa fotossintética e teor de pigmentos, menor atividade de enzimas antioxidantes, redução da peroxidação lipídica e aumento no teor de prolina em relação às plantas não micorrizadas, nas mesmas condições salinas. Nas mudas com FMAs, a alta taxa fotossintética, associada a grande quantidade de sais nas folhas, ao aumento expressivo do teor de prolina e a ausência da peroxidação de lipídios indica que há um mecanismo mitigador do efeito da salinidade associado à presença de micorrizas. Portanto, mudas de *J. curcas* previamente micorrizadas são uma alternativa para o cultivo da espécie sob estresse salino.

Palavras-chave: Pinhão manso. Salinidade. Fungos micorrízicos arbusculares.

ABSTRACT

This study aimed to investigate the association of three species of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi (*Rhizophagus intraradices*; *Gigaspora albida* and *Claroideoglossum etunicatum*) with *J. curcas*, and the effect this symbiosis in developing pre-mycorrhizal seedlings submitted to salt stress at home vegetation. Two experiments were conducted, the first to investigate the association of the fungus to the plant, in a completely randomized design with five treatments (control, isolated species and three inoculated together-MIX) and six repetitions. The second trial was completely randomized blocks in a factorial 4 x 2, with four levels of NaCl (2, 5, 8 and 10 dS / m), and presence or absence of mycorrhizae (MIX), which were evaluated mycorrhizal dependency (MD) and the development of seedlings in salinity soil. The three species of mycorrhizal fungi are associated with *J. curcas* both in isolation, as when inoculated together. The interaction between these factors showed that the control plants did not differ presence of mycorrhizae, whereas in the saline treatments, pre-mycorrhizal seedlings grew better than non-inoculated. The MD was higher in saline treatments and moderate stress (5 dS / m) provided the best results for this index. Salinity reduced the size of plants, photosynthetic performance, the photosynthetic pigment content, the amount of calcium, potassium, phosphorus and magnesium in the leaves and increased absorption of sodium and chlorine, lipid peroxidation, the activity of antioxidant enzymes and the concentration of proline. Pre-mycorrhizal plants had higher mass, height, stem diameter, number of leaves, leaf area, area ratio pillar, specific leaf area, reduced biomass allocation in leaves and larger, at root, increased root / shoot , higher photosynthetic rate and pigment content, lower activity of antioxidant enzymes, lipid peroxidation reduction, and increased proline content compared to plants not inoculated in the same saline conditions. In seedlings with AMF, high photosynthetic rate, coupled with the large amount of salts in the leaves, the significant increase in proline content and the absence of lipid peroxidation indicates a mechanism mitigating the effect of salinity associated with the presence of mycorrhizae. Therefore, *J. curcas* seedlings previously mycorrhizal are an alternative to the cultivation of the species under salt stress.

Key words: physic nut, salinity, arbuscular mycorrhizal fungi

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<p>Figura 1 - Temperatura (A), déficit de pressão de vapor (DPV) (B) e radiação (C) registrados dentro da casa de vegetação durante a condução do experimento. Médias a cada 10 dias. A seta marca o início do estresse salino.....</p>	17
<p>Figura 2 - Raízes de mudas micorrizadas de <i>J. curcas</i>, coradas com Azul de Tripiano, 90 dias após o plantio. Controle (A), <i>Gigaspora albida</i> (B), <i>Rhizophagus intraradices</i> (C), <i>Claroideoglomus etunicatum</i> (D) e MIX (E).....</p>	19
<p>Figura 3 - Temperatura (A), déficit de pressão de vapor - DPV (B) e radiação (C) registrados dentro da casa de vegetação durante a condução do experimento. Médias a cada 10 dias. A seta marca o início do estresse salino.....</p>	26
<p>Figura 4 - Altura (A,B), diâmetro do coleto (C,D) e número de folhas (E,F) de mudas de <i>J. curcas</i> pré-micorrizadas ou não e submetidas a quatro níveis de salinidade. Médias seguidas de mesma letra, aos 120 dias, não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$). (N = 8).....</p>	31
<p>Figura 5 - Condutância estomática - gs (A), transpiração - E (B), fotossíntese líquida - A (C), eficiência quântica máxima do PSII - Fv/Fm (D), eficiência de uso da água - EUA (E) e eficiência intrínseca do usa da água - EIUA (F) em mudas de <i>J. curcas</i> pré-micorrizadas e submetidas a 4 níveis de salinidade por 120 dias. Barras da mesma cor sobrescritas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Barras no mesmo tratamento sobrescritas por asterisco são significativamente diferentes pelo teste F ($p < 0,05$). A média geral apresenta o efeito isolado do fator micorrizas. (N = 8).....</p>	33
<p>Figura 6 - Taxa de transporte de elétrons - ETR (A,B), quenchig não fotoquímico - qN (C,D) e fotoquímico - qP (E,F) em mudas de <i>J. curcas</i> pré-micorrizadas e submetidas a quatro níveis de salinidade por 120 dias. Barras verticais indicam as médias \pm do erro padrão (N = 4).....</p>	34
<p>Figura 7 - Teores de clorofilas totais (A), clorofila A (B), clorofila B (C), carotenoides (D), índice SPAD (E), ascorbato peroxidase - APX (F), catalase - CAT (G), MDA (H) e prolina (I) em mudas de <i>J. curcas</i> pré-micorrizadas e submetidas a 4 níveis de salinidade por 120 dias. Barras da mesma cor sobrescritas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Barras no mesmo tratamento sobrescritas por asterisco são significativamente diferentes pelo teste F ($p < 0,05$). A média geral apresenta o efeito isolado do fator micorrizas. (N = 4).....</p>	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Caracterização física e química do solo utilizado no experimento. CE - condutividade elétrica, PO - potencial osmótico, RAS - razão de adsorção de sódio, PST - porcentagem de sódio trocável, V - saturação por bases, CTC - capacidade de troca de cátions, SB - soma de bases e MO - matéria orgânica.....	16
Tabela 2-	Massa seca de folhas, caules, raízes e total de mudas <i>J. curcas</i> , pré-micorrizadas (I) e não micorrizadas (NI) após 120 dias de estresse salino. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de sal (coluna), letras minúsculas comparam plantas com e sem micorrizas (linha).....	20
Tabela 3-	Dependência micorrízica (DM) de mudas de <i>J. curcas</i> pré-micorrizadas e submetidas a 120 dias de estresse salino. Classificação segundo Habte e Manjunath (1991).....	22
Tabela 4-	Caracterização física e química do solo utilizado no experimento. CE - condutividade elétrica, PO - potencial osmótico, RAS - razão de adsorção de sódio, PST - porcentagem de sódio trocável, V - saturação por bases, CTC - capacidade de troca de cátions, SB - soma de bases e MO - matéria orgânica.....	26
Tabela 5-	Área foliar (AF), razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), massa seca total (MS), alocação de biomassa (AB) em folhas, caules e raízes e relação raiz/parte aérea em mudas de <i>J. curcas</i> pré-micorrizadas (+M) ou não (-M) e submetidas a 4 níveis de salinidade por 120 dias. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$), onde letras maiúsculas comparam os tratamentos salinos, nas colunas e letras minúsculas comparam plantas com e sem micorrizas, nas linhas (N = 8).....	32
Tabela 6-	Teores de nutrientes em folhas de <i>J. curcas</i> pré-micorrizadas (+M) ou não (-M) e submetidas a 4 níveis de salinidade por 120 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$), onde letras maiúsculas comparam os tratamentos salinos, nas colunas, e letras minúsculas comparam plantas com e sem micorrizas, nas linhas (N = 4).....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Taxa fotossintética
AF	Área foliar
APX	Aspartato peroxidase
CAT	Catalase
CE	Condutividade elétrica
CICG	Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota
CTC	Capacidade de troca de cátions
DM	Dependência micorrízica
DPV	Déficit de pressão de vapor
<i>E</i>	Taxa de transpiração
EIUA	Eficiência intrínseca do uso da água
ETR	Taxa de transporte de elétrons
EUA	Eficiência do uso da água
F _m	Fluorescência máxima
FMA _s	Fungos micorrízicos arbusculares
F _v	Fluorescência variável
<i>g_s</i>	Condutância estomática
INVAM	International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi
IRGA	Infrared gas analyzer (Analisador de gases a infravermelho)
MDA	Teor de Malonaldeído
MIX	Mistura (Tratamento inoculado com partes iguais dos 3 FMA _s)
PSII	Fotossistema II
q _N	Coeficiente de extinção não fotoquímico
q _P	Coeficiente de extinção fotoquímico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 ASSOCIAÇÃO E DEPENDÊNCIA MICORRÍZICA EM MUDAS DE <i>Jatropha curcas</i> L. SUBMETIDAS A ESTRESSE SALINO	14
2.1 Resumo	14
2.2 Introdução	14
2.3 Materiais e Métodos	16
2.3.1 Local do estudo e análises de solo	16
2.3.2 Primeiro experimento: associação de micorrizas com <i>J. curcas</i>	17
2.3.3 Segundo experimento: influência da salinidade sobre a dependência micorrízica em mudas de <i>J. curcas</i>	18
2.4 Resultados e Discussão	19
2.5 Conclusão	22
3 MUDAS PRÉ-MICORRIZADAS: UMA ALTERNATIVA PARA O CULTIVO DE <i>Jatropha curcas</i> L. EM SOLOS SALINIZADOS	23
3.1 Resumo	23
3.2 Introdução	23
3.3 Materiais e Métodos	25
3.3.1 Salinização do solo.....	25
3.3.2 Produção das mudas pré-micorrizadas.....	27
3.3.3 Design Experimental.....	27
3.3.4 Análises de crescimento.....	27
3.3.5 Análises fotossintéticas	28
3.3.6 Análises da composição nutricional foliar	29
3.3.7 Análises bioquímicas	29
3.3.8 Análises estatísticas.....	30
3.4 Resultados	30
3.4.1 Desenvolvimento morfológico.....	30
3.4.2 Desempenho fotossintético	30
3.4.3 Nutrição foliar	35
3.4.4 Resultados bioquímicos	35
3.5 Discussão	37
3.6 Conclusão Geral	43
REFERÊNCIAS	44
ANEXO 1 – ANOVAs	52
ANEXO 2 – REGISTROS FOTOGRÁFICOS DO EXPERIMENTO	53

ANEXO 3 – TRABALHOS VINCULADOS.....	57
--	-----------

1 INTRODUÇÃO GERAL

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma oleaginosa com potencial uso para produção de biodiesel (NASS, PEREIRA e ELLIS, 2007). Ela se destaca, em relação às demais euforbiáceas, por sua vasta adaptação edafoclimática, perenidade e pela abundância de óleo em suas sementes (DE ARRUDA et al., 2004). Vários países têm voltado esforços para o estudo de *Jatropha curcas* L., porém sem o intuito de substituir culturas ou ocupar áreas produtivas (ACHTEN et al., 2008). Por ser uma planta de porte arbustivo, tolerante a seca e com grande perda de folhas e frutos, a cultura também tem sido considerada como alternativa para a ocupação e recuperação de áreas marginais, de baixa produtividade ou com solos comprometidos, como os da região semiárida brasileira (GÜBITZ, MITTELBACH e TRABI, 1999).

No Brasil existem aproximadamente 982.563Km² de áreas caracterizadas por baixa pluviosidade e chuvas mal distribuídas física e temporalmente e, portanto, mais susceptíveis a salinização (PEREIRA JR., 2007). Nestas áreas, a irrigação é essencial para tornar o solo cultivável. No entanto, quando não é bem empregada, essa técnica pode desencadear a incorporação de quantidades significativas de sais ao terreno, promovendo a salinização (DE LIMA e MARQUES, 2002). Em geral, isso ocorre quando a água utilizada é de má qualidade e ou há deficiência ou ausência de drenagem apropriada. A ausência de drenagem aumenta o nível do lençol freático e faz com que o sal presente na parte mais profunda do terreno se acumule na zona das raízes.

O sal reduz o potencial osmótico da solução do solo, o que diminui a disponibilidade de água para as plantas, promovendo seca fisiológica (SHABALA e MUNNS, 2012). Muitos íons salinos, quando absorvidos em excesso, são tóxicos, induzem estresse oxidativo e geram um desequilíbrio osmótico celular e sistêmico nas plantas (MUNNS e TESTER, 2008). Estudos sobre estresse salino são realizados, majoritariamente, com sais adicionados à água de irrigação, por um curto período de tempo (AL-KARAKI, 2000; GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2007; DE OLIVEIRA et al., 2010; ENTESHARI e HAJBAGHERI, 2011). A irrigação com água salina não impõe as mesmas condições que o plantio em solo salinizado, onde os parâmetros químicos e físicos do substrato são modificados pelo excesso de íons (RICHARDS, 1954). Estes estudos podem estar subestimando os efeitos do cultivo em áreas salinizadas.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) formam uma associação mutualística com raízes de plantas, tornando-as mais resistentes a condições adversas (EVELIN, KAPOOR

e GIRI, 2009). Apesar dos FMAs se associarem a 80% das plantas, o nível de associação varia para cada espécie de fungo, não sendo uma associação generalista indistinta (CESARO et al., 2008). É notório que a presença de FMAs nas raízes aumenta consideravelmente a capacidade de absorção de água e certos nutrientes, em especial o fósforo (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). A rede de hifas permite explorar uma maior superfície, visto que essas são mais numerosas e mais finas que as raízes. Os efeitos benéficos das micorrizas já foram amplamente relatados em várias culturas de interesse econômico, sendo que os resultados mais expressivos são verificados quando a inoculação dos fungos ocorre na formação das mudas (BONFANTE e DESIRÒ, 2015).

No entanto, a salinidade pode comprometer a colonização micorrízica das raízes (AGGARWAL et al., 2012). Inicialmente, os esporos dos fungos presentes no solo necessitam se hidratar para germinar, alcançar a raiz e formar o apressório. Dessa forma, o baixo potencial osmótico do solo salino é extremamente limitante para os FMAs num primeiro momento. Em áreas salinas, há baixa colonização micorrízica e ocorrência de esporos em grandes quantidades (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Considerando que o esporo é uma estrutura de resistência do fungo, este resultando é consistente com um ambiente adverso. Alguns fungos, no entanto, são resistentes à salinidade, formando associações com plantas halófitas em ambientes extremos. Dos diversos FMAs encontrados em solos salinos, ganham destaque as espécies *Claroideoglossum etunicatum* e *Rhizophagus intraradices*, sendo este último a espécie mais abundante nas regiões salinizadas (AGGARWAL et al., 2012). Os mecanismos de tolerância à salinidade induzidos pelos FMAs incluem maior absorção de água e nutrientes, aumento da síntese de osmólitos e enzimas antioxidantes, modificações na expressão gênica da planta, dentre outros (PORCEL, AROCA e RUIZ-LOZANO, 2012).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a associação de três espécies de FMAs (*Rhizophagus intraradices*; *Gigaspora albida* e *Claroideoglossum etunicatum*) com *J. curcas*, bem como o efeito desta simbiose em mudas previamente micorrizadas e submetidas a estresse salino.

2 ASSOCIAÇÃO E DEPENDÊNCIA MICORRÍZICA EM MUDAS DE *Jatropha curcas* L. SUBMETIDAS A ESTRESSE SALINO

2.1 Resumo

O cultivo de *Jatropha curcas* L. visando a produção de biodiesel é uma possibilidade de utilização de áreas salinas; porém a produção de biomassa é limitada nesses solos. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são uma alternativa promissora para a biorremediação em solos salinizados. No entanto, a salinidade também afeta os FMAs e, neste caso, nem sempre a simbiose se estabelece. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a associação de três espécies de FMAs com *J. curcas* e a dependência micorrízica (DM) em mudas previamente inoculadas com micorrizas e submetidas a estresse salino. Foram realizados dois experimentos, o primeiro, em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (controle, *Rhizophagus intraradices*, *Gigaspora albida*, *Claroideoglomus etunicatum* e as três espécies em conjunto - MIX) e seis repetições, com o objetivo de investigar tal associação e, o segundo experimento, realizado em blocos ao acaso, em esquema fatorial 4x2 (2, 5, 8 e 10 dS / m, com e sem micorrizas), com oito repetições, para avaliação da DM. As três espécies de FMAs se associam a *J. curcas* tanto isoladamente como em conjunto. A DM aumentou com a salinidade, indicando que *J. curcas* é uma espécie facultativa. Portanto, o uso de mudas pré-inoculadas com FMAs é uma alternativa para o estabelecimento de *J. curcas* em áreas salinizadas.

