

PADRÕES ELETRORÉTICOS DE ESTERASE EM PLÂNTULAS DE ARROZ CULTIVARES ÍNDICAS E JAPONICAS SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE SALINIDADE

Maria da Graça de Souza Lima⁽¹⁾; Geri Eduardo Meneghello⁽²⁾; Maria Alice da Silva de Castro⁽²⁾; Cristina Rodrigues Mendes⁽¹⁾; Paulo Dejalma Zimmer⁽²⁾; Nei Fernandes Lopes⁽¹⁾.

¹Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UFPel, Campus Universitário, Caixa Postal 354, CEP 96010-900, e-mail: magali@ufpel.tche.br. ²Laboratório de Biosementes, Departamento de Fitotecnia, FAEM, UFPel.

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais cultivados no mundo, com grande importância do ponto de vista econômico e social (Bonow et al., 2001). O Rio Grande do Sul destaca-se como principal produtor, participando com um percentual de aproximadamente 40% da produção nacional (Rigatto e Kohlz, 1998). Destaca-se a região sul do Estado e a região litorânea como grandes produtores. Nesses locais a irrigação constante por inundação pode conduzir os solos com drenagem inadequada à salinização. Solos salinos podem ocorrer naturalmente em regiões costeiras (Souza-Filho et al., 2003), áridas e semi-áridas (Costa et al., 2003). O estresse salino, sofrido pelas plantas de arroz, além de restringir a absorção de água e nutrientes, também provoca mudanças na expressão gênica (Gonela et al., 2004). Na cultura, as variedades japônicas são consideradas tolerantes enquanto as variedades índicas, sensíveis ao estresse salino (Machado e Terres, 1997). A análise por isoenzimas tem sido utilizada na caracterização de cultivares de arroz (Bonow et al., 2001), constituindo-se em uma das técnicas de marcadores bioquímicos mais utilizados na caracterização de cultivares desde a década de 60.

A premissa básica adotada ao utilizar-se dados isoenzimáticos é que, diferenças na mobilidade de isoenzimas em um campo elétrico são resultantes de diferenças ao nível de seqüências de DNA que codificam tais enzimas. Assim se os padrões de bandas de dois indivíduos diferem, assume-se que estas diferenças possuam base genética (Murphy et al., 1990), citado por Ferreira e Grattapaglia (1998). Marcadores isoenzimáticos, além do baixo custo e acessibilidade da técnica, geralmente fornecem ampla informação genética para diversas aplicações (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Dentre os sistemas isoenzimáticos mais utilizados em plantas está a esterase (EST – EC 3.1.1.1) que é uma enzima que está relacionada com o catabolismo de lipídeos, fornecendo carbono para a síntese de novas moléculas em plântulas (Bewley e Black, 1994), uma vez que o maquinário fotossintetizante não está preparado para suprir toda a demanda de carbono requerida pela planta nas fases iniciais de desenvolvimento.

O objetivo deste trabalho foi avaliar padrões eletroforéticos da isoenzimas esterase em plântulas de arroz, de cultivares índicas e japônicas, submetidas a diferentes níveis de salinidade.

Aos 10 dias após a emergência, plântulas de arroz das variedades japônicas BRS Bojurú, IAS 12-9 Formosa, GoyaKuman e das variedades índicas BRS-7 Taim, BRS Querência e BRS Atalanta, de uso comum na orizicultura gaúcha, foram transferidas para bacias com capacidade para 15L, contendo solução nutritiva de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1938) acrescida de doses de NaCl (zero, 25, 50, 75 e 100 mM). Aos 14 dias após a transferência as plântulas foram coletadas. As análises foram realizadas no Laboratório de Biosementes, do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. Uma amostra da parte aérea foi macerada em gral de porcelana sobre gelo, uma alíquota de 200 a 300 mg do extrato vegetal, foi colocada em tubo *ependorf* com solução extratora de Scandális (1969), (tampão do gel + 0,15% de 2-mercaptoetanol) na proporção 1:2 (p/v) e armazenadas em geladeira por 24 h para extração das enzimas. Após foram centrifugadas a 13200 rpm por 5' à 4 °C.

A eletroforese foi realizada em géis de poliacrilamida 7%, colocando-se 20 µL de cada amostra, em orifícios feitos com o auxílio de um pente de acrílico. Os padrões enzimáticos foram analisados pelo sistema de tampões, descrito por Scandalios (1969). Os géis colocados em cubas eletroforéticas verticais mantidas em câmara fria com temperatura entre 4 e 6 °C. As migrações eletroforéticas foram realizadas com uma diferença de potencial de 1,0 V mm⁻¹, até que a linha de frente formada pelo azul de bromofenol atingisse 9 mm do ponto de aplicação. As bandas reveladas, para o sistema enzimático Esterase (EST - EC 3.1.1.1) de acordo com Scandálíos (1969). Os géis de eletroforese foram fixados em solução, de água destilada:metanol:ácido acético v/v (5:5:1).

A interpretação dos resultados foi baseada na análise visual dos géis de eletroforese, levando em consideração a presença/ausência e na intensidade de cada uma das bandas eletroforéticas.

Através dos padrões isoenzimáticos da esterase (Figura 1), foi possível observar que as doses de NaCl utilizadas, alteraram o número e a intensidade de bandas dessa enzima nas diferentes cultivares analisadas.

