



EFEITOS DO ESTRESSE SALINO (NaCl E Na_2SO_4) EM *SALVINIA AURICULATA* PRODUÇÃO DE PROLINA, PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA E PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES

Maria Angélica da C. Gomes

Bruno Esteves; Marina S. Suzuki

Universidade Estadual do Norte Fluminense, Avenida Alberto Lamego, 2000, 28013 - 602, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro Brasil. maria_angelicagomes@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

As macrófitas aquáticas podem ser caracterizadas como vegetais visíveis a olho nu com partes fotossintéticas ativas permanentemente (Pompêo & Carlos, 2003). Esses vegetais habitam pequenas regiões alagadas, margens mais rasas de rios, lagoas, reservatórios, cachoeiras e fitotelmos (Esteves, 1988).

A maioria dos ecossistemas aquáticos continentais do planeta apresentam características morfométricas como baixa profundidade e extensas áreas litorâneas, que colaboram para o intenso desenvolvimento da comunidade de macrófitas aquáticas (Wetzel, 1990). De acordo com Boyd (1970), Barko *et al.*, 1986), as macrófitas aquáticas são importantes componentes de lagos, rios, reservatórios e outras coleções d'água, pois constituem significativa parcela do estoque de energia e matéria do primeiro nível trófico da rede alimentar, além de proporcionar abrigo para desova e proteção das fases jovens de organismos aquáticos, promovendo heterogeneidade espacial.

Salvinia auriculata foi descrita por Aublet a partir de exemplares provenientes da Guiana, tendo ampla distribuição nativa nos neotrópicos, estendendo - se do México e Ilhas Galápagos através da América Central e Antilhas e na maior parte da América do Sul, até o Brasil (Sculthorpe, 1967). Sob condições favoráveis, esta macrófita possui habilidade de colonizar rapidamente ambientes aquáticos através de propagação vegetativa (esporos e fragmentação). Em vários ecossistemas *S. auriculata* têm se proliferado indesejavelmente, causando prejuízo aos múltiplos usos dos mesmos (Peixoto, *at al* 2005).

OBJETIVOS

Obter informações sobre a ecologia do desenvolvimento de *Salvinia auriculata* em ambientes com diferentes concentrações salinas.

MATERIAL E MÉTODOS

A macrófita aquática *Salvinia auriculata* foi coletada manualmente na lagoa do Campelo (localizada no interior do Rio de Janeiro) e transferida dentro de caixas plásticas com água da lagoa até o laboratório de Ciências Ambientais, onde foram cuidadosamente lavadas para retirada da comunidade periférica.

Para testar os efeitos da salinidade sobre o desenvolvimento desta macrófita, foram realizados experimentos em triplicatas em uma câmara de germinação com temperatura controlada (25°C) e fotoperíodo de 12 horas. Às unidades experimentais contendo solução nutritiva foram adicionadas 100mM e 200 mM de NaCl, 100mM e 200mM de Na₂SO₄. A análise bioquímica foi realizada após quatro dias de experimento. A peroxidação lipídica, medida como concentração de malonaldeído (MDA), é indicativo do estresse oxidativo de membrana, ocasionada por incremento na concentração de espécies reativas de oxigênio em resposta ao estresse salino.

Para avaliação da peroxidação lipídica foram pesados 0,5g de folha fresca e rizomas da macrófita que foram posteriormente macerado com 50mL de TCA 0,1%. Esse material foi transferido para tubos falcon de 15ml e centrifugado a 10000 rpm por 5 minutos. Do sobrenadante foi retirado 1mL para outro tubo falcon de 15 ml e adicionado 4ml de solução TCA 20% e TBA 05%. O tubo foi colocado em banho maria a 95°C por 30 minutos e depois resfriado rapidamente no gelo. A leitura da absorbância foi feita em 440nm, 532nm e 600nm.

A produção de osmorreguladores é amplamente conhecido como forma de minimizar os efeitos do estresse à que plantas são submetidas. Estes composto não interferem nas funções de enzimas e são constituídos principalmente por aminoácidos, como a prolina.

