

Efeito do Estresse Salino no Desenvolvimento *In Vitro* de Plântulas de Milho

Ana Gorete Campos de Azevedo¹, Tatiana Nascimento Silva², Ana da Silva Léo³

Resumo

Este trabalho teve por objetivo estudar o crescimento inicial de genótipos de milho cultivados *in vitro*, bem como identificar as variáveis que melhor expressem a tolerância à salinidade. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. Foram utilizadas sementes de cinco diferentes cultivares de milho, cultivadas em seis concentrações de NaCl: 0, 25, 50, 75, 100 e 125 mM. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 5 X 6 (cinco genótipos de milho e seis níveis de salinidade no meio MS). A germinação das sementes foi influenciada pelas concentrações de NaCl. O comprimento da parte aérea e do sistema radicular foi influenciado pela presença de NaCl. O número de raízes das plântulas não foi influenciado pelas diferentes concentrações de NaCl.

Palavras-chave: estresse salino, *Zea Mays* L., tolerância, salinidade.

¹ Engenheira-agrônoma, pós-graduanda UFS/PROBIOTEC, anagorete@ymail.com.

² Engenheira-agrônoma, pós-graduanda UFS/NEREN, tatyaloou@hotmail.com.

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, ana.ledo@embrapa.br.

Introdução

As plantas estão constantemente expostas a estresses abióticos e dentre eles o estresse salino é um dos que mais comprometem o crescimento e a produtividade das culturas em todo o mundo (VAIDYANATHAN et al., 2003; VEERANAGAMALLAIAH et al., 2007; ISLÃ; ARAGUÉS, 2010). O excesso de sais ocasionados por esse tipo de estresse pode perturbar as funções fisiológicas e bioquímicas das plantas resultando em distúrbios nas relações hídricas e alterações na absorção e na utilização de nutrientes essenciais para as plantas (AMORIM et al., 2010), retardando seu crescimento e reduzindo a produção.

A disponibilidade de nutrientes para as plantas em ambientes salinos é afetada por muitos fatores no ambiente solo - planta. O pH do solo influencia na disponibilidade dos nutrientes, a concentração e as relações entre os elementos podem influenciar a absorção e o transporte, em particular, de um nutriente e indiretamente pode afetar a absorção e a translocação de outros (GRATTAN; LAMENTA, 1994).

As concentrações de sais que restringem o crescimento e manifestam os efeitos tóxicos nas plantas dependem do grau de resistência à salinidade da espécie, bem como do tempo de exposição, do estágio de desenvolvimento e tipo de sal utilizado (FERREIRA; REBOUÇAS, 1992). Em ambientes salinos, o NaCl é o sal predominante e o que causa maiores danos à planta. Os efeitos sobre a nutrição mineral são decorrentes, principalmente, da toxicidade dos íons em razão da absorção excessiva do Na^+ e Cl^- , e do desequilíbrio nutricional causado pelos distúrbios na absorção ou distribuição dos nutrientes (YAHYA, 1998). O excesso de Na^+ e, sobretudo, um excesso de Cl^- no protoplasma ocasionam distúrbios em relação ao balanço iônico (K^+ e Ca^{2+} em relação ao Na^+), bem como os efeitos específicos destes íons sobre as enzimas e membranas (FLORES, 1990).

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta de ciclo anual, pertencente à família gramineae, que apresenta baixo ponto de compensação de CO_2 , alta taxa

fotossintética e baixo consumo de água para a formação de matéria fresca (AZEVEDO NETO; TABOSA, 2000). Essa cultura possui elevado potencial produtivo e acentuada habilidade fisiológica na conversão de carbono mineral em compostos orgânicos, os quais são translocados das folhas e de outros tecidos fotossinteticamente ativos para locais onde serão estocados ou metabolizados. Além disso, apresenta pequena plasticidade foliar, reduzida prolificidade e baixa capacidade de compensação efetiva (ANDRADE, 1995; FANCELLI; DOURADO-NETO, 1997).

