



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**LEONARDO SILVA SANTOS**

**EFEITO DO CHOQUE SALINO NA MORFOANATOMIA FOLIAR DE  
DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Jatropha curcas* L. (EUPHORBIACEAE).**

**RECIFE-PE**

**2018**

**LEONARDO SILVA SANTOS**

**EFEITO DO CHOQUE SALINO NA MORFOANATOMIA FOLIAR DE  
DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Jatropha curcas* L. (EUPHORBIACEAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Botânica.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal

Orientador:

Marcelo Francisco Pompelli

Coorientadora:

Jaqueline Dias Pereira

**RECIFE-PE**

**2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S237e Santos, Leonardo Silva  
Efeito do choque salino na morfoanatomia foliar de diferentes genótipos de  
*Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) / Leonardo Silva Santos. – Recife, 2018.  
46 f. : il.

Orientador: Marcelo Francisco Pompelli.  
Coorientador: Jaqueline Dias Pereira.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Programa de Pós-Graduação em Botânica, Recife, BR-PE, 2018.  
Inclui referências.

1. Pinhão-manso 2. Anatomia foliar 3. Estresse salino I. Pompelli, Marcelo  
Francisco, orient. II. Pereira, Jaqueline Dias, coorient. III. Título

CDD 581

**LEONARDO SILVA SANTOS**

**EFEITO DO CHOQUE SALINO NA MORFOANATOMIA FOLIAR DE DIFERENTES  
GENÓTIPOS DE *Jatropha curcas* L. (EUPHORBIACEAE).**

**Dissertação defendida e aprovada em: 22 / 02 / 2018.**

Orientador:

---

Prof. Dr. Marcelo Francisco Pompelli  
UFPE

Examinadores:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva  
Membro Titular/UFRPE

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Emilia Cristina Pereira de Arruda  
Membro Titular/UFPE

*Aos meus pais (José Fernando dos Santos e  
Luzinete Santana Silva), minha família e  
meus amigos por todo apoio, confiança e  
amor.*

***Dedico***

*Take these broken wings and learn to fly  
All your life  
You were only waiting for this moment to arise.*

***Blackbird – The Beatles***

## AGRADECIMENTOS

*Essa dissertação só foi possível com a colaboração de instituições, parceiros e amigos. Por isso, agradeço:*

*Ao meu comitê de orientação pelo apoio, incentivo e ensinamentos que contribuíram para confecção deste trabalho;*

*Aos professores doutores e membros examinadores da banca, Dra. Cláudia Ulisses, Dra. Emília Arruda, Dra. Ana Virgínia e Dr. Claudio Lisi, por aceitarem o convite e dedicarem seu tempo para a melhoria desta dissertação;*

*À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco - FACEPE, pela bolsa concedida durante o Mestrado;*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento científico e tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro no projeto “Diferenças fisiológicas, anatômicas e moleculares envolvidas na tolerância de diferentes acessos de Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae) à salinidade” - CNPq/Processo: 404357/2013-0;*

*À Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Botânica – PPGB e a Dra. Maria Teresa Buril pelo apoio na finalização do meu mestrado e ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais – LCTV da Profa. Dra. Cláudia Ulisses, Lindomar, Marciana, Neto e Rafael;*

*À Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, em especial ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal – LEV e ao Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas – LGPP do Prof. Dr. Tercilio Calsa Junior, Elton Nunes e Melquisedec Oliveira;*

*À Universidade Federal de Viçosa – UFV, em especial ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Profa. Dra. Jaqueline Pereira, minha coorientadora, e Mirlem Ederson por todo apoio e terem me recebido com tanto carinho;*

*À minha amiga Natália Corte Real pela ajuda na execução dos trabalhos, pelo conhecimento compartilhado e por estar ao meu lado em todos os momentos dessa dissertação, saiba que eu não chegaria até aqui sem o seu apoio.*

## LISTA DE FIGURAS

### **Efeito do choque salino na morfoanatomia foliar de diferentes genótipos de *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae).**

Figura 1. A-F: Plantas de três genótipos de *Jatropha curcas* (CNPAE183 (A e B), JCAL171 (C e D) e CNPAE218 (E e F)), com a mesma idade e sob condições controle (A, C e E) e na recuperação, após exposição ao choque salino em curto prazo (B, D e F). G-I: Padrão foliar de três genótipos, CNPAE183 (G), JCAL171 (H) e CNPAE218 (I), de *Jatropha curcas*, com a mesma idade e em condições controle. AF (área foliar) e AFE (área foliar específica). Barra superior = 10 cm e barra inferior = 5 cm .....18

Figura 2. Cortes transversais da folha dos três genótipos de *Jatropha curcas* sob microscopia óptica, CNPAE183 (A, B e C), JCAL171 (D, E e F) e CNPAE218 (G, H e I), antes do estresse (A, D e G), no máximo estresse (750mM de NaCl) (B, E e H) e na recuperação (C, F e I). Setas = Drusas. Barra = 100  $\mu$ m.....20

Figura 3. Densidade de células ordinárias (A, D), densidade estomática (B, E) e índice estomático (C, F), na superfície adaxial (A, B, C) e abaxial (D, E, F) da epiderme de folhas jovens de três genótipos de *Jatropha curcas* (CNPAE183, JCAL171 e CNPAE218), em três tempos: antes do estresse, no máximo estresse e na recuperação. Diferentes letras maiúsculas representam diferenças significativas entre os genótipos no mesmo tempo. Diferentes letras minúsculas mostram diferenças significativas do mesmo genótipo nos diferentes tempos. Os valores são as médias de cada variável com seus respectivos erros padrão. n = 4.....22

Figura 4. Estômatos dos três genótipos de *Jatropha curcas*, (CNPAE183 (A-F); JCAL171 (G-L) e CNPAE218 (M-R)), observados em três tempos (Antes do estresse (A, B, G, H, M e N); no Máximo estresse (750mM de NaCl) (C, D, I, J, O e P) e na Recuperação (E, F, K, L, Q e R)). (Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV) (Barra = 10  $\mu$ m).....24

Figura 5. Epiderme foliar dos três genótipos de *Jatropha curcas* (CNPAE183 (A-F); JCAL171 (G-L) e CNPAE218 (M-R)), observados em três tempos (Antes do estresse (A, B, G, H, M e N); no Máximo estresse (750mM de NaCl) (C, D, I, J, O e P) e na Recuperação (E, F, K, L, Q e R)). (Microscopia Eletrônica de Varredura- MEV). Barra = 100  $\mu$ m.....25



**LISTA DE TABELAS****Efeito do choque salino na morfoanatomia foliar de diferentes genótipos de *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae).**

Tabela 1. Identificação dos genótipos de *Jatropha curcas* L. selecionados para o projeto.....16

Tabela 2. Efeito do estresse salino em curto prazo na espessura da lâmina foliar (da epiderme, do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso e da área dos espaços de ar no mesófilo) de folhas de *Jatropha curcas* em três tempos: antes do estresse, no máximo estresse e na recuperação. ....20

Tabela 3. Efeito do estresse salino em curto prazo na área e abertura estomática de folhas de três genótipos *Jatropha curcas* em três tempos: antes do estresse, no máximo estresse e na recuperação.....23

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE TABELAS .....	vii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	x
INTRODUÇÃO GERAL .....	12
REVISÃO DE LITERATURA .....	13
<i>Jatropha curcas</i> L.: informações botânicas e importância econômica .....	13
Histórico do biodiesel no Brasil e no mundo .....	14
Efeitos da salinidade nas plantas .....	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	18
MANUSCRITO.....	23
RESUMO .....	24
INTRODUÇÃO.....	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	26
Condições do experimento, germinação das sementes e exposição das plantas à salinidade .....	26
Determinação da área foliar e área foliar específica.....	27
Análises anatômicas e ultraestruturais da lâmina foliar.....	27
Delineamento experimental e análise estatística .....	28
RESULTADOS .....	28
Caracterização morfoanatômica dos genótipos de <i>Jatropha curcas</i> .....	28
Efeito do NaCl sobre a anatomia foliar .....	30
Características estomáticas dos genótipos .....	32
DISCUSSÃO .....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40

## RESUMO

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma planta oleaginosa com importância econômica devido ao seu potencial para a produção do biodiesel. A espécie possui ampla distribuição geográfica, principalmente pela capacidade de se adaptar a diferentes condições edafoclimáticas. Com o intuito de verificar possíveis diferenças morfoanatômicas e ultraestruturais epidérmicas na lâmina foliar de plantas jovens de *J. curcas*, em resposta ao estresse salino de alta intensidade e em curto prazo, selecionou-se três genótipos (CNPAE183, JCAL171 e CNPAE218) com contrastantes tolerâncias à salinidade que foram avaliados sob a concentração de 750 mM de NaCl, acrescido à solução nutritiva, correspondendo a 46,8 dS m<sup>-1</sup> de condutividade elétrica. Para as análises, as folhas foram coletadas em três momentos: (i) antes do início do estresse (Tempo 0 hora), (ii) no máximo estresse, dois dias após o início do estresse (Tempo 50 horas), quando a planta estressada apresentou uma taxa fotossintética líquida inferior à 10% do valor medido no momento anterior ao início do tratamento salino; e (iii) na recuperação, 35 dias após a retirada do sal (Tempo 914 horas), quando as plantas estressadas se recuperaram e apresentaram medidas de fotossíntese líquida com valores semelhantes às aquelas apresentadas pelas plantas controle. Após análises em microscopia óptica, verificou-se que, independente dos genótipos, o choque salino provocou um acréscimo na espessura do mesofilo, sendo que após a retirada da condição estressante, a tendência de aumento permaneceu nos genótipos JCAL171 e CNPAE218, enquanto que os valores observados no genótipo CNPAE183 foram semelhantes ao do momento anterior ao estresse. As análises em microscopia eletrônica de varredura indicaram que os estômatos do genótipo CNPAE183 foram menores e apresentaram índices estomáticos maiores que os valores encontrados nos genótipos JCAL171 e CNPAE218. Diante disto, dentre os genótipos analisados, o CNPAE183 apresentou indícios que podem ser considerados como um genótipo promissor para futuros estudos de melhoramento genético, buscando genótipos elite tolerantes à salinidade.

**Palavras-chave:** Pinhão-manso; anatomia foliar; estresse salino.

## ABSTRACT

*Jatropha curcas* L. is an oleaginous plant with economic importance because of its potential for the production of biodiesel. The species has a wide geographical distribution, mainly due to the capacity to adapt to different edaphoclimatic conditions. In order to verify possible morphoanatomical and ultrastructural differences in the leaf blade of young plants of *J. curcas*, in response to high-intensity salt stress in the short term, three genotypes (CNPAE183, JCAL171 and CNPAE218) were selected with contrasting tolerances salinity that were evaluated under the concentration of 750 mM NaCl, added to the nutrient solution, corresponding to 46.8 dS m<sup>-1</sup> of electrical conductivity. For the analyzes, the leaves were collected in three moments: (i) before the beginning of the stress (Time 0 hour), (ii) at the maximum stress, two days after the beginning of the stress (Time 50 hours), when the plant stressed presented a net photosynthetic rate lower than 10% of the value measured at the time before the beginning of saline treatment; and (iii) in the recovery, 35 days after salt removal (Time 914 hours), when the stressed plants recovered and presented liquid photosynthesis measurements with values similar to those presented by the control plants. After analysis in optical microscopy, it was verified that, regardless of the genotypes, the saline shock caused an increase in the thickness of the mesophyll, and after the withdrawal of the stressful condition, the tendency of increase remained in the genotypes JCAL171 and CNPAE218, whereas the values observed in the genotype CNPAE183 were similar to the pre-stress moment. Scanning electron microscopy analyzes indicated that the stomata of the CNPAE183 genotype were smaller and had stomatal indices higher than the values found in the genotypes JCAL171 and CNPAE218. Therefore, among the analyzed genotypes, the CNPAE183 presented indications that can be considered as a promising genotype for future studies of genetic improvement, searching elite genotypes tolerant to salinity.

**Keywords:** Physic nut; leaf anatomy; salt stress.

## INTRODUÇÃO GERAL

A salinidade do solo, juntamente com o manejo inadequado da irrigação, constitui uma das maiores preocupações na agricultura moderna, pois são apontados como os principais responsáveis para o aumento da quantidade de solos degradados (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Em áreas com taxa evapotranspiratória alta e índice pluviométrico baixo, como é o caso da região semiárida do nordeste brasileiro, existe uma demanda muito grande por irrigação, objetivando tornar economicamente viáveis as áreas de produção agrícola e suprimir os problemas de escassez hídrica (AGUIAR NETTO et al., 2007). Entretanto, esta alta demanda por irrigação, numa região onde os solos são naturalmente afetados por sais (BARROS et al., 2004), pode causar uma salinização secundária, provocada pelo uso de águas salobras, que, mesmo em baixas concentrações, podem ser incorporados ao solo, dificultando a captação de água pela planta (MEDEIROS, 2001; TESTER; DAVENPORT, 2003).

Segundo Andréo-Souza et al. (2010), a alta concentração de sais no solo, bem como na água de irrigação, representa um fator de estresse para as plantas, proporcionando a ação dos íons sobre o protoplasma e redução do potencial osmótico, que provoca a diminuição da disponibilidade hídrica para as plantas, fazendo com que a água seja osmoticamente retida na solução salina (RIBEIRO; MARQUES; AMARRO FILHO, 2001). O estresse salino, bem como o hídrico, seja permanente ou temporário, limita fortemente o crescimento, a distribuição de populações naturais e a produtividade das plantas cultivadas, mais do que qualquer outro fenômeno, como a reação à patógenos e variações de luz e temperatura (ALLAKHVERDIEV et al., 2000; SHAO et al., 2008).

A capacidade das plantas de tolerar a salinidade é determinada por múltiplos caminhos bioquímicos e morfoanatômicos que facilitam a retenção e/ou aquisição de água como forma de proteção às funções dos cloroplastos. Em resposta ao estresse salino, as plantas inicialmente regulam o fluxo de transpiração por meio da redução da condutância estomática (MUNNS; TESTER, 2008); que, persistindo a condição, poderá levar à redução da fotossíntese, causada pela diminuição do influxo de CO<sub>2</sub>, provocando, por conseguinte, uma redução na produção de biomassa (HISHIDA et al., 2013).