2.2 Introdução

Jatropha curcas L. é uma planta Euphorbiaceae com potencial para produção de biodiesel (NASS, PEREIRA e ELLIS, 2007). Ela se destaca em relação a outras oleaginosas por sua ampla adaptação edafoclimática, perenidade e abundância de óleo em suas sementes (ACHTEN et al., 2008). O cultivo de *J. curcas* visa, em particular, pequenas propriedades, mas sem a intenção de substituir culturas ou ocupar áreas produtivas (DE ARRUDA et al., 2004). Esta espécie também tem sido considerada como uma alternativa para revegetação e reabilitação de áreas abandonadas e ocupação de áreas secas e salinas (GÜBITZ, MITTELBAACH e TRABI, 1999).

A salinização do solo é um problema crescente em todo o mundo (SHABALA e MUNNS, 2012). A irrigação com água de má qualidade e / ou drenagem inadequada adiciona grande quantidade de sal ao terreno, tornando-o salino (RICHARDS, 1954). Esse problema é agravado nas regiões áridas e semi-áridas, onde a falta ou a má distribuição de chuvas provoca a evaporação do baixo teor de água do solo, levando o sal à zona de raízes (DE LIMA e MARQUES, 2002). A salinidade reduz o potencial hídrico do solo, dificultando a obtenção de água pelas culturas. Além disso, em plantas, o efeito tóxico do excesso de

absorção de íons leva à ruptura de membranas e organelas, além de causar desequilíbrio osmótico celular, o que pode tornar a área imprópria para o cultivo (MUNNS e TESTER, 2008).

A associação de plantas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) é uma alternativa para melhorar a tolerância de culturas a ambientes adversos (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Os FMAs penetram nas raízes das plantas, e sua rede de hifas se espalha no solo, aumentando consideravelmente a área de absorção (SILVA et al., 2001; BONFANTE e DESIRÒ, 2015). No entanto, em condições salinas, a dificuldade de obtenção de água afeta a germinação de esporos de FMAs e, neste caso, a simbiose nem sempre se estabelece (SHENG et al., 2008; AGGARWAL et al., 2012).

Grande parte dos estudos sobre micorriza associada a *J. curcas* em condições salinas são realizados com fungos nativos sem definições precisas das espécies presentes nos inóculos (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; KUMAR et al., 2015). Este fato leva a uma generalização de resultados e afirmações sobre a inespecificidade dos FMA, indicando que eles podem se associar a quase todas as espécies de plantas. No entanto, estudos sobre o estabelecimento da relação entre fungos e plantas revelaram o oposto, relacionando diferentes respostas de associação a diferentes espécies (KIERS et al. 2011; ANUROOPA e BAGYARAJ, 2015). Observa-se que nem sempre o FMA presente no solo está associado à cultura ou promove o melhor benefício mutualístico (CESARO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011).

A eficiência da associação entre FMAs e plantas é quantificada pelo índice dependência micorrízica (DM) que é calculado com base na diferença entre a massa seca de plantas inoculadas e não inoculadas (GERDEMANN, 1975). Este índice pode ser definido como o quanto a planta depende de seu parceiro fungo para obter seu melhor crescimento ou produção (AZCON e OCAMPO, 1981). A DM é uma característica essencial da planta que pode ser classificada como não micorrízica, quando a simbiose não ocorre; obrigatória, quando a sobrevivência da planta depende desta associação ou facultativa, caso em que a relação é intensificada em situações adversas (HABTE e MANJUNATH, 1991). Esta simbiose também varia de acordo com a idade da planta, estado fisiológico e nutricional e em relação a cada espécie de fungo (BALOTA et al., 2011).

Portanto, este estudo teve como objetivo verificar a associação de três espécies de FMAs com *J. curcas* (*Rhizophagus intraradices*, *Gigaspora albida*, *Claroideoglossum etunicatum*). Também buscamos determinar a dependência micorrízica de mudas de *J. curcas* pré - micorrizadas e submetidas à estresse salino.

2.3 Materiais e Métodos

2.3.1 Local do estudo e análises de solo

O estudo foi realizado em casa de vegetação, localizada a 09°28'02''S; 35°49'43''W e 127 m de altitude, entre os meses de março a setembro de 2015. As condições ambientais dentro da casa de vegetação foram monitoradas por meio de estação meteorológica automática, WS - GP1 (Delta-T Devices Ltd, England). A temperatura e umidade relativa do ar foram medida a cada cinco minutos, a luminosidade a cada dez segundos e as médias salvas a cada 15 minutos (Figura 1).

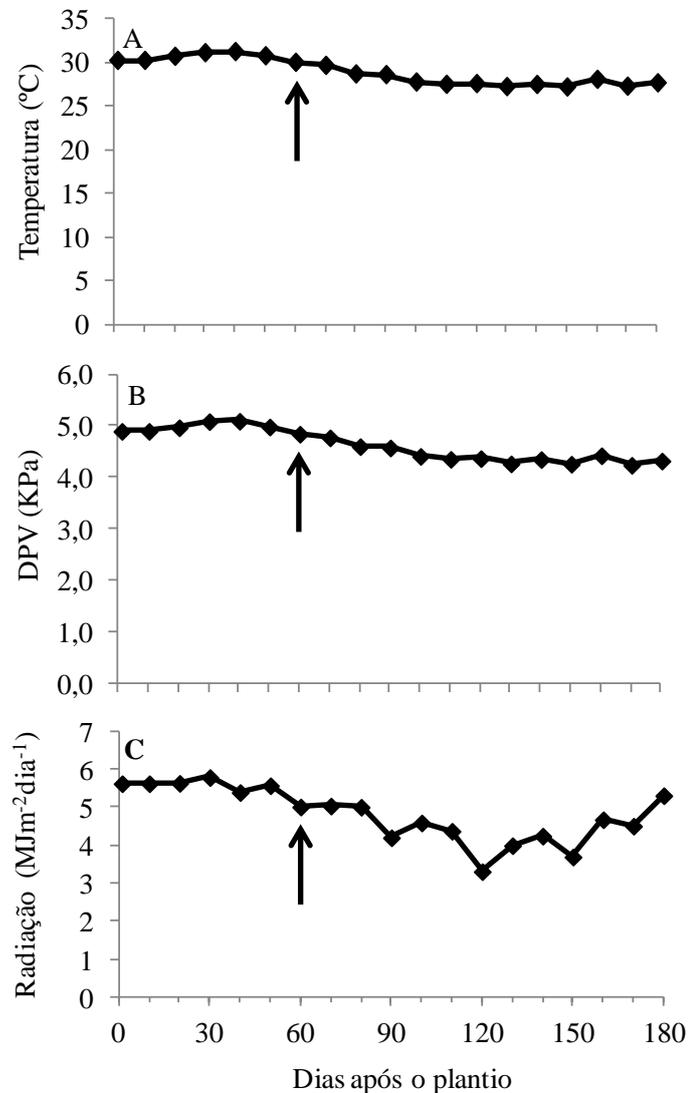
Foi utilizado um Latossolo Argilo-Arenoso (Tabela 1), que foi autoclavado por 50 minutos para o plantio das mudas. O restante do solo foi salinizado, adicionando-se NaCl com base no peso seco, em quatro concentrações distintas: 0; 0,6; 1,2 e 2,4 g de NaCl.Kg⁻¹ de solo. O material permaneceu incubado por quatro meses, em capacidade de campo, o que aumentou a condutividade elétrica (CE) inicial de 2 (0g NaCl – controle) para 5, 8 e 10 dSm⁻¹ para 0,6; 1,2 e 2,4 g de NaCl.Kg⁻¹ de solo, respectivamente. Posteriormente o solo salinizado foi esterilizado em estufa de ventilação forçada a 120 °C por 30 horas, destorroado e adicionado em vasos de 20 L cobertos com filme plástico até o momento do transplante das mudas.

Tabela 1 - Caracterização química do solo utilizado no experimento. NaCl ad. – gramas de NaCl por quilograma de solo seco, CE - condutividade elétrica, PO - potencial osmótico, RAS - razão de adsorção de sódio, PST - porcentagem de sódio trocável, V - saturação por bases, CTC - capacidade de troca de cátions e SB - soma de bases.

NaCl ad.	CE dS/m	PO Mpa	pH	RAS	PST -----%----	V	CTC	Na ⁺	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	P	B	Cu
								mmol/dm ³					---mg/dm ³ ---			
0,0	2	-0,1	6	0	2	87	100	1	0	3	76	8	87	18	0,2	0,3
0,6	5	-0,3	6	1	4	93	146	6	0	2	114	13	135			
1,2	8	-0,7	6	2	11	91	133	13	0	2	92	14	121			
2,4	10	-1,2	6	4	22	93	154	31	0	3	92	17	142			

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo, USP, Botucatu - SP, 2014.

Figura 1 - Temperatura (A), déficit de pressão de vapor (DPV) (B) e radiação (C) registrados dentro da casa de vegetação durante a condução do experimento. Médias a cada 10 dias. A seta marca o início do estresse salino.



Fonte: Autora, 2015.

2.3.2 Primeiro experimento: associação de micorrizas com *J. curcas*.

A associação fungo-planta foi verificada através de um primeiro experimento, cujo delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos: não inoculadas; inoculadas com cada uma das três espécies FMAs isoladas (*Rhizophagus intraradices*, *Gigaspora albida*, *Claroideoglossum etunicatum*) e inoculadas com uma mistura de partes iguais dos três fungos (MIX), com seis repetições cada.

Sementes de *J. curcas*, oriundas de uma área de plantio experimental (09°28'02''S; 35°49'43''W), foram lavadas e desinfetadas por meio de uma solução de hipoclorito de sódio a 2,5% por quatro minutos e enxaguadas três vezes com água destilada. Os isolados de FMAs foram fornecidos pela Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG da FURB, Blumenau, SC, Brasil www.furb.br/cicg), e consistiam de raízes de sorgo colonizadas por: *Rhizophagus intraradices* SPL301A (Schenck & Smith) Walker & Schüßler; *Gigaspora albida* SCT200A (Schenck & Smith) e *Claroideoglossum etunicatum* SCT101A (Becker & Gerd) Walker & Schüßler. Aproximadamente seis gramas de cada isolado micorrízico foram adicionadas cinco centímetros abaixo das sementes, que foram plantadas em sacos plástico de 1 L contendo solo não salino previamente autoclavado a 120 °C por 50 minutos.

Noventa dias após o plantio, amostras de 1g de raízes finas foram coletadas, clarificadas com KOH 1M e coradas com Azul de Tripiano para a confecção de lâminas para microscopia (MIRANDA, 2008), que foram fotografadas com um sistema de captura de imagem acoplado a microscópio BioVÍdeo (BEL, Brasil).

2.3.3 Segundo experimento: influência da salinidade sobre a dependência micorrízica em mudas de *J. curcas*

Um segundo experimento foi conduzido para verificar a DM de mudas de *J. curcas* sob estresse salino. O delineamento foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4x2. Os fatores foram solos com quatro níveis de salinidade (2, 5, 8 e 10 dS / m) e plantas pré-micorrizadas (MIX) e não micorrizadas, com oito repetições.

As sementes foram colocadas em solo autoclavado, não salino, e previamente inoculadas com um MIX, contendo partes iguais das três espécies de FMAs (pré-micorrização). Dois meses após a semeadura, o estresse salino foi imposto. Para evitar um choque osmótico, as mudas foram aclimatadas, por nove dias, com adição de pequenas doses de sal (1/3 da concentração final) na água de irrigação, com intervalos de três dias, entre as doses. Após atingirem a mesma concentração de sais dos vasos contendo o solo salinizado, as mudas foram transplantadas. O experimento foi irrigado apenas com água destilada e toda água drenada foi recolhida e repostada através de um coletor presente em cada vaso. A umidade do solo foi mantida sempre próxima à capacidade de campo.

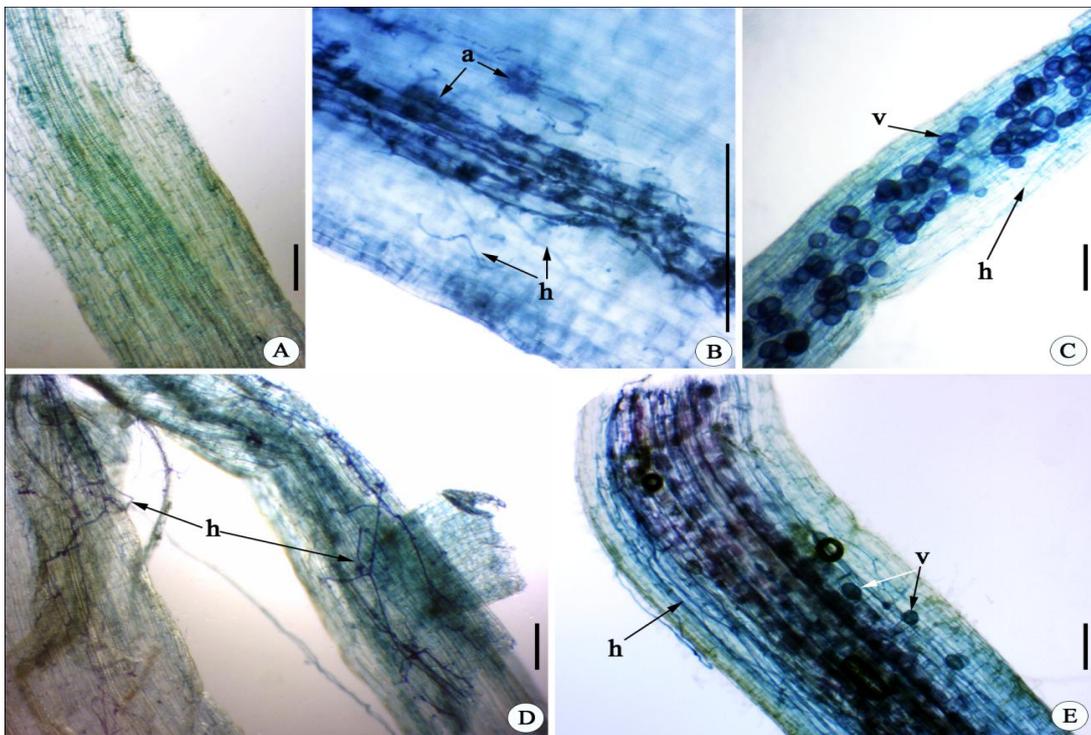
A sobrevivência das mudas foi verificada mensalmente. Após 120 dias sob estresse as plantas foram coletadas, separadas em raiz, caule, folhas e secas em estufa de ventilação forçada à 65° C até atingirem massa constante, para a obtenção da massa seca. A dependência

micorrízica foi calculada conforme Gerdemann (1975), pela diferença entre a massa seca de plantas micorrizadas e não micorrizadas, dividida pela massa seca das plantas micorrizadas e expresso em porcentagem. Os dados foram submetidos à análise de variância. Os níveis de sal foram categorizados e as médias comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

2.4 Resultados e Discussão

As três espécies de FMAs associaram-se às raízes de *J. curcas* em 100% das mudas inoculadas e foi possível visualizar um grande número de vesículas, arbúsculos e hifas (Figura 2). As raízes de plantas não inoculadas mostraram ausência completa de qualquer estrutura fúngica (Figura 2A), atestando que o método de esterilização utilizado foi eficiente. Os arbúsculos de *Gigaspora albida* (Figura 2B) apresentaram contorno irregular, distinguível das grandes vesículas globulosas presentes nas raízes colonizadas por *Rhizophagus intraradices* (Figura 2C) e das longas hifas conspícuas formadas por *Claroideoglomus etunicatum* (Figura 2D). O mesmo padrão pôde ser

Figura 2 - Raízes de mudas micorrizadas de *J. curcas*, coradas com Azul de Tripano, 90 dias após o plantio. Controle (A), *Gigaspora albida* (B), *Rhizophagus intraradices* (C), *Claroideoglomus etunicatum* (D) e MIX (E). Setas apontam arbúsculos (a), vesículas (v) e hifas intracelulares (h). Escala de barras = 50µm.



observado em Schenck e Smith (1982), bem como nos registros da coleção internacional de cultura de fungos micorrízicos arbusculares - INVAM (MORTON, 2002). As raízes inoculadas com o MIX apresentaram um grande volume de estruturas fúngicas, com características das três espécies (Figura 2E). Portanto, acredita-se que os FMAs ocorreram de forma conjunta no tratamento MIX.

