

## EFEITO DO ESTRESSE SALINO NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO VEGETATIVO DA CULTIVAR BRS AG (*Oriza sativa*) CULTIVADA *IN VITRO*

TATIANA ROSSATTO<sup>1</sup>; TATIANE CASARIN<sup>2</sup>; LUCIANA BICCA DODE<sup>3</sup>; LETÍCIA CARVALHO BENITEZ<sup>4</sup>; ARIANO MARTINS DE MAGALHÃES JÚNIOR<sup>5</sup>; LUCIANO DA SILVA PINTO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Mestranda - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal UFPel: [tatyrossato@hotmail.com](mailto:tatyrossato@hotmail.com)

<sup>2</sup>Mestranda - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFPel: [casarintatiane@gmail.com](mailto:casarintatiane@gmail.com)

<sup>3</sup>Professora - Graduação em Biotecnologia, CDTec, UFPel: [lucianabicca@gmail.com](mailto:lucianabicca@gmail.com)

<sup>4</sup>Pós - doutoranda Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal: [lecbenitez@gmail.com](mailto:lecbenitez@gmail.com)

<sup>5</sup>Embrapa Clima Temperado - [ariano.martins@embrapa.br](mailto:ariano.martins@embrapa.br)

<sup>6</sup>Professor - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, CDTec UFPel: [ls\\_pinto@hotmail.com](mailto:ls_pinto@hotmail.com)

### INTRODUÇÃO

A busca por soluções alternativas para o consumo do petróleo, desde a década de 1970 até hoje, bem como a preocupação com a poluição ambiental e a emissão de gases que provocam o efeito estufa na atmosfera reforçam cada vez mais a importância da produção comercial dos biocombustíveis (STICKLEN, 2008).

Devido à grande dependência de combustíveis fósseis e a possibilidade de diminuição das reservas mundiais, os biocombustíveis oferecem uma via potencial para evitar a instabilidade política global e problemas ambientais que surgem da utilização dos combustíveis fósseis (STICKLEN, 2008). A alternativa, talvez a mais viável até o momento, é o uso do etanol, que tem sua tecnologia bastante desenvolvida, sendo o Brasil maior possuidor da tecnologia de produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. Além da sacarose da cana-de-açúcar, outra fonte de carboidratos utilizada em alguns países na produção de etanol é o amido. O amido é considerado uma das fontes mais abundantes de carboidratos na natureza. O grão do arroz é rico em amido, apresentando conteúdo significativamente maior que o grão do milho (JÚNIOR et al., 2014).

Foi nesse contexto e perspectiva de utilização do arroz como matéria prima para produção de álcool de cereais e/ou na alimentação animal que a cultivar BRS AG foi desenvolvida, pelo programa de melhoramento de arroz da Embrapa. Apresenta um ciclo biológico de 126 dias, grãos grandes com alta proporção de amido, casca e alta produtividade. É resistente às principais doenças do arroz e deiscência. Produz um peso médio de 52 g, enquanto a maioria das cultivares de arroz irrigado apresenta um peso médio de 25 g. Esta linhagem representa uma nova fonte para a produção de etanol e ou rações para animais, uma vez que o tamanho do grão é duas vezes maior que comparado ao outro arroz. Observa-se que ambas as exigências econômicas e sociais do setor do arroz, como a cadeia produtiva do etanol indicam que há uma necessidade urgente de cultivares que atendam o mercado de agroenergia (JÚNIOR et al., 2014).

Devido ao interesse econômico e cujos estudos ainda são escassos para esta cultivar, objetivou-se avaliar a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de arroz, BRS AG, cultivados *in vitro* com diferentes concentrações de NaCl.

### METODOLOGIA

## Material vegetal

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Unidade de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Tecnológico e no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, pertencente ao Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, ambos da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), localizado no município de Pelotas-RS. Foram utilizadas sementes de arroz da cultivar BRS AG "Gigante" procedentes da Estação Experimental Terras Baixas (Embrapa – Clima Temperado).

## Desinfestação e Condições de cultivo

Antes de serem semeadas as sementes passaram por um processo de desinfestação em laboratório, o qual consistiu de imersão em álcool 70%, durante 3 minutos, e em solução de hipoclorito de sódio 2,5 %, durante 25 minutos, seguidas de três lavagens com água destilada, todas sob agitação constante.

Em câmara de fluxo laminar as sementes foram colocadas para germinar em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio MS com metade da concentração das fontes de sais e suplementado com 10 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg.L<sup>-1</sup> de mio-inositol e solidificado com a adição de 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar. As plântulas permaneceram em sala de crescimento durante 21 dias, com um fotoperíodo de 16 horas.

## Delineamento experimental e tratamentos

Os tratamentos foram constituídos por seis concentrações de NaCl acrescidas ao meio de cultura. As concentrações utilizadas foram 0 mM, 34 mM, 68 mM, 102 mM, 136 mM e 170 mM. Após o preparo de cada meio o pH destes foi ajustado para 5,8. Em seguida, os meios foram distribuídos nos tubos de ensaio, os quais foram fechados com algodão e alumínio e autoclavados a 121 °C, durante 20 minutos.

