



EFEITO DO PORTA-ENXERTO SOBRE A EFICIÊNCIA FOTOSINTÉTICA E PROTEÇÃO OXIDATIVA EM MUDAS DE VIDEIRA SUBMETIDAS À SALINIDADE

EFFECT OF ROOTSTOCK ON THE PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY AND OXIDATIVE PROTECTION IN VINE SEEDLINGS SUBJECTED TO SALINITY

Ramalho, TL; Amorim, TL; Barroso Neto, J; Hermínio, PJ; Ferreira-Silva, SL
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Pós-Graduação em Produção Vegetal, CEP 56.909-535, Serra Talhada/PE. Brasil. agr.thaisramalho@gmail.com; tiallaamorim@hotmail.com; barroso.neto@hotmail.com pedro.herminio@ufrpe.br; sergio.luiz@ufrpe.br

Resumo: O uso de porta-enxertos tolerantes poderia ser uma alternativa para evitar ou reduzir a perda na produtividade e amenizar o efeito negativo do estresse salino. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar o papel do porta-enxerto na eficiência fotossintética e proteção oxidativa em mudas de videiras enxertadas expostas à salinidade. Foram utilizadas mudas enxertadas da variedade BRS Vitória sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, sendo o experimento realizado em condições de casa de vegetação. Após 30 dias de crescidas as plantas foram submetidas a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias. Foram realizadas curvas dos parâmetros de trocas gasosas em resposta à crescentes luminosidades, além da mensuração das atividades das enzimas SOD, APX e POX. O sal reduziu a fotossíntese de todos as combinações de enxerto/porta-enxerto, sendo a Vit/Paulsen mais sensível às maiores concentrações salinas, e a Vit/IAC 313 a mais tolerante. A atividade da SOD e da APX para os porta-enxertos aumentou de acordo com o incremento de NaCl, exceto para o porta-enxerto IAC 313 que apresentou diminuição da SOD e da APX, podendo sugerir uma relação entre ambas, já que a SOD catalisa a dismutação do O_2^- em O_2 e H_2O_2 . Já a atividade da POX para todos os porta-enxertos foi maior de acordo com o incremento de NaCl.

Palavras-chave: *Vitis* sp., salinidade, porta-enxerto.

Introdução: A salinidade está entre os estresses abióticos mais relevantes que limitam a produção agrícola mundial (MANTRI et al., 2012). Seus efeitos nas plantas podem causar um desbalanço nutricional e diversas alterações moleculares, bioquímicas, fisiológicas e morfológicas (ELLOUZI et al., 2014). Entre os diversos parâmetros afetados, um dos primeiros a responderem aos efeitos do estresse por sais são os fisiológicos, como a redução na condutância estomática e fotossíntese (MEGGIO et al., 2014, PENELLA et al., 2016). Associado a esses distúrbios, o estresse salino pode levar ao aumento de produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), produzidas nos processos de fotossíntese, fotorrespiração e respiração, o que pode desencadear o estresse oxidativo (PENELLA et al., 2016). As principais EROs são o radical superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singleto (1O_2) (DAS & ROYCHOUDHURY, 2014). Essas, se produzidas em grandes quantidades, podem afetar as células acarretando danos as membranas celulares (peroxidação de lipídios), oxidação de proteínas, danos ao DNA e RNA, e, por fim, até a morte celular (SHARMA et al., 2012). No entanto, as plantas ativam mecanismos antioxidantes que auxiliam na diminuição dos danos impulsionados pelo estresse oxidativo, que compreendem aos componentes enzimáticos e não enzimáticos (DAS & ROYCHOUDHURY, 2014). Dos componentes enzimáticos temos a superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e peroxidase de fenóis (POX) (WHITACRE, 2016). Uma maneira favorável para evitar ou reduzir a perda do rendimento das culturas é o uso de





enxertos combinados com um porta-enxerto capaz de atenuar o efeito negativo do estresse (PENNELLA et al., 2017). O porta-enxerto pode influenciar na expressão gênica, controlando diversas respostas metabólicas, e com isso, levanta-se a hipótese de que o uso de porta-enxertos tolerantes ao estresse salino aumenta a aclimação das variedades sensíveis à salinidade. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o papel do porta-enxerto na eficiência fotossintética e proteção oxidativa em mudas de videiras enxertadas expostas à salinidade.

