

VARIAÇÕES NA CONCENTRAÇÃO DE PROLINA LIVRE EM FOLHAS DE PLANTAS INTACTAS DE CINCO CULTIVARES DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) SUBMETIDAS À DESIDRATAÇÃO*

L.A.N. Madruga**
A.B. Rena

1. INTRODUÇÃO

O teor de prolina livre é consideravelmente aumentado quando plantas inteiras de várias espécies são desidratadas (1, 3, 5, 11, 13).

Em órgãos isolados, que não a folha (12), em tecidos armazenadores de batatinha, cenoura e nabo e em raízes fibrosas de milho (15), não houve acúmulo de prolina induzido pelo murchamento. O fenômeno estaria, então, restrito a tecidos verdes (15, 6). No entanto, há evidências de que nem a presença da clorofila nem a dos cloroplastos funcionais são essenciais para o acúmulo de prolina durante a desidratação (12).

Presentemente, dá-se grande importância à possibilidade de usar a capacidade da planta para acumular prolina como um parâmetro fisiológico de sua resistência e/ou tolerância à seca (8, 10, 14, 16). A capacidade potencial da planta para acumular prolina parece variar diretamente com a capacidade de produção do genótipo sob condições hídricas adversas (11). Então, mediante essa manifestação da planta, haveria a possibilidade de se estabelecer um método de seleção de cultivares resistentes à seca (2, 7, 11).

Este trabalho teve como objetivo estudar o acúmulo de prolina livre nas folhas das plantas intactas de cinco cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas à desidratação e a utilização metabólica da prolina acumulada, após a remoção do déficit hídrico.

* Parte da tese apresentada, pelo primeiro autor, à U.F.V., como um dos requisitos para a obtenção do grau de «Magister Scientiae» em Fisiologia Vegetal.

Recebido para publicação em 15-06-1976.

** Respectivamente, Professor Assistente do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas, bolsista de Pós-Graduação da CAPES, durante a realização do presente trabalho, e Professor Titular do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Viçosa, bolsista do CNPq.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados os cultivares de arroz de «sequeiro» IAC-1246, Batatais, ESAV-27 e IAC-5100, e o de «irrigação» IAC-435. Todos eles foram cultivados em casa-de-vegetação, em vasos de plástico de 15 litros de capacidade, contendo solo fértil misturado com esterco curtido na proporção de 1:1. Em cada vaso foram semeadas sementes suficientes para se obterem 120 plantas, aproximadamente. O teor de água do solo foi sempre mantido num nível considerado ótimo, indicado pelo teor relativo de água das folhas, até o início do experimento. Aos 16 dias de idade as plantas foram submetidas a murchamento pela suspensão da rega. A 0, 3, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a remoção da irrigação, a primeira folha de cada planta dos cinco cultivares, contada da base para o ápice, foi colhida, cortada em seções de aproximadamente 1 cm e submergida em 2 ml de uma solução contendo metanol, clorofórmio e água, na proporção de 12:5:1 (V/V/V) a -10°C . O material foi mantido nestas condições até o momento da extração e dosagem de prolina. Com relação aos tempos anteriormente mencionados, foram também colhidas folhas semelhantes de plantas túrgidas, que funcionaram como controle. No momento em que as plantas mostraram sinais visíveis de murcha fez-se uma última amostragem de folhas e procedeu-se a nova irrigação. Após 24 h, tomaram-se novas amostras de folhas, com o fim de estudar a metabolização da prolina que se acumulou durante o período de desidratação.