Após 120 dias sob estresse salino, as mudas de *J. curcas* apresentaram 100% de sobrevivência em todos os tratamentos. Em ensaios semelhantes utilizando mudas de *J. curcas* micorrizadas sob salinidade, a sobrevivência foi de 38% a 44% nas plantas não micorrizadas e 45% a 66% nas inoculadas, quando submetidas a uma salinidade de 6,4dS/m e 7,20 dS/m por 90 e 60 dias respectivamente (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; KUMAR et al., 2015). Nosso trabalho sugere que o plantio de mudas em ambiente não salino melhora a sobrevivência de *J. curcas* em solos salinizados. É provável que, independente da presença de micorrizas, mudas que se desenvolvem sem estresse tem a possibilidade de estabelecer melhor seu sistema radicular e parte aérea, tolerando melhor o estresse posteriormente imposto.

Tabela 2 – Massa seca de folhas, caules, raízes e total de mudas de *J. curcas*, pré-micorrizadas (M+) e não micorrizadas (M-), após 120 dias de estresse salino. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey (P < 0,05, N = 8). Letras maiúsculas referem-se aos níveis de sal (coluna), letras minúsculas comparam plantas com e sem micorrizas (linha).

Tratamento	Massa seca da folha (g.planta ⁻¹)			Massa seca do caule (g.planta ⁻¹)		
	M-	M+	Sal	M-	M+	Sal
2 dS / m	9.06 ^{Aa}	8.42 ^{Ba}	8.74 ^A	66.59 ^{Aa}	64.58 ^{Aa}	65.59 ^A
5 dS / m	7.72 ^{Bb}	10.64 ^{ABa}	9.18 ^A	39.30 ^{Bb}	79.42 ^{Aa}	59.36 ^{AB}
8 dS / m	7.94 ^{Bb}	11.23 ^{Aa}	9.58 ^A	54.70 ^{ABb}	70.19 ^{Aa}	62.45 ^{AB}
10 dS / m	7.83 ^{Bb}	10.71 ^{ABa}	9.27 ^A	40.20 ^{Bb}	62.45 ^{Aa}	51.32 ^B
FMA	8.14 ^b	10.25 ^a		50.20 ^b	69.16 ^a	
	Massa seca da raiz (g.planta ⁻¹)			Massa seca total (g.planta ⁻¹)		
	M-	M+	Sal	M-	M+	Sal
2 dS / m	28.21 ^{Aa}	29.51 ^{Aa}	28.86 ^A	103.86 ^{Aa}	102.52 ^{Aa}	103.19 ^A
5 dS / m	16.11 ^{Bb}	30.79 ^{Aa}	23.45 ^B	63.13 ^{Bb}	120.86 ^{Aa}	91.99 ^{AB}
8 dS / m	17.62 ^{Bb}	34.54 ^{Aa}	26.08 ^B	80.26 ^{ABb}	115.96 ^{Aa}	98.11 ^{AB}
10 dS / m	16.35 ^{Bb}	30.24 ^{Aa}	23.29 ^B	64.37 ^{Bb}	103.40 ^{Aa}	83.8 ^{7B}
FMA	19.57 ^b	31.27 ^a		77.9 ^b	110.68 ^a	

Fonte: Autora, 2015.

Nas plantas não micorrizadas, o aumento da salinidade causou redução da massa seca da folha, caule, raízes e da planta como um todo (Tabela 2). No nível máximo de salinidade utilizado (10 dS/m), a redução da massa seca foi de 40% na planta, 41% nas folhas, 40% no caule e 42% nas raízes, em relação ao tratamento controle. A menor produção de massa seca,

em função da salinidade, se deve provavelmente à seca fisiológica devido à redução do potencial osmótico da solução do solo, visto que as raízes foram mais afetadas. Em outro estudo, mudas de *J. curcas* sofreram uma redução de 75% na massa seca total quando irrigadas com solução de NaCl de 4,5 dS/m (DE OLIVEIRA et al., 2010). A inibição do crescimento é uma resposta comum ao estresse salino e pode ser usada como indicador de tolerância da planta a esta condição. Conforme a classificação proposta por Mass e Hoffman (1977), nosso estudo sugere que a cultura de *J. curcas* é sensível à salinidade, não sendo indicadas para o plantio em áreas salinas.

A inoculação de FMAs melhorou a produção de massa seca de folhas, caules, raiz e da planta nos tratamentos salinos, sendo os resultados iguais ao das plantas cultivadas em solo não salino. No entanto, as micorrizas não proporcionaram aumento de matéria seca nas plantas do tratamento controle. Os FMAs promovem melhor absorção de nutrientes, compartimentalização dos íons tóxicos e produção de osmólitos que atenuam os efeitos da salinidade (AGGARWAL et al., 2012).

Muitos trabalhos relatam que mudas micorrizadas de *J. curcas* submetidas a estresse salino apresentam maior massa seca do que as não inoculadas (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2009; KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; KUMAR et al., 2015). Entretanto, esses dados diferem de nossos resultados quando o incremento de massa seca, proporcionado pelos FMAs diminuiu com o aumento da salinidade. Nesses estudos, o aumento da produção de biomassa não foi significativo nos tratamentos mais salinos com micorrizas (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2009; KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; KUMAR et al., 2015). Talvez a pré-micorrização das mudas antes da imposição do estresse salino tenha sido o principal fator que proporcionou o aumento de massa seca quando sob estresse. A inoculação dos FMAs em solo não salino proporcionou uma abundante presença de fungos nas raízes, antes da imposição do estresse, e resultou num melhor efeito da simbiose em relação a fungos inoculados diretamente em solos salinizados. Este método é uma solução simples e econômica, que pode permitir o plantio de mudas de *J. curcas* em áreas relativamente salinizadas.

O grau de associação fungo-planta, indicado pela DM, foi baixo nas plantas do tratamento controle (2 dS.m^{-1}), alto para as plantas sob CE de 5 dS.m^{-1} e média para os tratamentos sob 8 e 10 dS.m^{-1} (Tabela 3). Logo, o efeito da associação micorrízica em *J. curcas* é afetado pela presença do fator estresse. Este resultado caracteriza *J. curcas* como uma espécie facultativa quanto a associação com o mix de espécies de FMAs utilizado. Quando submetida à salinidade, a planta libera sinais químicos que estimulam os fungos, a

associação se intensifica e isso se reflete na produção de biomassa (MIRANSARI, 2014; BONFANTE e DESIRÒ, 2015).

Tabela 3 - Dependência micorrízica (DM) de mudas de *J. curcas* pré-micorrizadas e submetidas a 120 dias de estresse salino. Classificação segundo Habte e Manjunath (1991).

Tratamento	DM	Classificação
2 dS / m	1%	Baixa
5 dS / m	47%	Alta
8 dS / m	32%	Média
10 dS / m	39%	Média

Fonte: Autora, 2015

Em outro ensaio, a dependência micorrízica de mudas de *J. curcas*, inoculadas diretamente em solo salinizado foi de 19%; 21% e 18% quando sob CE de 5,6; 6,8 e 7,2 dS.m⁻¹ respectivamente (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010). Estes valores de DM são inferiores aos encontrados em nosso estudo, em todos os tratamentos salinos, e isto provavelmente também é reflexo da pré-inoculação das mudas com FMAs em ambiente sem sal.

Outro fato observado é que no solo medianamente salino (5 dS.m⁻¹), o sal foi suficiente para promover o aumento da interação, apesar de não impor um estresse extremo à planta, resultando em mudas com maior DM. Já nos tratamentos sob CE de 8 e 10 dS.m⁻¹, o benefício das micorrizas também foi evidente, porém a salinidade mais extrema provavelmente impôs limitações aos fungos, resultando numa menor DM, quando comparados ao tratamento sob 5 dS.m⁻¹. Logo, podemos sugerir que situações de estresse moderado podem melhorar a associação micorrízica com *J. curcas*. Portanto, utilizando mudas previamente inoculadas e aclimatadas, é provável que se obtenha resultados melhores no cultivo da espécie em solos salinizados.

2.5 Conclusão

Os FMAs *R. intraradices*, *G. albida* e *C. etunicatum* associam-se às raízes *J. curcas* tanto de forma isolada como em conjunto.

A salinidade afeta as mudas de *J. curcas* reduzindo a produção de massa seca. A micorrização melhora o desempenho das mudas em ambientes salinos, tornando-as mais tolerantes. O estresse salino moderado aumenta a DM de mudas de *J. curcas* pré-inoculadas com FMAs.

3 MUDAS PRÉ-MICORRIZADAS: UMA ALTERNATIVA PARA O CULTIVO DE *Jatropha curcas* L. EM SOLOS SALINIZADOS

3.1 Resumo

Este estudo teve como objetivo verificar se mudas de *Jatropha curcas* L. previamente inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em solo não salinizado e posteriormente transplantadas para solo salinizado, são mais tolerantes ao estresse salino. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se o delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 4x2. O primeiro fator consistiu de solo salinizado com condutividade elétrica (CE) de 2, 5, 8 e 10 dS / m, e o segundo, plantas pré-micorrizadas e não micorrizadas, com oito repetições. O sal teve um efeito deletério sobre as plantas não inoculadas com FMAs, que apresentaram uma redução no crescimento, na atividade fotossintética e um aumento nos indicadores de estresse, como na peroxidação lipídica, acúmulo de prolina e alta atividade enzimática antioxidante. Por outro lado, as plantas pré-micorrizadas foram menos afetadas pela presença de sal no solo. As mudas pré-inoculadas com FMAs e o grupo controle apresentaram a mesma taxa de crescimento e atividade fotossintética em todos os tratamentos salinos. Não se observou aumento na peroxidação lipídica e na atividade enzimática antioxidante em mudas pré-inoculadas com FMAs, mesmo sob uma alta tensão salina de 10 dS / m de CE. Os resultados sugerem a existência de um mecanismo mitigador dos efeitos do estresse salino em mudas pré-micorrizadas. Portanto, mudas de *J. curcas* previamente micorrizadas são uma alternativa para cultivo desta espécie em solos salinizados.

3.2 Introdução

A salinização dos solos tem ocorrido de forma progressiva em áreas produtivas do planeta (RICHARDS, 1954; EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Estima-se que 50% das áreas cultiváveis estarão salinizadas até meados do século XXI (WANG, VINO CUR e ALTMAN, 2003). A irrigação com água de má qualidade, a drenagem insuficiente e o uso excessivo de adubação nitrogenada são as principais causas do problema (GHASSEMI, JAKEMAN e NIX, 1995). O solo salino apresenta baixo potencial hídrico, que pode resultar em seca fisiológica para as culturas (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009; MUNNS, 2002). Ao mesmo tempo, o excesso de sais gera um desequilíbrio de nutrientes na planta, devido à baixa absorção e/ou necessidade de ajustamento osmótico (RIVELLI et al., 2002; EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). O estresse salino induz o estresse oxidativo e afeta aspectos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos das culturas (MUNNS e TESTER, 2008).

A associação entre plantas e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) é uma alternativa natural e econômica para melhorar a tolerância de culturas a ambientes salinizados (AGGARWAL et al., 2012; EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Os FMAs são importantes

componentes da microbiota do solo e se associam a mais de 80% das plantas terrestres (BONFANTE e DESIRÒ, 2015). Entre os benefícios dos FMAs estão aumentar a obtenção de nutrientes (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009), melhorar a fotossíntese e importantes rotas bioquímicas (SHENG et al., 2008), modificar a estrutura do solo próximo as raízes (BONFANTE e DESIRÒ, 2015), dentre outros.

Alguns relatos qualificam os FMAs como candidatos perfeitos para a bioremediação em terrenos salinos (BONFANTE e DESIRÒ, 2015; EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). No entanto, a salinidade também afeta negativamente os FMAs (AGGARWAL et al., 2012). Apesar dos solos salinos possuírem grande número de esporos, esses não conseguem germinar efetivamente, em alguns casos, devido à dificuldade de obtenção de água (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Isso também compromete a colonização e o crescimento das hifas. Em experimentos onde os fungos são inoculados diretamente em solos salinizados, a simbiose nem sempre se estabelece e ocorre grande mortalidade de plantas (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2009; KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; SHENG et al. 2008).

Em muitos trabalhos sobre salinidade com plantas micorrizadas, o estresse é imposto adicionando-se sais à água de irrigação (GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2007; AL-KARAKI, 2000; DE OLIVEIRA et al., 2010; ENTESHARI e HAJBAGHERI, 2011). Por outro lado, em solos naturalmente salinizados, o Na^+ é encontrado não apenas na solução do solo, mas também adsorvido às partículas de argila, o que altera a capacidade de troca de cátions (CTC) do solo e modifica o substrato quanto à composição química e estrutura (RICHARDS, 1954). Logo, experimentos com FMAs que foram irrigados com água salinizada podem estar subestimando o efeito do estresse salino sobre a simbiose. É provável que estes resultados não sejam replicáveis em solos salinizados

Jatrophas curcas (Linnaeus) é uma euforbiácea com potencial para produção de biodiesel (NASS, PEREIRA e ELLIS, 2007). Ela se destaca, em relação às demais oleaginosas pela abundância de óleo em suas sementes, por sua vasta adaptação edafoclimática e perenidade (ACHTEN et al, 2008). A espécie também tem sido considerada como alternativa para revegetação e recuperação de áreas abandonadas, bem como ocupação de áreas secas e salinizadas (GÜBITZ, MITTELBACH e TRABI, 1999). Porém, a cultura é sensível à salinidade, não se desenvolvendo satisfatoriamente nessas condições (ANDRÉO-SOUZA et al., 2010). Até o momento, há poucos estudos utilizando mudas micorrizadas de *J. curcas* em solos salinizados, e nesses, as micorrizas são inoculadas diretamente no ambiente com sal, comprometendo a colonização (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2009; KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; KUMAR et al., 2015).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da pré-inoculação de fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) em mudas de *J. curcas* e posterior cultivo em solo salinizado para verificar alterações na tolerância à salinidade pela presença de micorrizas.