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma planta com baixa exigência nutricional (ANDRÉO-SOUZA et al., 2010) e com grande importância econômica devido ao seu potencial para a produção de biocombustíveis, (POMPELLI et al., 2010a; PANDEY et al., 2012), a espécie pode se tornar uma importante alternativa para cultivo em regiões que possuem solos com moderadas concentrações de sais.

O desempenho do pinhão-mansô sob estresse salino tem sido alvo de vários estudos, sendo que alguns destes trabalhos consideram a espécie sensível à salinidade (CAMPOS et al. 2012; NIU et al. 2012), enquanto outros classificam como moderadamente tolerante ao estresse salino (DÍAZ-LÓPEZ et al. 2012; GARCIA-ALMODOVAR et al. 2014). Estes resultados contrastantes podem ser explicados pelo fato do pinhão-mansô ainda encontrar-se em fase de domesticação (LAVIOLA et al. 2014) e o Brasil ainda não possui cultivares e nem um sistema de cultivo validado, sendo necessário o desenvolvimento de cultivares para consolidação da espécie como alternativa para a produção do biodiesel (DURÃES et al. 2011; LAVIOLA et al. 2013).

Ainda são escassos os trabalhos que comparam o desempenho de acessos sob estresse salino com o intuito de conhecer possíveis diferenças morfoanatômicas e/ou fisiológicas que possam proporcionar uma maior tolerância ao sal, visando entender as estratégias adaptativas da espécie e contribuir no seu processo de domesticação. Diante deste cenário, o presente trabalho objetivou avaliar as possíveis alterações morfoanatômicas foliares, em resposta ao choque salino e após o estresse (recuperação), de três genótipos de *J. curcas*, com contrastantes tolerâncias à salinidade, provenientes de três regiões distintas do Brasil.

## REVISÃO DE LITERATURA

### ***Jatropha curcas* L.: informações botânicas e importância econômica**

A espécie *Jatropha curcas* L., popularmente conhecida como pinhão-mansô, é uma planta perene, monóica, com flores díclinas, pertencente à família Euphorbiaceae, que também inclui outras plantas cultiváveis como a mamona (*Ricinus communis* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e a seringueira (*Hevea brasiliensis* L.) (DURÃES et al., 2009).

Segundo Achten et al. (2008), *J. curcas* caracteriza-se como uma pequena árvore ou um grande arbusto, que atinge até 7 m de altura, possui caule suculento e uma expectativa de vida de até 50 anos. Segundo Arruda et al., (2004), a planta apresenta folhas verdes, esparsas e brilhantes, largas e alternas, pecioladas e palmadas, contendo de três a cinco lóbulos. O fruto é capsular ovóide, trilocular, com uma semente em cada cavidade, indeiscente. Inicialmente de cor verde, passando a amarelo, castanho e, por fim, preto, quando atinge o estágio de maturação (CASTRO, 2014). As sementes são relativamente grandes, medindo de 1,5 a 2 cm de comprimento e 1,0 a 1,3 cm de largura, quando secas (POMPELLI et al., 2010). As sementes de *J. curcas* são bitegmentadas, sendo constituído externamente pela testa e internamente pelo tégmen (LOUREIRO et al., 2013; CASTRO, 2014).

De acordo com Saturnino et al. (2005), a espécie se adapta a condições edafoclimáticas muito variáveis, possuindo características de alta tolerância à seca (FINI et al., 2013) e ao calor; moderada tolerância à metais pesados, baixa tolerância a temperaturas reduzidas (GARCIA-ALMODOVAR et al., 2014) e baixa exigência nutricional (ANDRÉO-SOUZA et al., 2010).

O centro de origem de *J. curcas* é indeterminado (ACHTEN et al., 2010), contudo, estudos indicam que a espécie é nativa dos países da América Central e do Sul (HELLER, 1996), ocorrendo de forma espontânea em diversas regiões do Brasil (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2008). Suas características de fácil propagação e sua ampla adaptação as mais diversas condições edafoclimáticas, possibilitou seu desenvolvimento e fixação em regiões longínquas do seu centro de origem, como na Índia, China e Malásia (OPENSHAW, 2000).

O pinhão-manso possui grande importância econômica por seu potencial para a produção de biocombustíveis, proporcionado pelos altos teores de óleo que pode ser extraído de suas sementes, que pode variar entre 27 – 40% (ACHTEN et al. 2012). Devido as características diferenciadas deste óleo, como a baixa acidez, boa estabilidade à oxidação e excelentes propriedades de fluidez em temperaturas baixas, o óleo tem sido empregado para fins medicinais; como purgativo, na indústria cosmética e para fabricação de tintas e sabões (TAPANES et al., 2008). Os subprodutos do pinhão-manso também podem ser aproveitados em aplicações industriais, nas quais o resíduo da extração do óleo pode ser transformado e utilizado como fertilizante natural, devido, principalmente, aos altos teores de nitrogênio, potássio, fósforo e matéria orgânica presentes na torta processada (POMPELLI et al., 2011) e como base para ração animal, desde que devidamente processada para a retirada de substâncias tóxicas (ARROYO et al., 2014).

Diante do cenário atual e do aumento de pesquisas que apontam para o potencial econômico da espécie, associado às características fisiológicas que sugerem uma fácil adaptação às mais distintas condições ambientais e estresses abióticos, como déficit hídrico e salinização no solo, o pinhão-manso tornou-se uma opção de cultivo adequada para pequenos e médios produtores rurais do nordeste brasileiro, podendo ser considerada uma solução sustentável para promover o desenvolvimento socioeconômico regional com a produção de biocombustível (POMPELLI et al., 2011).

### **Histórico do biodiesel no Brasil e no mundo**

A maior parte da energia consumida no mundo provém do petróleo, do carvão mineral e do gás natural, contudo, estas fontes de energia, além de limitadas e com previsão de esgotamento num futuro próximo, favorecem diretamente o aquecimento global, com

significativos aumentos da temperatura, principalmente devido à liberação de gases do efeito estufa, *e.g.*, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e o dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) na atmosfera (POMPELLI et al., 2011), bem como alteração nos padrões de distribuição das chuvas e o derretimento das calotas polares; fatos que podem elevar os níveis oceânicos e promover o aumento na frequência e intensidade de fenômenos climáticos extremos (MARENGO et al., 2012, 2014).

Diante deste cenário, torna-se cada dia mais necessário a mudança da matriz energética global, com investimentos em fontes de energia limpas e renováveis. Os combustíveis, advindos de animais e vegetais (*i.e.*, os biocombustíveis) são ótimos exemplos de fontes renováveis de energia, cuja utilização na matriz energética dos países tem sido recebida com grande distinção por empresas e pesquisadores ao redor do mundo. Dentre os principais biocombustíveis destacam-se o biogás, o bioetanol, o biometanol, o bio-hidrogênio e o biodiesel (ESCOBAR et al., 2009; LINDFELDT; WESTERMARK, 2009). O biodiesel é virtualmente livre de enxofre e compostos aromáticos; possui aproximadamente 11% de oxigênio (O<sub>2</sub>) e maior viscosidade, bem como maior ponto de fulgor que o diesel convencional. Ademais, apresenta um valor agregado relativamente superior ao diesel comum (RAMOS, 1999), mas que pode se tornar vantajoso se considerarmos que na produção são gerados diversos subprodutos, como a glicerina e a torta residual, os quais podem ser utilizados na indústria farmacêutica e de vernizes ou na produção de biogás e suplemento para alimentação animal (ARROYO et al., 2014). Desta maneira, o biodiesel se tornaria muito mais competitivo do que o óleo diesel convencional (PARENTE, 2003).

Dentre as plantas oleaginosas com grande potencial para a produção de biodiesel, o pinhão-mansão vem recebendo amplo destaque mundial, principalmente por suas características agrônomicas e por seu grande potencial econômico graças a sua alta produtividade e rendimento elevado de óleo (POMPELLI et al., 2011; KUMAR; CHAUBE; JAIN, 2012; SINGH et al., 2013). Desde a década de 30 são realizadas pesquisas acerca da utilização de óleo de *J. curcas* em motores à combustão, que o óleo poderia ser utilizado como combustível, sem qualquer tratamento prévio especial, para estes tipos de motores, obtendo uma boa performance e com desempenho semelhante aos obtidos com o diesel puro de petróleo (ARRUDA et al., 2004).

No Brasil, os estudos com biodiesel vêm recebendo amplo destaque e nas últimas décadas houve a criação de programas e de planos que buscam impulsionar a produção desta fonte renovável de energia. Desde novembro de 2014 são adicionados 7% (B7) de biodiesel ao óleo diesel comercializado a qualquer consumidor, em todo o território nacional, contudo, a demanda pelo biodiesel deverá aumentar com a lei nº 13.263, de 23 de março de 2016 (BRASIL,



2016), que elevou a mistura de biodiesel ao diesel vendido ao consumidor para 8% (B8) a partir 23 de março de 2017; para 9% (B9) até dois anos depois, e 10% (B10) no período de três anos. A norma ainda autoriza o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) a elevar a mistura obrigatória para 15%, caso testes validem a utilização dessa mistura em veículos e motores.

Apesar do grande potencial para exploração do óleo proveniente do pinhão-mansão em solo brasileiro, seu uso ainda é bastante insignificante, a maior parte do biodiesel produzido aqui é proveniente do óleo de soja e de gordura bovina (ANP, 2016). A subexploração do pinhão-mansão deve-se a inúmeros fatores, como a falta de incentivo dos órgãos competentes e de estudos que possibilitem a resolução de problemas que vão desde o aprofundamento do conhecimento da cultura e melhoramento genético da espécie até a caracterização das áreas prioritárias para o plantio e o processamento industrial (FERREIRA et al., 2013).

### **Efeitos da salinidade nas plantas**

A salinidade do solo constitui o principal fator abiótico limitante do crescimento e da produtividade das plantas ao redor do mundo (BOUGHALLEB; DENDEN; TIBA, 2009). Segundo Parida e Das (2005), a salinidade dos solos é causada pela presença de íons, mais comumente  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , em quantidades excessivas. A salinidade é conhecida por afetar diferentes aspectos do metabolismo das plantas, além de induzir mudanças fisiológicas e morfoanatômicas. Por efeito da salinidade, as plantas podem ter os processos de síntese de proteínas, metabolismo de lipídios e fotossíntese alterados/danificados (ESTEVEZ; SUZUKI, 2008), como consequência da diminuição nas taxas de assimilação de carbono, de condutância estomática e de transpiração (CAMPOS et al., 2012). Entretanto, as plantas respondem ao estresse salino de maneiras distintas, existindo algumas culturas que conseguem alcançar rendimentos consideráveis sob níveis de salinidade elevado, enquanto que outras são bastante sensíveis mesmo quando submetidas a níveis relativamente baixos (SANTANA; CARVALHO; MIGUEL, 2010).

Em resposta imediata ao estresse salino, bem como hídrico, a planta reduz o ritmo de expansão da superfície foliar, o que pode levar à cessação total da expansão com o aumento da concentração de sal (WANG; NII, 2000). A salinidade também costuma provocar o aumento na espessura da epiderme e do mesofilo (LONGSTRETH; NOBEL, 1979). Em folhas de batata, o estresse salino provocou arredondamento das células e uma redução no número de cloroplastos (BRUNS; HECHT-BUCHHOLZ, 1990). Em plantas de tomate, a salinidade provocou redução da área foliar e da densidade estomática das plantas estressadas (ROMERO-ARANDA; SORIA; CUARTERO, 2001).

Segundo Mitsuya, Takeoka e Miyake (2000), o estresse salino provocou (i) o desenvolvimento de vacúolos e inchaço parcial do retículo endoplasmático, (ii) diminuição das cristas mitocondriais e inchaço das mitocôndrias, (iii) vesiculação e fragmentação de tonoplasto, e (iv) degradação do citoplasma pela mistura das matrizes citoplasmática e vacuolar.

Boughalleb et al. (2009), investigaram as alterações anatômicas em folhas, caule e raiz de *Nitraria retusa* (Forssk) e *Atriplex halimus* L., plantas xero-halófitas e *Medicago arborea* L., não-halófitas e observaram que as espécies halófitas obtiveram crescimento máximo em salinidades moderadas e que os parâmetros anatômicos do caule e da raiz foram reduzidos apenas em concentrações elevadas de NaCl para além de 400 mM, enquanto que para a espécie não-halófitas todos os níveis de salinidade foram prejudiciais para o crescimento. Nas três espécies houve um aumento nos parâmetros anatômicos da folha com a concentração de sal; onde as espécies halófitas apresentaram um aumento na espessura do mesofilo, acompanhado com uma alta suculência, enquanto que na espécie mesófitas foi observado um aumento nos espaços de ar no mesofilo, além de promover uma diferenciação precoce do xilema da raiz e do caule em xilema secundário, que pode significar uma estratégia adaptativa para facilitar o transporte de água.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHTEN, W. M. et al. Towards domestication of *Jatropha curcas*. **Biofuels**, v. 1, n. 1, p. 91–107, jan. 2010.

ACHTEN, W. M. J. M. J. et al. Jatropha bio-diesel production and use. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 12, p. 1063–1084, dez. 2008.

AGUIAR NETTO, A. DE O. et al. Características químicas e salino-sodicidade dos solos do Perímetro Irrigado Califórnia, SE, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1640–1645, 2007.

ALLAKHVERDIEV, S. I. et al. Inactivation of Photosystems I and II in Response to Osmotic Stress in *Synechococcus*. Contribution of Water Channels. **Plant Physiology**, v. 122, n. 4, p. 1201–1208, 1 abr. 2000.

ANDRÉO-SOUZA, Y. et al. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 83–92, 2010.

ARROYO, B. J. et al. Desintoxicación de la torta de *Jatropha curcas* L. como posible alternativa de alimento para ganado bovino en el caribe colombiano. **Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica**, v. 17, n. 1, p. 171–178, 2014.

ARRUDA, F. P. DE et al. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Rev. bras. ol. fibros**, v. 8, n. 1, p. 789–799, 2004.

BARROS, M. DE F. C. et al. Recuperação de solos afetados por sais pela aplicação de gesso de jazida e calcário no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 8, n. 1, p. 59–64, abr. 2004.