Para todos os tratamentos foram utilizadas quinze plântulas, cada três tubos representando uma repetição, contendo uma semente cada. O experimento foi realizado em triplicata. Para a avaliação da percentagem média de germinação de sementes cultivadas *in vitro* e submetidas a diferentes concentrações de NaCl foram realizadas duas contagens, sendo a primeira aos cinco dias e a segunda aos quatorze dias após a semeadura. O critério para classificação de sementes germinadas foi protusão da radícula. Após 21 dias, as plântulas foram retiradas dos tubos de ensaio e avaliadas quanto às médias dos seguintes caracteres: altura da parte aérea (cm), comprimento de raiz (cm), número de folhas, número de raízes (cm), massa fresca da parte aérea e do sistema radicular (g). Para as análises estatísticas e matemáticas foram utilizados o Excel, e o programa WinStat análise de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Percentagem de germinação *in vitro*

Nesse trabalho foi constatado a germinação das sementes de arroz cultivar BRS AG em todas as concentrações testadas. Ao comparar a percentagem média de germinação das sementes de arroz em relação as diferentes concentrações de NaCl na primeira e segunda contagem de germinação, verificou-se que o

incremento na concentração de NaCl afetou moderadamente a germinação inicial das sementes, onde, na primeira avaliação, realizada aos cinco dias, o menor valor,  $62 \pm 0,16\%$  foi observado no tratamento com 170 mM, o qual foi matematicamente inferior aos demais (Figura 1). Logo, os tratamentos controle e com 34 mM, 68 mM, 102 mM, 136 mM de NaCl, apresentaram percentagens de germinação de  $93 \pm 0,11\%$ ,  $98 \pm 0,04\%$ ,  $89 \pm 0,10\%$ ,  $84 \pm 0,07\%$  e  $87 \pm 0,13\%$  respectivamente, indicando que concentrações de NaCl até 136 mM não prejudicam a fase inicial de germinação. Contudo, na segunda avaliação, realizada aos quatorze dias notou-se que o potencial germinativo foi recuperado na concentração de 170 mM, chegando a um percentual de  $73 \pm 0,13\%$ , contra  $93 \pm 0,11\%$  e 100% nos tratamentos com 0 e 34 mM de NaCl, respectivamente, demonstrando que os níveis de salinidade testados não prejudicaram a germinação final das sementes da cultivar avaliada.

Resultados semelhantes foram observados para os genótipos de arroz: BRS Bojuru, BRS Talento e Cana Roxa, pertencentes ao grupo japônica e BRS Atalanta, BRS Firmeza, BRS Pelota, BRS Agrisul, BRS Querência, BRS 7 "Taim" e BRS Ligeirinho, procedentes da Estação Experimental Terras Baixas os quais foram cultivados *in vitro* em diferentes concentrações de NaCl. Demonstraram que o aumento da salinidade afetava a germinação inicial das sementes, mas as mesmas recuperavam o vigor germinativo em um período maior. Porém, para os genótipos testados, concentrações maiores que 136 mM inibiam a germinação. Nesta concentração as sementes apresentaram 26% de germinação aos cinco dias e aos quatorze dias o percentual germinativo chegou a 74%, contra 91% do controle. A concentração 204 mM de NaCl inibe fortemente a germinação de sementes de arroz, cultivadas *in vitro*, enquanto 136 mM é prejudicial na fase inicial de germinação, sendo diferente do que foi observado com a cultivar BRS AG (BENITEZ, 2008).

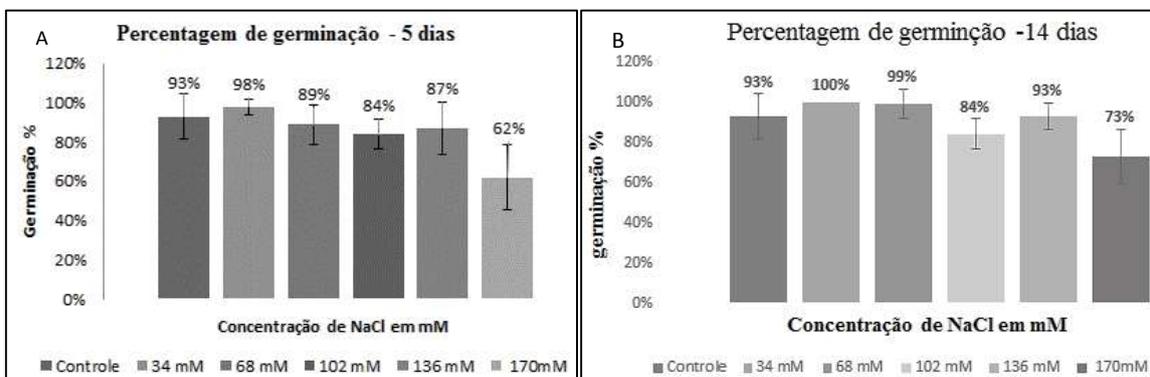


Figura 1- Percentagem de germinação do arroz apresentada em média  $\pm$  desvio padrão. Foram estabelecidos seis tratamentos com diferentes concentrações de NaCl realizados em triplicata. a) avaliação aos cinco dias. b) avaliação aos quatorze dias.