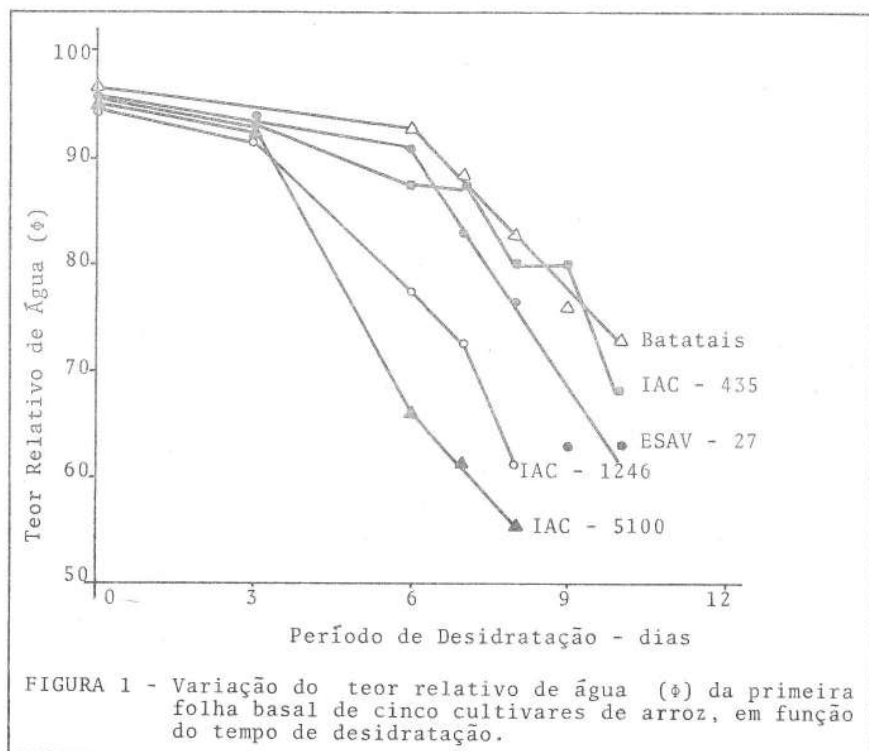
Paralelamente à colheita de folhas para as análises químicas, foram tomadas amostras da primeira folha dos cinco cultivares, com o objetivo de determinar seu teor relativo de água (Φ), de acordo com o método de WEATHERLEY (19).

A extração e a dosagem de prolina livre foram efetuadas de acordo com o método proposto por RENA e MASCIOTTI (8).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Três dias após a suspensão da irrigação, o valor de Φ foi pouco reduzido, com pequenas diferenças entre os cultivares (Figura 1). No entanto, no sétimo dia, os cultivares IAC-1246 e IAC-5100 apresentaram valores de Φ muito baixos (72% e 61%, respectivamente) em comparação com os valores dos cultivares Batatais, IAC-435 e ESAV-27 (respectivamente, 88%, 87% e 83%). No oitavo dia, os cultivares IAC-1246 e IAC-5100 mostraram sinais visíveis de murcha e tiveram de ser guardados novamente. Por outro lado, os cultivares Batatais, IAC-435 e ESAV-27 somente foram irrigados no décimo dia, mesmo sendo seu grau de desidratação inferior ao dos dois outros cultivares (Figura 1). Deve-se ressaltar que os cultivares Batatais, ESAV-27, IAC-1246 e IAC-5100 são tipicamente de «sequeiro», enquanto o cultivar IAC-435 é recomendado para o cultivo de «irrigação». Estes resultados sugerem que não há concordância perfeita entre a possível resistência à seca destes cultivares, indicada por suas características agromômicas, e sua capacidade de absorver água do solo e perdê-la, subsequentemente, por transpiração. É possível, também, que os mecanismos de tolerância ao déficit hídrico sejam diferentes entre os cultivares. Por exemplo, o cultivar Batatais pode ser resistente à seca pela evitação do déficit hídrico nos tecidos, e os cultivares IAC-1246 e IAC-5100, pela tolerância à desidratação. Por outro lado, é possível que o cultivar de «irrigação» IAC-435 possua eficiente mecanismo de controle da transpiração, mas não tolere os déficits hídricos ao nível celular, mesmo que estes sejam suaves. Há, ainda, a possibilidade de que os mecanismos envolvidos na resistência à seca se modifiquem com a idade da planta. Deve-se ressaltar que, no presente estudo, trabalhou-se com plântulas de aproximadamente 16 dias de idade; os resultados poderiam não ser os mesmos caso as plantas estivessem em fase mais avançada de desenvolvimento.

O teor de prolina livre foliar dos cinco cultivares de arroz aumentou com a diminuição de Φ (Figura 2). Com o progresso da desidratação, o aumento foi lento, entre os valores de Φ de 80 e 95%. No entanto, a taxa de acúmulo de prolina aumentou rapidamente assim que Φ baixou de 80%. Os dados da Figura 1 indicam a existência de um valor limite de teor relativo de água, cerca de 80%, abaixo do qual ocorrem alterações metabólicas orientadas no sentido da síntese de prolina, semelhantemente ao observado nas folhas de sorgo e de soja (17). Os valores limites de potencial hídrico foram diferentes para a soja e o sorgo (17), fato este não observado entre os cinco cultivares de arroz estudados. Estes re-



sultados sugerem a possibilidade de que o limite mínimo de desidratação requerido para iniciar o processo de acúmulo de prolina seja uma característica específica, não variando entre os cultivares da mesma espécie.

