

**XXIV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite**

Juiz de Fora, MG – 11 de julho de 2019

**Respostas fisiológicas do azevém anual cv. BRS Ponteio ao estresse osmótico induzido por manitol<sup>1</sup>**Leônidas Paixão Passos<sup>2,8</sup>, Isis Soares e Silva<sup>3</sup>, Lorena Costa Rosa de Souza Lima<sup>4</sup>, Andrea Mittelmann<sup>2</sup>, Paola Ramos Coutinho Reis<sup>5</sup>, Lucas Prudêncio Eiterer<sup>6</sup>, Júlio César José da Silva<sup>7</sup>

<sup>1</sup>O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil. Parte do projeto “Melhoramento de gramíneas forrageiras de clima temperado: azevém e capim-lanudo” – 02.14.03.014.00.00, liderado por Andrea Mittelmann.

<sup>2</sup>Pesquisador – Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mail: andrea.mittelmann@embrapa.br

<sup>3</sup>Graduada em Agroecologia, Instituto Federal Campus Rio Pomba. e-mail: isislivia2@gmail.com

<sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas – CES/JF, Juiz de Fora, MG. Bolsista IC da Embrapa. e-mail: lorenasouzalima@gmail.com

<sup>5</sup>Doutoranda em Química – UFJF. Bolsista da CAPES. e-mail: paolarcoutinho@gmail.com

<sup>6</sup>Graduado em Ciências Biológicas, CES/JF, Juiz de Fora, MG. e-mail: lucaseiterer@gmail.com

<sup>7</sup>Professor – Departamento de Química, UFJF. e-mail: julio.silva@uff.edu.br

<sup>8</sup>Orientador. e-mail: leonidas.passos@embrapa.br

**Resumo:** Os efeitos do choque osmótico induzido por níveis crescentes de manitol foram avaliados sobre indicadores fisiológicos do azevém anual cv. BRS Ponteio. O estresse causou decréscimos lineares na taxa transpiratória e no comprimento da parte aérea e reduções quadráticas nos pesos verdes da parte aérea e total e no peso seco da parte aérea, os quais se tornaram mais pronunciados na medida em que a osmolaridade do meio de cultivo foi diminuída. Embora as respostas em pesos verde e seco da raiz não tenham sido significativas, houve forte tendência de aumento nessas variáveis, sinalizando uma possível expansão do sistema radicular em busca de suprimento hídrico para neutralizar o processo de osmose. O teor de clorofila não foi alterado, sugerindo que o aparato fotossintético permaneceu pouco afetado pelo estresse abiótico. Conclui-se que a cv. BRS Ponteio tem alta sensibilidade ao déficit hídrico e que o manitol é um agente osmótico factível para estudos de relações hídricas com o azevém anual.

**Palavras-chave:** azevém anual, BRS Ponteio, *Lolium multiflorum*, manitol, estresse hídrico

**Physiological responses of Italian ryegrass cv. BRS Ponteio to mannitol-induced osmotic stress**

**Abstract:** The effects of osmotic stress induced by increasing levels of mannitol were evaluated on physiological indicators of Italian ryegrass cv. BRS Ponteio. Stress caused linear decreases in transpiration rate and shoot length and quadratic reductions in total and shoot fresh weight and shoot dry weight. These alterations became more pronounced as the osmolarity of the culture medium was decreased. Root fresh and dry weight did not have significant influence, but they exhibited a strong tendency of increase, a behavior that could be a consequence of an attempt by the root system to reach additional water supply in order to neutralize osmosis. Chlorophyll content was not altered, suggesting that the photosynthetic apparatus was not deeply affected by stress. It is concluded that cv. BRS Ponteio has a high sensitivity to water deficit and that mannitol is an osmotic agent feasible for studies of water relations with Italian ryegrass.

**Keywords:** BRS Ponteio, Italian ryegrass, *Lolium multiflorum*, mannitol, water stress

**Introdução**

O azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) é a espécie forrageira mais utilizada nas áreas de clima temperado brasileiras, e a cv. BRS Ponteio (Montardo & Mittelmann, 2009) tem contribuído para a sustentabilidade da produção leiteira, pela qualidade da forragem e ciclo produtivo mais longo. Recentemente, as mudanças climáticas têm causado inquietações quanto ao futuro da disponibilidade de água para os sistemas produtivos agrícolas (Beyruth, 2008), e o programa de melhoramento genético do azevém anual liderado pela Embrapa tem enfatizado o estudo das relações hídricas da espécie, com vistas à seleção para tolerância à seca. Nesse contexto, o desenvolvimento de técnicas para a triagem rápida de genótipos assume importância, pelo potencial em reduzir a duração das etapas de seleção genotípica. O manitol, por não exercer penetração na membrana celular devido à sua elevada massa molecular, tem sido usado para esse fim em várias espécies vegetais (Ghughe et al., 2010).

**XXIV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite**

Juiz de Fora, MG – 11 de julho de 2019

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de doses crescentes de manitol sobre indicadores fisiológicos do azevém anual cv. BRS Ponteio cultivada em ambiente controlado, visando verificar a aplicabilidade para a imposição de choque osmótico e obtenção de respostas em ensaios de curta duração.