Os efeitos da salinidade podem estar relacionados tanto ao fator osmótico do sal, limitando a hidratação das sementes, quanto ao efeito tóxico do sal sobre o embrião e às células da membrana do endosperma (LIMA et al., 2004). Ainda pode ser atribuída à restrição imposta à divisão e ao alongamento celular, bem como, a mobilização das reservas indispensáveis a ocorrência do processo germinativo (BAJGUZ; HAYAT, 2009). O mesmo ocorre com o processo de germinação de sementes *in vitro* sob estresse salino, onde o excesso de NaCl retém a água presente no meio de cultura e dificulta a absorção de nutrientes, dificultando e atrasando o processo germinativo.

Baseado nos resultados referentes ao desempenho relativo BRS AG em relação aos caracteres morfológicos analisados, observou-se que para a altura média da parte aérea o controle foi melhor em relação a concentração de 136mM

e 170 mM não diferindo de 34, 68 e 102 mM. Para a variável número de folhas a concentração de 34 mM se mostrou melhor em relação as demais concentrações não diferindo apenas do 68 mM. A massa fresca média da raiz (MFR) apresentou melhor resultado em 34, 68 e 102 mM, os quais foram melhores que as demais concentrações, diferindo apenas da 170 mM. Em relação a massa seca da parte aérea (MSPR) 34 mM foi melhor que todos diferindo apenas do 170 mM. E para a variável comprimento da raiz o controle foi melhor que os demais tratamentos, diferindo apenas da concentração de 170 mM (Tabela1). As variáveis massa fresca da parte aérea (MFPR), massa seca da raiz (MSR) e número de raízes não apresentaram diferença estatística. Resultados semelhantes foram observado por Benitez et al (2010), porém na concentração 136 mM de NaCl observaram danos causados pelo estresse salino no crescimento dos genótipos estudados enquanto que para essa cultivar ela não foi prejudicial.

Tabela 1- Diferentes caracteres morfológicos quando submetidos a diferentes concentrações de NaCl. \* significa  $p < 0,05$  houve diferença estatística. Letras diferentes representa diferença estatística.

[NaCl]	ALTURA(cm)*	Nº FOLHAS*	MFPR	MFR*	MSPR*	MSR	RAIZ (cm)*	Nº RAÍZES
<b>0 mM</b>	13,14a	4,4bc	5,09a	2,18ab	0,11ab	0,07a	4,32a	5,02a
<b>34 mM</b>	9,78ab	6,65a	7,56a	4,93a	0,20a	0,13a	2,37ab	2,28a
<b>68 mM</b>	12,51ab	5,11ab	7,62a	4,66a	0,17ab	0,13a	2,57ab	2,19a
<b>102 mM</b>	8,92abc	4,39bc	6,69a	4,57a	0,19ab	0,13a	1,70ab	2,14a
<b>136 mM</b>	7,73bc	3,52bc	3,72a	2,43ab	0,10ab	0,06a	2,18ab	1,78a
<b>170 mM</b>	4,18c	2,24c	1,89a	1,19b	0,06b	0,04a	0,61b	1,96a

## CONCLUSÕES

O arroz gigante, variedade BRS AG apresenta moderada tolerância a elevadas concentrações de sal e pode ser cultivada em áreas com até 170 mM de NaCl.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

STICKLEN M. B. Plant genetic engineering for biofuel production: towards affordable cellulosic ethanol. **Nature reviews, genetics**. V. 9, n.433-443, 2008.

JÚNIOR, A. M. M; FAGUNDES, P. R.R. FRANCO D; ANDRES, A; NUNES, C.D; PETRINI, J. A; JOSÉ MARTINS, F; MORAES, O.P; SEVERO, A. C. M; NETO, F. M. SOUZA, A.C.S. BRS AG: cultivar de arroz irrigado desenvolvida como matéria prima para produção de álcool de cereais e/ou alimentação animal. Comunicado técnico BRS AG. **Embrapa clima temperado**, Pelotas, RS, 2014.

LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 3, p. 335-340, 2004.

BAJGUZ, A. Effect of brassinosteroids on nucleic acid and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 38, n. 3, p. 209-215, 2000.

BENITEZ, L. C. **Tolerância à salinidade avaliada em genótipos de arroz, cultivados ex vitro e in vitro**. 2008. 110f Dissertação de Mestrado em Ciências (M.S), apresentada à Universidade Federal de Pelotas, Pelotas RS 2012.

BENITEZ, L. C; PETERS, J.A; BACARIN, M.A; KOPP, M.M; OLIVEIRA, A.C; JÚNIOR, A.M.M; BRAGA, E. J. B. Tolerância à salinidade avaliada em genótipos de arroz cultivados *in vitro* **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n.3, p. 330-337,2010.