Metodologia: As mudas enxertadas, pela técnica da borbulhia, da variedade BRS Vitória sobre os porta-enxertos SO4, Paulsen, IAC 572 e IAC 313 (combinações de enxerto/porta-enxertos; Vitória/SO4, Vitória/Paulsen, Vitória/IAC 572 e Vitória/IAC 313) em estágio de 8-10 folhas maduras, foram crescidas em vasos de 5 litros contendo areia e vermiculita (v/v) e irrigadas a cada dois dias com solução nutritiva com força total de acordo com recomendações de Hoagland e Arnon (1950). O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, localizada nas dependências da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, PE. Após 30 dias de crescidas, as plantas foram submetidas a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias. Ao final do ensaio, foram realizadas curvas dos parâmetros de trocas gasosas em resposta ao aumento da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF), utilizando um sistema portátil de análise de gás infravermelho – IRGA (modelo LI-6400XT, LI-COR, EUA) acoplado com um fluorômetro. Os parâmetros de trocas gasosas de assimilação de CO₂ (P_n), condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO₂ (C_i) foram mensurados em resposta ao incremento da intensidade de luz, variando de 0 a 2000 μmol m⁻² s⁻¹. A partir desses parâmetros foi estimada a eficiência de carboxilação instantânea pela relação P_n/C_i. Durante as leituras foram fixados na câmara de leitura a concentração de CO₂ de 380 μmol m⁻² s⁻¹, temperatura de 28 °C, e luz azul mantida a 10% para maximizar a abertura estomática. A extração de proteína das folhas foi realizada conforme Zimmermam et al. (2006), com modificações. Amostras de folhas liofilizadas (50 mg) foram maceradas em almofariz na presença de N₂ líquido, seguido da extração em tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,5, contendo alguns aditivos a depender do ensaio enzimático a ser realizado, como o ácido etilenodiamino tetra-acético - EDTA 1 mM, diclorodifeniltricloroetano - DDT 5 mM, polivinilpirrolidona - PVPP 1% e polietilenoglicol - PEG 2%. O extrato foi centrifugado a 14.000 g em temperatura de 4 °C durante 30 min. As atividades enzimáticas de superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), peroxidase de fenóis (POX) foram determinadas conforme Gianopolitis e Ries (1977), Nakano e Asada (1981), e Kar e Mishra (1976), respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, quando diferentes, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com o auxílio da ferramenta R (R Development Core Team - 2010).

Resultados e Discussão: As curvas de P_n em resposta às crescentes luminosidades nas plantas de controle (0 de NaCl) em todas as combinações apresentaram pontos de saturação de luz próximos a 1000 μmol m⁻² s⁻¹, com taxas máximas de assimilação de CO₂ para as combinações Vit/IAC 313, Vit/IAC 572, Vit/SO4 e Vit/Paulsen de 12,27; 11,45; 11,70 e 15,25 μmol m⁻² s⁻¹, respectivamente (Figura 1B). Ao serem tratadas com NaCl a 80 mM, o ponto de saturação de luz foi de aproximadamente 700 a 800 μmol m⁻² s⁻¹ e as taxas máximas de assimilação de CO₂ diminuíram para 6,88 (Vit/IAC 313), 6,47 (Vit/IAC 572), 5,21 (Vit/SO4) e 4,97 (Vit/Paulsen). Essas respostas indicam que a combinação Vit/Paulsen é a mais eficiente sob alta luminosidade e condições normais, porém na presença de NaCl a 80 mM sofre uma maior redução no desempenho fotossintético, de quase 68%. A combinação que mostrou uma melhor eficiência nessa condição foi a Vit/IAC



