

ASPECTOS CITOMORFOLÓGICOS DO ESTRESSE SALINO EM PLÂNTULAS DE ARROZ (*ORYZA SATIVA* L.)

J. Marcondes¹; A.B. Garcia²

¹Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Tecnologia, Laboratório de Bioquímica de Micro-organismos e Plantas, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/nº, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: jackson@fcav.unesp.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo citomorfológico em plantas de arroz submetidas ao estresse salino (170 mM NaCl). Os efeitos da salinidade nas estruturas celulares foram analisados por meio de microscopia óptica e eletrônica de transmissão. Um processo de diferenciação precoce pôde ser observado na planta estressada, porém, o efeito deletério mais drástico foi encontrado nas membranas tilacóides dos cloroplastos. Estes resultados permitiram correlacionar o acúmulo de íons sódio, descritos na literatura, com os efeitos citomorfológicos do estresse salino em tecidos maduros de arroz.

PALAVRAS-CHAVE: *Oryza sativa* L., salinidade, cloroplasto.

ABSTRACT

CYTOMORPHOLOGIC ASPECTS OF SALINE STRESS ON RICE (*ORYZA SATIVA* L.) SEEDLINGS. The goal of this work was to perform a cytomorphologic study of rice plants upon salt stress (170 mM NaCl). The effects of salinity on cell structures were analyzed by optical and electron transmission microscopy. An early differentiation process could be observed in stressed plants, however the most striking deleterious effect was found in the thylacoid membranes of chloroplasts. These results indicate a correlation between the previously described accumulation of sodium and the cytomorphological changes in chloroplasts of mature tissues of rice plants.

KEY WORDS: *Oryza sativa* L., salinity, chloroplast.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma planta da família *Gramineae*, monocotiledônea da ordem *Glumifloreae*. A duração do desenvolvimento da planta de semente a semente varia de 80 a 280 dias, dependendo da variedade. Este cereal apresenta considerável valor econômico, sendo o seu grão importante base alimentícia humana e animal. Os maiores produtores mundiais são China, Índia e Indonésia. No Brasil, o maior produtor nacional é o Rio Grande do Sul (6,43 milhões de toneladas), participando com 54,7% da produção e com 32,4% da área cultivada, durante a safra 2005/2006 segundo a CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABATECIMENTO, 2006).

A maioria das culturas de arroz irrigado nas regiões tropicais e subtropicais ocorre em terras baixas, em solos alagados do tipo várzea. Um efeito de toxicidade

importante para o arroz é a salinidade, decorrente da utilização de fontes de água de má qualidade para irrigação. A concentração de sais no solo aumenta gradativamente, devido à contínua evaporação da água e sistemas inadequados de drenagem, característica própria deste tipo de solo (SERRANO, 1996). Quando expostas aos ambientes salinos, as plantas confrontam-se inicialmente com dois problemas: o efeito tóxico específico dos íons em excesso; e o déficit hídrico que acompanha o estresse salino causando uma reduzida disponibilidade de água para a planta, uma vez que os sais dissolvidos reduzem o potencial hídrico no solo (AZAIZEH; STEUDLE, 1991).

O arroz é um exemplo de planta glicófita, apresentando tolerância à salinidade variável de acordo com a variedade ou cultivar. As respostas do arroz à salinidade moderada (50-100 mM NaCl) começam com implicações patológicas, em curto prazo, que

²Universidade Estadual do Norte Fluminense, Centro de Biotecnologia e Biotecnologia, Laboratório de Biotecnologia, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

culminam em efeitos catastróficos em longo prazo. Observou-se o estabelecimento de um gradiente de concentração de íons entre folhas jovens e maduras, onde uma maior concentração foi encontrada em bainhas e lâminas foliares mais velhas quando comparadas às mais jovens. Este gradiente é provavelmente uma forma de manter uma relação razoável entre as folhas em iniciação, com potencial fotossintético adequado para a planta, e as folhas com longevidade reduzida, e destinadas à morte (YEO; FLOWERS, 1982; YEO *et al.*, 1991).

