

Efeito do estresse salino em tabaco cultivado *in vitro*

Melo, Yuri Lima¹; Morais, Daniel de Souza Cruz¹; Barbosa, Janilson Bruno Félix¹; Lúcio, Paulo Sergio Marinho²; Macedo, Cristiane Elizabeth Costa²

¹ Estudantes de graduação do curso de Ciências Biológicas do Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), ozz_zorro@hotmail.com; ² Professores Doutores do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética cristianemacedo@ufrnet.br; pmarinho@ufrnet.br; Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

INTRODUÇÃO:

O estresse salino representa um dos mais sérios fatores que limitam o crescimento e a produção das culturas, induzindo a modificações morfológicas, estruturais e metabólicas nas plantas superiores (Izzo et al., 1991).

As estratégias adaptativas elaboradas pelas plantas para superar a salinidade buscam limitar os efeitos dos fatores de estresse e ocorrem em diversos níveis de organização. Os mecanismos complexos para resistência aos estresses iônicos e osmóticos, provocados pelo estresse salino, incluem o ajustamento osmótico e proteção de estruturas subcelulares, através do acúmulo de solutos compatíveis, como a glicinabetaína, prolina e polióis (Bohnert et al., 1999), também a manutenção da “homeostasis” iônica intracelular, através da manutenção de alta relação K⁺/Na⁺ citosólica, seqüestro de íons tóxicos para o vacúolo ou extrusão celular (Zhu, 2003) e ainda a eliminação de radicais reativos de oxigênio oriundos do estresse oxidativo o qual é desencadeado pela salinidade (Cavalcanti et al., 2004).

As Tiorredoxinas são uma classe de enzimas que participa do controle redox de muitos processos celulares tais como: regulação da apoptose, da imunomodulação e da atividade de fatores de transcrição de um número importante de genes atuando também na defesa antioxidante e em processos reguladores dos níveis intra celulares de espécies reativas de oxigênio (Nordberg & Arnér, 2001).

Sendo assim, estudos relacionados ao papel das tiorredoxinas quanto a uma possível proteção de plantas contra o estresse salino são de grande importância tendo em vista a possibilidade de se obter plantas transgênicas eventualmente tolerantes ao estresse salino.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento e desenvolvimento de plântulas de tabaco nativas e transgênicas contendo uma construção antisense para um gene de tiorredoxina, quando submetidas a um gradiente de cloreto de sódio [NaCl], agente utilizado para simular o estresse salino.

MATERIAL E METODOS

Neste trabalho foram utilizadas plântulas de tabaco da variedade SR1 (Etzold et al, 1987), do tipo selvagem (WT) e mutantes antisense (MT) com uma produção de Tiorredoxina inferior ao WT.

Plântulas de tabaco (WT e MT) com 10 dias de idade após a germinação foram inoculadas em tubos de ensaio com meio de cultura básico MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g/l de sacarose na ausência (controle) e na presença de 4 (quatro) concentrações de NaCl (50; 100; 150 e 200mM).

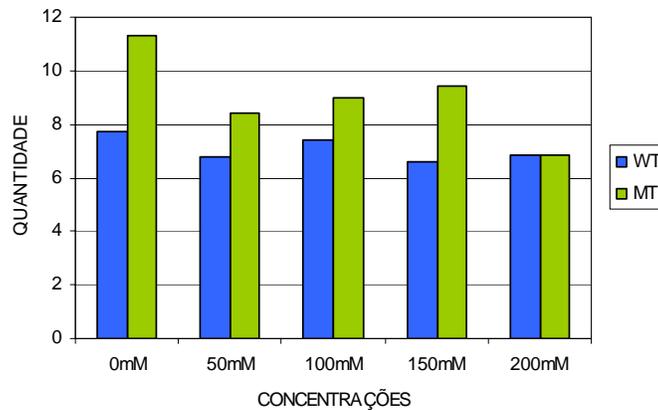
Os meios de cultura tiveram o seu pH ajustado para 5,8 em seguida foi solidificado com Agar (11g/l) e finalmente autoclavados durante 20 (vinte) minutos a temperatura de 121°C e 1 atm. Os tubos contendo as plântulas foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo 60 horas de luz e 8 de obscuridade e temperatura relativa de 25°C durante 30 (trinta) dias ao final deste período a altura das plântulas foi medida e o número de folhas e a taxa de sobrevivência computados.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado organizado em arranjo fatorial entre plântulas de tabaco da variedade SR1 do tipo selvagem (WT) e mutantes antisense (MT) e cinco tratamentos com cloreto de sódio (NaCl) [0 (controle); 50; 100; 150 e 200 mM] com sete repetições. Trinta dias após o estresse salino foi medido a altura das plântulas, e o número de folhas e a taxa de sobrevivência computados.