BELTRÃO, N. E. DE M.; OLIVEIRA, M. I. P. DE. **Oleaginosas e seus óleos: Vantagens e Desvantagens para Produção de Biodiesel**. 1. ed. Campina Grande: 2008.

BOUGHALLEB, F.; DENDEN, M.; TIBA, B. BEN. Anatomical changes induced by increasing NaCl salinity in three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, n. 5, p. 947–960, 5 set. 2009.

BRUNS, S.; HECHT-BUCHHOLZ, C. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Blättern mehrerer Kartoffelsorten nach Salzgaben zu verschiedenen Entwicklungsstadien. **Potato Research**, v. 33, n. 1, p. 33–41, mar. 1990.

CAMPOS, M. L. O. et al. Photosynthesis and antioxidant activity in *Jatropha curcas* L. under salt stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 55–67, 2012.

DELFINE, S. et al. Consequences of salt stress on conductance to CO<sub>2</sub> diffusion, Rubisco characteristics and anatomy of spinach leaves. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 25, n. 3, p. 395, 1998.

DÍAZ-LÓPEZ, L. et al. *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. **Agricultural Water Management**, v. 105, p. 48–56, mar. 2012.

EPSTEIN, E. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. New York: John Wiley & Sons, 1972.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição Mineral de Plantas**. 2. ed. Londrina: Editora Planta, 2006.

ESCOBAR, J. C. et al. Biofuels: Environment, technology and food security. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p. 1275–1287, 2009.

ESTEVES, B. D. S.; SUZUKI, M. S. Efeito Da Salinidade Sobre as Plantas. **Oecologia Australis**, v. 12, n. 4, p. 662–679, 2008.

FERREIRA, W. J. et al. Biodiesel de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em países emergentes: alternativa para o desenvolvimento regional. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 9, n. 1, 2013.

FINI, A. et al. Water relations, growth, and leaf gas exchange as affected by water stress in *Jatropha curcas*. **Journal of Arid Environments**, v. 89, p. 21–29, 2013.

FRANKLIN, G. L. Preparation of Thin Sections of Synthetic Resins and Wood-Resin Composites, and a New Macerating Method for Wood. **Nature**, v. 155, n. 3924, p. 51–51, 13 jan. 1945.

GARCIA-ALMODOVAR, C. et al. Improving the tolerance of *Jatropha curcas* L. plants to abiotic stresses. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 9, n. 4, 1 mar. 2014.

HISHIDA MASAKO, ASCENCIO FELIPE, FUJIYAMA HIDEYASU, ORDUÑO-CRUZ ANDRÉS, E. T.; L.-M. J. A. Response to salt stress in growth, water relations, and ion content of *Jatropha curcas* AND *J. cinerea* seedlings. **Interciencia**, v. 38, n. 4, 2013.

KUMAR, S.; CHAUBE, A.; JAIN, S. K. Experimental evaluation of C.I. engine performance using diesel blended with *Jatropha* biodiesel. **International Journal of Energy And Environment**, v. 3, n. 3, p. 471–484, 2012.

LINDFELDT, E. G.; WESTERMARK, M. O. Biofuel production with CCS as a strategy for creating a CO<sub>2</sub> -neutral road transport sector. **Energy Procedia**, v. 1, n. 1, p. 4111–4118, 2009.

LONGSTRETH, D. J.; NOBEL, P. S. Salinity Effects on Leaf Anatomy consequences for photosynthesis'. **Plant Physiol**, v. 63, p. 700–703, 1979.

LOUREIRO, M. B. et al. Caracterização morfoanatomica e fisiológica de sementes e plântulas de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). **Revista Árvore**, v. 37, n. 6, p. 1093–1101, dez. 2013.

MARENGO, J. A. et al. Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. **Climate Dynamics**, v. 35, n. 6, p. 1073–1097, nov. 2010.

MARENGO, J. A. et al. Development of regional future climate change scenarios in South America using the Eta CPTEC/HadCM3 climate change projections: climatology and regional analyses for the Amazon, São Francisco and the Paraná River basins. **Climate Dynamics**, v. 38, n. 9–10, p. 1829–1848, 10 maio 2012.

MITSUYA, S.; TAKEOKA, Y.; MIYAKE, H. Effects of sodium chloride on foliar ultrastructure of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) plantlets grown under light and dark conditions in vitro. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 6, p. 661–667, 2000.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annu. Rev. Plant Biol**, v. 59, p. 651–81, 2008.

OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass**

**and Bioenergy**, v. 19, n. 1, p. 1–15, 2000.

PANDEY, A. K. et al. In vitro antibacterial activities of the essential oils of aromatic plants against *Erwinia herbicola* (Lohnis) and *Pseudomonas putida* (Kris Hamilton). **J. Serb. Chem. Soc.**, v. 77, n. 3, p. 313–323, 2012.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, n. 3, p. 324–349, 2005.

POMPELLI, M. F. et al. Environmental influence on the physico-chemical and physiological properties of *Jatropha curcas* seeds. **Australian Journal of Botany**, v. 58, n. 6, p. 421, 2010a.

POMPELLI, M. F. et al. What is the influence of ordinary epidermal cells and stomata on the leaf plasticity of coffee plants grown under full-sun and shady conditions? **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 4, p. 1083–1088, nov. 2010b.

POMPELLI, M. F. et al. Crise energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis Global energy crisis and the Brazilian role in the bio-fuels issue. **Agronomía Colombiana**, v. 29, n. 2, p. 231–240, 2011.

RIBEIRO, M. C. C.; MARQUES, B. M.; AMARRO FILHO, J. Efeito da salinidade na germinação de sementes de quatro cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 281–284, 2001.

ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. **Plant Science**, v. 160, n. 2, p. 265–272, 2001.

SANTANA, M. J. DE; CARVALHO, J. DE A.; MIGUEL, D. DA S. Respostas de plantas de pepino à salinidade da água de irrigação. **Global Science and Technology**, v. 3, n. 3, 2010.

SATURNINO, H. M. et al. Cultivation of *Jatropha curcas* L. **Informe Agropecuario**, v. 26, n. 229, p. 44–78, 2005.

SHAO, H.-B. et al. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 3, p. 215–225, 2008.

SINGH, B. et al. Agro-technology of *Jatropha curcas* for diverse environmental conditions in

India. **Biomass and Bioenergy**, v. 48, p. 191–202, 2013.

TAPANES, N. C. O. et al. Transesterification of *Jatropha curcas* oil glycerides: Theoretical and experimental studies of biodiesel reaction. **Fuel**, v. 87, n. 10, p. 2286–2295, 2008.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, n. 5, p. 503–527, 2003.

WANG, Y.; NII, N. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 75, n. 6, p. 623–627, 7 jan. 2000.

**MANUSCRITO**

---



1 **Efeito do choque salino na morfoanatomia foliar de diferentes genótipos de *Jatropha***  
2 ***curcas* (Euphorbiaceae).**

3  
4 **Leonardo Silva-Santos<sup>a</sup>, Natália Corte-Real<sup>a</sup>, Jaqueline Dias-Pereira<sup>b</sup>, Laurício Endres<sup>c</sup>,**  
5 **Marcelo F. Pompelli<sup>a,\*</sup>**

6 <sup>a</sup> Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Botânica, Recife, PE, Brasil.

7 <sup>b</sup> Laboratório de Anatomia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Campus Rio Paranaíba, Rio Paranaíba, MG, Brasil.

8 <sup>c</sup> Laboratório de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

9 \* Autor Correspondente. E-mail: marcelo.pompelli@ufpe.br

10  
11 **RESUMO**

12 Com o intuito de verificar possíveis diferenças morfoanatômicas e ultraestruturais epidérmicas  
13 na lâmina foliar de plantas jovens de *J. curcas*, em resposta ao estresse salino de alta intensidade  
14 e em curto prazo, selecionou-se três genótipos (CNPAE183, JCAL171 e CNPAE218) com  
15 contrastantes características de tolerância à salinidade que foram avaliados sob a concentração  
16 de 750 mM de NaCl, acrescido à solução nutritiva, correspondendo a 46,8 dS m<sup>-1</sup> de  
17 condutividade elétrica. Para as análises, as folhas foram coletadas em três momentos: (i) antes  
18 do início do estresse (Tempo 0 hora), (ii) no máximo estresse, dois dias após o início do estresse  
19 (Tempo 50 horas), quando a planta estressada apresentou uma taxa fotossintética líquida  
20 inferior à 10% do valor medido no momento anterior ao início do tratamento salino; e (iii) na  
21 recuperação, 35 dias após a retirada do sal (Tempo 914 horas), quando as plantas estressadas  
22 se recuperaram e apresentaram medidas de fotossíntese líquida com valores semelhantes  
23 às aquelas apresentadas pelas plantas controle. Após análises em microscopia óptica, verificou-se  
24 que, independente dos genótipos, o choque salino provocou um acréscimo na espessura do  
25 mesofilo, sendo que após a retirada da condição estressante, a tendência de aumento  
26 permaneceu nos genótipos JCAL171 e CNPAE218, enquanto que os valores observados no  
27 genótipo CNPAE183 foram semelhantes ao do momento anterior ao estresse. As análises em  
28 microscopia eletrônica de varredura indicaram que os estômatos do genótipo CNPAE183 são  
29 menores e apresentam índice estomático maiores que os valores encontrados nos genótipos  
30 JCAL171 e CNPAE218. Diante disto, dentre os genótipos analisados, o CNPAE183 apresenta  
31 indícios que podem ser considerados como genótipo promissor para futuros estudos de  
32 melhoria genética, buscando genótipos elite tolerantes à salinidade.

33 **Palavras-chave:** Pinhão-mansão; anatomia foliar; estresse salino.

## 34 INTRODUÇÃO

35 O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie lenhosa-arbustiva pertencente à  
36 família Euphorbiaceae. Mesmo não se conhecendo ao certo qual o seu centro de origem, estudos  
37 indicam que a espécie seja nativa dos países da América Central e do Sul (Papazoglou 2014;  
38 Pecina-Quintero *et al.* 2014; Trebbi *et al.* 2015). Nos últimos anos, essa espécie tem sido alvo  
39 de uma série de pesquisas com objetivo na exploração comercial do óleo produzido pela espécie  
40 (Mardhiah *et al.* 2017; Silitonga *et al.* 2017; Albuquerque *et al.* 2017), uma vez que suas  
41 sementes apresentam entre 27 a 40% de óleo (Achten *et al.* 2007), o que associado ao baixo  
42 custo de produção e sua composição rica em ácidos graxos insaturados (Kumar and Sharma  
43 2008) promovem a espécie para a produção de biocombustíveis. Além disto, a planta possui  
44 baixa exigência nutricional (De Rossi *et al.* 2016) e grande resistência a longos períodos de  
45 estiagem (Pompelli, Barata-Luís, *et al.* 2010; Fini *et al.* 2013; Santos *et al.* 2013), podendo se  
46 adaptar às mais diversas condições edafoclimáticas (Behera *et al.* 2009; Arroyo and Orozco  
47 2016), contribuindo para que a planta tenha uma ampla distribuição geográfica, estando  
48 presente em praticamente todas as regiões intertropicais do mundo (Divakara *et al.* 2010;  
49 Contran *et al.* 2013).

50 As características fisiológicas da espécie, associadas ao seu potencial econômico, pode  
51 transformar o pinhão-manso em uma cultura alternativa para produtores de regiões áridas e  
52 semiáridas (Pompelli *et al.* 2011). Contudo, a escassez de chuvas e a alta demanda evaporativa,  
53 destas regiões, provocam uma alta concentração de sais nos solos (Viégas *et al.* 2001; Barros  
54 *et al.* 2004), situação essa que é agravada com a utilização de águas salobras para a irrigação  
55 (Tester and Davenport 2003). É sabido que, a alta concentração de sais na solução do solo  
56 representa um fator de estresse para as plantas de modo geral (Elhag and Gafar 2014; Arroyo  
57 and Orozco 2016), relacionado com a ação dos íons sobre o protoplasma e redução do potencial  
58 osmótico (Alencar *et al.* 2015), fazendo com que a água seja osmoticamente retida na solução  
59 salina, diminuindo a disponibilidade hídrica para as plantas (Ribeiro *et al.* 2001).

60 O estresse salino, bem como o hídrico, seja em curto ou longo prazo, causam diversos  
61 efeitos na planta, como: (i) limitação do crescimento do vegetal (Longstreth and Nobel 1979;  
62 Kao *et al.* 2006; Lacerda *et al.* 2006), (ii) fechamento estomático (Romero-Aranda *et al.* 2001),  
63 (iii) redução na condutividade da raiz (Romero-Aranda *et al.* 2001; Kao *et al.* 2006), (iv)  
64 acréscimo da suculência e da espessura da folha (Longstreth and Nobel 1979; Romero-Aranda  
65 *et al.* 2001; Lacerda *et al.* 2006), (v) aparecimento de injúrias e abscisão foliares (Romero-  
66 Aranda *et al.* 1998) e (vi) redução da fotossíntese (Kao *et al.* 2006; Lacerda *et al.* 2006); fatores  
67 que restringem a distribuição de populações nativas e a produtividade das plantas cultivadas,

68 mais do que qualquer outro fenômeno, como estresse biótico e variações de luz e temperatura  
69 (Allakhverdiev *et al.* 2000; Shao *et al.* 2008).

70 O desempenho do pinhão-manso sob estresse salino tem sido alvo de diversos estudos  
71 fisiológicos, sendo que alguns destes trabalhos consideram a espécie sensível à salinidade  
72 (Campos *et al.* 2012; Niu *et al.* 2012), enquanto que outros classificam como moderadamente  
73 tolerante ao estresse salino (Díaz-López, Gimeno, Simón, *et al.* 2012; Garcia-Almodovar *et al.*  
74 2014). Estes resultados tão contrastantes podem ser explicados pelo fato de o pinhão-manso  
75 ainda encontrar-se em fase de domesticação (Grativol *et al.* 2011; Laviola *et al.* 2014). Neste  
76 sentido, vários trabalhos, visando o estudo da variabilidade genética da espécie vêm sendo  
77 desenvolvidos nos últimos anos (Singh *et al.* 2013; Trebbi *et al.* 2015; Senger *et al.* 2015, 2016;  
78 Albuquerque *et al.* 2017), proporcionando resultados promissores que colaboram para geração  
79 de cultivares mais produtivas em diferentes condições edafoclimáticas, contribuindo assim para  
80 consolidação da espécie como alternativa para a produção do biodiesel (Díaz-López, Gimeno,  
81 Lidón, *et al.* 2012; Contran *et al.* 2013; Elhag and Gafar 2014; Arroyo and Orozco 2016).