3.3 Materiais e Métodos

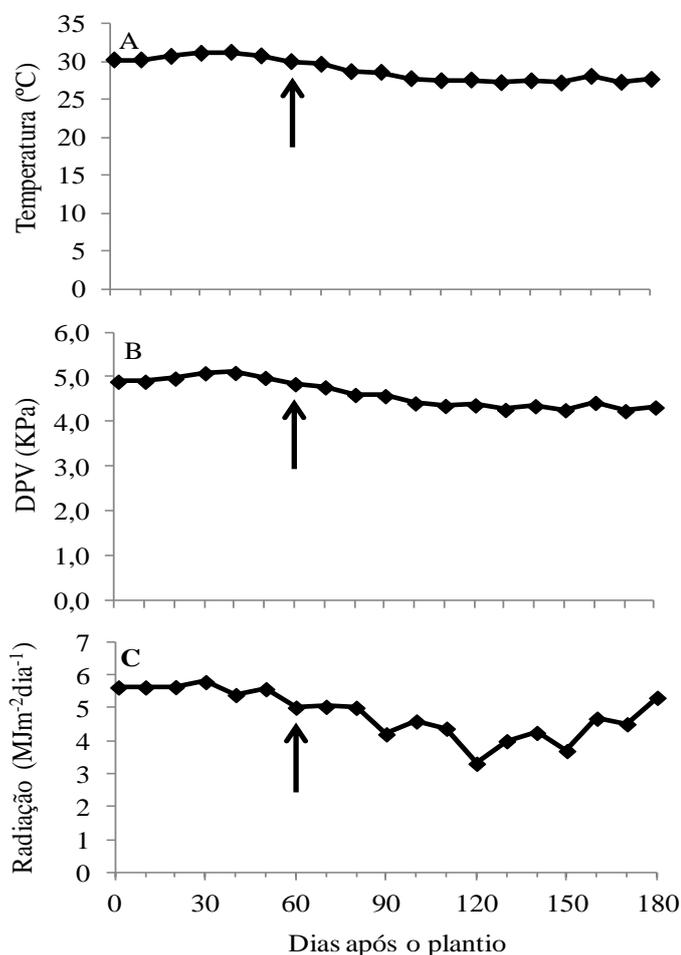
O estudo foi feito em casa de vegetação, nas coordenadas 09°28'S; 35°49W e 127 m de altitude. As condições ambientais dentro da casa de vegetação foram monitoradas por meio de estação meteorológica automática WS-GP1 (Delta-T Devices Ltd, Cambridge, England). Os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram coletados a cada 5 min e ensolação a cada 10 seg. O déficit de pressão de vapor (DPV) foi calculado com base na temperatura e umidade relativa do ar (ALLEN, et al., 1998). Durante o experimento a temperatura variou entre 27 e 31°C; o DPV entre 4,2 e 5,1 KPa; e a radiação entre 3,3 e 5,6 MJ m⁻² dia⁻¹ (Figura 3).

3.3.1 Salinização do solo

O solo utilizado foi um Latossolo Argilo-Arenoso (Tabela 4), o qual foi autoclavado a 120 °C por 50 minutos para a produção das mudas. Uma outra porção do mesmo solo foi salinizada adicionando-se NaCl, em quatro doses distintas: 0; 0,6; 1,2 e 2,4 g de NaCl.Kg⁻¹ de solo seco. O material foi incubado em capacidade de campo por quatro meses. Isto promoveu o aumento da condutividade elétrica (CE) do extrato de saturação do solo de 2 para 5, 8 e 10 dSm⁻¹ nas doses 0,6; 1,2 e 2,4 g de NaCl.Kg⁻¹ de solo, respectivamente (Tabela 4).

A CE do solo foi estimada conforme Richards (1954). O solo salinizado foi esterilizado em estufa de ventilação forçada a 105°C por 48 h. Posteriormente, 17 Kg de solo foram adicionados em vasos de 20 L cobertos com filme plástico até o momento do transplante das mudas.

Figura 3 - Temperatura (A), déficit de pressão de vapor (DPV) (B) e radiação (C) registrados dentro da casa de vegetação durante a condução do experimento. Médias a cada 10 dias. A seta marca o início do estresse salino.



Fonte: Autora, 2015.

Tabela 4 - Caracterização química do solo utilizado no experimento. NaCl ad. – gramas de NaCl por quilograma de solo seco, CE - condutividade elétrica, PO - potencial osmótico, RAS - razão de adsorção de sódio, PST - porcentagem de sódio trocável, V - saturação por bases, CTC - capacidade de troca de cátions e SB - soma de bases.

NaCl ad.	CE dS/m	PO Mpa	pH	RAS	PST -----%----	V	CTC	Na ⁺	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	P	B	Cu
										mmol _c /dm ³						---mg/dm ³ ---
0,0	2	-0,1	6	0	2	87	100	1	0	3	76	8	87	18	0,2	0,3
0,6	5	-0,3	6	1	4	93	146	6	0	2	114	13	135			
1,2	8	-0,7	6	2	11	91	133	13	0	2	92	14	121			
2,4	10	-1,2	6	4	22	93	154	31	0	3	92	17	142			

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo, USP, Botucatu - SP, 2014.

3.3.2 Produção das mudas pré-micorrizadas

Foram utilizados isolados de culturas de *Rhizophagus intraradices* SPL301A (Schenck & Smith) Walker & Schüßler; *Gigaspora albida* SCT200A (Schenck & Smith) e *Claroideoglossum etunicatum* SCT101A (Becker & Gerd) Walker & Schüßler fornecidos pela Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG da FURB, Blumenau, SC, Brasil www.furb.br/cicg). Sementes de *J. curcas*, oriundas de cultivo experimental (09°28'S; 35°49'W), foram lavadas e desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio 2,5% por 4 min. e enxaguadas três vezes com água destilada. O plantio foi realizado em sacos plásticos, contendo 0,9 Kg de solo autoclavado, não salino. Seis gramas de uma mistura contendo partes iguais das três espécies de FMAs foram adicionadas 5 cm abaixo das sementes (três sementes por saco).

O estresse salino foi imposto dois meses após o plantio. Para evitar um choque osmótico, as mudas foram aclimatadas. Durante nove dias foi feita a adição de 1/3 da concentração final de sal, na água de irrigação, com intervalos de três dias entre as doses. Após atingirem a mesma concentração de sais dos vasos, as mudas foram transplantadas. Um mês após o transplante foi feito o desbaste, deixando uma planta por vaso.

3.3.3 Design Experimental

O delineamento adotado foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4x2. Os fatores foram solo com quatro níveis de salinidade (2, 5, 8 e 10 dS / m) e plantas pré-micorrizadas e não micorrizadas, com oito repetições (vasos). O experimento foi irrigado apenas com água destilada. Toda água drenada foi recolhida e adicionada novamente à planta através de um coletor presente em cada vaso. O solo nos vasos foi mantido sempre próximo à capacidade de campo.

3.3.4 Análises de crescimento

O número de folhas, altura da planta e diâmetro do caule (primeiro nó da base) foram registrados aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias após impor o estresse salino. Aos 120 dias, realizou-se a coleta destrutiva quando as plantas foram separadas em raiz, caule e folhas.

A área foliar (LA) foi medida com auxílio de um integrador de área LI-3100C (LICOR, USA). Em seguida, todo o material vegetal foi seco em estufa de ventilação forçada à

65°C até atingir peso constante. A massa seca foi usada para o cálculo da alocação de biomassa nas folhas, caule e raiz, razão de área foliar, área foliar específica, relação raiz/parte aérea e massa seca total, segundo Hunt (1982, p.).

3.3.5 Análises fotossintéticas

Todas as medições da fotossíntese foram realizadas aos 120 dias após impor o estresse salino. As análises, foram feitas na quarta folha totalmente expandida a partir do ápice, no período entre 8:30 h e 11:30 h. O teor de clorofila foi estimado com um clorofilômetro portátil SPAD-502 (Minolta Corporation, Ramsey, USA).

As trocas gasosas, incluindo a condutância estomática (gs), taxa de transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A), foram mensuradas utilizando um analisador de gases a infravermelho (IRGA) LI 6400XT (LI-COR, USA). Todas as medidas foram feitas a concentração de CO₂ e umidade ambiente. Pequenas alterações na concentração de CO₂ e umidade foram eliminadas pela sucção do ar atmosférico numa câmara de plástico de 20 L antes das medições com o equipamento. A concentração de CO₂ no aparelho era estável perto de 370 µL L⁻¹. A densidade de fluxo de fótons fotossintéticos no IRGA foi fixada em 1000 µmol m⁻² s⁻¹ com uma fonte de luz artificial. A eficiência instantânea do uso da água (EUA) e a eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) foram calculadas como a razão entre a fotossíntese e a transpiração (A/E), e entre a fotossíntese e a condutância estomática (A/gs), respectivamente.

A eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm) foi estimada com um fluorômetro PAM-2500 (Walz, Germany). Após adaptação das folhas ao escuro por 30 min, foi aplicado de um pulso de luz vermelha saturante de 5.000 µmol m⁻² s⁻¹ (Maxwell e Johnson, 2000). Com o mesmo aparelho, obteve-se uma curva de resposta a luz com os coeficientes de extinção fotoquímica (qP), não fotoquímica (qN) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) (Maxwell e Johnson, 2000). Para o cálculo da ETR foi usado 0,5 como fração de fótons que ativam clorofilas associadas ou PSII, e 0,84 como quantidade de luz absorvida pelas folhas (BAKER et al. 2007). Os demais parâmetros da curva foram pré-determinados em curvas testes, sendo: 11 pulsos progressivos de fótons fotossintéticos, de 0 µmol m⁻² s⁻¹ a 1303 µmol m⁻² s⁻¹ com intervalos de 20 segundos entre pulsos e duração média de quatro minutos.

3.3.6 Análises da composição nutricional foliar

Amostras das folhas foram moídas para análise química nutricional. Os elementos P, K, Ca, Mg, e S foram obtidos por meio de digestão nítrico-perclórica, o N, por digestão sulfúrica, Na por digestão via seca com ácido nítrico e o Cl por extração em água deionizada. As determinações foram por micro Kjeldahl (N), colorimetria (P e Cl); espectrometria de chama de emissão (Na e K); espectrometria de absorção atômica (Ca, Mg) e turbidimetria (S) (Kalra 1998).

3.3.7 Análises bioquímicas

Para as determinações bioquímicas, utilizou-se a quarta folha totalmente expandida a partir do ápice. Após 120 dias de estresse salino, a folha coletada e congelada em nitrogênio líquido e preservada a -60°C .

A quantificação das clorofilas e carotenoides foi feita com 50 mg de matéria fresca (MF). A extração foi em acetona 80%, segundo o método proposto por Hendry e Grime (1993).

A determinação da atividade das enzimas antioxidantes ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) seguiu o protocolo proposto por Nakano e Assada (1981) com pequenas modificações. Amostras de 30 mg das folhas congeladas foram maceradas em nitrogênio líquido e a extração feita com tampão fosfato de potássio 0,3 M (pH 7,5), EDTA 0,1 M, Triton X 10% e ascorbato de sódio 20 mM. As proteínas totais foram determinadas no mesmo extrato, empregando o método Bradford (1976), utilizando para curva padrão Albumina de Soro Bovino (BSA) de alta pureza. Os resultados da CAT e APX foram expressos em $\text{U mg prote\u00edna}^{-1}.\text{min}^{-1}$.

A peroxidação lipídica foi estimada pela concentração de malonaldeído (MDA) em cem miligramas de folhas fresca (BUEGE e AUST, 1978). A determinação da prolina foi feita pelo método descrito por Bates et al.(1973). O extrato foi obtido com 100 mg de folhas liofilizadas (MS) e os resultados expressos em $\mu\text{mol prolina g}^{-1}\text{ MS}$. Para curva padrão utilizou-se prolina PA.

3.3.8 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância usando o software Sis Var (Ferreira, 2010). Os níveis de salinidade foram categorizados e analisados em esquema fatorial quanto à presença de micorrizas. Quando adequado, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.4 Resultados

3.4.1 Desenvolvimento morfológico

As plantas pré-micorrizadas foram em média 35% maiores que as não micorrizadas (Figura 4 A e B), o que refletiu em maior diâmetro do coleto (Figura 4 C e D) e maior número de folhas (Figura 4 E e F). A salinidade somente teve efeito negativo sobre o número de folhas nas plantas não inoculadas (Figura 4 F).

Entre as mudas pré-micorrizadas (Figura 4 A, C, E), as plantas sob 5 dS / m de salinidade foram as mais altas (Figura 4 A) e com maior diâmetro de coleto (Figura 4 C). Já o número de folhas, aumentou com a salinidade (Figura 4 E).

A presença de micorrizas aumentou a área foliar, a razão de área foliar, a área foliar específica, a massa seca total da planta, a alocação de biomassa na raiz, a relação raiz / parte aérea e reduziu alocação de biomassa nas folhas (Tabela 5). Já o estresse salino teve efeito negativo sobre massa seca total somente nas plantas não micorrizadas. A salinidade também teve efeito negativo sobre a área foliar na menor dose de sal (5 ds m⁻¹) nas plantas não micorrizadas e somente na maior dose (10 ds m⁻¹) nas planta pré-micorrizadas.

3.4.2 Desempenho fotossintético

A condutância estomática e a transpiração das folhas foram severamente afetadas pela salinidade, com redução média de 67% e 60% respectivamente, no tratamento sob 10 dS / m. No entanto, esse efeito foi menos drástico na presença de micorrizas (Figura 5 A e B). Enquanto nas plantas pré-micorrizadas foi observada redução da g_s e E somente em solo com 8 dS / m, nas plantas não inoculadas essa redução já foi observada sob 5 dS / m. Se considerado todos os tratamentos, as mudas pré-micorrizadas apresentaram uma taxa

fotossintética 42% maior em relação as não micorrizadas (Figura 5 C). A salinidade reduziu a fotossíntese somente em plantas não micorrizadas.

Figura 4 - Altura (A,B), diâmetro do coleto (C,D) e número de folhas (E,F) de mudas de *J. curcas* pré-micorrizadas ou não e submetidas a quatro níveis de salinidade. Médias seguidas de mesma letra, aos 120 dias, não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$). (N = 8)

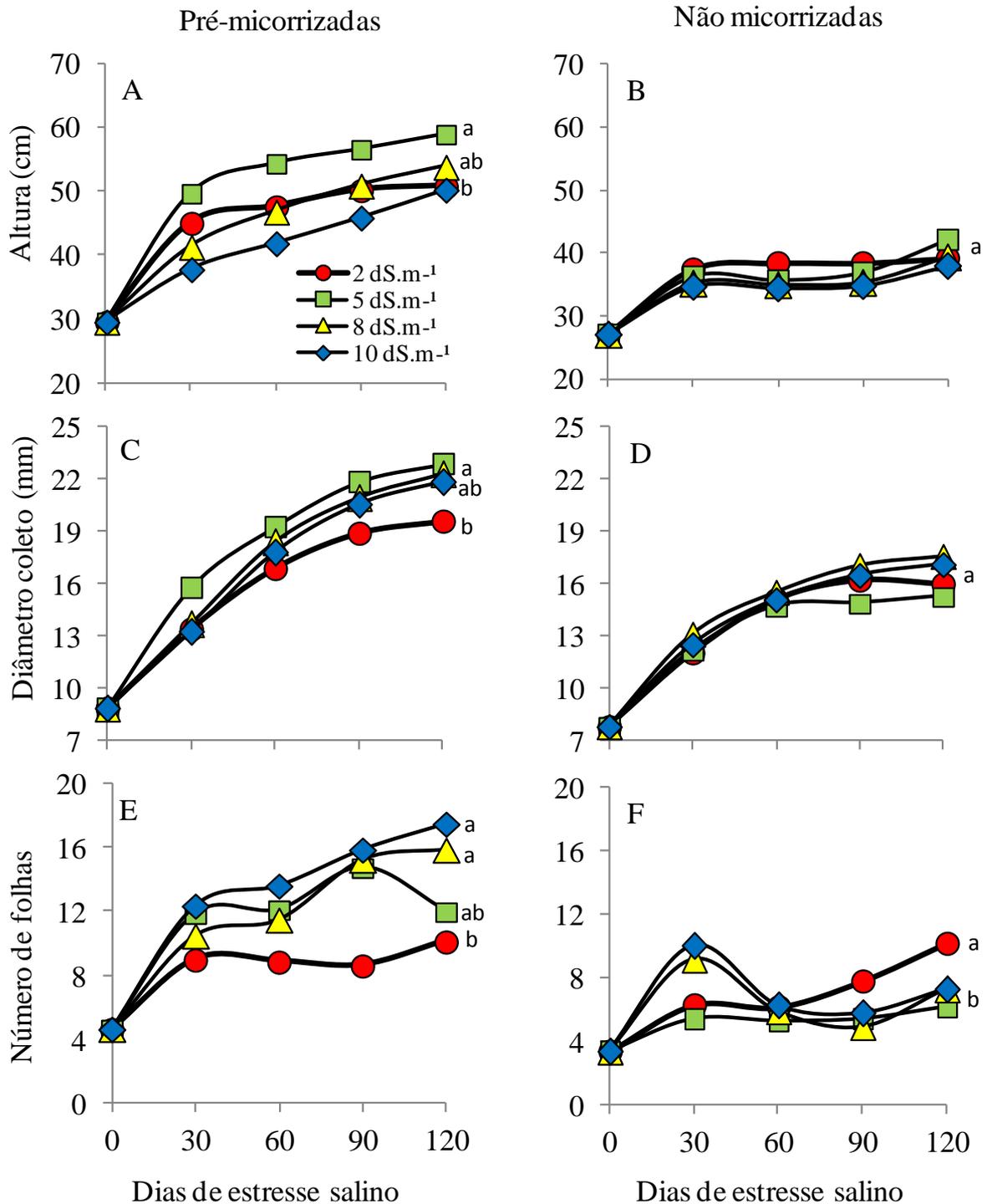


Tabela 5 - Área foliar (AF), razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), massa seca total (MS), alocação de biomassa (AB) em folhas, caules e raízes e relação raiz/parte aérea em mudas de *J. curcas* pré-micorrizadas (+M) ou não (-M) e submetidas a 4 níveis de salinidade por 120 dias. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$), onde letras maiúsculas comparam os tratamentos salinos, nas colunas e letras minúsculas comparam plantas com e sem micorrizas, nas linhas (N = 8).