Ácido abscísico acumula-se nas folhas de várias espécies submetidas à desidratação (4, 20), e o início deste acúmulo está condicionado à existência de um valor limite de potencial hídrico (20), fato semelhante ao observado para o acúmulo de prolina. Todavia, ainda não se conhecem, com exatidão, as relações de causa e efeito existentes entre o acúmulo de prolina livre e de ácido abscísico e o mecanismo de fechamento dos estômatos de folhas em processo de desidratação. Considera-se de grande importância a realização de estudos comparativos mais detalhados destes três parâmetros, visando à melhor compreensão das bases fisiológicas da resistência das plantas à seca.

As Figuras 3, 4, 5, 6 e 7 mostram as variações de Φ e o teor de prolina livre durante e após o período de desidratação. Verifica-se, com clareza, nestas figuras, como o teor de prolina aumentou com o tempo em função da redução de Φ . Os cultivares IAC-435 e IAC-5100 foram os que mais acumularam prolina (Figuras 3 e 5). De certa forma, estes resultados contrariam a hipótese de que os cultivares mais resistentes à seca seriam os que mais acumulariam prolina quando submetidos a déficit hídrico (8, 7, 10, 11). WALDREN e TEARE (16) também observaram que a soja (espécie menos resistente à seca) acumulou mais prolina livre que o sorgo (espécie mais resistente) quando submetidos a condições equívocas de potencial hídrico.

A exceção do IAC-5100 (Figura 3), o teor de prolina livre nas folhas de todos os cultivares baixou rapidamente ao nível do controle turgido, 24 h após a eliminação do déficit hídrico (Figuras 4, 5, 6 e 7). Resultados semelhantes foram também observados em folhas de cevada (13). No entanto, o teor de prolina acumulada nas folhas de girassol desidratadas não diminuiu tão rapidamente nas 24 h que se seguiram à remoção do déficit (18), de forma análoga ao que se observou no cultivar de arroz IAC-5100. É possível que estas diferenças estejam

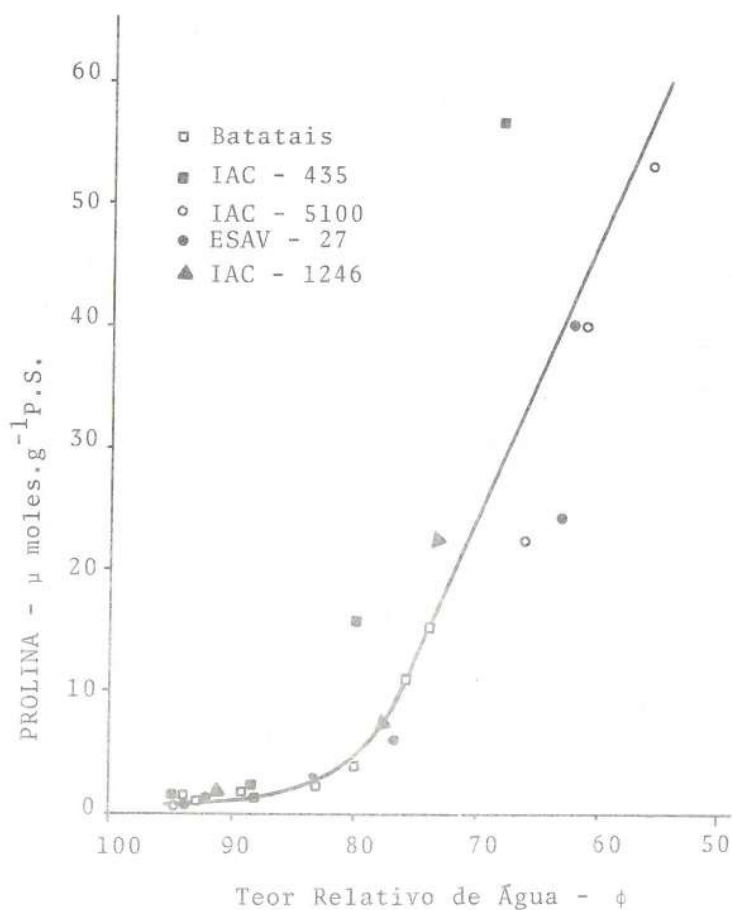


FIGURA 2 - Variação do teor de prolina livre nas folhas de plantas inteiras de cinco cultivares de arroz, em função do seu teor relativo de água.