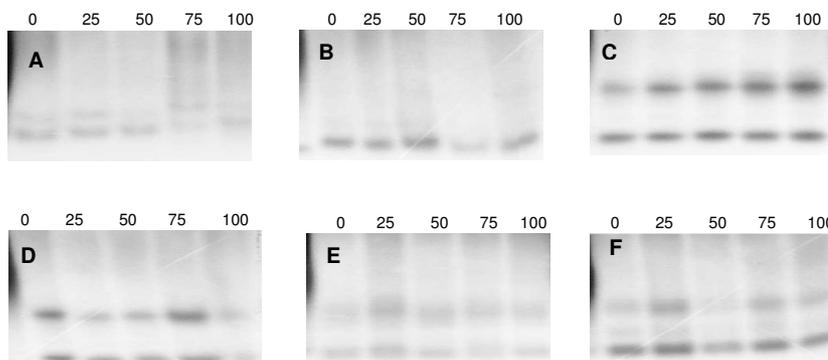


FIGURA 1 – Padrão eletroforético da enzima esterase, em folhas de arroz das cultivares Atalanta (A); Bojurú (B); Formosa (C); Goku (D); Querência (E) e Taim (F), submetidas a estresse salino nas concentrações de zero ; 25; 50; 75 e 100 mM de NaCl, aos 14 dias após a transferência.

As cultivares japônicas (Fig. 1 B, C e D), apresentaram bandas mais intensas que as índicas (Fig. 1 A, E e F), sendo que a cultivar IAS 12-9 Formosa (Fig. 1C) observou-se aumento na intensidade das bandas com incremento da concentração salina, demonstrando uma possível tolerância desta cultivar a este tipo de estresse. Lima et al. (2004), ao estudar o efeito do estresse salino em plântulas de arroz, verificaram que as cultivares japônicas apresentaram maior tolerância à salinidade.

A alteração na expressão da enzima conforme o nível de salinidade, provavelmente esteja relacionada a algum mecanismo de defesa da planta, pois a enzima esterase está envolvida no catabolismo de lipídeos, e segundo Bewley e Black (1994), esta degradação pode servir de fonte de carbono para a síntese de novas moléculas, o que justificaria o padrão diferenciado na cultivar IAS 12-9 Formosa. De acordo com Pinto et al. (1995) fatores ambientais afetam o metabolismo das plantas, influenciando a atividade das isoenzimas, especialmente das esterases, peroxidases, fosfatases e fenolases, causando o aparecimento de padrões ou atividades diferentes.

Conclui-se que a atividade da enzima esterase apresenta padrão mais intenso nas cultivares consideradas tolerantes ao estresse salino. O padrão eletroforético da esterase,

na cultivar IAS 12-9 Formosa, é alterado quando as plantas de arroz são submetidas à salinidade.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds – Physiology of Development and Germination**. 2ed. New York. Plenum Press. 1994. 445p.

BONOW, S.; AUGUSTIN, E.; FRANCO, D. F.; PETERS, J. A.; TERRES, A. L. DA S. Caracterização isoenzimática de genótipos de arroz. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.36, n.2, p. 291-300, 2001.

COSTA, P. H. A.; SILVA, J. V.; BEZERRA, M. A.; ENEAS FILHO, J.; PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Crescimento e níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de *Vigna unguiculata* submetidas à salinidade. **Revista brasileira de botânica**, São Paulo, v.26, n.3, p. 1-10. 2003.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3 ed. Brasília : Embrapa-Cenargen, 1998. 220p.

GONELA, A.; LEMOS, E. G. M.; RODRIGUES, T. DE J. D.; PATERNIANI, M. L. S. Reação enzimática ao estresse salino durante a germinação de estilosantes. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.39, n.1, p.93-95, 2004.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkely: University of California Agricultural Experiment Station, 1938. 34 p.

LIMA, M. G. de 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.

MACHADO, M.O.; TERRES, A.L. da S. Melhoramento do arroz irrigado na EMBRAPA – CPACT. 9.Tolerância de genótipos à salinidade da água de irrigação, do início da diferenciação da panícula à maturidade safras 1995/96 e 1996/97. Resumos da XXII Reunião da cultura do arroz irrigado, Balneário Camboriú, SC, 1997. p. 68-71.

PINTO, L. R.; SADER, R.; LEMOS, E. G. M. Variações nos perfis eletroforéticos de isoenzimas: Aplicação na identificação de cultivares de soja. **Revista brasileira de sementes**, Pelotas, v.17, n.1, p. 52-56, 1995.

RIGATTO, P.; KOHLZ, V. K. Economia da produção. In: PESKE, S. T.; NEDEL, J. L.; BARROS, A. C. S. A. (Ed.). Produção de arroz. Pelotas : UFPel, 1998. p. 555-641.

SCANDALIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. **Biochemistry genetics**, 3, p. 37-79. 1969.

SOUZA FILHO, G.A. de S.; FERREIRA, B.S.; DIAS, J.M.; QUEIROZ, K.S.; BRANCO, A.T.; BRESSAN-SMITH, R.E.; OLIVEIRA, J.G.; GARCIA, A.B. Accumulation of SALT protein in rice plants as a response to environmental stress. **Plant Science**, Limerick, 164, p. 623-628. 2003.