Solo	AF (mm ² .planta ⁻¹)			RAF (mm ² .g ⁻¹ .planta)			AFE (mm ² .g ⁻¹ .folhas)			MS total (g.planta ⁻¹)		
	+M	-M	Sal	+M	-M	Sal	+M	-M	Sal	+M	-M	Sal
2 dS/m	152 ^{Aa}	102 ^{Ab}	127 ^A	1,28 ^{Aa}	1,26 ^{Aa}	1,27 ^A	16 ^{Aa}	12 ^{Ab}	14 ^A	103 ^{Aa}	104 ^{Aa}	103 ^A
5 dS/m	171 ^{Aa}	70 ^{Bb}	126 ^A	1,26 ^{Aa}	1,26 ^{Aa}	1,26 ^A	15 ^{Aa}	11 ^{Ab}	13 ^A	121 ^{Aa}	63 ^{Bb}	92 ^{AB}
8 dS/m	172 ^{Aa}	80 ^{Bb}	120 ^A	1,30 ^{Aa}	1,23 ^{Ab}	1,27 ^A	14 ^{Aa}	12 ^{Aa}	13 ^A	116 ^{Aa}	80 ^{Bb}	98 ^{AB}
10 dS/m	123 ^{Ba}	69 ^{Bb}	96 ^B	1,29 ^{Aa}	1,26 ^{Aa}	1,28 ^A	13 ^{Aa}	10 ^{Aa}	11 ^A	103 ^{Aa}	64 ^{Bb}	83 ^B
FMA	155 ^a	80 ^b		1,28 ^a	1,25 ^b		14 ^a	11 ^b		111 ^a	78 ^b	
	AB - folhas			AB - caule			AB - raiz			Raiz / parte aérea		
	+M	-M	Sal	+M	-M	Sal	+M	-M	Sal	+M	-M	Sal
2 dS/m	8 ^{Ab}	11 ^{Aa}	10 ^A	63 ^{Ab}	63 ^{Aa}	63 ^A	28 ^{Aa}	26 ^{Aa}	27 ^A	0,40 ^{Aa}	0,35 ^{Ab}	0,38 ^A
5 dS/m	9 ^{Ab}	12 ^{Aa}	10 ^A	65 ^{Ab}	62 ^{Aa}	64 ^A	26 ^{Aa}	26 ^{Aa}	26 ^A	0,41 ^{Aa}	0,35 ^{Ab}	0,36 ^A
8 dS/m	10 ^{Aa}	11 ^{Aa}	11 ^A	60 ^{Aa}	63 ^{Aa}	61 ^A	30 ^{Aa}	24 ^{Ab}	28 ^A	0,44 ^{Aa}	0,34 ^{Ab}	0,38 ^A
10 dS/m	10 ^{Aa}	12 ^{Aa}	11 ^A	60 ^{Aa}	63 ^{Aa}	61 ^A	29 ^{Aa}	26 ^{Ab}	28 ^A	0,42 ^{Aa}	0,31 ^{Ab}	0,38 ^A
FMA	9 ^b	12 ^a		62 ^a	63 ^a		28 ^a	25 ^b		0,40 ^a	0,34 ^b	

Fonte: Autora, 2015

A eficiência quântica máxima do PSII foi afetada pela salinidade somente em plantas não micorrizadas. Nessas, a redução da eficiência ocorreu de forma evidente apenas no tratamento salino mais extremo (Figura 5 D).

A eficiência instantânea do uso da água e a eficiência intrínseca do uso da água aumentaram com o incremento da salinidade (Figura 5 E e F). Todavia, este aumento foi maior na presença de micorrizas. Nas mudas pré-micorrizadas, observou-se o aumento da EUA e da EIUA já no tratamento com 5 dS / m, porém nas não inoculadas, esse aumento só ocorreu na condição salina mais extrema.

Nas plantas pré-micorrizadas, ocorreu aumento da taxa de transporte de elétrons em todos os tratamentos em relação as plantas não micorrizadas sob mesma concentração de sal (Figura 6 A e B). O estresse salino reduziu a ETR, porém isto foi mais perceptível nas mudas não micorrizadas. Nas mudas não inoculadas foi possível observar o aumento do qN em proporção ao aumento da salinidade, porém isso não ocorre nas mudas pré-micorrizadas (Figura 6 C e D). De forma oposta, nas mudas sem FMAs, o qP apresenta redução com o incremento das concentrações salinas no solo, sobretudo em plantas sob tratamento de 10 dS.m⁻¹, entretanto, não parece haver diferenças entre as mudas pré-micorrizadas (Figura 6 E e F).

Figura 5 - Condutância estomática – g_s (A), transpiração - E (B), fotossíntese líquida – A (C), eficiência quântica máxima do PSII - F_v/F_m (D), eficiência instantânea do uso da água – EUA (E) e eficiência intrínseca do uso da água – $EIUA$ (F) em mudas de *J. curcas* pré-micorrizadas e submetidas a 4 níveis de salinidade por 120 dias. Barras da mesma cor sobrescritas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Barras no mesmo tratamento sobrescritas por asterisco são significativamente diferentes pelo teste F ($p < 0,05$). A média geral apresenta o efeito isolado do fator micorrizas ($N=8$).

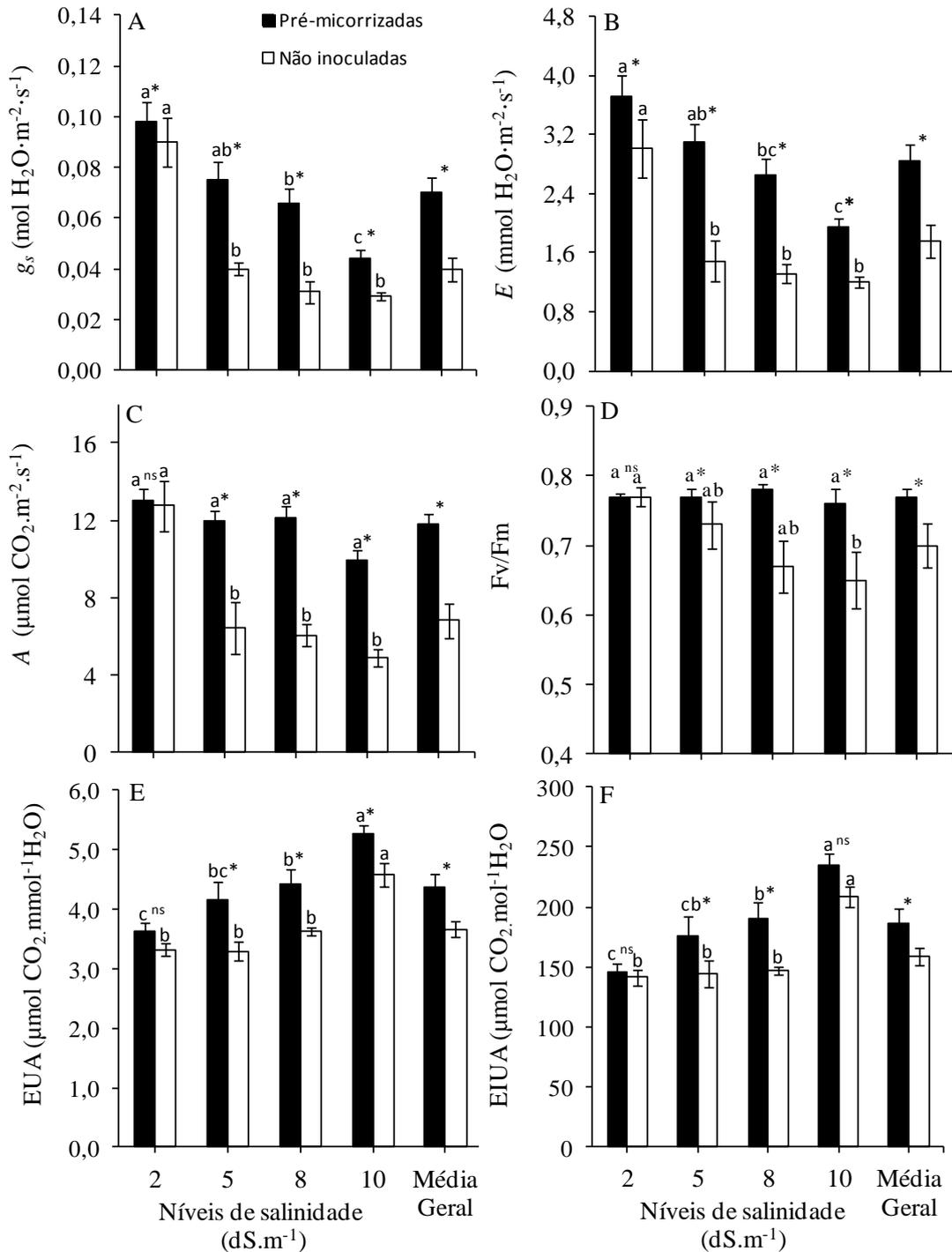
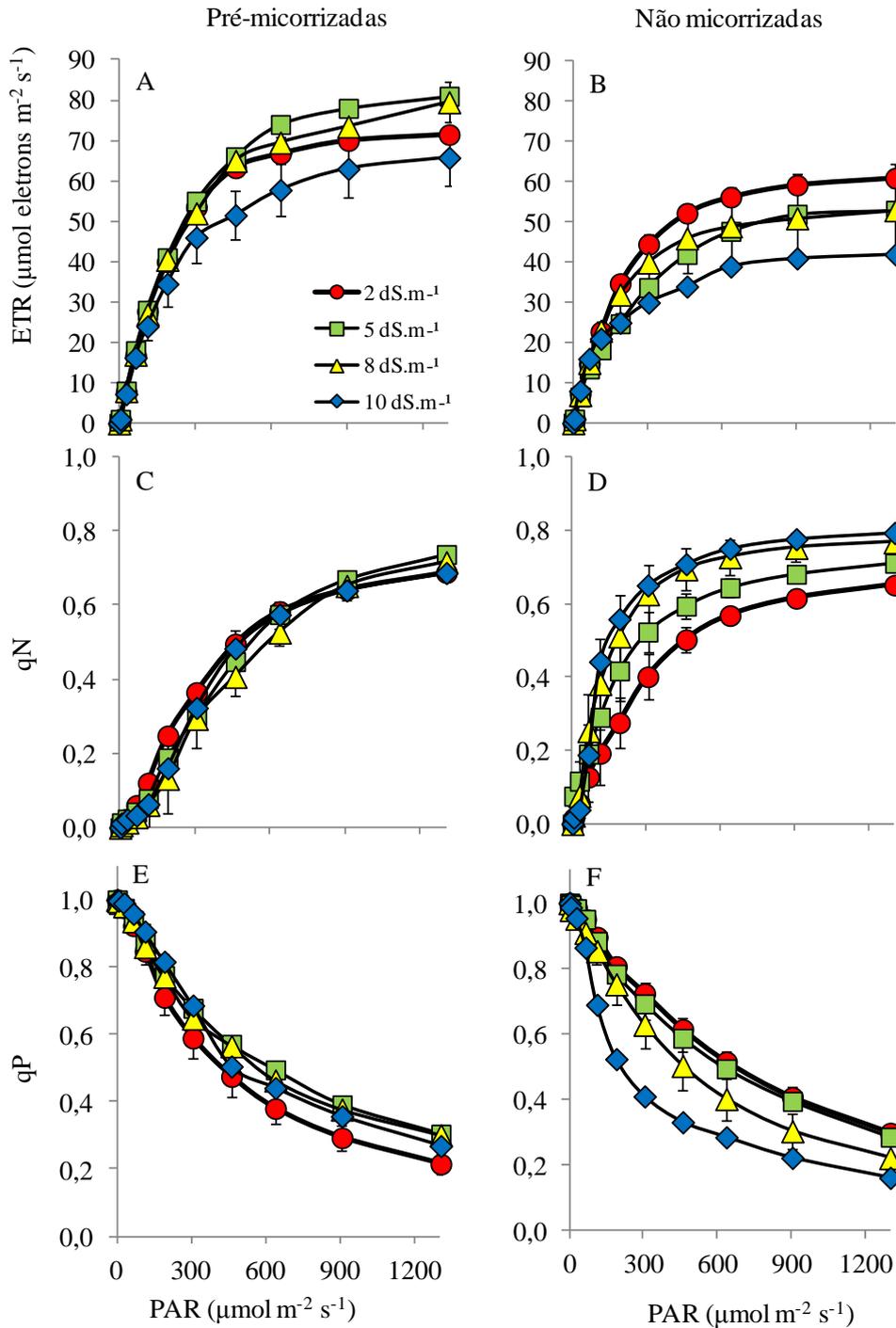


Figura 6 - Taxa de transporte de elétrons - ETR (A,B), quenchig não fotoquímico – qN (C,D) e fotoquímico - qP (E,F) em mudas de *J. curcas* pré-micorrizadas e submetidas a quatro níveis de salinidade por 120 dias. Barras verticais indicam as médias \pm do erro padrão (N = 4).



3.4.3 Nutrição foliar

O estresse salino aumentou os teores de sódio e cloro e reduziu os teores de fósforo, potássio, cálcio e magnésio nas folhas de *J. curcas* (Tabela 6). Nas plantas inoculadas, as folhas apresentaram menos P e mais Cl. De forma geral, a salinidade e os FMAs não tiveram efeitos sobre os teores foliares de nitrogênio e enxofre.

Em condições não salinas, as folhas de plantas pré-micorrizadas apresentaram 99% mais P que as não micorrizadas. No entanto, ocorreu drástica redução desse nutriente nas folhas em solos a partir de 8 dS / m.

Tabela 6 - Teores de nutrientes em folhas de *J. curcas* pré-inoculadas com FMAs (+M) ou não (-M) e submetidas a 4 níveis de salinidade por 120 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$), onde letras maiúsculas comparam os tratamentos salinos, nas colunas, e letras minúsculas comparam plantas com e sem micorrizas, nas linhas (N = 4).