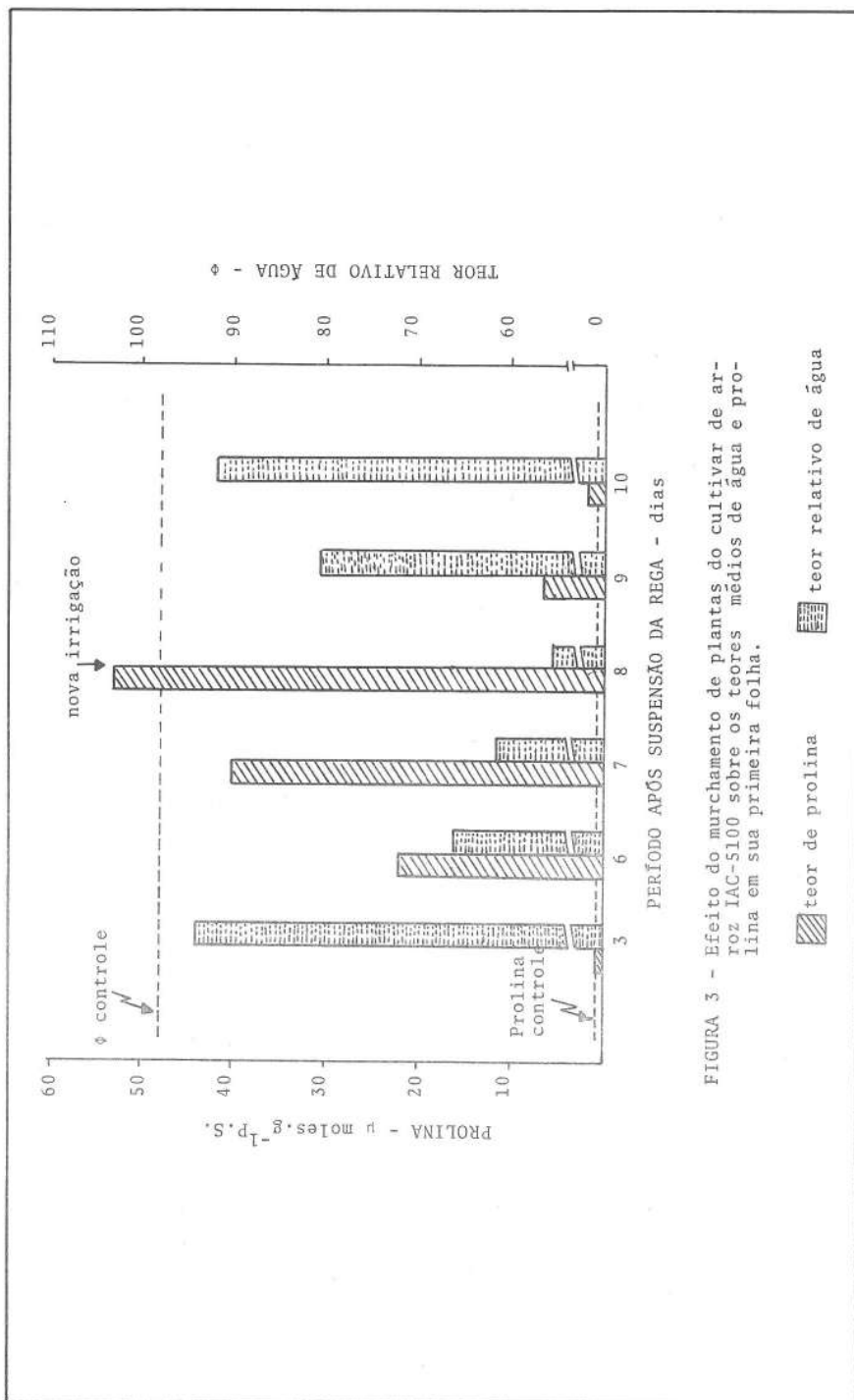


FIGURA 3 - Efeito do murchamento de plantas do cultivar de arroz IAC-5100 sobre os teores médios de água e prolina em sua primeira folha.