82 Diante disto, este trabalho buscou verificar se os genótipos de *J. curcas* apresentam  
83 diferentes características morfoanatômicas foliares e se estes aspectos podem significar  
84 possíveis mecanismos de tolerância ao estresse salino, além de avaliar o comportamento da  
85 lâmina foliar dos três genótipos em resposta ao choque salino em curto prazo e na recuperação.

86

## 87 MATERIAL E MÉTODOS

### 88 **Condições do experimento, germinação das sementes e exposição das plantas à salinidade**

89 O experimento foi realizado em casa de vegetação, sediada na Universidade Federal de  
90 Pernambuco (8°02' S, 39°56' W, 15 m a.s.l), Recife-PE, Brasil. Após estudos prévios de  
91 germinação, crescimento e tolerância à salinidade, foram selecionados três genótipos, de  
92 diferentes regiões do Brasil e com respostas contrastantes à salinidade, sendo CNPAE183  
93 considerado tolerante, JCAL171 moderadamente tolerante e CNPAE218 sensível (Corte-Real,  
94 N.; manuscrito em preparação) (Tabela 1). As sementes destes três genótipos foram germinadas  
95 em bandejas com capacidade para 5 L contendo areia lavada de rio. A partir do surgimento dos  
96 primeiros eófilos, as plântulas foram padronizadas e, em seguida, transplantadas  
97 individualmente em vasos de 9 L contendo areia lavada de rio e irrigadas a cada dois dias com  
98 solução de Hoagland (Epstein 1972) diluído a 50%, onde permaneceram por 15 dias para  
99 aclimatação. Após este período, a solução nutritiva foi substituída por Hoagland 100%, onde as  
100 plantas permaneceram nesta condição por três meses, quando atingiram um tamanho adequado  
101 para o início do experimento (Tempo 0 hora). A partir deste momento, teve início o tratamento

102 de choque salino, quando as plantas foram irrigadas diariamente durante três dias, nas primeiras  
 103 horas da manhã, com 800 mL de solução nutritiva de Hoagland, acrescida de 750 mM L<sup>-1</sup> de  
 104 NaCl, correspondendo à ~ 47 dS m<sup>-1</sup> de condutividade elétrica. Passados o tempo de promoção  
 105 do estresse (i.e., 50 horas), o substrato foi exaustivamente lavado com água destilada para  
 106 retirada de todo o sal da solução do solo. A completa retirada do sal foi confirmada com a  
 107 condutividade elétrica do lixiviado, o qual deveria ser inferior a 3 dS m<sup>-1</sup>. Após essa lavagem,  
 108 as plantas voltaram a receber solução nutritiva de Hoagland a 100% por mais 35 dias (914  
 109 horas), quando observou-se que a fotossíntese das plantas estressadas atingiu as mesmas taxas  
 110 fotossintéticas das plantas controle (Corte-Real, N.; manuscrito em preparação).

111

112 Tabela 1. Identificação e origem dos genótipos de *Jatropha curcas* L. selecionados para o projeto.

Genótipos	Procedência	Localização geográfica
CNPAE183	Jaíba/MG	15°10'3" S, 43°53'18,4" W / 478 m
JCAL171	Rio Largo/AL	09°28'42" S, 35°51'21" W / 134 m
CNPAE 218	São Miguel do Araguaia/GO	13°55'57" S, 50°09'17" W / 350 m

### 113 **Determinação da área foliar e área foliar específica**

114 Para a mensuração da área foliar (AF), foram coletadas 20 folhas saudáveis e totalmente  
 115 expandidas de quatro plantas cultivadas sem adição salina. As folhas foram digitalizadas usando  
 116 um *scanner* (mod. HP Scanjet G2410 com resolução de 1.200 dpi) e medida com o auxílio do  
 117 *software* Image-Pro Plus (ver 4.5.0.29, Media Cybernetics, Silver Spring USA). A partir destas  
 118 folhas, foram coletados 40 discos (~1,5 cm<sup>2</sup>), de pontos aleatórios do limbo, a fim de determinar  
 119 a área foliar específica (AFE), que foi calculada pela razão entre a área foliar e a massa seca  
 120 foliar (Mendes *et al.* 2017).

### 121 **Análises anatômicas e ultraestruturais da lâmina foliar**

122 Para as avaliações anatômicas, fragmentos foliares provenientes da região mediana do  
 123 limbo de folhas saudáveis e totalmente expandidas, retiradas do terço médio da planta, foram  
 124 coletados em três diferentes tempos: (i) antes do estresse (0 hora), (ii) no momento de máximo  
 125 estresse (50 horas), e (iii) na recuperação (914 horas). Amostras de 0,5 cm<sup>2</sup> da lâmina foliar  
 126 foram fixadas em FAA50 (Johansen 1940) desidratadas em série etílica crescente e incluídas  
 127 em resina plástica (Leica historessin embedding kit, Leica Microsystems, Germany). Após a  
 128 inclusão, os materiais foram seccionados transversalmente (7 µm) em micrótomo rotativo de  
 129 avanço automático (Microtome, mod. RM 2255, Leica Microsystems Inc., Deerfield, IL,  
 130 Germany), coradas com azul de toluidina e montadas em resina sintética (Permout™  
 131 Mounting Medium, Fisher Chemicals, New Jersey, USA). Para as avaliações  
 132 micromorfológicas, as lâminas foram fotografadas em microscópio (mod. DM750, Leica

133 Microsystems Germany), acoplado à uma câmera em alta definição (mod. ICC50 HD Leica  
134 Microsystems, Germany). A partir destas imagens e com o auxílio do *software* Image-Pro Plus  
135 (ver 4.5.0.29, Media Cybernetics, Silver Spring USA) foram mensuradas a espessura da  
136 epiderme adaxial (EAD) e abaxial (EAB), espessura da parede periclinal externa de ambas as  
137 superfícies e dos parênquimas paliçádicos e lacunosos, espessura total do mesofilo e do limbo,  
138 além do perímetro dos espaços de ar no mesofilo.

139 Para contagem estomática e estudo da estrutura estomática utilizou-se a microscopia  
140 eletrônica de varredura (MEV). Para tanto, fragmentos de 0,5 cm foram fixados em tampão  
141 Karnovsky (Karnovsky 1965) até o momento do início do processamento, posteriormente, as  
142 amostras foram lavadas triplamente com tampão Cacodilato (Sodium cacodylate trihydrate,  
143 part number C0250, Sigma Aldrich, St Louis, USA), desidratado em série etílica crescente,  
144 levado à secagem até ponto crítico (Bal-Tec CPD 030 critical point dryer, Bal-Tec, Balzers,  
145 Liechtenstein, Germany), coberto com uma fina lâmina de ouro em metalizador (Metalizer,  
146 mod. Denton Desk II Sputter Coater, Torontech Group International, Markham, ON, Canada)  
147 e fotomicrografados em Microscópio Eletrônico de Varredura (Scanning Electron Microscope,  
148 mod. JSM-5600LV, Jeol, Peabody, MA, USA).

149 Para a mensuração da densidade estomática e dos índices estomático e das células  
150 ordinárias, utilizou-se as equações de Salisbury (1928) com alterações propostas por Pompelli  
151 *et al.* (2010). A medição do comprimento, largura e área do estômato foi realizada conforme  
152 descrito por Pompelli *et al.* (2010), enquanto que a abertura do poro estomático foi realizada  
153 por medição direta nas imagens.

#### 154 **Delineamento experimental e análise estatística**

155 O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, sendo quatro  
156 repetições e três acessos. Os resultados obtidos foram submetidos à análise bifatorial para os  
157 dados, seguido de um teste de Student-Newman-Keuls para verificar a existência de diferenças  
158 significativas ( $\alpha = 5\%$ ). As análises foram realizadas usando a linguagem de programação R  
159 (<http://www.r-project.org/>).

## 160 **RESULTADOS**

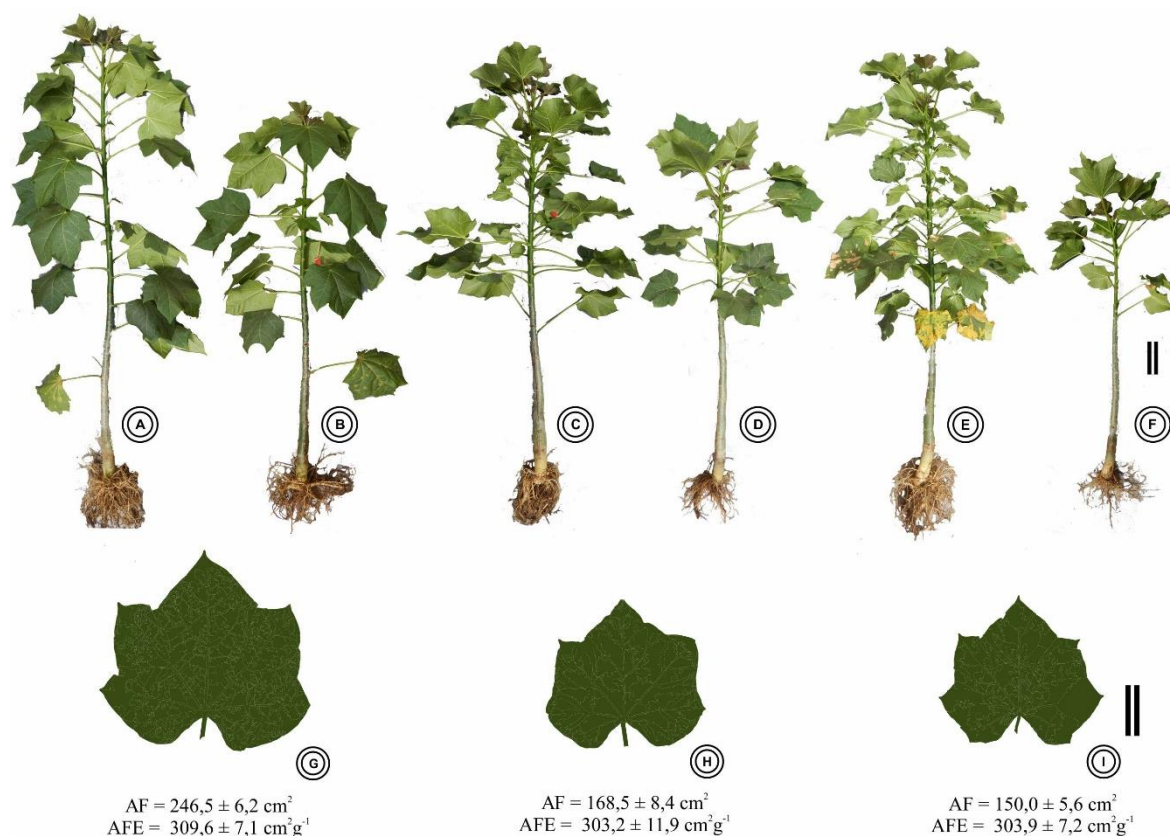
### 161 **Caracterização morfoanatômica dos genótipos de *Jatropha curcas***

162 Os três genótipos avaliados, apresentaram folhas pecioladas e alternas, com limbos  
163 simples e em forma de palma, contendo de 5 a 7 lóbulos (Figura 1). Os genótipos JCAL171  
164 ( $168,5 \pm 8,4 \text{ cm}^2$ ) e CNPAE218 ( $150,0 \pm 5,6 \text{ cm}^2$ ) não apresentaram diferenças quanto à área  
165 foliar, contudo CNPAE183 ( $246,5 \pm 6,2 \text{ cm}^2$ ) apresentou uma folha 32% maior que a dos outros

166 genótipos (Figura 1), contudo, a área foliar específica (AFE) não apresentou diferenças  
167 significativas entre os genótipos e nem em resposta ao estresse salino.

168 O desenvolvimento das plantas nos diferentes genótipos apresentou um perfil semelhante  
169 em todas as plantas controle, entretanto, o desenvolvimento das plantas cultivadas na presença  
170 de NaCl foi sensivelmente diminuído e dentre estes, o genótipo CNPAE218 foi o mais afetado  
171 pela condição salina. Tais constatações se tornaram mais evidentes após a retirada da condição  
172 estressante, quando houve uma intensa abscisão foliar nas plantas cultivadas sob salinidade.  
173 Nestes termos, o genótipo CNPAE183 foi o mais veloz na recuperação da sua condição com a  
174 rebrota de folhas. No Tempo 914 horas, verificou-se uma forte redução na altura das plantas  
175 submetidas à salinidade (Figura 1), apresentando uma altura final menor do que plantas da  
176 mesma idade que não passaram pelo tratamento de choque salino.

177



178

179 Figura 1. A-F: Plantas de três genótipos de *Jatropha curcas* (CNPAE183 (A e B), JCAL171 (C e D) e CNPAE218  
180 (E e F)), com a mesma idade e sob condições controle (A, C e E) e na recuperação, após exposição ao choque  
181 salino em curto prazo (B, D e F). G-I: Padrão foliar de três genótipos, CNPAE183 (G), JCAL171 (H) e CNPAE218  
182 (I), de *Jatropha curcas*, com a mesma idade e em condições controle. AF (área foliar) e AFE (área foliar  
183 específica). Barra superior = 10 cm e barra inferior = 5 cm.

## 184 **Efeito do NaCl sobre a anatomia foliar**

185 A folha de pinhão-manso possui epiderme uniestratificada, células de paredes retas, com  
186 contornos arredondados e tamanhos irregulares, sendo que a superfície adaxial (ADA) possui  
187 uma epiderme cerca de 35% mais espessa que a superfície abaxial (ABA) (Figura 2 e Tabela  
188 2). Com relação a espessura da epiderme, observou-se que os genótipos CNPAE183 e JCAL171  
189 não apresentaram variações na espessura da epiderme em nenhuma das faces (Tabela 2),  
190 enquanto que o genótipo CNPAE218, embora não tenha apresentado uma significativa variação  
191 na espessura da epiderme em função do choque salino, no período de recuperação, houve uma  
192 diminuição da espessura epidérmica de 14% em ADA e 17% em ABA.