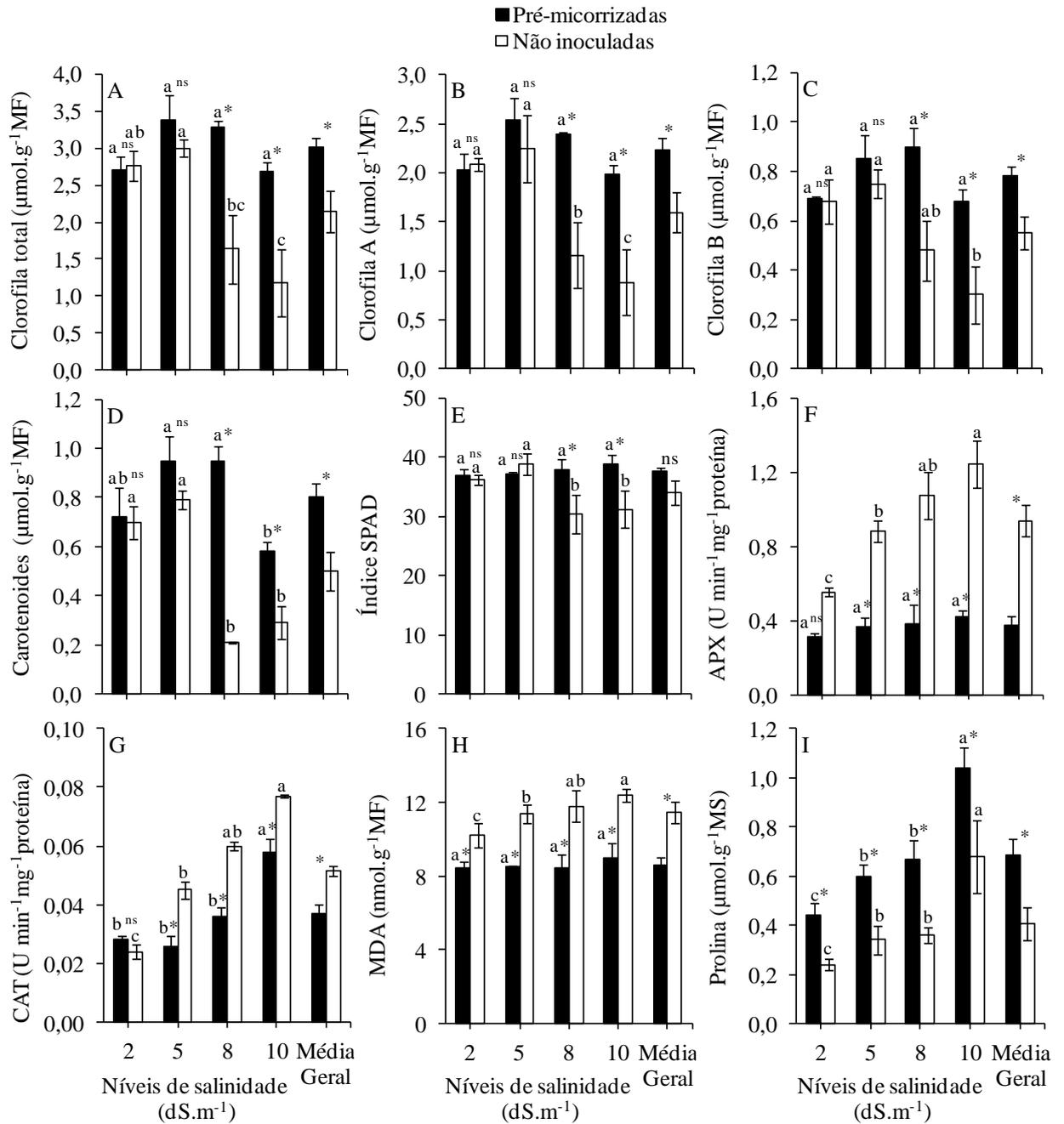
CE	N (g.Kg-1)			P (g.Kg-1)			K (g.Kg-1)			Ca (g.Kg-1)		
	M+	M-	Sal	M+	M-	Sal	M+	M-	Sal	M+	M-	Sal
2 dS/m	26 ^{Aa}	24 ^{Aa}	25 ^A	1,5 ^{Aa}	0,7 ^{Ab}	1,1 ^A	24 ^{Aa}	21 ^{Aa}	23 ^A	21 ^{Ab}	26 ^{Aa}	23 ^A
5 dS/m	30 ^{Aa}	30 ^{Aa}	30 ^A	1,2 ^{Aa}	1,3 ^{Aa}	1,2 ^A	17 ^{ABa}	18 ^{ABa}	17 ^{AB}	22 ^{Aa}	26 ^{Aa}	24 ^A
8 dS/m	30 ^{Aa}	29 ^{Aa}	30 ^A	0,4 ^{Bb}	1,5 ^{Aa}	0,9 ^A	13 ^{Ba}	15 ^{ABa}	14 ^B	27 ^{Aa}	22 ^{Aa}	25 ^A
10 dS/m ¹	29 ^{Aa}	28 ^{Aa}	28 ^A	0,6 ^{Bb}	0,9 ^{Aa}	0,8 ^B	14 ^{Ba}	12 ^{Ba}	13 ^B	22 ^{Aa}	17 ^{Bb}	20 ^B
FMAs	29 ^a	28 ^a		0,9 ^b	1,1 ^a		17 ^a	16 ^a		23 ^a	23 ^a	
	Mg (g.Kg-1)			S (g.Kg-1)			Na (g.Kg-1)			Cl (g.Kg-1)		
	M+	M-	Sal	M+	M-	Sal	M+	M-	Sal	M+	M-	Sal
2 dS/m	12 ^{ABa}	12 ^{Aa}	12 ^A	1,9 ^{Aa}	1,3 ^{Ab}	1,6 ^A	1,4 ^{Da}	1,3 ^{Da}	1,3 ^D	14 ^{Ba}	12 ^{Ba}	13 ^C
5 dS/m	14 ^{Aa}	12 ^{Aa}	13 ^A	1,7 ^{Aa}	1,7 ^{Aa}	1,7 ^A	4,9 ^{Ca}	5,9 ^{Ca}	5,4 ^C	20 ^{Aa}	15 ^{Ba}	18 ^{BC}
8 dS/m	12 ^{ABa}	13 ^{Aa}	13 ^A	1,2 ^{Aa}	1,5 ^{Aa}	1,4 ^A	8,4 ^{Ba}	8,2 ^{Ba}	8,3 ^B	24 ^{Aa}	18 ^{ABb}	21 ^{AB}
10 dS/m	9 ^{Ba}	8 ^{Ba}	9 ^B	1,4 ^{Aa}	1,2 ^{Aa}	1,3 ^A	18,7 ^{Aa}	17,4 ^{Aa}	18,1 ^A	24 ^{Aa}	25 ^{Aa}	25 ^A
FMAs	12 ^a	11 ^a		1,5 ^a	1,5 ^a		8,4 ^a	8,2 ^a		21 ^a	17 ^b	

Fonte: Laboratório de Tecido Vegetal. ESALQ – USP, 2016.

3.4.4 Resultados bioquímicos

O estresse salino reduziu a quantidade de clorofilas *a*, *b* e totais, e carotenóides somente nas plantas não inoculadas (Figura 7 A-D). O efeito das micorrizas na manutenção das clorofilas e carotenóides foi observado principalmente nos solos com salinidade de 8 e 10 dS / m. A mesma tendência de alteração dos pigmentos pôde ser observada no índice SPAD no entanto, com efeito menos expressivo (Figura 7 E).

Figura 7 - Teores de clorofilas totais (A), clorofila A (B), clorofila B (C), carotenoides (D), índice SPAD (E), ascorbato peroxidase - APX (F), catalase - CAT (G), MDA (H) e prolina (I) em mudas de *J. curcas* pré-micorrizadas e submetidas a 4 níveis de salinidade por 120 dias. Barras da mesma cor sobrescritas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Barras no mesmo tratamento sobrescritas por asterisco são significativamente diferentes pelo teste F ($p < 0,05$). A média geral apresenta o efeito isolado do fator micorrizas (N=4).



A atividade da enzima APX aumentou proporcionalmente ao incremento da salinidade, somente nas plantas não inoculadas (Figura 7 F). Por outro lado, a atividade da CAT aumentou em plantas sob salinidade, mas esse aumento foi menor nas plantas pré-micorrizadas (Figura 7 G). Dentre as plantas não inoculadas, o aumento da atividade da CAT ocorreu em solos com 5 dS / m, enquanto que nas mudas pré-micorrizadas, esse aumento só foi verificado em solos com 10 dS / m.

O estresse salino promoveu o aumento da peroxidação de lipídeos somente em plantas não micorrizadas (Figura 7 H). Os teores de prolina também aumentaram com o incremento da salinidade (Figura 7 I). Porém, este aumento foi mais expressivo nas mudas pré-inoculadas, sendo em média 68% maior que nas não micorrizadas. Em todos os níveis de salinidade, as plantas com FMAs apresentaram mais prolinas que as não inoculadas.

3.5 Discussão

A associação de plantas com micorrizas é uma possibilidade para tornar culturas mais tolerantes à salinidade (AGGARWAL et al., 2012). Este estudo mostra que plantas de *J. curcas* pré-micorrizadas se desenvolveram melhor que as não inoculadas mesmo em solos salinizados com CE de até 10 dS / m. Isso corrobora outros trabalhos onde plantas de *J. curcas* micorrizadas toleram melhor o estresse salino no entanto, nestes estudos, nem sempre o benefício da simbiose é evidente nos tratamentos salinos mais extremos (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2009; KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; KUMAR et al., 2015). Atribuímos essa diferença à pré-micorrização das mudas em solo não salinizado. Esta pré-inoculação com FMAs permite uma maior colonização e maior crescimento de estruturas fúngicas nas raízes, antes da imposição do estresse salino (CANTRELL e LINDERMAN, 2001). Quando as micorrizas são inoculadas diretamente no solo com sal, ocorre baixa colonização e grande mortalidade de plantas (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2009; KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; KUMAR et al. 2015). Portanto, a pré-micorrização apresenta-se como uma alternativa para o estudo do estresse salino em planta com FMAs.

A salinidade comprometeu o crescimento das mudas de *J. curcas*. A pré-micorrização melhorou consideravelmente o crescimento das plantas sob estresse salino em relação às mudas não micorrizadas. Além disso, as mudas pré-micorrizadas submetidas à salinidade de 5 dS / m tinham melhor aspecto e maior tamanho, sugerindo que simbiose sobrepujou os efeitos do estresse salino nesta condição (Anexo 2.3). Já nos tratamentos com 8 e 10 dS / m, apesar do benefício micorrízico também ser evidente, a maior salinidade impôs limitações ao

crescimento. Em solos salinos, o crescimento das plantas é menor devido à falta de água, ao gasto de energia empregado no ajustamento osmótico, à deficiência de nutrientes e ao estresse oxidativo (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Plantas micorrizadas apresentam melhor crescimento sob estresse salino, como observado em *Cucumis sativus* L. (ROSENDAHL e ROSENDAHL, 1991). Isso ocorre porque, quando sob estresse, as raízes das plantas liberam exudatos em maior quantidade e estes atuam como mensageiros químicos para os fungos, estimulando o crescimento das hifas (BONFANTE e DESIRÒ, 2015). Quanto maior a colonização micorrízica, melhor será a resposta promovida pela simbiose, resultando em plantas com maior tamanho, devido à mitigação do efeito da salinidade (CANTRELL e LINDERMAN, 2001).

O número de folhas aumentou nas mudas com FMAs proporcionalmente com o incremento da salinidade. No entanto, houve redução da área foliar e aumento da relação raiz/parte aérea. O maior investimento de recursos nas raízes é uma adaptação esperada em ambientes de difícil obtenção de água e nutrientes, como visto em *Musa sp.* (YANO-MELO, SAGGIN e MAIA, 2003) e *Lycopersicon esculentum* (MAYAK, TIROSH e GLICK, 2004). Um aumento da relação raiz/parte aérea também foi relatada em mudas micorrizadas de *Acacia nilótica* (GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2007) e *Lycopersicon esculentum* (AL-KARAKI, 2000) irrigados com água salinizada. Também é provável que a presença de FMAs nas raízes crie um forte dreno para a manutenção energética dos fungos (DODD e PÉREZ-ALFOCEA, 2012). Portanto, a maior massa seca na raiz seria um reflexo da simbiose.

A maior condutância estomática e transpiração indicam que os estômatos das plantas pré-micorrizadas estavam mais abertos que os das não micorrizadas. Isso poderia estar associado à melhora da condutividade hidráulica do solo próximo as raízes pela presença da glomalina (KUMAR, SHARMA e MISHA, 2010) e a raízes mais longas e ramificadas pela presença de hifas, que facilitam a obtenção de água (BONFANTE e DESIRÒ, 2015). Isso também explica a maior EUA e EIUA das mudas de *J. curcas* pré-micorrizadas.

Muitos fatores abióticos podem comprometer o aparato fotossintético, inclusive a salinidade (BERRY e DOWNTON, 1982; CHAVES, FLEXAS e PINHEIRO, 2009). Neste estudo, as mudas pré-micorrizadas mantiveram a taxa fotossintética em relação ao controle mesmo em elevados níveis de salinidade (10 dS / m). Ainda são escassos os relatos associando FMAs à fotossíntese, em condições de salinidade. Acredita-se que a não redução da taxa fotossintética em mudas com FMAs possa estar associado aos altos teores de clorofila sintetizados (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009).

Os teores de clorofilas *a*, *b* e total reduziram nas folhas de plantas não micorrizadas com o aumento da salinidade nos solo, concordando com diversos relatos (GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2003; GIRI e MUKERJI, 2004; SHENG et al., 2008; KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010). O estresse salino promove a redução dos teores de clorofilas (SHENG et al. 2008) devido a supressão de genes específicos responsáveis pela síntese de precursores dos pigmentos fotossintéticos (MURKUTE, SHARMA e SINGH, 2006). No entanto, nas mudas pré-micorrizadas não ocorreu mudança no teor de clorofilas em nenhum tratamento salino. Isto foi observado neste estudo e por diversos autores (GIRI e MUKERJI, 2004; SANNAZZARO et al., 2006; ZUCCARINI, 2007; COLLA et al., 2008; SHENG et al., 2008; KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010). Não se sabe ao certo como a presença dos FMAs promove o contrabalanço do efeito do sal sobre a síntese de clorofilas. Tem sido proposto que este mecanismo estaria relacionado à melhor absorção de Mg por plantas micorrizadas (GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2003). No entanto, nosso estudo se opõe a esta hipótese, visto que nas mudas com micorrizas, o teor de clorofila não reduziu com a salinidade e, estas não tinham maior concentração de Mg nas folhas.

O estresse salino também reduziu a quantidade de carotenoides. Nas mudas pré-micorrizadas, a quantidade deste pigmento se manteve, com exceção do tratamento salino mais extremo. Num estudo com plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com água salina, plantas inoculadas com o FMA *R. intraradices* apresentaram mais carotenoides que as não micorrizadas (ENTESHARI e HAJBAGHERI, 2011). Há indícios que os carotenoides exercem uma ação protetora ao dano oxidativo sobre as clorofilas (ANDERSON e ROBERTSON, 1960; SIEFERMANN-HARMS, 1987). Logo a manutenção do teor destes pigmentos pode estar relacionada a um mecanismo de proteção contra a salinidade, induzido pelos FMAs, que favoreceu a estabilidade das clorofilas sob estresse salino.

O comportamento da taxa de transporte de elétrons nas mudas de *J. curcas* nos mostraram que o incremento da salinidade reduziu a eficiência fotoquímica da fotossíntese. A menor ETR nas mudas não micorrizadas pode ser atribuída a limitações na fixação de carbono e a fotoinibição (CHAVES, FLEXAS e PINHEIRO, 2009). Por outro lado, mudas micorrizadas, mesmo em solo com CE de 10 dS / m, não apresentaram redução da ETR. Sheng et al. (2008), acreditam que o efeito tóxico dos íons salinos pode danificar o PSII. Apontam ainda que esse efeito pode ser mitigado pela presença de FMAs.

A salinidade do solo provocou uma redução de qP e aumento de qN em folhas de *J. curcas*, indicando um aumento da dissipação de energia na forma de calor (MURCHIE e LAWSON, 2013). Podemos sugerir que isso tenha ocorrido devido à seca fisiológica que

reduz a abertura estomática, à menor produção de pigmentos fotossintéticos, ou ainda, à peroxidação lipídica que compromete as membranas do tilacóide (MUNNS e TESTER, 2008). Já nas mudas pré-micorrizadas, tanto o qN quanto o qP não sofreram alterações em detrimento da salinidade. Uma possível explicação para isso seria a forte presença do dreno nas raízes imposto pelos FMAs (DODD e PÉREZ-ALFOCEA, 2012). Os fungos podem consumir até 20% dos fotoassimilados da planta hospedeira (FENG et al., 2002 e HEINEMEYER et al., 2006). Sendo assim, o constante movimento dos carboidratos em direção a raiz poderia aliviar a inibição pelo ciclo de Calvin, estimulando continuamente a fase fotoquímica (DODD e PÉREZ-ALFOCEA, 2012). No entanto, até o momento, pouco se sabe a respeito da influência dos FMAs sobre os coeficientes de extinção fotoquímicos, em condições salinas.