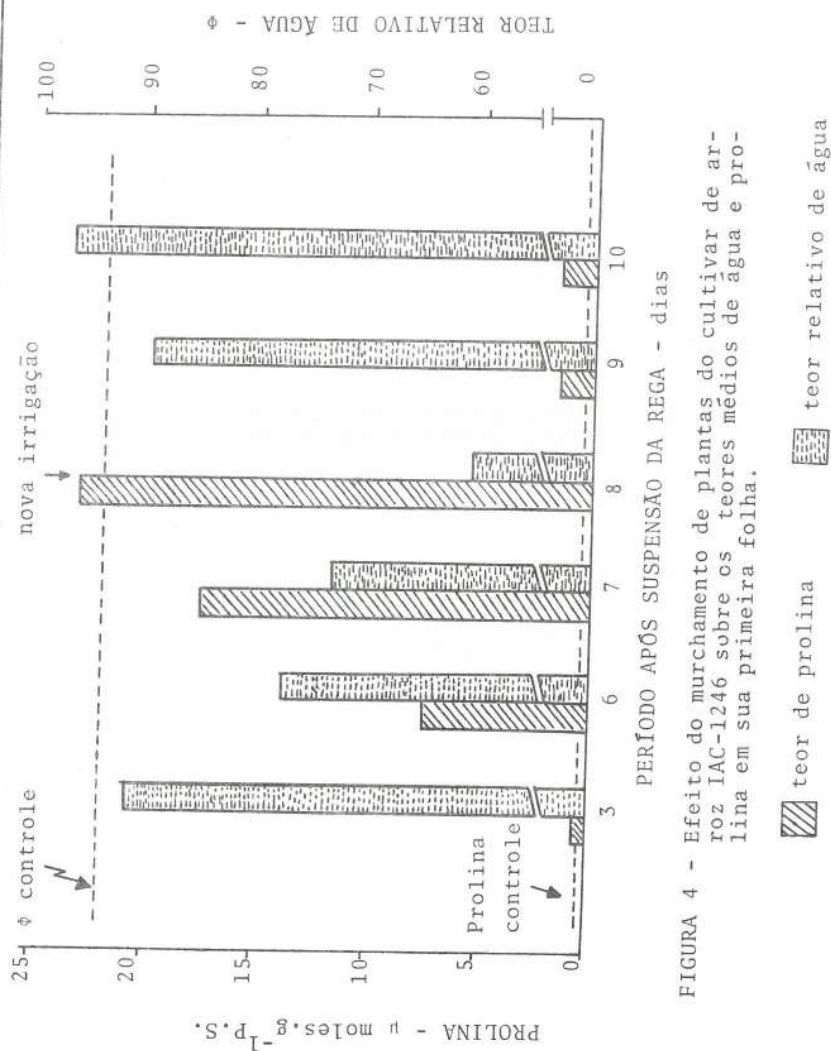


FIGURA 4 - Efeito do murchamento de plantas do cultivar de arroz IAC-1246 sobre os teores médios de água e prolina em sua primeira folha.