193 O mesofilo é dorsiventral (Figura 2), com uma camada de parênquima paliçádico (PP),  
194 com células alongadas e compactadas, voltada para ADA e uma camada de parênquima  
195 lacunoso (PL), voltada para ABA, constituída por uma sobreposição de 7 a 10 camadas de  
196 células de tamanhos irregulares e pouco compactadas, resultando em espaços intercelulares  
197 com a presença de drusas (Figura 2). O estresse salino provocou uma tendência de aumento na  
198 espessura do mesofilo de todos os genótipos avaliados (Tabela 2). No máximo estresse, as  
199 folhas apresentaram PP e PL maiores quando comparadas ao momento anterior à exposição  
200 salina. O genótipo CNPAE183 apresentou um aumento de 7,5% em PP e 13% em PL, o  
201 genótipo JCAL171 apresentou um aumento de 12% em PP e 18,5% em PL enquanto que o  
202 genótipo CNPAE218 apresentou um aumento de 6% em PP e 20,5% em PL. Quando a  
203 avaliação se dá nas folhas recuperadas em comparação às folhas coletadas no máximo estresse,  
204 verificou-se efeitos distintos entre os genótipos, sendo que CNPAE183 apresentou uma redução  
205 de 7,5% em PP e de 21% em PL, JCAL171 apresentou um aumento de 5,5% em PP e de 9,5%  
206 em PL, enquanto que o CNPAE218 não apresentou diferença significativa entre as médias nos  
207 diferentes momentos (Tabela 2).

208 Os espaços de ar no mesofilo também sofreram variações em resposta à salinidade  
209 (Tabela 2), com o genótipo CNPAE183 apresentando uma redução de 19% do Tempo 0 hora  
210 para o Tempo 50 horas, enquanto que os outros genótipos, neste mesmo período, apresentaram  
211 um aumento de 49% em JCAL171 e de 20% em CNPAE218. Após retirada da condição salina,  
212 os genótipos apresentaram valores semelhantes aos observado no período anterior ao estresse  
213 (Tabela 2).



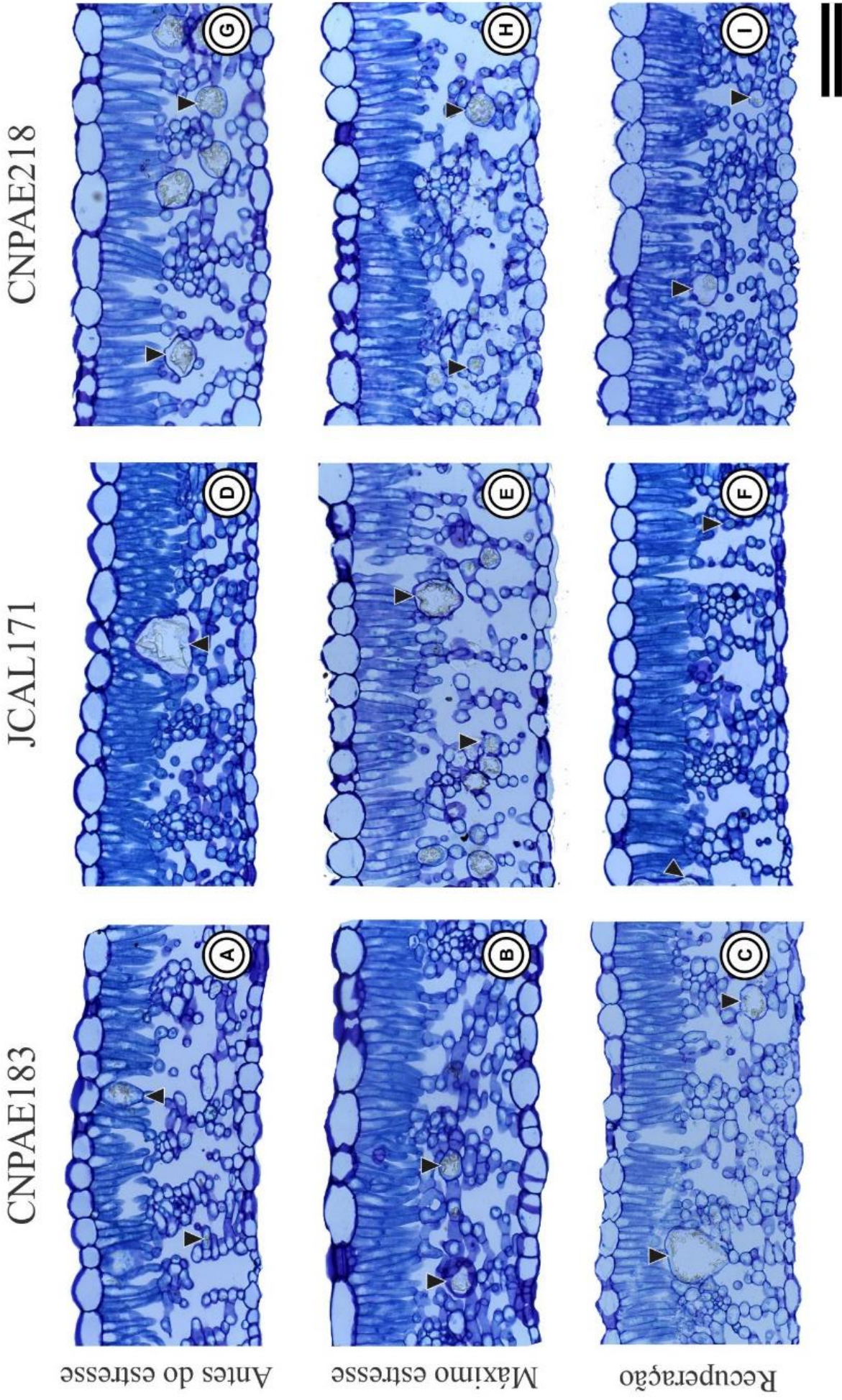


Figura 2. Cortes transversais da folha dos três genótipos de *Jatropha curcas* sob microscopia óptica, CNPAE183 (A, B e C), JCAL171 (D, E e F) e CNPAE218 (G, H e I), antes do estresse (A, D e G), no máximo estresse (750mM de NaCl) (B, E e H) e na recuperação (C, F e I). Setas = Drusas. Barra = 100  $\mu$ m.



215 Tabela 2. Efeito do estresse salino em curto prazo na espessura da lâmina foliar (da epiderme, do parênquima  
 216 paliçádico, do parênquima lacunoso e da área dos espaços de ar no mesofilo) de folhas de *Jatropha curcas* em três  
 217 tempos: antes do estresse, no máximo estresse e na recuperação.

Tempo de estresse	Espessura da epiderme ( $\mu\text{m}$ )		Espessura do mesofilo ( $\mu\text{m}$ )		Espaço de ar
	Adaxial	Abaxial	Parênquima paliçádico	Parênquima lacunoso	Total
<b>Antes do estresse</b>					
CNPAE183	33,8 $\pm$ 1,3 Aa	22,5 $\pm$ 0,9 Aa	61,0 $\pm$ 1,0 Ab	93,9 $\pm$ 3,2 Ab	22,5 $\pm$ 1,1 Aa
JCAL171	33,5 $\pm$ 1,0 Aa	22,8 $\pm$ 0,6 Aa	59,7 $\pm$ 1,2 Ac	85,0 $\pm$ 1,5 Ab	15,8 $\pm$ 0,8 Bb
CNPAE218	34,2 $\pm$ 1,2 Aa	20,9 $\pm$ 0,9 Aa	61,1 $\pm$ 1,1 Ab	92,8 $\pm$ 2,9 Ab	20,9 $\pm$ 1,2 Ab
<b>Máximo estresse</b>					
CNPAE183	35,2 $\pm$ 0,9 Aa	21,9 $\pm$ 1,0 Aa	65,6 $\pm$ 1,6 Aa	106,1 $\pm$ 3,2 Aa	18,3 $\pm$ 1,0 Bb
JCAL171	31,4 $\pm$ 0,9 Ba	21,0 $\pm$ 0,8 Aa	66,9 $\pm$ 1,3 Ab	100,8 $\pm$ 4,2 Ab	23,5 $\pm$ 1,7 Aa
CNPAE218	36,0 $\pm$ 1,2 Aa	22,9 $\pm$ 0,6 Aa	64,8 $\pm$ 0,8 Aa	112,0 $\pm$ 6,0 Aa	25,0 $\pm$ 1,2 Aa
<b>Recuperação</b>					
CNPAE183	32,5 $\pm$ 0,5 Aa	21,0 $\pm$ 0,7 Aa	60,8 $\pm$ 1,1 Cb	87,7 $\pm$ 2,5 Bb	22,7 $\pm$ 1,3 Aa
JCAL171	31,4 $\pm$ 1,1 Aa	20,8 $\pm$ 0,7 Aa	70,8 $\pm$ 1,4 Aa	110,3 $\pm$ 4,4 Aa	17,4 $\pm$ 1,3 Bb
CNPAE218	30,7 $\pm$ 0,9 Ab	17,3 $\pm$ 0,7 Bb	65,3 $\pm$ 1,6 Ba	108,0 $\pm$ 3,8 Aa	21,2 $\pm$ 1,0 Ab

218 Diferentes letras maiúsculas representam diferenças significativas entre os genótipos no mesmo tempo. Diferentes letras minúsculas dentro da  
 219 coluna mostram diferenças significativas do mesmo genótipo nos diferentes tempos. Os valores mostrados na tabela são as médias de cada  
 220 variável seguido dos seus respectivos erros padrão (n = 4).

## 221 Características estomáticas dos genótipos

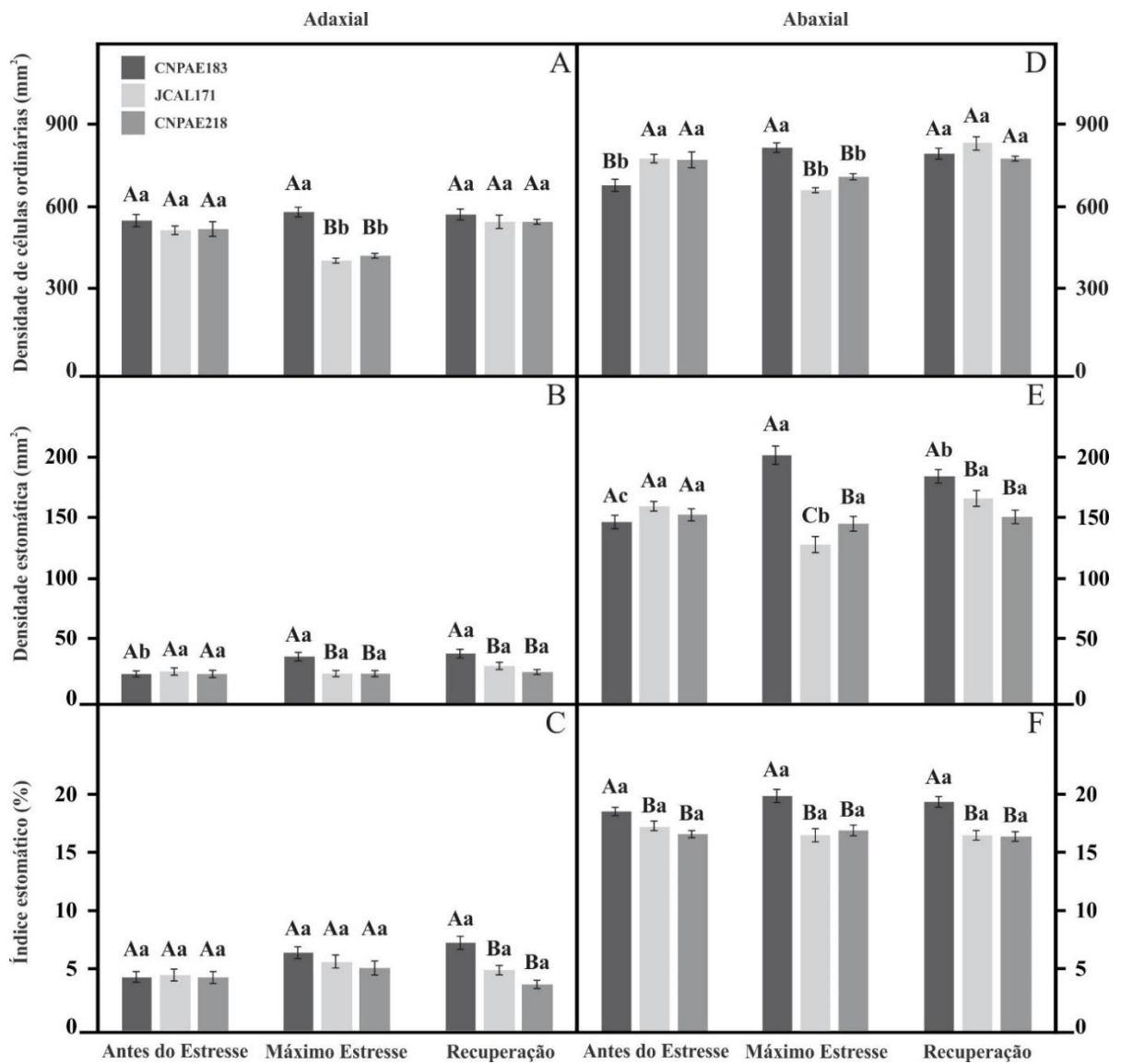
222 A folha de pinhão-manso é anfiestomática com estômatos predominantemente  
 223 paracíticos, distribuídos pela epiderme (Figuras 2, 4 e 5). Independente do genótipo avaliado, a  
 224 superfície adaxial possui uma densidade estomática significativamente inferior do que a  
 225 observada na superfície abaxial (Figura 4 e 5). Ademais, os estômatos registrados na superfície  
 226 abaxial se encontram numa distribuição uniforme ao longo da superfície, enquanto que na face  
 227 adaxial eles estão concentrados nas regiões próximas às nervuras.