Em plantas cultivadas sob estresse salino, a absorção de diversos nutrientes é comprometida (SHARIFI, GHORBANLI e EBRAHIMZADEH, 2007). A presença de FMAs modifica a obtenção de minerais em condições de salinidade (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Para isso, três mecanismos, associados ao FMAs, são apontados: promoção do aumento da mobilidade dos nutrientes, reforço na absorção e absorção seletiva (AL-KARAKI, 2000; SHARIFI, GHORBANLI e EBRAHIMZADEH, 2007). No entanto, a modificação na absorção de cada mineral varia em relação ao solo, cultura e espécie de FMA envolvida (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009).

A absorção de fósforo é reduzida em solos salinos. Isso ocorre porque no processo de salinização, os fosfatos precipitam associados ao Ca^{+2} , Mg^{+2} e Zn^{+2} (AZCON, AZCÓN e BAREA, 1979). Portanto, a fertilização com P pode ser útil na mitigação do estresse salino (CANTRELL e LINDERMAN, 2001). As micorrizas podem aumentar a concentração de P em plantas. O fósforo é apontado como um sinalizador para o estabelecimento da simbiose, estimulando as hifas a colonizarem as raízes (BONFANTE e DESIRÒ, 2015). Esses foram os resultados que encontramos em plantas sob tratamento controle em que mudas de *J. curcas* pré-micorrizadas, apresentaram 99% mais P que as não micorrizadas. No entanto, sob salinidade, as mudas não micorrizadas absorveram mais P que as pré-micorrizadas. Isso difere de alguns estudos (GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2007; SHOKRI E MAADI, 2009) e pode estar relacionado ao alto teor de P presente no solo utilizado.

A relação entre os íons K e Na na planta é afetada em condições salinas, visto que ambos competem pelo mesmo sítio de absorção (GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2007). Em nossos resultados é possível observar a redução dos teores de K^+ e o aumento de Na^+ em razão do incremento da salinidade. As micorrizas não parecem ter influenciado a absorção

desses nutrientes. Isto está de acordo com alguns autores (BACH ALLEN e CUNNINGHAM, 1983), porém difere de outros (DIXON, GARG e RAO, 1993; SHARIFI, GHORBANLI e EBRAHIMZADEH, 2007; ZUCCARINI e OKUROWSKA, 2008).

O cálcio e o magnésio são minerais que também têm sua disponibilidade reduzida em solos salinos devido a sua precipitação. Isso ocorre devido a incorporação do sódio na CTC do solo e modificações no pH (RICHARDS, 1954). As informações sobre absorção de cálcio e magnésio em plantas micorrizadas sob estresse salino são divergentes (GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2003; CANTRELL e LINDERMAN, 2001; YANO-MELO, SAGGIN e MAIA, 2003; EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Enquanto alguns trabalhos afirmam que as micorrizas aumentam a absorção destes nutrientes em condições salinas (CANTRELL e LINDERMAN, 2001; YANO-MELO, SAGGIN e MAIA, 2003), outros relatam que os FMAs não alteram sua obtenção (GIRI, KAPOOR e MUKERJI, 2003). Nosso estudo concorda com este último, visto que não foram observadas diferenças de concentração desse nutriente em plantas com e sem micorrizas.

A absorção de nitrogênio e enxofre não foi afetada pela salinidade ou presença de micorrizas. Isso difere de muitos estudos (KALDORF, SCHMELZER e BOTHE, 1998; FRECHILLA et al., 2001; GIRI e MUKERJI, 2004). No entanto, até o momento são escassas as informações sobre a influência de FMAs na obtenção desses nutrientes em condições salinas e, os mecanismos envolvidos não são conhecidos (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009).

A relação entre a absorção de Cl na presença de FMAs em solos salinos é contraditória. Alguns autores afirmam que sua absorção é reduzida pelos fungos (ZUCCARINI e OKUROWSKA, 2008), outros afirmam que ela é aumentada (BUWALDA, STRIBLEY e TINKER, 1983; GRAHAM e SYVERSTEN, 1984). Nossos resultados corroboram este último, visto que plantas pré-micorrizadas absorveram mais Cl que as não micorrizadas. Bulwada, Stribley e Tinker (1983) propõem que isto ocorre devido ao grande deslocamento de compostos de carbono para as raízes, imposto pelos FMAs.

O estresse salino aumentou a peroxidação de lipídios e a atividade das enzimas APX e CAT nas plantas não micorrizadas. Este é um claro indicador do dano oxidativo induzido pelo estresse salino (EVELIN, KAPOOR e GIRI, 2009). Por outro lado, nas mudas pré-micorrizadas, esse aumento foi observado na atividade da CAT, somente em ambiente salino extremo. Isso indica que a formação de radicais livres não aumentou com a salinidade, ou existe outro mecanismo responsável por controlar o dano oxidativo nas plantas micorrizadas. Estes resultados diferem de outros estudos com mudas de *J. curcas* micorrizadas, sob estresse

salino, onde o teor de MDA e a atividade de enzimas antioxidantes aumentaram com o incremento da salinidade (KUMAR, SHARMA e MISHRA, 2010; KUMAR et al. 2015).

Quando observamos a quantidade de Cl e Na, a atividade fotoquímica e os níveis de MDA nas plantas pré-micorrizadas, suspeitamos que as membranas dos tilacóides não sofreram dano oxidativo, apesar da grande quantidade de sais nas folhas. A atividade da enzima APX nas plantas pré-micorrizadas também corrobora com esta hipótese, visto que esta permaneceu constante. A APX é importante na defesa de tecidos fotossintético contra o estresse oxidativo, já que nos cloroplastos não existe a CAT (ASADA, 1999). Podemos sugerir que, nas mudas pré-micorrizadas, os íons salinos não entraram nos cloroplastos, protegendo completamente o aparato fotossintético dos efeitos do sal. Aparentemente, os mecanismos de atenuação do estresse salino desencadeados pelos FMAs são complexos e pouco conhecidos, sendo necessários mais estudos.

O teor de prolina foi bem maior em plantas com FMAs em relação as plantas não micorrizadas sob todos os tratamentos de salinidade. Trabalhos recentes mostram que a presença de prolina pode estar ligada à ativação de genes de resistência a salinidade (ASHRAF e FOOLAD, 2007; HAYAT et al., 2012). Relatos com aplicação de prolina exógena em diversas culturas sob estresse salino mostram melhora no crescimento (ROY et al. 1993) na taxa fotossintética (BEN AHMED et al., 2010) redução na formação de radicais livres (OKUMA et al., 2004) e da peroxidação de lipídios (JAIN et al. 2001).

O aumento de prolina em plantas pré-micorrizadas sob alta salinidade, associado ao grande teor de sais nas folhas e a ausência de dano oxidativo nos leva a crer que há uma relevante relação entre a quantidade de prolina e o aumento da tolerância à salinidade. No entanto, são necessários mais esclarecimentos sobre os mecanismos que envolvem a prolina no alívio do estresse salino, bem como sua relação com as micorrizas.

Em conclusão, a pré-micorrização pode ser considerada uma alternativa para a produção de mudas de *J. curcas* destinadas ao plantio em solos salinizados. A simbiose reduz o estresse oxidativo e promove a manutenção do desenvolvimento e do desempenho fotossintético de *J. curcas* em condições salinas. Não ficou claro como as plantas pré-micorrizadas conseguem lidar com o alto teor de íons salinos nas folhas, mas o mecanismo de mitigação parece ter relação com o aumento do teor de prolina.

3.6 Conclusão Geral

Os FMAs *R. intraradices*, *G. albida* e *C. etunicatum* associam-se às raízes *J. curcas* tanto de forma isolada como em conjunto.

A salinidade aumenta a DM de mudas de *J. curcas* portanto, trata-se de uma espécie facultativa.

A salinidade afeta do desenvolvimento das mudas de *J. curcas*. A associação com FMAs melhora o desempenho das mudas em ambientes salinos, tornando-as mais tolerantes a esta condição. A pré-micorrização pode ser considerada uma alternativa para a produção de mudas destinadas ao cultivo em solos salinizados.

REFERÊNCIAS

- ACHTEN, W. M. J. et al. Jatropha bio-diesel production and use. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 12, p. 1063-1084, 2008.
- AGGARWAL, A. et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of salinity stress. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 4, n. 1, p. 144-155, 2012.
- ALLEN, R. G. et al. Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements-FAO Irrigation and drainage paper 56. **FAO, Rome**, v. 300, n. 9, p. D05109, 1998.
- AL-KARAKI, G. N. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. **Mycorrhiza**, v. 10, n. 2, p. 51-54, 2000.
- ANDERSON, I. C.; ROBERTSON, D. S. Role of carotenoids in protecting chlorophyll from photodestruction. **Plant Physiology**, v. 35, n. 4, p. 531, 1960.
- ANDRÉO-SOUZA, Y. et al. Effect of salinity on physic nut (*Jatropha curcas* L.) seed germination and seedling initial growth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 83-92, 2010.
- ANUROOPA, N.; BAGYARAJ, D.J. Influence of different AM fungi on the growth, nutrition and withanolide concentration of *Withania somnifera*. **Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries**, v. 7, n. 4, p. 272-276, 2015.
- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Biology**, v. 50, n. 1, p. 601-639, 1999.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n. 2, p. 206-216, 2007.
- AZCON, G. A. C.; AZCÓN, R.; BAREA, J. M. Endomycorrhizal fungi and Rhizobium as biological fertilisers for *Medicago sativa* in normal cultivation. **Nature**, 1979.

AZCON, R.; OCAMPO, J. A. Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. **New Phytologist**, v. 87, n. 4, p. 677-685, 1981.

BACH ALLEN, E.; CUNNINGHAM, G. L. Effects of vesicular–arbuscular mycorrhizae on *Distichlis spicata* under three salinity levels. **New Phytologist**, v. 93, n. 2, p. 227-236, 1983.

BAKER, N. R.; HARBINSON, J.; KRAMER, D. M. Determining the limitations and regulation of photosynthetic energy transduction in leaves. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n. 9, p. 1107-1125, 2007.

BALOTA, E. L. et al. Physic nut plants present high mycorrhizal dependency under conditions of low phosphate availability. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 1, p. 33-44, 2011.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BEN AHMED, C. et al. Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 4216-4222, 2010.

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

BERRY, J. A.; DOWNTON, W. J. S. Environmental regulation of photosynthesis. **Photosynthesis**, v. 2, p. 263-343, 1982.

BONFANTE, P.; DESIRÒ, A. Arbuscular mycorrhizas: the lives of beneficial fungi and their plant hosts. In: LUGTENBERG, B (Org.). **Principles of Plant-Microbe Interactions**. Springer, 2015. p. 235-245.

BUWALDA, J. G.; STRIBLEY, D. P.; TINKER, P. B. Increased uptake of bromide and chloride by plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist**, v. 93, n. 2, p. 217-225, 1983.

CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, n. 3, p. 463-468, 1991.

- CANTRELL, I. C.; LINDERMAN, R. G. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. **Plant and Soil**, v. 233, n. 2, p. 269-281, 2001.
- CESARO, P. et al. Preferential colonization of *Solanum tuberosum* L. roots by the fungus *Glomus intraradices* in arable soil of a potato farming area. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 18, p. 5776-5783, 2008.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, n. 4, p. 551-560, 2009.
- COLLA, G. et al. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, n. 3, p. 501-509, 2008.
- DE ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curca* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 8, n. 1, 2004.
- DE LIMA, J. F. W. F.; MARQUES, F. A. Inferências pedológicas aplicadas ao perímetro irrigado de Custódia, PE. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1477-1486, 2002.
- DE OLIVEIRA, I. R. S. et al. Crescimento inicial do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) em função da salinidade da água de irrigação. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 4, p. 40-45, 2010.
- DIXON, R. K.; GARG, V. K.; RAO, M. V. Inoculation of *Leucaena* and *Prosopis* seedlings with *Glomus* and *Rhizobium* species in saline soil: rhizosphere relations and seedling growth. **Arid Land Research and Management**, v. 7, n. 2, p. 133-144, 1993.
- DODD, I. C.; PÉREZ-ALFOCEA, F. Microbial amelioration of crop salinity stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 9, p. 3415-3428, 2012.
- ENTESHARI, S.; HAJBAGHERI, S. Effects of mycorrhizal fungi on some physiological characteristics of salt stressed *Ocimum basilicum* L. **Iran Journal of Plant Physiology**, v. 1, p. 215-222, 2011.
- EVELIN, H.; KAPOOR, R.; GIRI, B. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. **Annals of Botany**, v. 104, n. 7, p. 1263-1280, 2009.

FENG, G. et al. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. **Mycorrhiza**, v. 12, n. 4, p. 185-190, 2002.

FERREIRA, D. F. Sis Var: versão 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

FRECHILLA, S. et al. Pea responses to saline stress is affected by the source of nitrogen nutrition (ammonium or nitrate). **Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 2, p. 171-179, 2001.

GHASSEMI, F.; JAKEMAN, A. J.; NIX, H. A. **Salinisation of land and water resources: human causes, extent, management and case studies**. Cab International, 1995.

GERDEMANN, J.W. Vesicular arbuscular mycorrhizal. In: TORREY, D.G.; CLARKSON, D.T.C. **The development and function of roots**. London: Academic Press, 1975. p. 575-591.

GIRI, B.; KAPOOR, R.; MUKERJI, K. G. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass, and mineral nutrition of *Acacia auriculiformis*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, n. 3, p. 170-175, 2003.

GIRI, B.; MUKERJI, K. G. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. **Mycorrhiza**, v. 14, n. 5, p. 307-312, 2004.

GIRI, B.; KAPOOR, R.; MUKERJI, K. G. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. **Microbial Ecology**, v. 54, n. 4, p. 753-760, 2007.

GRAHAM, J. H.; SYVERTSEN, J. P. Influence of vesicular arbuscular mycorrhiza on the hydraulic conductivity of roots of two citrus rootstocks. **New Phytologist**, v. 97, n. 2, p. 277-284, 1984.

GÜBITZ, G. M.; MITTELBAACH, M.; TRABI, M. Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. **Bioresource Technology**, v. 67, n. 1, p. 73-82, 1999.

HABTE, M.; MANJUNATH, A. Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. **Mycorrhiza**, v. 1, n. 1, p. 3-12, 1991.

HAYAT, S. et al. Role of proline under changing environments: a review. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 11, p. 1456-1466, 2012.

HEINEMEYER, A. et al. Respiration of the external mycelium in the arbuscular mycorrhizal symbiosis shows strong dependence on recent photosynthates and acclimation to temperature. **New Phytologist**, v. 171, n. 1, p. 159-170, 2006.

HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman & Hall, 1993.

HUNT, R. **Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners**. London: Unwin Hyman, 1990.

JAIN, M. et al. Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Plant Cell Reports**, v. 20, n. 5, p. 463-468, 2001.

KALDORF, M.; SCHMELZER, E.; BOTHE, H. Expression of maize and fungal nitrate reductase genes in arbuscular mycorrhiza. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 11, n. 6, p. 439-448, 1998.

KALRA, Y. **Handbook of reference methods for plant analysis**. CRC Press, 1998.

KIERS, E. T. et al. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. **Science**, v. 333, n. 6044, p. 880-882, 2011.

KUMAR, Ashwani; SHARMA, Satyawati; MISHRA, Saroj. Effect of alkalinity on growth performance of *Jatropha curcas* inoculated with PGPR and AM fungi. **Journal of Phytology**, v. 1, n. 3, 2009.

KUMAR, A.; SHARMA, S.; MISHRA, S. Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation, and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 29, n. 3, p. 297-306, 2010.

KUMAR, A. et al. Arbuscular mycorrhizal inoculation improves growth and antioxidative response of *Jatropha curcas* (L.) under Na₂SO₄ salt stress. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 149, n. 2, p. 260-269, 2015.