RESULTADOS E DUSCUSSÕES

A exposição ao sal afetou o crescimento e desenvolvimento, expresso pela produção de folhas e pela altura das plântulas de tabaco do mutante antisense (Figura 1 A-B). A diminuição de tais parâmetros é proporcional ao aumento da concentração em NaCl as quais as plântulas foram expostas. Tal resposta não foi observada nas plântulas do tipo selvagem (WT) que expressam uma maior quantidade de tioredoxinas; Estes resultados indicam que a presença do transgene em antisense para um gene de tioredoxina não é inócua a planta quanto ao crescimento em estresse salino. Os resultados também sugerem a necessidade de se obter plantas transgênicas expressando uma construção sense para estudos comparativos com plantas de tabaco do tipo selvagem utilizando concentrações superiores a 200 mM de NaCl bem como tempo de exposição ao sal superior a 30 dias.

A)



B)

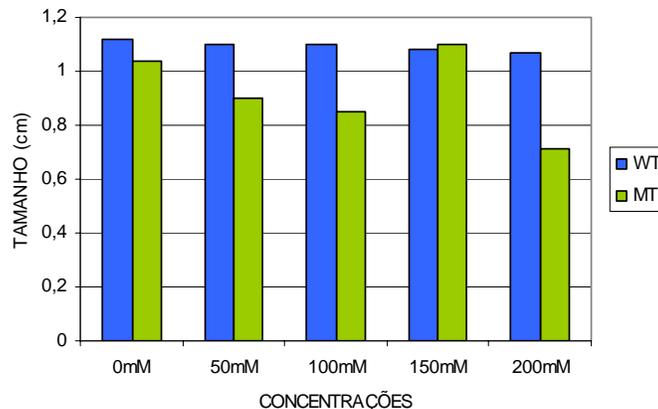


Figura 1. Número médio de folhas (A) e altura média (B) de plântulas de tabaco da variedade selvagem (WT) e do tipo mutante (MT) na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100, 150 e 200mM).

Em geral a sobrevivência, de todas as plântulas submetidas durante um período de 30 dias ao NaCl, não foi afetada, embora tenha sido observado um decréscimo de 29% nas plântulas de tabaco do tipo mutante (MT), submetidas a concentração de 50mM foi observado (Figura 2).

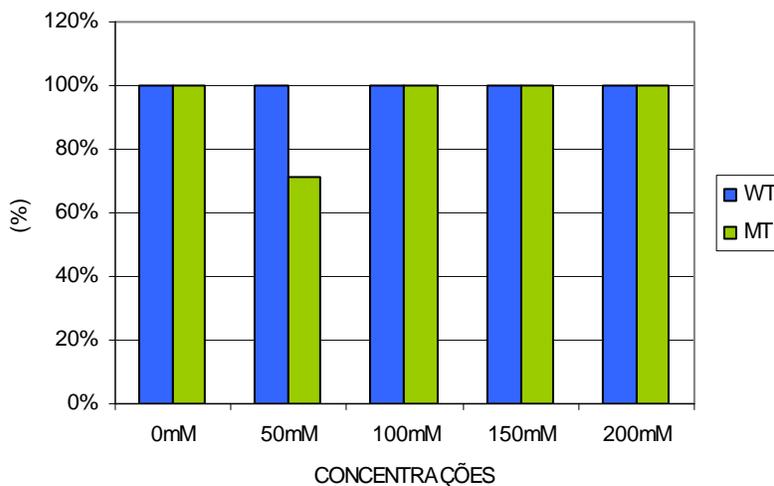


Figura 2. Taxa de sobrevivência de plântulas de tabaco da variedade selvagem (WT) e do tipo mutante (MT) na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100, 150 e 200mM).

CONCLUSÃO:

Os resultados obtidos *in vitro* a partir dos parâmetros avaliados revelaram que as plantas de tabaco do tipo mutante são mais sensíveis ao NaCl.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BOHNERT, H.J.; SU, H.; Shen, B. **Molecular mechanisms of salinity tolerance**. In: Shinozaki, K., Yamaguchi Shinozaki, K. (Ed.) Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants. Austin: University of Arizona, 1999, p.29-62.

CAVALCANTI, F.B.; OLIVEIRA, J.T.A.; MIRANDA, A.S.M.; VIÉGAS,R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, Lancaster, v.163, n.3, p.563-571, 2004.

ETZOLD, T., FRITZ, C.C.; SHELL, J., AND SCHEREIER, P.H. A point mutation in the chloroplast 16S rRNA gene of a streptomycin resistant *Nicotiana tabacum*. **FEBS Lett.**219, 343-346. 1987.

IZZO, R. NAVARI-IZZO, F.; QUARTACCI, F. Growth and mineral absorption in maize seedlings as affected by increasing NaCl concentrations. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.14, p.687-699, 1991.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NORDBERG, J.; ANÉR, E.S.J Reactive oxygen species, antioxidantes, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 31, p 1287 – 1312, 2001.

ZHU, J.K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.6, n.5, p.441 - 445, 2003.

PALAVRAS CHAVES:

Tabaco; mutante antisense; tioredoxinas; estresse salino