228 A densidade de células ordinárias (DCO) na face adaxial do genótipo CNPAE183 não  
 229 sofreu variação significativa com relação ao estresse salino, contudo, os genótipos JCAL171 e  
 230 CNPAE218 sofreram uma redução na DCO, respectivamente, de 21% e de 18%, sendo que na  
 231 recuperação, os valores voltaram às médias encontradas no período anterior ao estresse. Na face  
 232 abaxial, a DCO de CNPAE183 sofreu um aumento de cerca de 17% do período anterior ao  
 233 estresse para o momento de máximo estresse, sendo que esta média permaneceu na recuperação.  
 234 Os outros dois genótipos apresentaram comportamento semelhante ao observado na face  
 235 adaxial, reduzindo a DCO em cerca de 14% para JCAL171 e 8% para CNPAE218. em resposta  
 236 ao choque salino, sendo que na recuperação os valores voltaram às médias encontradas no  
 237 período anterior ao estresse, 846,2  $\pm$  30,5 mm<sup>2</sup> e 788,1  $\pm$  7,0 mm<sup>2</sup>, respectivamente para  
 238 JCAL171 e CNPAE218.

239 A densidade estomática da superfície adaxial verificada no genótipo CNPAE183  
 240 aumentou 56,3% no máximo estresse, elevação esta que também foi verificada nas plantas

241 recuperadas (5,6%). Nos demais genótipos não se verificou variação significativa com relação  
242 ao estresse salino. A densidade estomática na superfície abaxial do genótipo CNPAE183 seguiu  
243 o mesmo comportamento daquele descrito para a superfície adaxial, exceto que na recuperação  
244 a densidade estomática foi levemente menor do que no máximo estresse, embora maior do  
245 apresentado antes da aplicação do NaCl. O genótipo JCAL171 apresentou uma forte redução  
246 (20,2%) na densidade estomática no máximo estresse, valores estes que prontamente se  
247 elevaram (28,9%) na recuperação. O genótipo CNPAE218 não mostrou variação significativa  
248 na densidade estomática, apresentando uma média de  $150,0 \pm 5,4$  estômatos  $\text{mm}^{-2}$ .

249 O índice estomático da face adaxial apresentou uma variação dependente do genótipo,  
250 uma vez que não se verificou alteração significativa nos genótipos JCAL171 e CNPAE218,  
251 enquanto que CNPAE183 apresentou uma elevação de 45,5% no máximo estresse em  
252 comparação com o avaliado antes do estresse, sendo que essa tendência de elevação  
253 permaneceu na recuperação, aumentando 14,1% em relação ao máximo estresse. Na face  
254 abaxial, o índice estomático não variou em função do tempo de estresse, com o genótipo  
255 CNPAE183 apresentando os maiores valores, quando comparado com os demais genótipos.



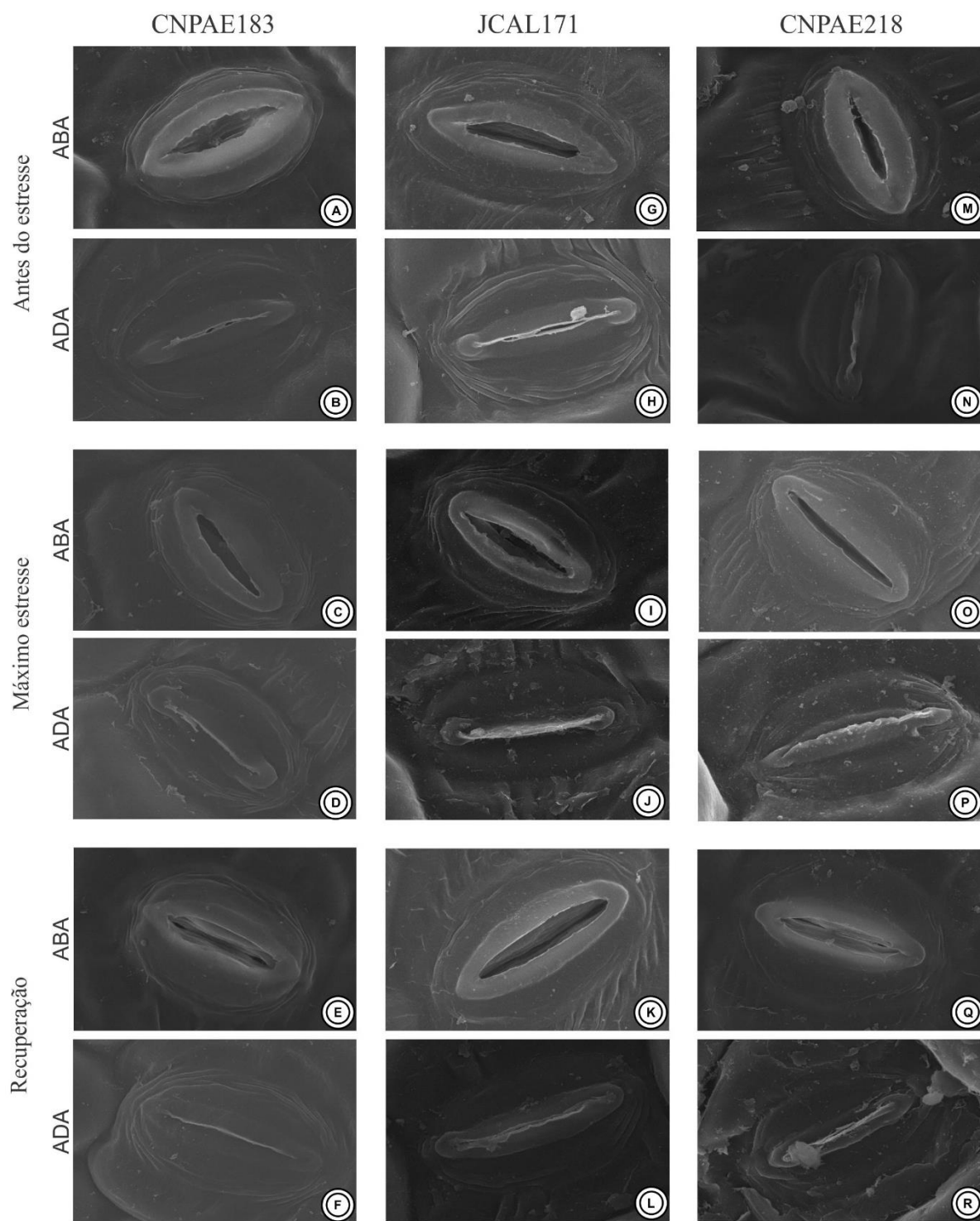
256  
 257 Figura 3. Densidade de células ordinárias (A, D), densidade estomática (B, E) e índice estomático (C, F), conforme  
 258 medido na superfície adaxial (A, B, C) e abaxial (D, E, F) da epiderme de folhas jovens de três genótipos de  
 259 *Jatropha curcas* (CNPAE183, JCAL171 e CNPAE218), em três tempos: antes do estresse, no máximo estresse e  
 260 na recuperação. Diferentes letras maiúsculas representam diferenças significativas entre os genótipos no mesmo  
 261 tempo. Diferentes letras minúsculas mostram diferenças significativas do mesmo genótipo nos diferentes tempos.  
 262 Os valores são as médias de cada variável com seus respectivos erros padrão (n = 4).  
 263

264 Com relação ao perímetro dos estômatos da face adaxial, não foram encontradas  
 265 diferenças entre os genótipos, nem em resposta ao sal (Tabela 3). Entretanto, na face abaxial, o  
 266 genótipo CNPAE183 apresentou células estomáticas 15% menores do que JCAL171 e  
 267 CNPAE218 (Figura 4, Tabela 3). A área do poro estomático na face adaxial sofreu uma  
 268 considerável redução na sua abertura com o estresse salino, tendo CNPAE183 reduzido 72%,  
 269 enquanto JCAL171 reduziu 67% e o genótipo CNPAE218 reduziu 54%. Na face abaxial, não  
 270 houve diferenças significativas entre os genótipos e nem entre os tempos de estresse (Figura  
 271 5, Tabela 3).

272 Tabela 3. Efeito do estresse salino em curto prazo na área e abertura estomática de folhas de três genótipos *Jatropha*  
 273 *curcas* em três tempos: antes do estresse, no máximo estresse e na recuperação.

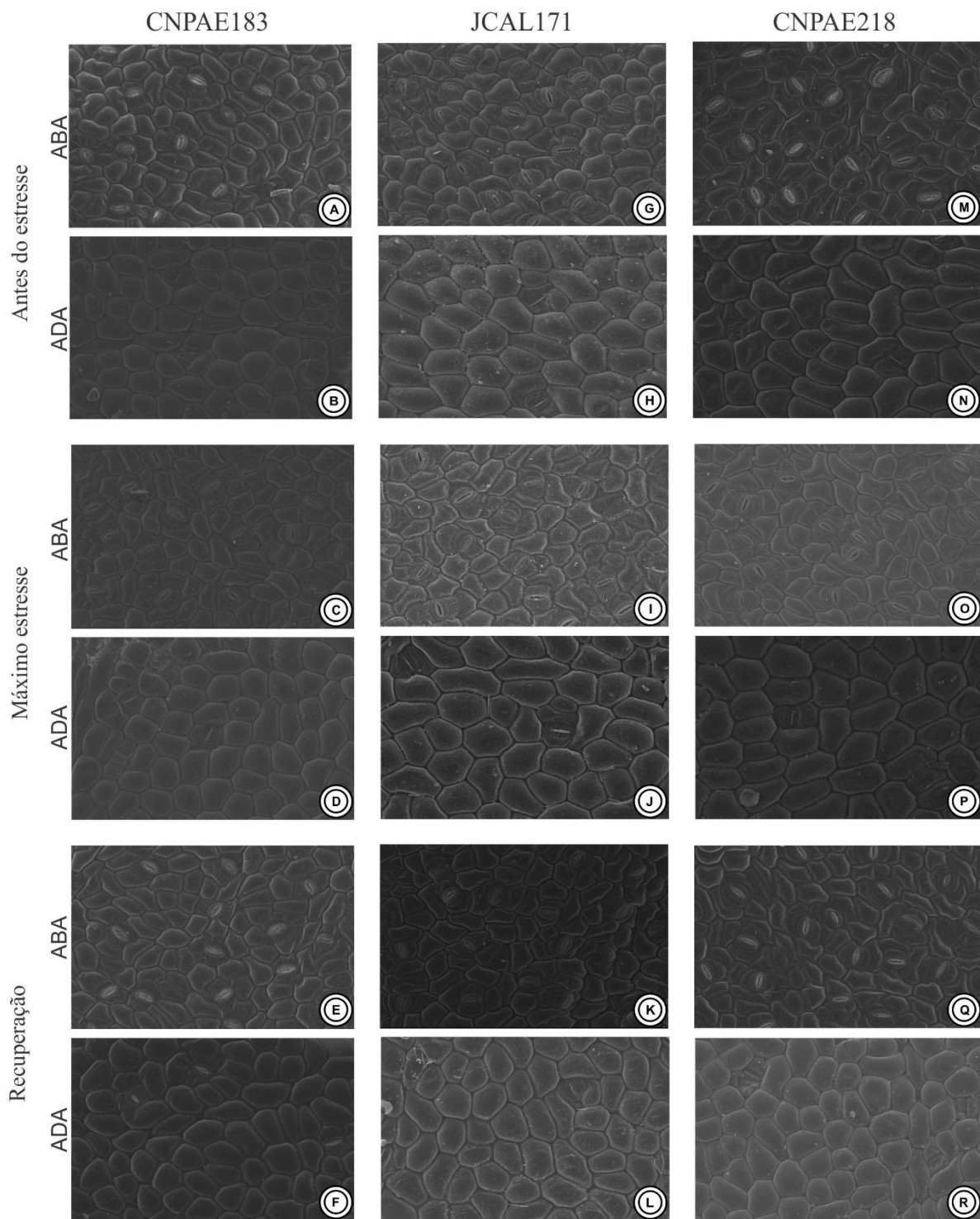
Tempo de estresse	Estômato			
	Perímetro ( $\mu\text{m}^2$ )		Abertura ( $\mu\text{m}^2$ )	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial
<b>Antes do estresse</b>				
CNPAE183	517,3 $\pm$ 12,4 Aa	453,2 $\pm$ 13,7 Ba	12,0 $\pm$ 1,5 Aa	32,1 $\pm$ 2,3 Aa
JCAL171	506,3 $\pm$ 12,6 Aa	531,1 $\pm$ 10,9 Aa	3,9 $\pm$ 1,0 Ba	36,3 $\pm$ 3,3 Aa
CNPAE218	498,2 $\pm$ 12,4 Aa	539,6 $\pm$ 19,3 Aa	9,1 $\pm$ 2,9 Aa	39,9 $\pm$ 3,7 Aa
<b>Máximo estresse</b>				
CNPAE183	501,1 $\pm$ 9,2 Aa	469,4 $\pm$ 7,1 Ba	3,4 $\pm$ 0,9 Ab	32,5 $\pm$ 3,2 Aa
JCAL171	513,1 $\pm$ 10,6 Aa	577,3 $\pm$ 15,8 Aa	1,3 $\pm$ 0,4 Bb	37,5 $\pm$ 2,6 Aa
CNPAE218	533,3 $\pm$ 14,0 Aa	553,7 $\pm$ 13,8 Aa	4,2 $\pm$ 1,7 Ab	37,2 $\pm$ 2,9 Aa
<b>Recuperação</b>				
CNPAE183	511,4 $\pm$ 13,5 Aa	477,7 $\pm$ 9,9 Ba	11,9 $\pm$ 2,6 Aa	34,3 $\pm$ 2,4 Aa
JCAL171	509,5 $\pm$ 11,3 Aa	558,9 $\pm$ 16,0 Aa	3,3 $\pm$ 1,3 Ba	34,6 $\pm$ 3,8 Aa
CNPAE218	510,2 $\pm$ 18,4 Aa	521,4 $\pm$ 10,0Aa	7,0 $\pm$ 2,4 Aa	34,2 $\pm$ 2,3 Aa

274 Diferentes letras maiúsculas representam diferenças significativas entre os genótipos no mesmo tempo. Diferentes letras minúsculas dentro da  
 275 coluna mostram diferenças significativas do mesmo genótipo nos diferentes tempos. Os valores mostrados na tabela são as médias de cada  
 276 variável seguido dos seus respectivos erros padrão. n = 4.



277

278 Figura 4. Estômatos dos três genótipos de *Jatropha curcas*, (CNPAE183 (A-F); JCAL171 (G-L) e CNPAE218  
 279 (M-R)), observados em três tempos (Antes do estresse (A, B, G, H, M e N); no Máximo estresse (750mM de NaCl)  
 280 (C, D, I, J, O e P) e na Recuperação (E, F, K, L, Q e R)). (Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV) (Barra =  
 281 10 μm).