Sob condições de estresse salino, as plantas de arroz acumulam vários osmólitos compatíveis como, por exemplo, sacarose, glicose, frutose, inositol, citrato, malato, ascorbato, salicilato e prolina. Além do aumento nos níveis endógenos destes osmoprotetores, observou-se que, para alguns deles, a aplicação exógena contribui para diminuir os efeitos deletérios causados pelo excesso de sais. Os solutos orgânicos podem concentrar-se distintamente em diferentes partes da planta, e cada um deles apresentar um efeito fisiológico diferente, ou seja, enquanto alguns podem proteger enzimas e estruturas orgão-específicas, outros podem contribuir para o balanço osmótico parcial da planta evitando o acúmulo de solutos inorgânicos (GARCIA *et al.*, 1997).

A fotossíntese é inibida quando altas concentrações de sódio, potássio ou cloreto acumulam-se nas folhas, com concomitante degradação e perda de clorofila. Tanto NaCl como KCl aceleram o processo de senescência foliar e aumentam a síntese de endoproteínases responsáveis pela degradação de ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). Outro fator responsável pela perda de clorofila e degradação de Rubisco pode incluir o rompimento da integridade das membranas. Nos cloroplastos isto acarretaria a liberação de seu conteúdo para o citosol, enquanto no vacúolo isto levaria a liberação de mais enzimas proteolíticas. A redução da fotossíntese durante o estresse salino deve-se primariamente às respostas bioquímicas, seguidas pela resposta estomática (KANG; TITUS, 1989; BETHKE; DREW, 1992; GARCIA *et al.*, 1997).

Em concentrações altas, os íons inibem fortemente muitas reações metabólicas e afetam a estrutura e permeabilidade da membrana plasmática alterando suas propriedades e funções. O estresse salino gera o estresse oxidativo, inibindo a atividade de enzimas antioxidantes envolvidas no metabolismo do oxigênio, e propiciando o acúmulo de radicais livres na célula. As espécies citotóxicas de oxigênio são altamente reativas e podem causar danos a lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (DIONISIO-SESE; TOBITA, 1998).

A restauração de solos contaminados por sais requer técnicas que envolvem desde drenagem pro-

funda à utilização de aditivos químicos. No entanto, tais técnicas são dispendiosas e nem sempre surtem efeitos. Uma solução para o problema seria a introdução de variedades com tolerância à salinidade elevada (ALPASLAN *et al.*, 1999). Algumas linhas de pesquisas defendem mecanismos particulares de tolerância à salinidade, em oposição a outros, como sendo alvo no melhoramento de espécies agronomicamente importantes. No entanto, para discriminar entre as vantagens da compartimentalização ou da exclusão de sais, ambos devem ser extensivamente estudados para a posterior escolha do mais apropriado segundo as características bioquímicas e fisiológicas de cada espécie.

Considerando os diversos efeitos tóxicos do NaCl em plantas, o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo citomorfológico de plantas de arroz submetidas ao estresse salino, por meio de microscopia óptica e microscopia eletrônica de transmissão.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e cultivo

As sementes de arroz (*Oryza sativa* L., cv. IAC-4440) foram germinadas em vermiculita embebida com solução nutritiva, descrita por YOSHIDA *et al.* (1976). Após 15 dias, as plantas foram transferidas para cultura hidropônica composta da solução nutritiva citada acima. A partir de quatro semanas de germinação, a condição de estresse foi estabelecida em potes fechados, à temperatura ambiente, tratando-se as plantas com 170 mM NaCl acrescido à solução nutritiva fresca. A duração do estresse foi de 48 horas.

