

Efeito do estresse hídrico em tabaco cultivado *in vitro*

Melo, Yuri L.¹; Cruz, D. S.¹; Barbosa J.B.F.¹; Macedo, C.E.C.²; Marinho, P.²

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:

A baixa disponibilidade de água no solo é considerada uma das causas mais comuns da baixa produtividade agrícola reduzindo significativamente rendimentos em lavouras, restringindo as latitudes e os solos onde espécies, comercialmente importantes podem ser cultivadas, afetando não somente os agricultores como também parte da sociedade que vive desta economia.

Nessas condições, vários processos metabólicos nas plantas podem ser influenciados, como o fechamento estomático, o declínio na taxa de crescimento, o acúmulo de solutos e antioxidantes e a expressão de genes específicos de estresse (Singh-Sangwan *et al.*, 1994; Silva e Casali, 2000). São notáveis as modificações no metabolismo das plantas uma vez que submetidas ao estresse hídrico podem apresentar acúmulo de proteínas, aminoácidos dentre eles a prolina, que estão associados à tolerância a essa condição desfavorável, podendo ainda ser considerado um mecanismo regulador da perda de água mediante aumento da osmolaridade celular que beneficiará a condutância estomática, a assimilação de CO₂ e a expansão dos tecidos, além de permitir a assimilação da água necessária ao metabolismo celular (Serraj & Sinclair, 2002), proporcionando a sua adaptação ao estresse.

As Tiorredoxinas são uma classe de enzimas que participam 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 hídrico são de grande importância tendo em vista a possibilidade de se obter plantas transgênicas eventualmente tolerantes ao estresse hídrico.

Neste contexto, o presente trabalho se propôs a avaliar os efeitos específicos do PEG (polietilenoglicol 6000), agente utilizado para simular o estresse hídrico, no crescimento e desenvolvimento de plântulas de tabaco nativas e transgênicas contendo uma construção antisense para um gene de tiorredoxina.

O PEG tem sido utilizado com sucesso em trabalhos de pesquisa para simular os efeitos do déficit hídrico nas plantas, por não penetrar nas células, não ser degradado e não causar toxidez, devido ao seu alto peso molecular (Hasegawa *et al.*, 1984). Segundo Lawlor (1970), o PEG é um agente com capacidade de aumentar a concentração osmótica das soluções nutritivas utilizadas em experimentos com plantas; tem a capacidade de simular seca, causando dissecação na planta, bloqueando o movimento da água pela diminuição do potencial hídrico do meio onde crescem as raízes.

MATERIAIS E MÉTODOS:

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.

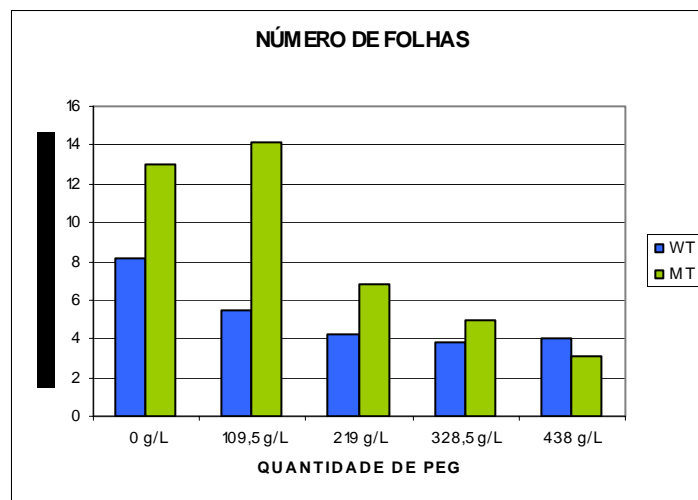
Plântulas de tabaco (WT e MT) com 10 dias de idade após a germinação foram inoculadas em tubos de ensaio, contendo pontes de sustentação, com meio de cultura básico MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g/L de sacarose na ausência (controle) e na presença de 4 (quatro) concentrações de PEG [109,5; 219; 328,5; 438 g/L]. 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 PEG [109,5; 219; 328,5; 438 g/L] com sete repetições.

Os meios de cultura tiveram o seu pH ajustado para 5,8 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 escuro e temperatura relativa de 25°C durante 30 (trinta) dias. Ao final deste período a altura das plântulas foi medida, o número de folhas e a taxa de sobrevivência computados.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A exposição ao PEG 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 PEG as quais as plântulas foram expostas e tal efeito é bem mais marcante no mutante antisense quando comparado ao 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 presença de um estresse hídrico.