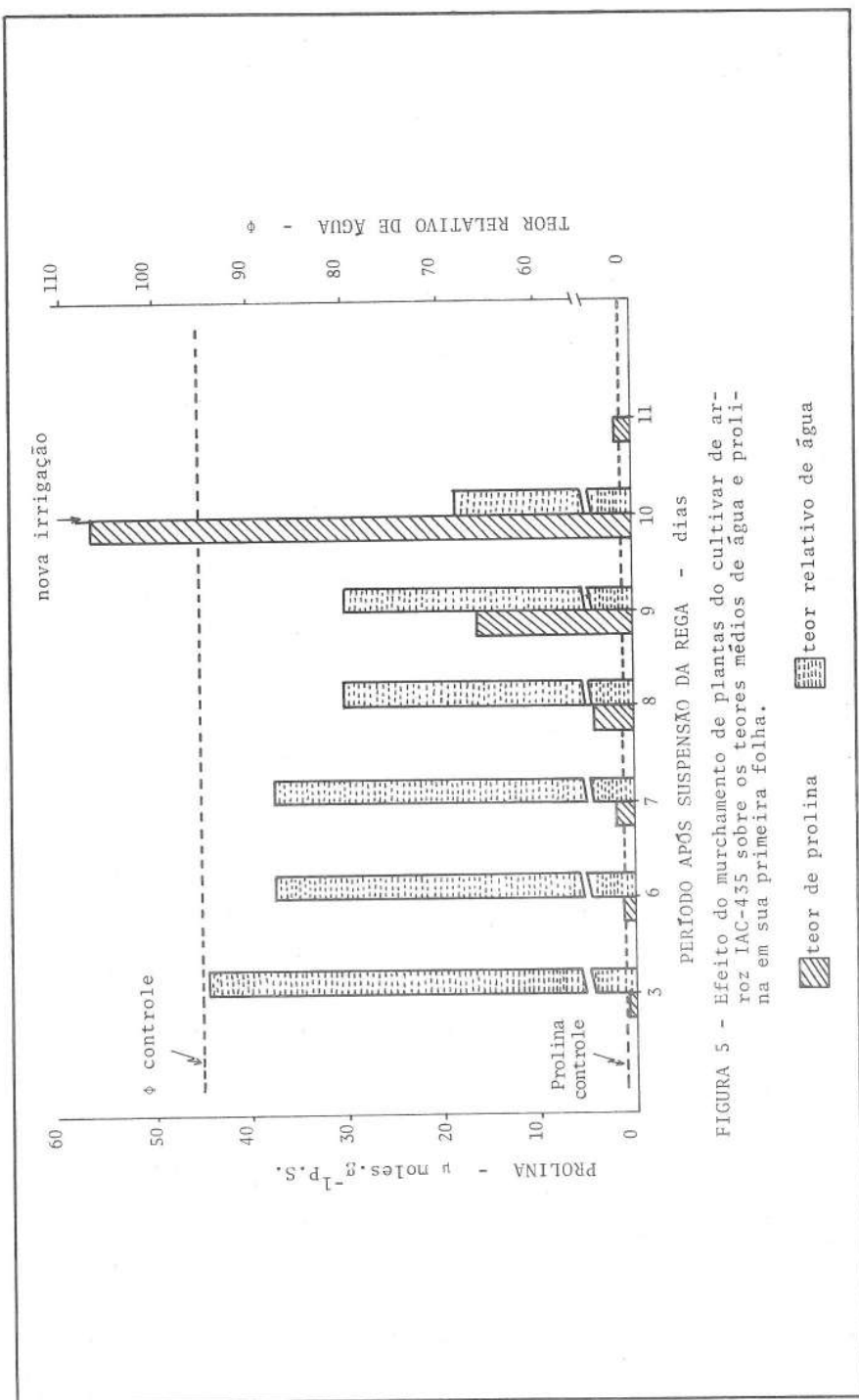


FIGURA 5 - Efeito do murchamento de plantas do cultivar de arroz IAC-435 sobre os teores médios de água e prolina em sua primeira folha.

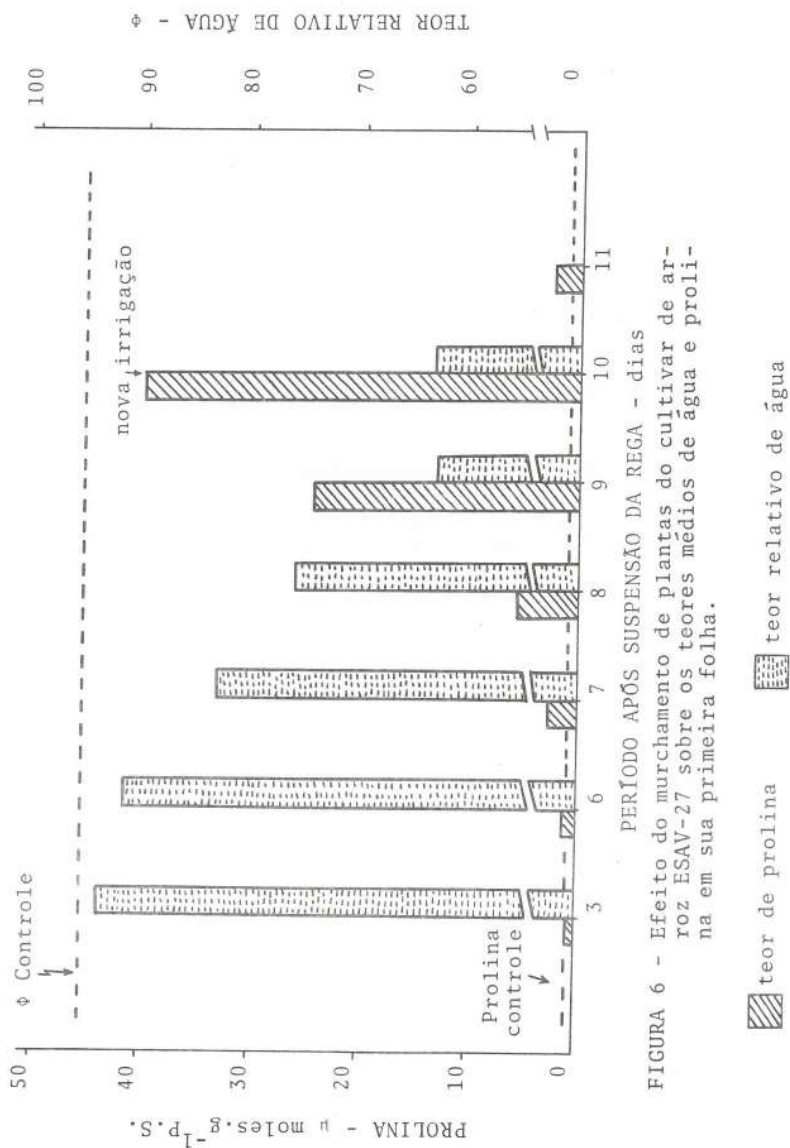


FIGURA 6 - Efeito do murchamento de plantas do cultivar de arroz ESAV-27 sobre os teores médios de água e prolina em sua primeira folha.