Este trabalho teve por objetivo estudar o crescimento inicial de genótipos de milho cultivados *in vitro*, bem como identificar as variáveis que melhor expressem a tolerância à salinidade.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. Foram utilizadas sementes de cinco diferentes cultivares de milho, cultivadas em seis concentrações de NaCl: 0, 25, 50, 75, 100 e 125 mM.

Após a lavagem em água corrente, as sementes foram submetidas à assepsia em câmara de fluxo laminar com imersão em álcool 70 % por 30 segundos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio 2 % por 20 minutos sob agitação, sendo então lavadas em água estéril por três vezes. O meio de cultura utilizado foi o MS, acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e gelificado com 6,5 g.L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado para 5,8 ± 0,1 e submetido a autoclavagem. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 12 horas de luz.

Após 30 dias as variáveis avaliadas foram porcentagem de germinação (%), altura da parte aérea (cm), comprimento (cm) e número de raízes e viabilidade de acordo com a escala de notas (5: folhas totalmente verdes; 4: início do secamento e morte das folhas; 3: entre 30 e 50% das folhas e brotos mortos; 2:

mais de 50% das folhas mortas e mais de dois brotos vivos e 1: folhas e brotos totalmente mortos).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 5 X 6 (cinco genótipos de milho e seis níveis de salinidade no meio MS). As médias das variáveis foram submetidas à análise de variância pelo teste F, as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Não houve efeito significativo das cultivares, das concentrações de NaCl e interação dos fatores na porcentagem de germinação das sementes de milho (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de germinação de cultivares de milho em diferentes concentrações de NaCl.

Cultivar	NaCl (mM)						Médias
	0	25	50	75	100	125	
A	83,33	33,33	66,66	66,66	100	33,33	63,88A
B	33,33	50	66,66	83,33	83,33	83,33	66,66A
C	83,33	50	83,33	83,33	50	50	66,66A
D	83,33	66,66	50	50	83,33	100	72,22A
E	100	66,66	83,33	50	33,33	33,33	61,11A
Médias	76,66a	53,33a	70,00a	66,66a	70,00a	60a	

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Bonferroni ($P < 0,05$).

Houve efeito significativo da concentração de NaCl no comprimento da parte aérea. Na ausência do NaCl foi observada a maior média e na maior concentração do sal observou-se a menor média de comprimento da parte aérea (Tabela 2). Não houve diferenças significativas entre as cultivares e interação dos dois fatores estudados.

Tabela 2. Comprimento da parte aérea (cm) de cultivares de milho em diferentes concentrações de NaCl.

Cultivar	NaCl (mM)						Médias
	0	25	50	75	100	125	
A	20	4,33	20	12,66	26,08	13	16,01A
B	13	10,83	17,9	17,58	17,83	17,16	15,72A
C	27,16	10,58	16,83	17,08	9,33	8,16	14,86A
D	23,9	17,66	9,58	13,83	17,83	19	16,87A
E	25,75	17,83	22,16	12,66	9,33	6,16	15,65A
Médias	21,96a	12,25b	17,30ab	14,76ab	15,96ab	12,70b	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Para o comprimento do sistema radicular houve efeito significativo da concentração de NaCl (Tabela 3). Na ausência do sal foi observada maior média e na maior concentração observou-se menor média de comprimento da parte aérea (Tabela 3).

Tabela 3. Comprimento de raiz (cm) de cultivares de milho em diferentes concentrações de NaCl.

Cultivar	NaCl (mM)						Médias
	0	25	50	75	100	125	
A	12,5	2,16	13,5	9,33	14,83a	8,16	10,08A
B	8,16	5,33	9,58	8,5	7,91ab	8,66	8,02A
C	14,66	5	9,08	8,58	5,75b	4,16	7,87A
D	12,33	7,66	5,58	5,91	7,83ab	9,75	8,18A
E	11,33	8	12,66	6,5	6,16ab	3,5	8,02A
Médias	11,8a	5,63c	10,08ac	7,76abc	8,5abc	6,85ab	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Não houve diferença estatística entre as diferentes concentrações de NaCl, as cultivares e interação dos dois fatores para o número de raízes (Tabela 4).