313, que teve uma redução de 45%. Nas plantas de controle (ausência de NaCl), a condutância estomática (g.) aumentou de forma contínua em resposta à crescente luz e a combinação que apresentou o maior aumento foi a Vit/Paulsen. Enquanto que em plantas submetidas ao tratamento salino a condutância estomática parece não responder tanto às crescentes luminosidades, pois apesar da abertura estomática ser estimulada, foi realizada numa proporção bem inferior do que as plantas de controle (Figura 1C). Nas combinações Vit/IAC 313, Vit/IAC 572, Vit/SO4, os tratamentos de NaCl a 80 mM apresentaram uma redução na g_s de aproximadamente 3 vezes menos que os seus respectivos controles. Na Vit/Paulsen essa redução foi ainda maior que nas demais combinações. A concentração intercelular de CO_2 diminuiu em todas as combinações e para todos os níveis de NaCl no intervalo de luz entre 0 a $200 \mu mol m^{-2} s^{-1}$, a partir disso as plantas mantiveram-se estáveis, sendo as plantas de controle sempre com maiores valores do que as que receberam o tratamento salino (Figura 1A). Na ausência do sal a combinação Vit/Paulsen apresentou uma maior concentração, porém ao aplicar o tratamento salino essa combinação mostrou uma instabilidade, apresentando uma menor concentração intercelular de CO_2 , juntamente com a Vit/IAC 313. O aumento da luz aumentou a eficiência de carboxilação instantânea, com um ponto de saturação em torno de 700 a $800 \mu mol m^{-2} s^{-1}$. Em plantas cultivadas na ausência do NaCl, a eficiência de carboxilação (Figura 1D) foi evidentemente maior que as plantas estressadas, tendo a Vit/Paulsen o melhor desempenho. Com a aplicação do tratamento salino, a combinação Vit/IAC 313 mostrou-se mais eficiente, em relação a demais, sendo a eficiência da Vit/ Paulsen reduzida em 59,69% quando comparada ao controle.