LATEF, A. A. H. A.; MIRANSARI, M. The role of arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress. In: MIRANSARI, M. (Ed.). **Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses**. Springer New York, 2014. v.2, p. 23-38.

MAAS, E. V.; HOFFMAN, G. J. Crop salt tolerance\ -current assessment. **Journal of the Irrigation and Drainage Division**, v. 103, n. 2, p. 115-134, 1977.

MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 6, p. 565-572, 2004.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MIRANDA, J. C. C. de. **Cerrado. Micorriza arbuscular: ocorrência e manejo**. Embrapa Cerrados, Planaltina, v. 169, 2008.

MIRANSARI, M. Mycorrhizal Fungi to Alleviate Salinity Stress on Plant Growth. In: MIRANSARI, M. (Org.). **Use of microbes for the alleviation of soil stresses**. Springer New York, 2014. p. 77-86.

MORTON, J. B. **International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi**. West Virginia University. 2002. Disponível em: < <http://invam.wvu.edu/>>. Acesso em: 10 ago. 2015.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

MURCHIE, E. H.; LAWSON, T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. **Journal of Experimental Botany**, p. 208, 2013.

MURKUTE, A. A.; SHARMA, S.; SINGH, S. K. Studies on salt stress tolerance of citrus rootstock genotypes with arbuscular mycorrhizal fungi. **Horticultural Science**, v. 33, p. 70-76, 2006.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

NASS, L. L.; PEREIRA, P. A.; ELLIS, D. Biofuels in Brazil: an overview. **Crop Science**, v. 47, n. 6, p. 2228-2237, 2007.

OLIVEIRA, J. R. G. D. et al. Acclimatization of *Tapeinochilos ananassae* plantlets in association with arbuscular mycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 1099-1104, 2011.

OKUMA, E. et al. Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 50, n. 8, p. 1301-1305, 2004.

PEREIRA JR, J. S. Nova delimitação do semi-árido brasileiro. **Biblioteca Digital da Câmara dos Deputados**: Brasília, 2007. Disponível em:
< <http://bd.camara.leg.br/bd/handle/bdcamara/1604> > Acesso em: 20 ago. 2014.

PORCEL, R.; AROCA, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, n. 1, p. 181-200, 2012.

RICHARDS, L. A. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Washington: United States Salinity Laboratory, 1954. 160p. USDA. **Agriculture Handbook**, v. 60.

RIVELLI, A. R. et al. Effect of salinity on water relations and growth of wheat genotypes with contrasting sodium uptake. **Functional Plant Biology**, v. 29, n. 9, p. 1065-1074, 2002.

ROSENDAHL, C. N.; ROSENDAHL, S.. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) on the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 31, n. 3, p. 313-318, 1991.

ROY, D. et al. Counteraction of exogenous L-proline with NaCl in salt-sensitive cultivar of rice. **Biologia Plantarum**, v. 35, n. 1, p. 69-72, 1993.

SANNAZZARO, A. I. et al. Alleviation of salt stress in *Lotus glaber* by *Glomus intraradices*. **Plant and Soil**, v. 285, n. 1-2, p. 279-287, 2006.

SCHENCK, N. C.; SMITH, George S. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. **Mycologia**, p. 77-92, 1982.

SHABALA, S.; MUNNS, R. Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms. In: SHABALA, S.(Ed.). **Plant Stress Physiology**. Tasmania: Cabi Publishing, 2012. p.59-93.

SHARIFI, M.; GHORBANLI, M.; EBRAHIMZADEH, Hassan. Improved growth of salinity-stressed soybean after inoculation with salt pre-treated mycorrhizal fungi. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 9, p. 1144-1151, 2007.

SHENG, M. et al. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. **Mycorrhiza**, v. 18, n. 6-7, p. 287-296, 2008.

SHOKRI, S. MAAD, B. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on the mineral nutrition and yield of *Trifolium alexandrinum* plants under salinity stress. **Journal of Agronomy**, v. 8, n. 2, p. 79-83, 2009.

SIEFERMANN-HARMS, D. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. **Physiologia Plantarum**, v. 69, n. 3, p. 561-568, 1987.

SILVA, G. A. D.; SANTOS, B. A. D.; ALVES, M. V.; MAIA, L. C. Arbuscular mycorrhiza in species of Commelinidae (Liliopsida) in the state of Pernambuco (Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, v.15, n. 155-165, 2001.

WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, v. 218, n. 1, p. 1-14, 2003.

YANO-MELO, A. M.; SAGGIN, O. J.; MAIA, L. C. Tolerance of mycorrhized banana (*Musa sp.* cv. Pacovan) plantlets to saline stress. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 95, n. 1, p. 343-348, 2003.

ZUCCARINI, P. Mycorrhizal infection ameliorates chlorophyll content and nutrient uptake of lettuce exposed to saline irrigation. **Plant Soil and Environment**, v. 53, n. 7, p. 283, 2007.

ZUCCARINI, P.; OKUROWSKA, P. Effects of mycorrhizal colonization and fertilization on growth and photosynthesis of sweet basil under salt stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 31, n. 3, p. 497-513, 2008.

ANEXO 1 – ANOVAs

Anexo 1.1 Resumo da ANOVA dos parâmetros biométricos

FV	MS folha	MS caule	MS raiz	MS plant	A	DC	F Calculado		RAF	AFE	AB folha	AB caule	AB raiz	R/A
							Nº folhas	AF						
Sal	5**	2 ^{ns}	3*	3*	3*	2 ^{ns}	8***	8***	0 ^{ns}	2 ^{ns}	1 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
FMA	47***	23***	65***	43***	77***	70***	40***	219***	6*	20***	13***	0 ^{ns}	6*	7*
Sal x FMA	4*	4**	6**	6**	1 ^{ns}	2 ^{ns}	2 ^{ns}	7**	1 ^{ns}	2 ^{ns}	1 ^{ns}	1 ^{ns}	1 ^{ns}	1 ^{ns}
Bloco	2*	1 ^{ns}	1 ^{ns}	3*	3*	2 ^{ns}	1 ^{ns}	2 ^{ns}	0 ^{ns}	1 ^{ns}	2 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}	1 ^{ns}

* significativo a 5% de probabilidade; ** significativo a 1% de probabilidade; *** significativo a 0,1% de probabilidade; ns – não significativo; FV – fontes de variação; FMAs – fungos micorrízicos arbusculares; MS – massa seca; DC – diâmetro do coleto; AF – área foliar; RAF – razão de área foliar; AFE – área foliar específica; AB – alocação de biomassa; R/A – relação raiz/parte aérea.

Anexo 1.2 Resumo da ANOVA dos parâmetros fotossintéticos e pigmentos

FV	gs	E	A	Fv/Fm	EUA	F Calculado		Clor. T	Clor. A	Clor. B	Carot.	SPAD
						EIUA	Clor. T					
Sal	24,0***	27,2***	7,5***	1,9 ^{ns}	21,7***	20,7***	6,7**	7,8**	4,6*	14,0***	0,6 ^{ns}	
FMAs	45,2***	57,2***	96,6***	27,9***	25,6***	14,5***	18,7***	19,3***	14,1**	37,3***	2,6 ^{ns}	
Sal x FMAs	1,3 ^{ns}	3,0*	4,0*	1,9 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,5 ^{ns}	4,4*	4,7*	2,8 ^{ns}	10,0***	1,2 ^{ns}	
Bloco	2,6*	3,1*	1,4 ^{ns}	0,2 ^{ns}	2,9*	2,6*	0,0 ^{ns}	0,0 ^{ns}	0,0 ^{ns}	0,5 ^{ns}	0,0 ^{ns}	

* significativo a 5% de probabilidade; ** significativo a 1% de probabilidade; *** significativo a 0,1% de probabilidade; ns – não significativo; FV – fontes de variação; FMAs – fungos micorrízicos arbusculares; gs – condutância estomática; E - transpiração; A - fotossíntese líquida; Fv/Fm - eficiência quântica máxima do PSII; EUA - eficiência de uso da água; EIUA - eficiência intrínseca do usa da água; Clor. T – clorofilas totais; Clor. – clorofilas; Carot. – carotenoides.

Anexo 1.3 Resumo da ANOVA da composição nutricional foliar, enzimas antioxidantes, peroxidação de lipídios e prolina.

FV	N	P	K	Ca	Mg	F Calculado		Cl	APX	CAT	MDA	Prolina
						S	Na					
Sal	1,9 ^{ns}	0,8 ^{ns}	7,5**	2,6 ^{ns}	11,7***	2,4 ^{ns}	102,9***	11,3***	10,9***	29,4***	2,1 ^{ns}	12,7***
FMAs	0,3 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,0 ^{ns}	1,7 ^{ns}	0,4 ^{ns}	0,0 ^{ns}	4,8*	127,2***	18,7***	53,5***	17,5***
Sal x FMAs	0,0 ^{ns}	8,3***	0,7 ^{ns}	5,1**	1,0 ^{ns}	2,2 ^{ns}	0,4 ^{ns}	1,3 ^{ns}	6,7**	7,0**	1,5 ^{ns}	3,3*

* significativo a 5% de probabilidade; ** significativo a 1% de probabilidade; *** significativo a 0,1% de probabilidade; ns – não significativo; FV – fontes de variação; FMAs – fungos micorrízicos arbusculares. APX – aspartato peroxidase; CAT – catalase; MDA – concentração de malonaldeído.

ANEXO 2 – REGISTROS FOTOGRÁFICOS DO EXPERIMENTO.



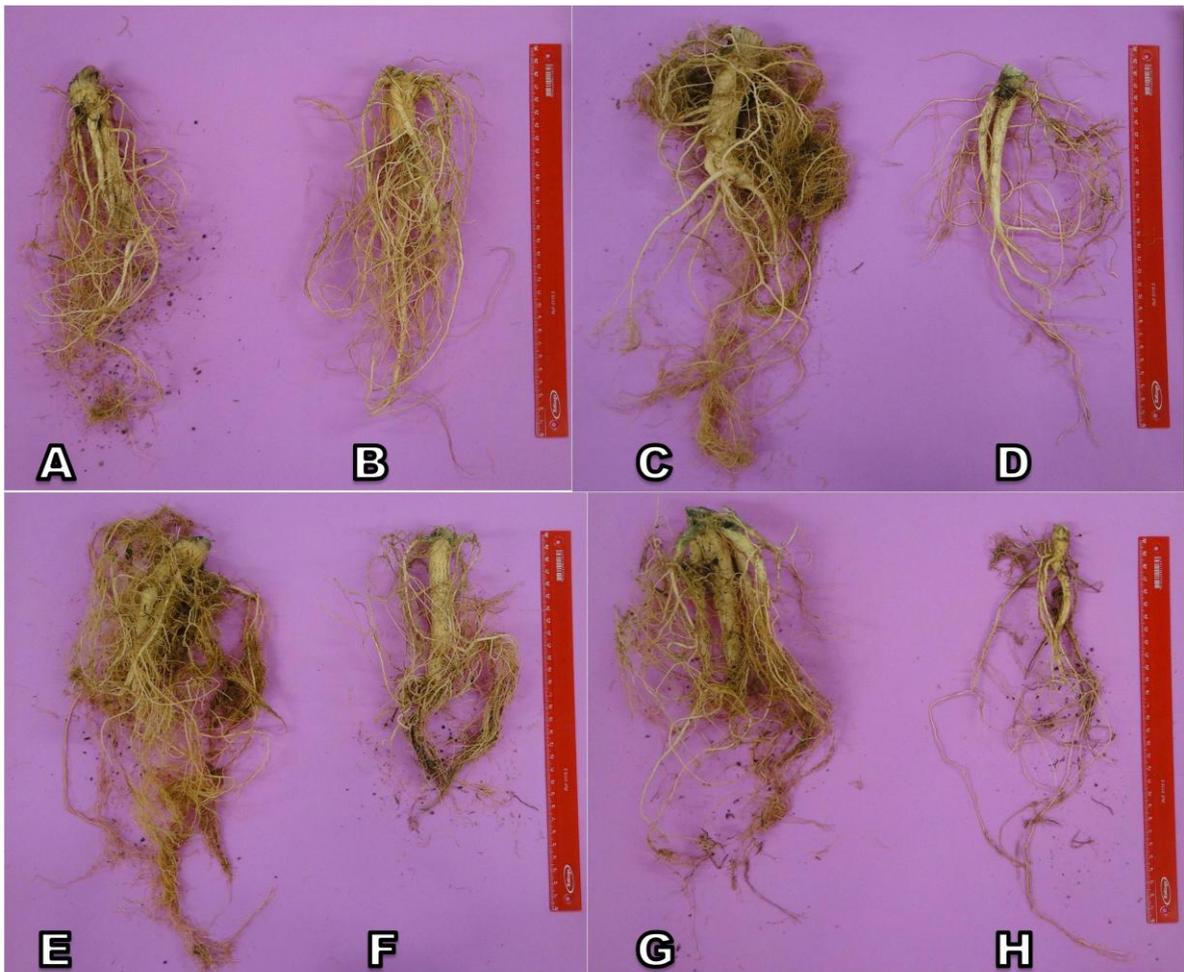
Anexo 2.1 Incubação dos vasos para a salinização (A). Isolados micorrízicos (B). Esterilização do solo (C). Brotamento das mudas após 4 dias após o plantio (D). Vasos na casa de vegetação 44 dias após o transplante (E). Diferenças visíveis entre os tratamentos 44 dias após o transplante, da esquerda para a direita, plantas sob 5, 8 e 10 dS / m (F). Medições de parâmetros fotossintéticos 60 dias após o transplante, com IRGA e fluorômetro, respectivamente (G e H).



Anexo 2.2 Mudanças de *J. curcas* após 90 dias de estresse salino (A). Detalhe do coletor de água drenada presente em cada vaso (B e C). Efeito do estresse salino (10 dS / m) aos 90 dias em planta sem micorrizas (D). Mensurando o diâmetro do coleto 90 dias após o transplante (E). Coleta da quarta folha totalmente expandida em nitrogênio líquido para análises bioquímicas (F). Espectrofotometria para análise de MDA (G).



Anexo 2.3 Comparação visual do desenvolvimento das mudas de *J. curcas* com e sem micorrizas após 120 dias de estresse salino. Plantas do tratamento controle pré-micorrizada (A), e não inoculada (B). Mudanças submetidas a 5 dS / m pré-micorrizada (C), e não inoculada (D). Mudanças submetidas a 8 dS / m pré-micorrizada (E), e não inoculada (F). Mudanças submetidas a 10 dS / m pré-micorrizada (G), e não inoculada (H).



Anexo 2.4 Comparação visual das raízes de *J. curcas* com e sem micorrizas após 120 dias de estresse salino. Plantas do tratamento controle pré-micorrizada (A), e não inoculada (B). Mudanças submetidas a 5 dS / m pré-micorrizada (C), e não inoculada (D). Mudanças submetidas a 8 dS / m pré-micorrizada (E), e não inoculada (F). Mudanças submetidas a 10 dS / m pré-micorrizada (G), e não inoculada (H).

ANEXO 3 – TRABALHOS VINCULADOS

Este estudo forneceu dados para cinco Trabalhos de Conclusão de Curso, sob a orientação da autora:

BARROS, Juliany Mayra Teixeira de Moura. **Associação e dependência micorrizica de três espécies de fungos micorrízicos arbusculares em mudas de *Jatropha curcas* L.** 2015. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - IFAL, Maceió, 2015.

SANTOS, Andréa Francisca da Silva. **Fotossíntese de mudas micorrizadas de pinhão manso submetidas a estresse salino.** 2015. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - IFAL, Maceió, 2015.

LIMA, Sylmara Oliveira de. **Biometria e desenvolvimento de mudas micorrizadas de *Jatropha curcas* L. submetidas a estresse salino.** 2015. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - IFAL, Maceió, 2015.

GONZAGA, Elmadã Pereira **Características estomáticas de mudas de pinhão manso submetidas a estresse salino.** 2016. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - IFAL, Maceió, 2016.

SANTOS, Livia Maria dos. **Crescimento e atividade de enzimas antioxidantes em mudas de *J. curcas* L micorrizadas e submetidas a estresse salino.** 2016. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - IFAL, Maceió, 2016.