**Material e Métodos**

Aos 14 dias após a germinação, plantas uniformes de azevém anual cv. BRS Ponteio, foram transferidas para câmara ambiental Biotronette modelo Mark III (LAB-LINE, Melrose Park, IL, USA), ajustada para  $28 \pm 4$  °C,  $65 \pm 5\%$  U.R., 14 h fotoperíodo e  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  PAR, em potes contendo vermiculita na parte superior e suprimento capilar da solução nutritiva de Clark (1975) em meia-força na parte inferior, na qual os tratamentos foram aplicados, conforme descritos na Tabela 1. As soluções (200 mL por pote) foram repostas semanalmente.

**Tabela 1.** Especificação dos tratamentos de choque osmótico induzido por manitol.

Tratamento	Quantidade de manitol dissolvida ( $\text{g.L}^{-1}$ )	Concentração de manitol (M)	Osmolaridade da solução nutritiva (MPa)
0,0	0	0,0	-0,02
-0,5	36	0,2	-0,50
-1,0	76	0,4	-1,00
-1,5	110	0,6	-1,50

A colheita foi feita aos 30 dias de ensaio, efetuando-se as seguintes avaliações: transpiração, comprimento da parte aérea (PA), pesos verde (PV) e seco (PS) da PA, raiz e total, e teor de clorofila. A transpiração, expressa em condutância estomática, foi medida com porômetro Delta-T modelo AP4 (Delta-T Devices, Cambridge, UK). O teor de clorofila foi determinado com medidor SPAD modelo 502 (Minolta, Osaka, Japan). O comprimento foi medido com régua de precisão Molegata modelo RM-TR (Trident, São Paulo, Brasil). A osmolaridade das soluções foi medida com osmômetro Vapro modelo 5520 (Wescor Inc., Logan, UT, USA). As pesagens foram efetuadas com balança analítica Marte-Shimadzu modelo AW220 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). A secagem das amostras foi realizada em forno de convecção THELCO modelo 130DM (Precision Scientific, Chicago, IL, USA). A moagem foi feita com moinho analítico IKA modelo A11B (IKA, Wilmington, NC, USA).

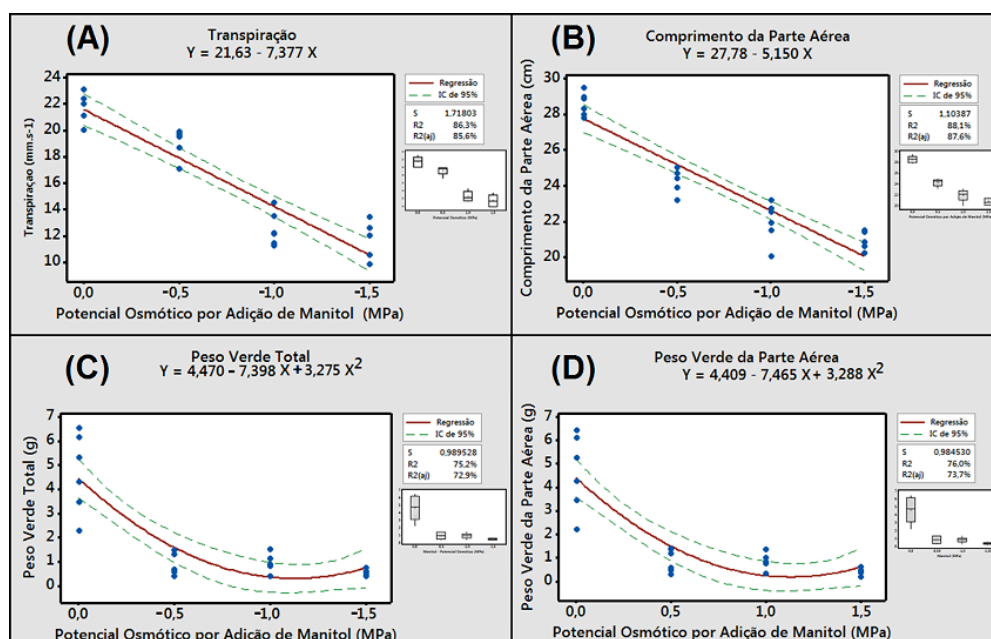
O trabalho foi conduzido no delineamento experimental inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos, seis repetições e 15 plantas/parcela, com total de 360 plantas. Os dados foram tabulados e submetidos à análise de variância com o aplicativo Statistical Analysis System, versão 9.2 (SAS Institute, 2008), no esquema de polinômios ortogonais.

**Resultados e Discussão**

A Figura 1 mostra que o aumento da concentração de manitol causou reduções lineares na transpiração e no comprimento da PA. O PV total e da PA tiveram diminuição quadrática, apresentando curvas similares, evidenciando a dominância da parte aérea na expressão dessa resposta.

**XXIV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite**

Juiz de Fora, MG – 11 de julho de 2019



**Figura 1.** Respostas de indicadores fisiológicos do azevém anual cv. BRS Ponteio ao choque osmótico induzido por manitol ( $P < 0,05$ ): (A) transpiração, (B), comprimento da PA, (C) peso verde total, e (D) peso verde da parte aérea.