Tabela 4. Número de raízes de cultivares de milho em diferentes concentrações de NaCl.

Cultivar	NaCl (mM)						Médias
	0	25	50	75	100	125	
A	4,83	0,25	5,66	3,83	6,16	3,33	4,01A
B	3,33	2,66	5	4,66	4,83	6,83	4,55A
C	6,16	3,33	6,33	5,83	4,5	2,83	4,83A
D	5,83	4,16	2,83	3,16	4,5	4,83	4,22A
E	7,5	4,66	6,66	4,16	4,16	2,83	5A
Médias	5,53a	3,01a	5,3a	4,33a	4,83a	4,13a	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Quanto a viabilidade, não houve diferença significativa entre as cultivares em todas as concentrações de NaCl (Tabela 5).

Tabela 5. Médias de viabilidade de plântulas germinadas *in vitro* em função de diferentes concentrações de NaCl.

NaCl (mM)	Médias
0	2,4A
25	1,63A
50	2,46A
75	1,93A
100	2,5A
125	2,8A

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Uma das explicações mais aceitas para a inibição do crescimento pelo sal é o desvio de energia do crescimento para a manutenção, isto é, a redução na massa seca pode refletir o custo metabólico de energia, associado à adaptação à salinidade e redução no ganho de carbono (RICHARDSON; MCCREE, 1985).

Conclusões

A germinação das sementes foi influenciada pelas concentrações de NaCl. O comprimento da parte aérea e do sistema radicular foi influenciado pela presença de NaCl. O número de raízes das plântulas não foi influenciado pelas diferentes concentrações de NaCl.

Referências Bibliográficas

GRATTAN, S.R., LAMENTA, M. 1994. Mineral nutrient acquisition and response by plants grown in saline environments. In: Pessaraki, M. (Ed.), **Handbook of plant and crop stress**. New York, Marcel Dekker, p. 203-226.

ANDRADE, F.H. Analysis of growth and yield of maize, sunflower and soybean grown at Balcarce, Argentina. **Field Crops Research**, v.41, n.1, p.1-12, 1995.

AZEVEDO NETO, A. D.; TABOSA, J. N. Estresse salino em plântulas de milho: Parte I análise do crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, p.159-164, 2000.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. **Tecnologia da produção de milho**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. 174p.

VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARTY, R.; THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) – differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, v.165, p.1411-1418, 2003.

VEERANAGAMALLAIAH, G.; CHANDRAOBULREDDY, P.; JYOTHSNAKUMARI, G.; SUDHAKAR, C. Glutamine synthetase expression and pyrroline-5-carboxylate reductase activity influence proline accumulation in two cultivars of foxtail millet (*Setaria italic* L.) with differential salt sensitivity. **Environmental and Experimental Botany**, v.60, p.239-244, 2007.

ISLÃ, R.; ARAGUÉS, R. Yield and plant ion concentrations in maize (*Zea mays* L.) subject to diurnal and nocturnal saline sprinkler irrigations. **Field Crops Research**, v.116, p.175-183, 2010.

AMORIM, A.V.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; PRISCO, J.T.; LACERDA, C.F. Respostas fisiológicas de plantas adultas de cajueiro anão precoce à salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, p.113-121, 2010.

FERREIRA, L.G.R.; REBOUÇAS, M.A.A. Influência da hidratação/desidratação de sementes de algodão na superação de efeitos da salinidade na germinação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.4, p.609-615, 1992.

YAHYA, A. Salinity effects of growth and uptake and distribution on sodium and some essential mineral nutrients in sesame. **Journal of Plant Nutrition**, v.21, n.2, p. 1439-1451. 1998.

FLORES, H.E. Polyamines and plant stress In: LASCHER, R.G.; CUMMING, J.R. **Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms**. New York, p.217-39. 1990.

RICHARDSON, S.G.; McCREE, K.J. Carbon balance and water relations of sorghum exposed to salt and water stress. **Plant Physiology**, v.79, 1015-1020. 1985.