Assim, para a determinação de incremento na concentração de prolina como resposta ao estresse salino, foi pesado 0,3g de folha fresca e rizomas que foram posteriormente macerado com 6ml ácido sulfosalicílico 3%, em gelo. Esse material foi

transferido para tubos falcon de 15ml e centrifugado a 5000 rpm por 20 minutos. Após este procedimento foi realizada a transferência de 1 ml do sobrenadante para outro tubo falcon de 15 ml e adicionado 1ml de solução ninhidrina ácida (2,5% de ninhidrina + 60% de ácido fosfórico), 1ml de ácido acético glacial. Posteriormente o tubo falcon foi colocado em banho - maria fervente por uma hora. Após esse tempo o tubo falcon com material foi resfriado rapidamente no gelo e a leitura da absorbância realizada em 518 nm.

Para análise de pigmentos fotossintetizantes (clorofila a e b e carotenóides), 1,0 g de folhas frescas de *Salvinia auriculata* foram acondicionados em tubos tipo "falcon" (15 mL) e imersos em 5,0 ml de DMSO, os quais foram mantidos no escuro e posteriormente realizadas leituras em espectrofotômetro nas absorbâncias de 480, 649 e 665 nm (Wellburn, 1994).

RESULTADOS

A análise bioquímica após os quatro dias de experimento evidenciou o incremento na produção de prolina em plantas submetidas à NaCl. O incremento foi significativamente mais elevado em 200mM de NaCl, quando este foi de cerca de 19% em relação ao controle, quando comparado ao tratamento com 100mM de NaCl, quando o incremento foi de cerca de 15% (Controle, 100 e 200mM de NaCl, respectivamente 0,0116, 0,134 e 0,138 mgProlinag - 1 PF). Entretanto, os tratamentos com adição de Na₂SO₄ não mostraram incremento na produção de prolina.

O incremento na peroxidação lipídica, medido como concentração de malonaldeído (MDA) foi também mais evidente nos tratamentos com 100mM e 200mM de NaCl e 100mM Na₂SO₄ quando comparadas com as plantas submetidas à 200 mM Na₂SO₄ (respectivamente 44,2; 45,4; 40,2 e 26,0 nmol.g - 1 PF). O valor de MDA encontrado nas plantas submetidas à 200mM Na₂SO₄ não diferiu daquele encontrado nas plantas controle. Este fato possivelmente está relacionado à visível morte e degradação das plantas submetidas à este tratamento.

Assim, estes dados indicam que o estresse salino incrementa o estresse oxidativo nas membranas, o que afeta possivelmente a integridade e seletividades destas. Como forma de proteger as células do estresse, as plantas incrementam a produção de osmólitos (prolina). </ >

Os resultados de pigmentos corroboram o estresse salino, visto que foram encontrados menores concentrações nas plantas submetidas à maiores concentrações de sais. Ainda, as plantas submetidas à Na₂SO₄, além de apresentarem menor quantidade de clorofila a, apresentaram diminuição na razão Cla/Clob. confirmando estágio de degeneração mais avançada em relação às plantas submetidas à NaCl. A variação não significativa entre controle e plantas submetidas à NaCl, sugerem que o vegetal protege o fotossistema mesmo sob estresse salino.

CONCLUSÃO

Salvinia auriculata é mais sensível ao incremento na concentração de Na₂SO₄ em relação ao NaCl. Sob condições de salinidade utilizadas no experimento, a planta foi capaz de proteger o fotossistema quando submetidas à NaCl. Entretanto, há respostas bioquímicas evidentes ao incremento de sais, especialmente Na₂SO₄.

REFERÊNCIAS

- Barko, J. W., Adams, M. S. Clesceri, N. L.; (1986). Environmental factors and their consideration in the management of submerged aquatic vegetation: a review. *J. Aquat. Plant Manag.* 24. 1 - 10.
- Boyd, C.E. (1970). Aminoacid, protein and caloric content of vascular aquatic macrophytes. *Ecology*, 51(5):pp 902 - 906.
- Esteves, F. A. Fundamentos de limnologia. Rio de Janeiro: Interciência, FINEP, 1988. 575 p.
- Peixoto, P.H.P. *et al.*, 2005. Efeitos do flúor em folhas de plantas aquáticas de *Salvinia auriculata*. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.40, n.8, pp.727 - 734.
- Pompêo, M. L.; Moschini - Carlos, V. (2003). Macrófitas aquáticas e perífiton, aspectos ecológicos e metodológicos. São Carlos. RiMa. 134 p.
- Sculthorpe, C.D. The biology of aquatic vascular plants. London, Edward Arnold Publ., 1967.
- Wellburn, A.R. (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*.144(3):307 - 313.
- Wetzel, R. G. (1990). *Limnologia*. Fundação Calouste Gulbenkian,919. Lisboa.