A)



B)

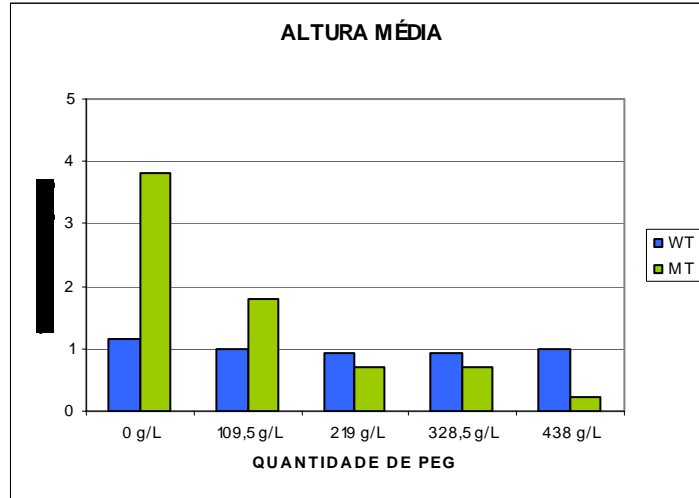


Figura 1. Numero médio de folhas (A) e altura média (B) de plântulas de tabaco da variedade selvagem (WT) e do tipo mutante (MT) na ausência (controle) e na presença de PEG [109,5; 219; 328,5; 438 g/L].

Em geral a sobrevivência, de todas as plântulas submetidas durante um período de 30 dias ao PEG, não foi afetada, embora tenha sido observado um decréscimo de 15% nas plântulas de tabaco do tipo mutante (MT), submetidas a concentração de 109,5 g/L e do tipo selvagem (WT) submetidas a concentração de 328,5 g/L. Em presença de 438 g/L de PEG a sobrevivência das plântulas de ambas variedades foi totalmente comprometida, tendo em vista que nenhuma delas sobreviveu em presença de tal dose (Figura 2).

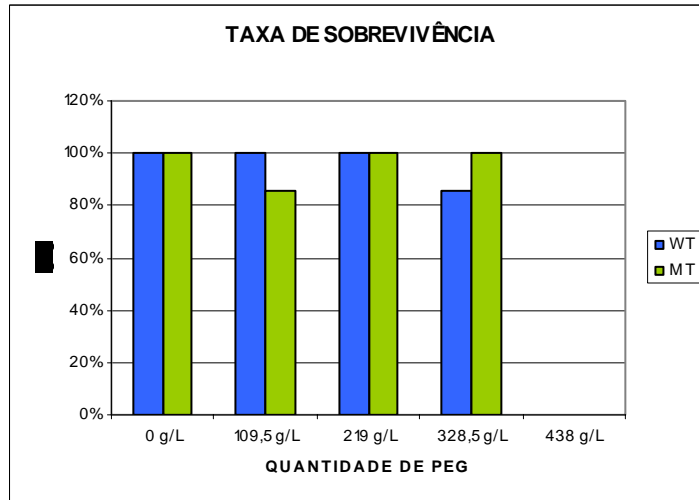


Figura 02: Taxa de sobrevivência de plântulas de tabaco da variedade selvagem (WT) e do tipo mutante (MT) na ausência (controle) e na presença de PEG [109,5; 219; 328,5; 438 g/L].

CONCLUSÃO:

Os resultados obtidos *in vitro* a partir dos parâmetros avaliados revelaram que as plantas de tabaco do tipo mutante são mais sensíveis ao PEG e que as doses iguais ou superiores a 438 g/L de PEG são letais as plântulas de tabaco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

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.

HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A.; HANDA, S.; HANDA, A.K. **Cellular mechanisms of tolerance to water stress**. HortScience, Alexandria, v.19, n.3, p.371-377, 1984.

LAWLOR, D.W. **Absorption of polyethylenoglicols by plants and their effects on plant growth**. New Phytologist, v.69, p.501-513, 1970.

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.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. **Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions?** Plant, Cell and Environment, v.25, p.333-341, 2002.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: Pós colheita e óleos essenciais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitotecnia, 2000.

SINGH-SANGWAN, N. *et al.* **Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses**. *New Phytol.*, Cambridge, v. 128, p. 173-179, 1994.

PALAVRAS CHAVES

Tabaco, polietilenoglicol; tioredoxinas; estresse hídrico

¹AGRADECIMENTOS

¹ UFRN (Departamento de Biologia Celular e Genética – DBG)