Preparo de amostras para observação através de microscopia óptica e eletrônica de transmissão

As amostras para microscopia foram preparadas baseando-se nas técnicas descritas por BOZZOLA; RUSSEL (1999). As secções transversais foram obtidas a partir da parte superior da lâmina foliar da primeira folha (folha mais madura), porção basal da bainha foliar e região pilífera da raiz, tanto de plantas controle como de estressadas. O material vegetal foi fixado por imersão em solução aquosa composta por 2,5% de glutaraldeído, 4% de paraformaldeído em 75 mM de tampão cacodilato de sódio (pH 7,2), durante 2 horas sob vácuo, à temperatura ambiente. Após lavagem do material, procedeu-se a pós-fixação em 1% de tetróxido de ósmio no mesmo tampão, durante 2 horas. Após lavagem com tampão, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de acetona (50-100%) e infiltradas sucessivamente em resina Epon (Polyscience), diluída em acetona, até a inclusão em

Epon puro. Após incubação a 60° C por 48 horas, os blocos resultantes foram piramidados e seccionados em ultramicrotomo (Ultracut S Reichert) usando-se faca de diamante (Diatome). Cortes semifinos de 0,4 µm foram coletados em lâmina de vidro e corados com solução 1% de azul de toluidina (Sigma) e 1% de Borax (Sigma), durante 10 minutos, para visualização em microscópio óptico (Axiolan-Zeiss). Cortes ultrafinos de 60 nm foram coletados em grades de níquel de 400 mesh (Sigma) e foram contrastados em 5% de acetato de uranila, 20 minutos, e citrato de chumbo, 4 minutos. As secções foram secas ao ar para visualização em microscópio eletrônico de transmissão EM 900 (Zeiss).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

IAC 4440 é uma cultivar do grupo de plantas de arroz adaptadas ao cultivo irrigado, com porte baixo, folhas estreitas e eretas, elevado perfilhamento e alto potencial produtivo (USBERTI-FILHO *et al.*, 1996). Sob as condições experimentais vigentes neste trabalho, a planta apresentou ciclo de duração curto com sintomas visíveis do efeito da salinidade.

Os cortes transversais de raiz apresentam células epidérmicas com paredes celulares finas, constituindo uma monocamada. Abaixo da epiderme, observa-se uma camada de células de parede celular espessa que consiste na exoderme. Grandes espaços intercelulares, que se desenvolvem para formar o aerênquima, são observados no córtex. A camada mais interna que limita o córtex radicular é formada pela endoderme (Fig. 1).

O cilindro vascular, ou estelo, ocupa a porção central da raiz, sendo rodeado pela endoderme e pelo periciclo. As células do periciclo são mais largas quando opostas ao floema e mais estreitas quando adjacentes ao xilema. Os elementos traqueais da raiz, xilema e floema aparecem distribuídos da seguinte maneira: o protoxilema e protofloema ocupando uma posição mais externa no cilindro e mais próxima ao periciclo; enquanto o metaxilema e metafloema encontram-se mais próximos ao eixo da raiz. O grande vaso no centro da raiz é o metaxilema, rodeado por seis conjuntos de vasos menores que compõem o protoxilema. Os feixes de proto e metafloema estão distribuídos entre os vasos de metaxilema no cilindro vascular (Fig. 1).