A Figura 2 revela que o manitol causou redução quadrática no peso seco da parte aérea e não influenciou significativamente o teor de clorofila, o PV da raiz e o PS total e da raiz. No entanto, esses indicadores radiculares apresentaram forte tendência de aumento na medida em que o choque osmótico foi intensificado.

Os resultados obtidos no presente trabalho são compatíveis com verificações feitas com outros cultivos agrícolas (Soheilikhah et al., 2013), confirmando a factibilidade dessa estratégia para triagens de genótipos no programa de melhoramento do azevém anual.

### Conclusões

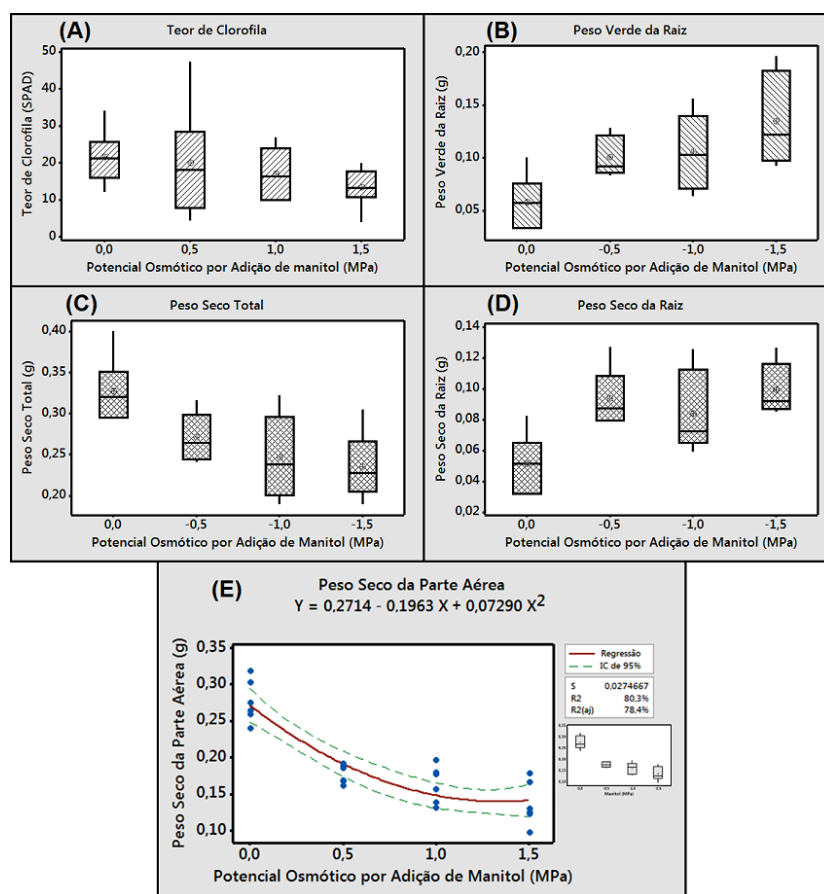
A cv. BRS Ponteio tem elevada sensibilidade ao choque osmótico, demonstrada pelas reduções pronunciadas na transpiração e no crescimento da parte aérea.

O sistema radicular apresenta tendência de expansão na presença do manitol, possivelmente em busca de fontes hídricas para contrabalançar o ambiente osmótico.

O uso do manitol em ambiente controlado revelou-se factível para a imposição de choque osmótico e obtenção de respostas em ensaios de curta duração com o azevém anual.

**XXIV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite**

Juiz de Fora, MG – 11 de julho de 2019



**Figura 2.** Respostas de indicadores fisiológicos do azevém anual cv. BRS Ponteio ao choque osmótico induzido por manitol: (A) teor de clorofila, (B), peso verde da raiz, (C) peso seco total, (D) peso seco da raiz, e (E) peso seco da parte aérea (A, B, C e D:  $P > 0,05$ . E:  $P < 0,05$ ).

**Agradecimentos**

Os autores agradecem a Sebastião de Castro Evaristo.

**Referências**

- BEYRUTH, Z. Água, agricultura e as alterações climáticas globais. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, v. 1, p. 74-89, 2008.
- CLARK, R. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, p. 458-460, 1975.
- GHUGE, S. A.; RAI, A. N.; SUPRASANNA, P. Comparative effects of NaCl, PEG and mannitol osmotic stress on solute accumulation and antioxidant enzyme system in potato (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Stress**, v. 4, p. 50-55, 2010.
- MONTARDO, D. P.; MITTELMANN, A. **Avaliação da cultivar de azevém BRS Ponteio na Região da Campanha do Rio Grande do Sul**. Bagé: Embrapa Clima Temperado, 2009 (Comunicado Técnico, 68).
- SOHEILIOKHAH, Z.; KARIMI, N.; GHASMPOUR, H. R.; ZEBARJADI, A. R. Effects of saline and mannitol induced stress on some biochemical and physiological parameters of *Carthamus tinctorius* L. varieties callus cultures. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, p. 1866-1874, 2013.