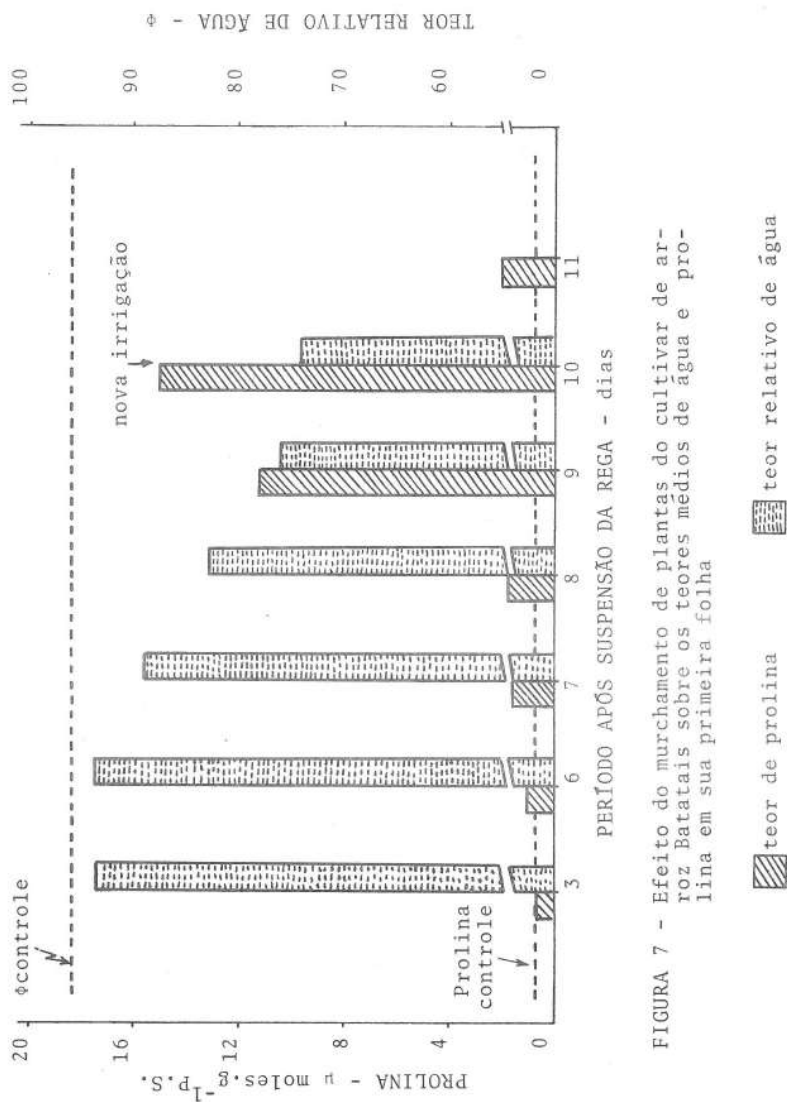


FIGURA 7 - Efeito do murchamento de plantas do cultivar de arroz Batatais sobre os teores médios de água e prolina em sua primeira folha

associadas à capacidade do cultivar para utilizar a prolina acumulada durante o deficit hídrico como uma fonte de energia metabólica, após a restauração da hidratação normal dos tecidos. Foi demonstrado, recentemente, que a prolina livre é prontamente utilizada no processo respiratório (9), e o retardamento da sua utilização, após um período de desidratação, pode estar associado à desorganização estrutural e metabólica dos mitocôndrios.

4. RESUMO

Determinou-se, neste estudo, o efeito de vários graus de desidratação de plantas intactas de arroz (*Oryza sativa* L.) sobre as variações dos teores relativos de água e prolina livre nas folhas dos cultivares IAC-5100, IAC-435, IAC-1246, ESAV-27 e Batatais.

Observou-se a existência de um valor limite de teor relativo de água, comum a todos os cultivares, abaixo do qual a taxa de acúmulo de prolina aumentou rapidamente. O cultivar indicado para o sistema de cultivo com «irrigação», IAC-435, e o cultivar indicado para o cultivo em condições de «sequeiro», IAC-5100, foram os que mais acumularam prolina. O teor de prolina acumulada durante o período de desidratação caiu, rapidamente, para o nível do controle turgido 24 h após a remoção do deficit hídrico, em todos os cultivares estudados, à exceção do IAC-5100.

A velocidade de diminuição do teor relativo de água das folhas, após a suspensão da irrigação, variou grandemente entre os cultivares, não se observando, contudo, uma relação nítida entre a velocidade de diminuição deste teor e a capacidade do cultivar para produzir em condições de «sequeiro» ou de «irrigação».