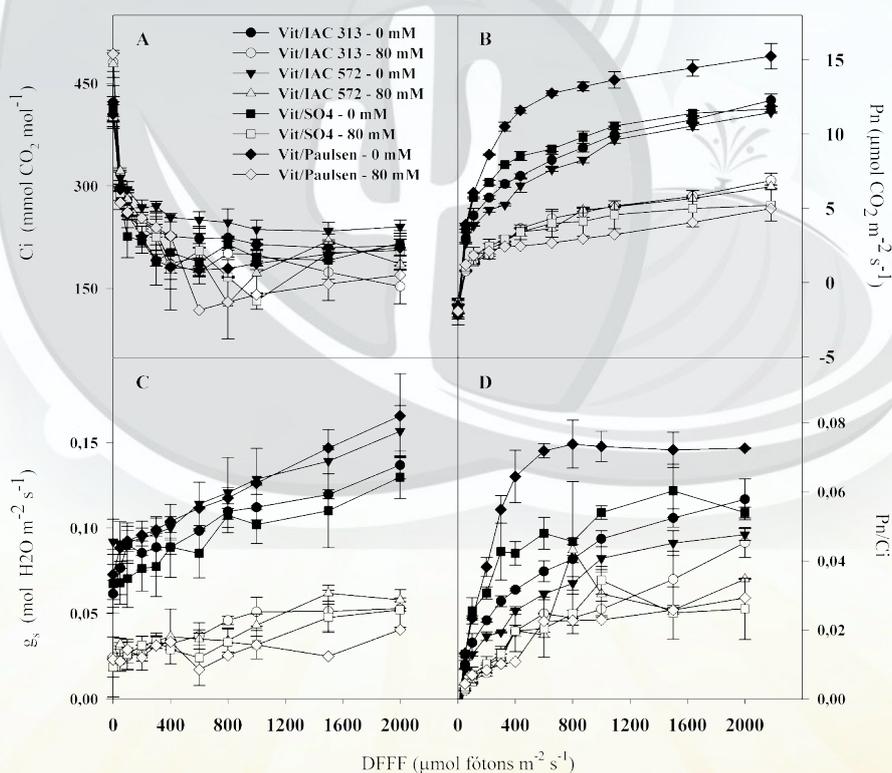


Figura 1. Concentração intercelular de CO_2 (A), assimilação líquida de CO_2 (B), condutância estomática (C) e eficiência de carboxilação instantânea (E) em resposta ao aumento da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos ($\mu mol \text{ fótons } m^{-2} s^{-1}$) em mudas enxertadas de videira BRS Vitória sobre os porta-enxertos IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação.





III SIMPÓSIO NACIONAL DE PRODUÇÃO VEGETAL

A atividade da SOD no porta-enxerto IAC 313 diminuiu de acordo com o aumento da concentração de NaCl (Figura 2^a) e as combinações com os porta-enxertos IAC 572, SO4 e Paulsen apresentaram um aumento, o que pode estar relacionado com o aumento de O_2^- nestas últimas provocado pela adição de sais (SILVA et al., 2017). A enzima peroxidase de ascorbato (APX) é um componente relevante do sistema antioxidante, o qual catalisa a transformação de H_2O_2 em H_2O e O_2 (DEUNER et al., 2008). Para IAC 313 a atividade da APX também regrediu com o aumento da salinidade (Figura 2B), podendo sugerir uma relação com a atividade da SOD, pois o produto da dismutação de O_2^- , o H_2O_2 , foi menos gerado. Para IAC 572 e SO4 a atividade da APX teve um incremento à medida que salinidade aumentava (Figura 2B), o que pode estar relacionado com o alto acúmulo de H_2O_2 intercelular por efeito de estresse salino. Apenas a Paulsen que na concentração de NaCl 40 mM apresentou maior nível de atividade (Figura 2B), entretanto não sendo significativo ($p < 0,05$). A peroxidase de fenóis (POX) catalisa reações oxidativas utilizando peróxido como substrato, podendo também em certas situações, utilizar o oxigênio como um aceptor de hidrogênio (FREITAS et al., 2008). A atividade da POX para todos os porta-enxertos aumentou de acordo com o incremento de NaCl (Figura 2C), no entanto SO4 e Paulsen apresentaram maiores níveis da atividade de POX em concentrações 40 mM (Figura 2C) diferindo significativamente entre os níveis de salinidade e entre as combinações ($p < 0,05$). Esse aumento indica maior eliminação de H_2O_2 que foi gerado ao longo do estresse por salinidade (KHAN & PANDA, 2008).