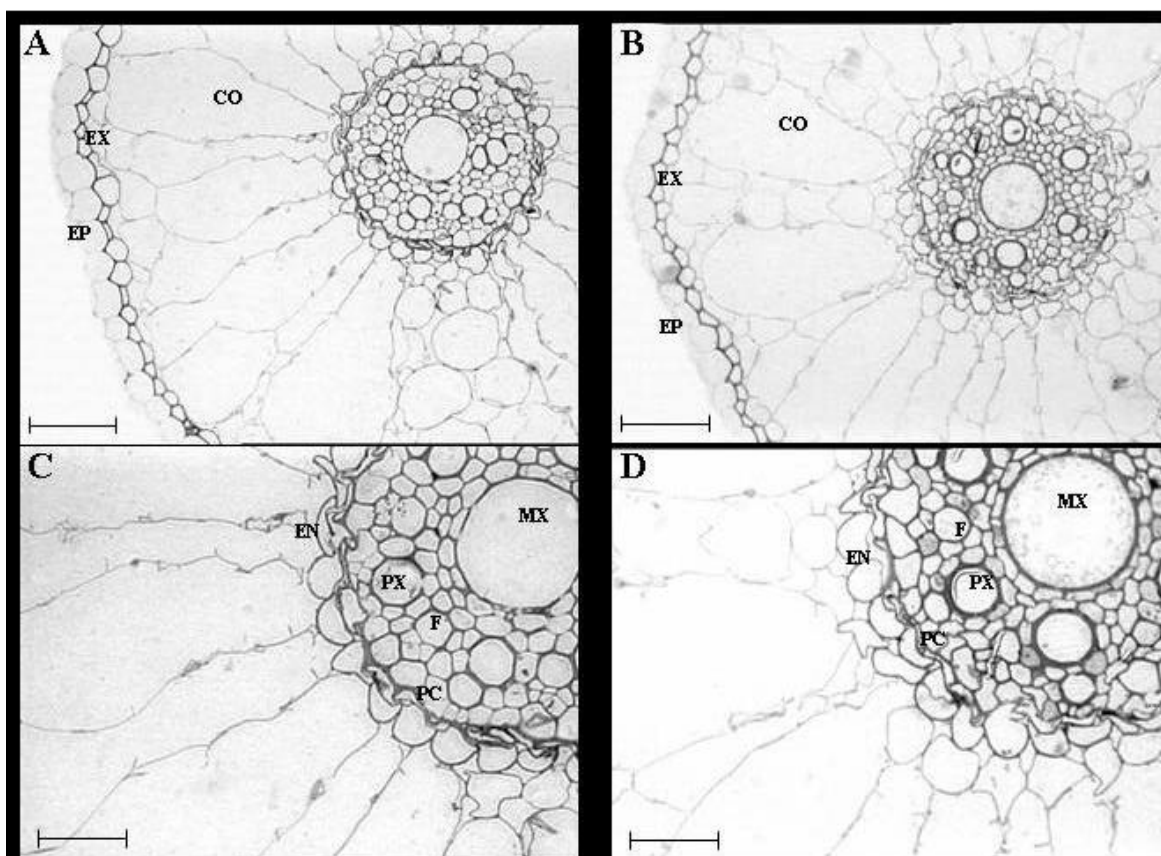


Fig. 1 - Micrografias ópticas de seções transversais de raiz de arroz IAC-4440 evidenciando as alterações no cilindro vascular na planta estressada. (A) e (C) Planta controle; (B) e (D) Planta tratada com 170 mM NaCl. (A) e (B) Barra: 50 µm. (C) e (D) Barra: 25 µm EP - Epiderme; EX - Exoderme; CO - Córtex; F - Floema; PX - Protoxilema; MX - Metaxilema; EN - Endoderme; PC - Periciclo.