5. SUMMARY

Changes in the relative water content and in the proline concentration in the leaves of five rice cultivars were studied under various degrees of desiccation of intact rice (*Oryza sativa* L.) plants.

There is a threshold of relative water content, common to all cultivars, below which the rate of proline accumulation increased rapidly. The cultivar indicated for the «flooded system» of cultivation (IAC-435) and one indicated for the «dry-land system» (IAC-5100) accumulated more proline than did the other cultivars indicated for the «dry-land system» (IAC-1246, Batatais and ESAV-27). The proline accumulated during the water stress decreased quickly to the control level (turgid leaves) 24 hours after rewatering in all cultivars except the IAC-5100.

The rate at which the relative water content of the leaves decreased after the cessation of watering varied greatly among the cultivars; however, a clear-cut relationship could not be observed between the rate of decrease of the water content and the ability of the cultivar to grow under flooding or under dry-land conditions.

5. LITERATURA CITADA

1. BARNETT, N.M. & NAYLOR, A.W. Amino acid and protein metabolism in bermuda grass during water stress. *Plant Physiol.* 41:1222-1230. 1966.
2. BATES, L.S., WALDREN, R.P. & TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:205-207. 1973.
3. CHEN, D., KESSLER, B. & MONSELISE, S.P. Studies on water regime and nitrogen metabolism of citrus seedlings grown under water stress. *Plant Physiol.* 39:379-386. 1964.
4. HIRON, R.W.P. & WRIGHT, S.T.C. The role of endogenous abscisic acid in the response of plants to stress. *J. Exp. Bot.* 24:769-781. 1973.
5. KEMBLE, A.R. & MACPHERSON, H.T. Liberation of amino acids in perennial rye grass during wilting. *Biochem. J.* 58:46-49. 1954.

6. PÁLFI, G. & BITÓ, M. Effect of the cold soil and physiological dryness on the amino acid metabolism of wheat, bean, sunflower, and paprika. *Acta Biol. Szeged.* 16:79-91. 1970.
7. PÁLFI, G. & JÚHÁSZ, J. The theoretical basis and practical application of new method of selection for determining water deficiency in plants. *Plant Soil* 34:503-507. 1971.
8. RENA, A.B. & MASCIOTTI, G.Z. Efeito do deficit hídrico sobre o metabolismo do nitrogênio e o crescimento de quatro cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Rev. Ceres.* 23:288-301. 1976.
9. RENA, A.B. & SPLITTSTOESSER, W.E. The metabolism of proline in cotyledons of pumpkin (*Cucurbita moschata*). *Plant Cell Physiol.* 15:681-686. 1974.
10. SAUNIER, R.E., HULL, H.M. & EHRENREICH, J.H. Aspects of the drought tolerance in creosotebush (*Larrea divaricata*). *Plant Physiol.* 43:401-404. 1908.
11. SINGH, T.N., ASPINALL, D. & PALEG, L.G. Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley: a potential metabolic measure of drought resistance. *Nature, New Biol.* 236:188-190. 1972.
12. SINGH, T.N., PALEG, L.G. & ASPINALL, D. Stress metabolism. II. Changes in proline concentration in excised plant tissues. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:57-63. 1973.
13. SINGH, T.N., PALEG, L.G. & ASPINALL, D. Stress metabolism. I. Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during water stress. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:45-56. 1973.
14. SINGH, T.N., PALEG, L.G. & ASPINALL, D. Stress metabolism. III. Variations in response to water deficit in the barley plant. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:65-76. 1973.
15. STEWART, C.R., MORRIS, C.J. & THOMPSON, J.F. Changes in amino acid content of excised leaves during incubation. II. Role of sugar in the accumulation of proline in wilted leaves. *Plant Physiol.* 41:1585-1590. 1966.
16. WALDREN, R.P. & TEARE, I.D. Free proline accumulation in drought-stressed plants under laboratory conditions. *Plant Soil* 40:689-692. 1974.
17. WALDREN, R.P., TEARE, I.D. & EHLE, S.W. Changes in free proline concentration in sorghum and Soybean plants under field conditions. *Crop Sci.* 14:447-450. 1974.
18. WAMPLE, R.L. & BEWLEY, J.D. Proline accumulation in flooded and wilted sunflower and the effects of benzyladenine and abscisic acid. *Can. J. Bot.* 53:2893-2896. 1975.
19. WEATHERLEY, P.E. Studies in the water relations of cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytol.* 49:81-97. 1950.
20. ZABADAL, T.J.A. Water potential threshold for the increase of abscisic acid in leaves. *Plant Physiol.* 53:125-127. 1974.