282

283

284

285

286

287

Figura 5. Epiderme foliar dos três genótipos de *Jatropha curcas* (CNPAE183 (A-F); JCAL171 (G-L) e CNPAE218 (M-R)), observados em três tempos (Antes do estresse (A, B, G, H, M e N); no Máximo estresse (750mM de NaCl) (C, D, I, J, O e P) e na Recuperação (E, F, K, L, Q e R)). (Microscopia Eletrônica de Varredura- MEV). Barra = 100  $\mu$ m.

## 288 DISCUSSÃO

289 Com os resultados obtidos foi possível verificar que as plantas de *J. curcas* apresentaram  
290 uma redução no crescimento e desenvolvimento, mediante choque salino. Esta é uma resposta  
291 predominante em diversas espécies expostas à salinidade, uma vez que a presença de sal causa  
292 a redução da disponibilidade hídrica, afetando o desempenho do vegetal, pois interfere no  
293 balanço iônico das células, causando danos moleculares, lesões permanentes e morte celular  
294 (Zhu 2001; Yu *et al.* 2012; Sarabi *et al.* 2017), sendo a abscisão foliar e a redução da abertura  
295 estomática, estratégias da planta para diminuir a perda de água (Kozlowski and Pallardy 2002;  
296 Fini *et al.* 2013).

297 Neste trabalho, verificou-se que a condição salina induziu um aumento significativo na  
298 espessura da lâmina foliar dos genótipos de *J. curcas*, resultados que corroboram com dados  
299 anteriormente apresentados na literatura para outras espécies (Acosta-Motos *et al.* 2017;  
300 Rouphael *et al.* 2017; Gonçalves *et al.* 2018). Estas modificações foliares, principalmente sob  
301 restrição na abertura estomática, podem facilitar a difusão do CO<sub>2</sub> até os cloroplastos (Acosta-  
302 Motos *et al.* 2015). Nesse sentido, dentre os genótipos avaliados neste trabalho, destaca-se o  
303 CNPAE183, cujo acréscimo na espessura do mesofilo foi acompanhado pela redução dos  
304 espaços intercelulares, o que pode constituir uma estratégia para favorecer o controle das trocas  
305 gasosas e da difusão do CO<sub>2</sub> através do mesofilo (Rouphael *et al.* 2017). Esta variação,  
306 observada num prazo relativamente curto, pode ser explicado pelo aumento da suculência  
307 foliar, que está associada ao acúmulo de solutos osmoticamente ativos para manutenção da  
308 pressão do turgor celular, diluindo a concentração de sais no mesofilo e minimizando os efeitos  
309 tóxicos da acumulação excessiva de íons (Maggio *et al.* 2000; Debez *et al.* 2006).

310 Durante todo o experimento, foi observado a manutenção dos cristais de oxalato cálcio  
311 nas folhas de todos os genótipos de pinhão-manso sob choque salino. Resultado que diverge de  
312 Melo *et al.* (2011), o qual descreve não haver a presença de drusas no mesofilo de *J. curcas*  
313 submetida à salinidade. A manutenção das drusas nas plantas sob condição salina, pode ser  
314 explicada pela curta duração de exposição ao sal ou pela presença da solução nutritiva acrescida  
315 de NaCl, utilizada no presente trabalho.

316 Estudos recentes indicam que estes cristais de oxalato de cálcio, quando metabolizados,  
317 podem suprir a planta com uma fonte extra de cálcio e carbono (Franceschi and Nakata 2005;  
318 Tooulakou *et al.* 2016), elementos fundamentais durante o estresse abiótico, sendo o cálcio um  
319 importante nutriente para o pleno desenvolvimento da planta e estabilização das membranas  
320 celulares (White and Broadley 2003; Kader and Lindberg 2010), enquanto que uma fonte extra  
321 de carbono poderia manter a fotossíntese por um determinado período, mesmo sob condições  
322 de elevado estresse salino e redução da abertura estomática (Tooulakou *et al.* 2016). Cumpre

323 ressaltar aqui que, o estresse salino levou a uma forte redução na abertura estomática de todos  
324 os genótipos descritos neste estudo.

325 A capacidade da planta suportar um estresse abiótico é um complexo processo que  
326 envolve diferentes fatores, como o estágio fenológico da planta, características genéticas,  
327 ambientais, concentração salina e o tempo de exposição ao estresse (Miner *et al.* 2005; Munns  
328 and Tester 2008). As diferenças genéticas intraespecíficas possuem um importante potencial  
329 para seleção de mecanismos de enfrentamento dos mais diversos estímulos ambientais, como  
330 estresse salino e o déficit hídrico (Gutschick and BassiriRad 2003; Hamrick 2004). Essas  
331 variações fenotípicas podem estar relacionadas, entre outras coisas, em adaptações  
332 morfoanatômicas foliares que otimizem os mecanismos de eficiência do uso da água (Zhang *et*  
333 *al.* 1993; Comstock 2000), como variações no tamanho e na densidade estomática (Mitton *et*  
334 *al.* 1998).

335 Mudanças no tamanho e na distribuição dos estômatos de *J. curcas* foram observados por  
336 (Hsie *et al.* 2015), que comparou folhas dessa espécie durante as estações seca e chuvosa.  
337 Segundo esses autores, na estação seca, as folhas apresentavam uma menor área foliar e maior  
338 densidade estomática, quando comparada com a estação chuvosa. No presente estudo, os  
339 diferentes genótipos de *J. curcas*, avaliados quanto à ultraestrutura epidérmica, notou-se que o  
340 genótipo CNPAE183 apresentou células estomáticas menores, além de maior índice  
341 estomático, quando comparado com os genótipos JCAL171 e CNPAE218. Estômatos menores  
342 apresentam características dinâmicas mais rápidas (Drake *et al.* 2013), indicando um maior  
343 controle da abertura do ostíolo, fato que promove uma abertura/fechamento estomático mesmo  
344 com pequenas variações nas condições fisiológicas. Sendo assim, células estomáticas mais  
345 responsivas contribuem para uma otimização no mecanismo de eficiência do uso da água e,  
346 quando associado a uma maior densidade estomática, podem promover um aumento na  
347 capacidade fotossintética e redução dos efeitos do estresse salino.

348 Desta forma, as características ultraestruturais epidérmicas trazem importantes  
349 informações a respeito dos diferentes mecanismos de tolerância ao estresse, tornando-se uma  
350 ferramenta na seleção de genótipos elites com adaptações morfofisiológicas ao estresse  
351 (Quarrie and Jones 1979; Farquhar and Richards 1984; Gilbert *et al.* 2011; Drake *et al.* 2013).  
352 Diante do exposto, o genótipo CNPAE183 apresenta indícios morfológicos e ultraestruturais  
353 que pode ser considerado como um genótipo promissor devido, principalmente, maior área  
354 foliar e controle do mecanismo estomático. Dessa maneira, é possível indicar esse genótipo  
355 como promissor para futuros estudos de melhoramento genético, na busca de genótipos elite  
356 tolerantes à salinidade.



357 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 358 Achten WM, Mathijs E, Verchot L, Singh VP, Aerts R, Muys B (2007) *Jatropha* biodiesel  
359 fueling sustainability? *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* **1**, 283–291.  
360 doi:10.1002/bbb.39.
- 361 Acosta-Motos JR, Diaz-Vivancos P, Álvarez S, Fernández-García N, Sánchez-Blanco MJ,  
362 Hernández JA (2015) NaCl-induced physiological and biochemical adaptative  
363 mechanisms in the ornamental *Myrtus communis* L. plants. *Journal of Plant Physiology*  
364 **183**, 41–51. doi:10.1016/j.jplph.2015.05.005.
- 365 Acosta-Motos J, Ortuño M, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco M,  
366 Hernandez J (2017) Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy* **7**,  
367 18. doi:10.3390/agronomy7010018.
- 368 Albuquerque N, García-Almodóvar RC, Valverde JM, Burgos L, Martínez-Romero D (2017)  
369 Characterization of *Jatropha curcas* accessions based in plant growth traits and oil quality.  
370 *Industrial Crops and Products* **109**, 693–698. doi:10.1016/j.indcrop.2017.09.019.
- 371 Alencar NLM, Gadelha CG, Gallão MI, Dolder MAH, Prisco JT, Gomes-Filho E (2015)  
372 Ultrastructural and biochemical changes induced by salt stress in *Jatropha curcas* seeds  
373 during germination and seedling development. *Functional Plant Biology* **42**, 865.  
374 doi:10.1071/FP15019.
- 375 Allakhverdiev SI, Sakamoto A, Nishiyama Y, Murata N (2000) Inactivation of Photosystems I  
376 and II in Response to Osmotic Stress in *Synechococcus*. Contribution of Water Channels.  
377 *Plant Physiology* **122**, 1201–1208. doi:10.1104/pp.122.4.1201.
- 378 Arroyo BJ, Orozco AJ (2016) Agribusiness potential use of *Jatropha curcas* in the world: A  
379 review. ‘Promising Futur. *Jatropha curcas* Propr. potential Appl. Hauppauge’. (Eds MR  
380 Segura-Campos, D Betancur-Ancona) pp. 199–213. (Nova Science Publishers: New York)
- 381 Barros M de FC, Fontes MPF, Alvarez V. VH, Ruiz HA (2004) Recuperação de solos afetados  
382 por sais pela aplicação de gesso de jazida e calcário no Nordeste do Brasil. *Revista*  
383 *Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* **8**, 59–64. doi:10.1590/S1415-  
384 43662004000100009.
- 385 Behera SK, Srivastava P, Tripathi R, Singh JP, Singh N (2009) Evaluation of plant performance  
386 of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass – A case  
387 study. *Biomass and Bioenergy* **34**, 30–41. doi:10.1016/j.biombioe.2009.09.008.
- 388 Campos MLO, Hsie BS, Granja JA de A, Correia RM, Almeida-Cortez JS de, Pompelli MF  
389 (2012) Photosynthesis and antioxidant activity in *Jatropha curcas* L. under salt stress.  
390 *Brazilian Journal of Plant Physiology* **24**, 55–67. doi:10.1590/S1677-

- 391 04202012000100008.
- 392 Comstock JP (2000) Variation in hydraulic architecture and gas-exchange in two desert sub-  
393 shrubs, *Hymenoclea salsola* (T. & G.) and *Ambrosia dumosa* (Payne). *Oecologia* **125**,  
394 1–10. doi:10.1007/PL00008879.
- 395 Contran N, Chessa L, Lubino M, Bellavite D, Roggero PP, Enne G (2013) State-of-the-art of  
396 the *Jatropha curcas* productive chain: From sowing to biodiesel and by-products.  
397 *Industrial Crops and Products* **42**, 202–215. doi:10.1016/J.INDCROP.2012.05.037.
- 398 Debez A, Saadaoui D, Ramani B, Ouerghia Z, Koyro H-W, Huchzermeyer B, Abdelly C (2006)  
399 Leaf H<sup>+</sup>-ATPase activity and photosynthetic capacity of *Cakile maritima* under increasing  
400 salinity. *Environmental and Experimental Botany* **57**, 285–295.  
401 doi:10.1016/J.ENVEXPBOT.2005.06.009.
- 402 Díaz-López L, Gimeno V, Lidón V, Simón I, Martínez V, García-Sánchez F (2012) The  
403 tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological analysis. *Plant*  
404 *Physiology and Biochemistry* **54**, 34–42. doi:10.1016/j.plaphy.2012.02.005.
- 405 Díaz-López L, Gimeno V, Simón I, Martínez V, Rodríguez-Ortega WM, García-Sánchez F  
406 (2012) *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought  
407 conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. *Agricultural Water*  
408 *Management* **105**, 48–56. doi:10.1016/j.agwat.2012.01.001.
- 409 Divakara BN, Upadhyaya HD, Wani SP, Gowda CLL (2010) Biology and genetic improvement  
410 of *Jatropha curcas* L.: A review. *Applied Energy* **87**, 732–742.  
411 doi:10.1016/j.apenergy.2009.07.013.
- 412 Drake PL, Froend RH, Franks PJ (2013) Smaller, faster stomata: scaling of stomatal size, rate  
413 of response, and stomatal conductance. *Journal of Experimental Botany* **64**, 495–505.  
414 doi:10.1093/jxb/ers347.
- 415 Elhag AZ, Gafar M (2014) Effect of Sodium Chloride on Growth of *Jatropha* (*Jatropha curcas*  
416 L.) Young Transplants. *Universal Journal of Plant Science* **2**, 19–22.  
417 doi:10.13189/ujps.2014.020103.
- 418 Epstein E (1972) ‘Mineral nutrition of plants: principles and perspectives.’ (John Wiley & Sons:  
419 New York)
- 420 Farquhar G, Richards R (1984) Isotopic Composition of Plant Carbon Correlates With Water-  
421 Use Efficiency of Wheat Genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology* **11**, 539.  
422 doi:10.1071/PP9840539.
- 423 Fini A, Bellasio C, Pollastri S, Tattini M, Ferrini F (2013) Water relations, growth, and leaf gas  
424 exchange as affected by water stress in *Jatropha curcas*. *Journal of Arid Environments* **89**,

- 425 21–29. doi:10.1016/j.jaridenv.2012.10.009.
- 426 Franceschi VR, Nakata PA (2005) Calcium Oxalate in Plants: Formation and Function. *Annu*  
 427 *Rev Plant Biol* **56**, 41–71. doi:10.1146/.
- 428 Garcia-Almodovar C, Gimeno V, Nieves M, Diaz-Lopez L, Simon I, Garcia-Sanchez F (2014)  
 429 Improving the tolerance of *Jatropha curcas* L. plants to abiotic stresses. *CAB Reviews:*  
 430 *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* **9**,  
 431 doi:10.1079/PAVSNNR20140004.
- 432 Gilbert ME, Zwieniecki MA, Holbrook NM (2011) Independent variation in photosynthetic  
 433 capacity and stomatal conductance leads to differences in intrinsic water use efficiency in  
 434 11 soybean genotypes before and during mild drought. *Journal of Experimental Botany*  
 435 **62**, 2875–2887. doi:10.1093/jxb/erq461.
- 436 Gonçalves ZS, Lima LKS, Soares TL, Abreu EFM, Barbosa C de J, Cerqueira-Silva CBM,  
 437 Jesus ON de, Oliveira EJ de (2018) Identification of *Passiflora* spp. genotypes resistant to  
 438 Cowpea aphid-borne mosaic virus and leaf anatomical response under controlled  
 439 conditions. *Scientia Horticulturae* **231**, 166–178. doi:10.1016/j.scienta.2017.12.008.
- 440 Grativol C, da Fonseca Lira-Medeiros C, Hemerly AS, Ferreira PCG (2011) High efficiency  
 441 and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic  
 442 diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. *Molecular Biology Reports*  
 443 **38**, 4245–4256. doi:10.1007/s11033-010-0547-7.
- 444 Gutschick VP, BassiriRad H (2003) Extreme events as shaping physiology, ecology, and  
 445 evolution of plants: toward a unified definition and evaluation of their consequences. *New*  
 446 *Phytologist* **160**, 21–42. doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00866.x.
- 447 Hamrick J. (2004) Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecology*  
 448 *and Management* **197**, 323–335. doi:10.1016/J.FORECO.2004.05.023.
- 449 Hsie BS, Mendes KR, Antunes WC, Endres L, Campos MLO, Souza FC, Santos ND, Singh B,  
 450 Arruda ECP, Pompelli MF (2015) *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) modulates stomatal  
 451 traits in response to leaf-to-air vapor pressure deficit. *Biomass and Bioenergy* **81**, 273–  
 452 281. doi:10.1016/j.biombioe.2015.07.014.
- 453 Johansen DA. (1940) ‘Plant microtechnique.’ (McGraw-Hill Book Company: London)
- 454 Kader MA, Lindberg S (2010) Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity  
 455 stress. *Plant Signaling & Behavior* **53**, 233–238.
- 456 Kao W-Y, Tsai T-T, Tsai H-C, Shih C-N (2006) Response of three Glycine species to salt stress.  
 457 *Environmental and Experimental Botany* **56**, 120–125.  
 458 doi:doi:10.1016/j.envexpbot.2005.01.009.