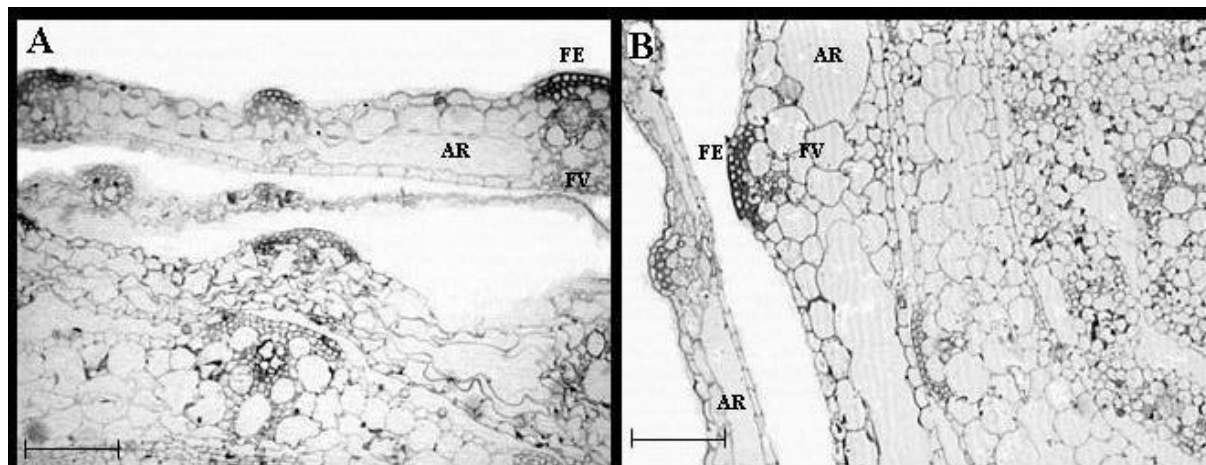


Fig. 2 - Micrografias ópticas de secções transversais de bainha foliar de arroz IAC-4440. (A) Planta controle; (B) Planta tratada com 170 mM NaCl. Barra: 50 μ m. AR - Aerenquima; FE - Fibras esclerenquimáticas; FV - Feixe vascular.