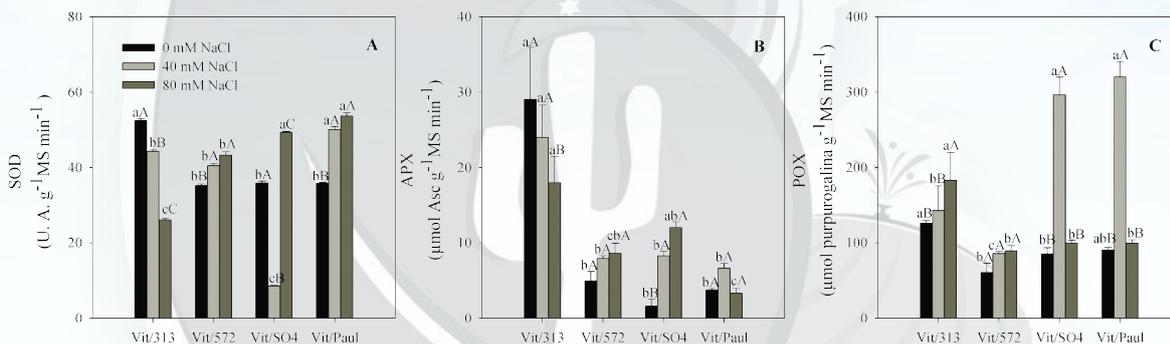


Figura 2. Atividade das enzimas dismutase do superóxido (A), peroxidase do ascorbato (B) e peroxidase de fenóis (C) em folha de plantas enxertadas de videira utilizando enxertos da variedade BRS Vitória enxertados sobre os porta-enxertos, IAC 313, IAC 572, SO4 e Paulsen, submetidos a concentrações crescentes de NaCl (0, 40 e 80 mM) durante 15 dias, em condições de casa de vegetação. Os valores são médias de três repetições \pm desvio padrão. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas entre as combinações no mesmo nível de salinidade e maiúsculas entre as concentrações salinas dentro de cada cultivar não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Conclusão: A combinação Vit/Pausen apresentou uma maior Pn associada a melhor abertura estomática e eficiência de carboxilação quando cultivada na ausência de salinidade, indicando efeito do tipo de porta-enxerto (Pausen) na eficiência fotossintética. A salinidade reduziu a Pn nas três combinações de enxerto/porta-enxerto, porém com menor intensidade na combinação Vit/IAC 313 o que indica o efeito desse porta-enxerto (IAC 313) na melhoria da Pn nas mudas sob salinidade. A atividade das enzimas SOD e APX foi reduzida pela salinidade nas folhas das mudas com porta-enxertos IAC 313, porém foi induzida nas demais combinações, enquanto a atividade da POD foi estimulada em todas combinações pela salinidade. Os dados



mostram que tipo de porta-enxerto pode modular os processos de assimilação de carbono e proteção oxidativa em plantas de videira na ausência e presença de salinidade.

Agradecimentos: à UFRPE, ao CNPq, e à FACEPE.

Referências

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53, 2014.

DEUNER, S.; et al. Peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico influenciando a atividade de enzimas antioxidantes de mudas de cafeeiro. **Revista Ceres**, v. 55, n. 2, 2008.

ELLOUZI, H.; et al. A comparative study of the early osmotic, ionic, redox and hormonal signaling response in leaves and roots of two halophytes and a glycophyte to salinity. **Planta**, v. 240, n. 6, p. 1299-1317, 2014.

FREITAS, A.; et al. Effect of peroxidase (POD) and polyphenoloxidase enzymes (PPO) on Benitaka and Rubi grape cultivars and on products processed in the form of juice and jelly. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008.

GIANOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. **Superoxide dismutases: I.** Occurrence in Higher, 1977.

HOAGLAND, D. R.; et al. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station, v. 347, n. 2nd edit, 1950.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

KHAN, M. H.; PANDA, S. K. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. **Acta Physiologia e Plantarum**, v. 30, n. 1, p. 81, 2008.

MANTRI, N.; et al. Abiotic stress responses in plants: present and future. In: Abiotic stress responses in plants. Springer, New York, NY, 2012. p. 1-19.

MEGGIO, F.; et al. Biochemical and physiological responses of two grapevine rootstock genotypes to drought and salt treatments. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 20, n. 2, p. 310-323, 2014.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

PENELLA, C.; et al. Salt-tolerant rootstock increases yield of pepper under salinity through maintenance of photosynthetic performance and sinks strength. **Journal of plant physiology**, v. 193, p. 1-11, 2016.

SHARMA, P.; et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, 2012.

SILVA, B. E. P.; et al. Estresse oxidativo em plantas de aveia branca submetidas à salinidade. 14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa, p. 1680-1694, 2017.





contato@sinprovs.com.br
WWW.SINPROVS.COM.BR
(83) 3322-3222

III SINPROVS
III SIMPÓSIO NACIONAL DE ESTUDOS PARA
PRODUÇÃO VEGETAL NO SEMIÁRIDO

WHITACRE, D.M. (Ed.). **Reviews of environmental contamination and toxicology.**
Springer, 2016.

ZIMMERMANN, G.; et al. The multigene family encoding germin-like proteins of barley.
Regulation and function in basal host resistance. **Plant Physiology**, v. 142, n. 1, p. 181-192,
2006.