- 459 Karnovsky MJ (1965) A Formaldehyde-Glutaraldehyde Fixative of High Osmolality for Use in  
460 Electron Microscopy (PDF Download Available). *The Journal of Cell Biology* **27**, 137–  
461 138.
- 462 Kozłowski TT, Pallardy SG (2002) Acclimation and adaptive responses of woody plants to  
463 environmental stresses. *The Botanical Review* **68**, 270–334. doi:10.1663/0006-  
464 8101(2002)068[0270:aaarow]2.0.co;2.
- 465 Kumar A, Sharma S (2008) An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses  
466 (*Jatropha curcas* L.): A review. *Industrial Crops and Products* **28**, 1–10.  
467 doi:10.1016/J.INDCROP.2008.01.001.
- 468 Lacerda CF, Assis Júnior JO, Filho LCAL, De Oliveira TS, Guimarães FVA, Gomes-Filho E,  
469 Prisco JT, Bezerra MA, Lacerda CF (2006) Morpho-physiological responses of cowpea  
470 leaves to salt stress. *Braz J Plant Physiol* **18**,.
- 471 Laviola BG, Dos Anjos e Silva SD, Juhász ACP, Rocha RB, De Oliveira RJP, Albrecht JC,  
472 Alves AA, Rosado TB (2014) Desempenho agrônômico e ganho genético pela seleção de  
473 pinhão-manso em três regiões do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **49**, 356–363.  
474 doi:10.1590/S0100-204X2014000500005.
- 475 Longstreth DJ, Nobel PS (1979) Salinity Effects on Leaf Anatomy CONSEQUENCES FOR  
476 PHOTOSYNTHESIS'. *Plant Physiol* **63**, 700–703.
- 477 Maggio, Reddy, Joly (2000) Leaf gas exchange and solute accumulation in the halophyte  
478 *Salvadora persica* grown at moderate salinity. *Environmental and experimental botany* **44**,  
479 31–38. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10927126>.
- 480 Mardhiah HH, Ong HC, Masjuki HH, Lim S, Pang YL (2017) Investigation of carbon-based  
481 solid acid catalyst from *Jatropha curcas* biomass in biodiesel production. *Energy*  
482 *Conversion and Management* **144**, 10–17. doi:10.1016/j.enconman.2017.04.038.
- 483 Melo GM de, Cunha PC da, Pereira JAF, Willadino L, Ulisses C (2011) Alterações anatômicas  
484 em folhas e raízes de *Jatropha curcas* L. cultivadas sob estresse salino. *Revista Ciência*  
485 *Agronômica* **42**, 670–674. doi:10.1590/S1806-66902011000300013.
- 486 Mendes KR, Granja JAA, Ometto JP, Antonino ACD, Menezes RSC, Pereira EC, Pompelli MF  
487 (2017) *Croton blanchetianus* modulates its morphophysiological responses to tolerate  
488 drought in a tropical dry forest. *Functional Plant Biology* **44**, 1039. doi:10.1071/FP17098.
- 489 Miner BG, Sultan SE, Morgan SG, Padilla DK, Relyea RA (2005) Ecological consequences of  
490 phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* **20**, 685–692.  
491 doi:10.1016/J.TREE.2005.08.002.
- 492 Mitton JB, Grant MC, Yoshino AM (1998) Variation in allozymes and stomatal size in pinyon

- 493 (Pinus edulis, Pinaceae), associated with soil moisture. *American journal of botany* **85**,  
494 1262–5.
- 495 Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annu Rev Plant Biol* **59**, 651–  
496 81. doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
- 497 Niu G, Rodriguez D, Mendoza M, Jifon J, Ganjegunte G (2012) Responses of *Jatropha curcas*  
498 to Salt and Drought Stresses. *International Journal of Agronomy* **2012**, 1–7.  
499 doi:10.1155/2012/632026.
- 500 Papazoglou EG (2014) *Jatropha curcas* L: a multipurpose energy crop. *Fresenius*  
501 *Environmental Bulletin* **23**, 2695–2699.
- 502 Pecina-Quintero V, Anaya-López JL, Zamarripa-Colmenero A, Núñez-Colín CA, Montes-  
503 García N, Solís-Bonilla JL, Jiménez-Becerril MF (2014) Genetic structure of *Jatropha*  
504 *curcas* L. in Mexico and probable centre of origin. *Biomass and Bioenergy* **60**, 147–155.  
505 doi:10.1016/j.biombioe.2013.11.005.
- 506 Pompelli MF, Barata-Luís R, Vitorino HS, Gonçalves ER, Rolim E V., Santos MG, Almeida-  
507 Cortez JS, Ferreira VM, Lemos EE, Endres L (2010) Photosynthesis, photoprotection and  
508 antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. *Biomass and*  
509 *Bioenergy* **34**, 1207–1215. doi:10.1016/j.biombioe.2010.03.011.
- 510 Pompelli MF, De Jesús A, Orozco J, Teixeira De Oliviera M, Rafael B, Rodrigues M, Oliveira  
511 Barbosa M, Santos MG, Morais De Oliveira AF, Silva De Almeida-Cortez J (2011) Crise  
512 energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis Global energy  
513 crisis and the Brazilian role in the bio-fuels issue. *Agronomía Colombiana* **29**, 231–240.
- 514 Pompelli MF, Martins SC V., Celin EF, Ventrella MC, DaMatta FM (2010) What is the  
515 influence of ordinary epidermal cells and stomata on the leaf plasticity of coffee plants  
516 grown under full-sun and shady conditions? *Brazilian Journal of Biology* **70**, 1083–1088.  
517 doi:10.1590/S1519-69842010000500025.
- 518 Quarrie SA, Jones HG (1979) Genotypic Variation in Leaf Water Potential, Stomatal  
519 Conductance and Abscisic Acid Concentration in Spring Wheat Subjected to Artificial  
520 Drought Stress. *Annals of Botany* **44**, 323–332. doi:10.1093/oxfordjournals.aob.a085736.
- 521 Ribeiro MCC, Marques BM, Amarro FILHO J (2001) Efeito da salinidade na germinação de  
522 sementes de quatro cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.). *Revista Brasileira de*  
523 *Sementes* **23**, 281–284.
- 524 Romero-Aranda R, Moya JL, Tadeo FR, Legaz F, Primo-Millo E, Talon M (1998)  
525 Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and  
526 tolerant citrus: beneficial and detrimental effects of cations. *Plant, Cell and Environment*

- 527           **21**, 1243–1253. doi:10.1046/j.1365-3040.1998.00349.x.
- 528 Romero-Aranda R, Soria T, Cuartero J (2001) Tomato plant-water uptake and plant-water  
529 relationships under saline growth conditions. *Plant Science* **160**, 265–272.  
530 doi:10.1016/S0168-9452(00)00388-5.
- 531 De Rossi A, Vescio R, Russo D, Macrì G (2016) Potential Use of *Jatropha curcas* L. on  
532 Marginal Lands of Southern Italy. *Procedia - Social and Behavioral Sciences* **223**, 770–  
533 775. doi:10.1016/j.sbspro.2016.05.267.
- 534 Rouphael Y, De Micco V, Arena C, Raimondi G, Colla G, De Pascale S (2017) Effect of  
535 *Ecklonia maxima* seaweed extract on yield, mineral composition, gas exchange, and leaf  
536 anatomy of zucchini squash grown under saline conditions. *J Appl Phycol* **29**, 459–470.  
537 doi:10.1007/s10811-016-0937-x.
- 538 Salisbury EJ (1928) On the Causes and Ecological Significance of Stomatal Frequency, with  
539 Special Reference to the Woodland Flora. *Philosophical Transactions of the Royal Society*  
540 *B: Biological Sciences* **216**, 1–65. doi:10.1098/rstb.1928.0001.
- 541 Santos CM dos, Verissimo V, Wanderley Filho HC de L, Ferreira VM, Cavalcante PG da S,  
542 Rolim EV, Endres L (2013) Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum  
543 efficiency of photosystem II and biochemical responses of [*i*] *Jatropha curcas* [*i*] L. grown  
544 in semi-humid and semi-arid areas subject to water stress. *Industrial Crops and Products*  
545 **41**, 203–213. doi:10.1016/j.indcrop.2012.04.003.
- 546 Sarabi B, Bolandnazar S, Ghaderi N, Ghashghaie J (2017) Genotypic differences in  
547 physiological and biochemical responses to salinity stress in melon (*Cucumis melo* L.)  
548 plants: Prospects for selection of salt tolerant landraces. *Plant Physiology and*  
549 *Biochemistry* **119**, 294–311. doi:10.1016/j.plaphy.2017.09.006.
- 550 Senger E, Martin M, Dongmeza E, Montes JM (2016) Genetic variation and genotype by  
551 environment interaction in *Jatropha curcas* L. germplasm evaluated in different  
552 environments of Cameroon. *Biomass and Bioenergy* **91**, 10–16.
- 553 Senger E, Martin M, Montes JM (2015) Classification of *Jatropha curcas* L. genotypes into  
554 germplasm groups associated with the presence of phorbol esters by means of seed  
555 characteristics. *Industrial Crops and Products* **78**, 9–12.  
556 doi:10.1016/j.indcrop.2015.10.005.
- 557 Shao H-B, Chu L-Y, Jaleel CA, Zhao C-X (2008) Water-deficit stress-induced anatomical  
558 changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies* **331**, 215–225.  
559 doi:10.1016/j.crv.2008.01.002.
- 560 Silitonga AS, Hassan MH, Ong HC, Kusumo F (2017) Analysis of the performance, emission

- 561 and combustion characteristics of a turbocharged diesel engine fuelled with *Jatropha*  
562 *curcas* biodiesel-diesel blends using kernel-based extreme learning machine.  
563 *Environmental Science and Pollution Research* **24**, 25383–25405. doi:10.1007/s11356-  
564 017-0141-9.
- 565 Singh R, Pandey RM, Singh B (2013) Genetic association, divergence and variability studies  
566 for seed yield and oil content and its contributing traits in *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.).  
567 *Journal of Medicinal Plants Research* **7**, 1931–1939. doi:10.5897/JMPR12.1285.
- 568 Tester M, Davenport R (2003) Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Annals of*  
569 *Botany* **91**, 503–527. doi:10.1093/aob/mcg058.
- 570 Tooulakou G, Giannopoulos A, Nikolopoulos D, Bresta P, Dotsika E, Orkoula MG,  
571 Kontoyannis CG, Fasseas C, Liakopoulos G, Klapa MI, Karabourniotis G (2016) Alarm  
572 Photosynthesis: Calcium Oxalate Crystals as an Internal CO<sub>2</sub> Source in Plants. *Plant*  
573 *Physiology* **171**, 2577 – 2585. doi:10.1104/pp.16.00111.
- 574 Trebbi D, Papazoglou EG, Saadaoui E, Vischi M, Baldini M, Stevanato P, Cettul E, Sanzone  
575 AP, Gualdi L, Fabbri A (2015) Assessment of genetic diversity in different accessions of  
576 *Jatropha curcas*. *Industrial Crops and Products* **75**, 35–39.  
577 doi:10.1016/j.indcrop.2015.06.051.
- 578 Viégas RA, Silveira JAG da, Lima Junior AR de, Queiroz JE, Fausto MJM (2001) Effects of  
579 NaCl-salinity on growth and inorganic solute accumulation in young cashew plants.  
580 *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* **5**, 216–222. doi:10.1590/S1415-  
581 43662001000200007.
- 582 White PJ, Broadley MR (2003) Calcium in Plants. *Annals of Botany* **92**, 487±511.  
583 doi:doi:10.1093/aob/mcg164.
- 584 Yu S, Wang W, Wang B (2012) Recent Progress of Salinity Tolerance Research in Plants.  
585 *Russian Journal of Genetics* **48**, 497–505. doi:10.1134/S1022795412050225.
- 586 Zhang J, Marshall JD, Jaquish BC (1993) Genetic differentiation in carbon isotope  
587 discrimination and gas exchange in *Pseudotsuga menziesii*. *Oecologia* **93**, 80–87.  
588 doi:10.1007/BF00321195.
- 589 Zhu J-K (2001) Plant salt tolerance. *TRENDS in Plant Science* **6**, 66–71.