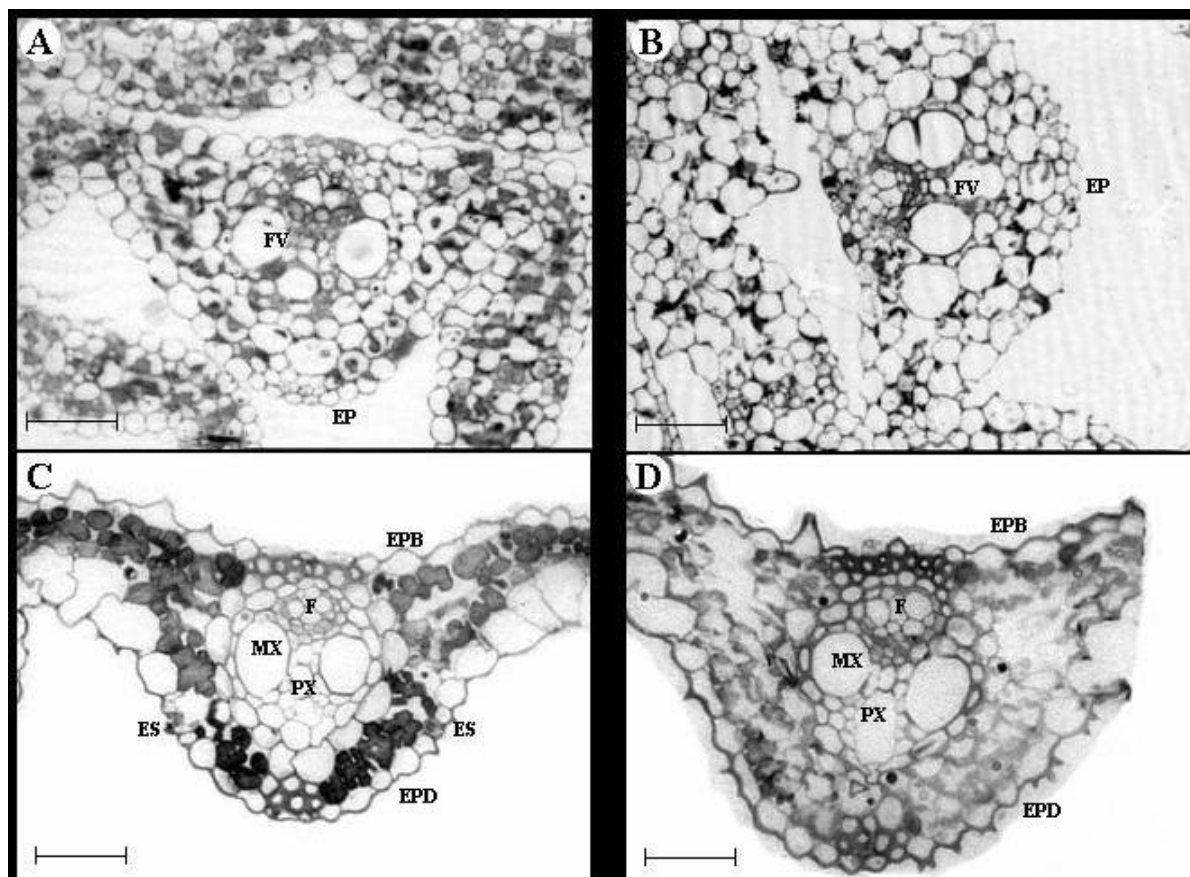


Fig. 3 - Micrografias ópticas de secções transversais de bainha e lâmina foliar de arroz IAC-4440. (A) Bainha foliar de planta controle; (B) Bainha foliar de planta tratada com 170 mM NaCl. (C) Lâmina foliar de planta controle; (D) Lâmina foliar de planta tratada com 170 mM NaCl. Barra: 25 μ m. EP - Epiderme; FV - Feixe Vascular; EPD - Epiderme adaxial; EPB - Epiderme abaxial; ES - Estômato; F - Floema; PX - Protoxilema; MS - Metaxilema.

Nas raízes tratadas com 170 mM NaCl, o cilindro vascular foi o local onde a principal diferença pôde ser observada (Figs. 1 B e D). As células do cilindro vascular apresentam-se com menores dimensões e parede celulares mais espessas. Nota-se,

também, um espessamento nas paredes dos vasos proto e metaxilemáticos. Alterações no diâmetro total do cilindro vascular e no diâmetro dos vasos individuais aparentemente não foram observadas (Fig. 1).

Plantas de arroz com um mês de idade não se encontram completamente maduras, de forma que as características histológicas da bainha e lâmina foliar são praticamente as mesmas. Neste caso, os mesmos tipos de parênquimas fotossintético e não fotossintético são encontrados em bainha e lâmina foliar (Figs. 2 e 3).

Na região basal da bainha foliar, próximo à raiz, observam-se grandes espaços no mesófilo formando o aerênquima (Fig. 2). Este aerênquima é encontrado apenas nas folhas mais maduras, portanto mais externas. Nestas bainhas mais maduras, observam-se também camadas de fibras esclerenquimáticas que acompanham os feixes vasculares (Fig. 2). Na região central na base da bainha encontra-se o meristema apical, o qual não é observado nestas secções. Desta forma as folhas mais internas são as mais jovens e não completamente diferenciadas (Figs. 2 e 3).

A epiderme das folhas apresenta células alongadas e estreitas, providas de paredes anticlinais onduladas. Na epiderme encontram-se estômatos e câmaras subestomáticas no mesófilo. Pode-se observar que as células do mesófilo são uniformes em sua forma e arranjo, não havendo distinção entre parênquima paliádico e lacunoso. São encontradas de duas a três camadas de células parenquimáticas no mesófilo, apresentando espaços intercelulares (Fig. 3).

O sistema vascular da bainha e lâmina foliar compõe-se de veias paralelas que acompanham a folha na maior parte do seu comprimento. Nervuras secundárias e de menor calibre podem ser observadas (Fig. 2). Cada feixe vascular é rodeado por duas camadas de células parenquimáticas que formam a bainha dos feixes vasculares. As células da camada mais interna são menores que as da camada externa. Os feixes vasculares são acompanhados em ambos os lados por muitas fibras esclerenquimáticas. No feixe de maior calibre as fibras fundem-se com a camada mais externa da bainha do feixe, oposta ao floema. No feixe vascular, o xilema encontra-se mais próximo da epiderme adaxial, enquanto o floema mais próximo da epiderme abaxial (Figs. 2 e 3).

Em bainhas tratadas com 170 mM NaCl, nota-se especialmente que na bainha da folha mais jovem a epiderme encontra-se em um estágio mais avançado de diferenciação (Fig. 3B). As células com papilas ocorrem na epiderme adaxial e abaxial da folha mais interna da bainha estressada (Fig. 3B), em uma secção transversal correspondente a da planta controle (Fig. 3A). Um estágio mais avançado de diferenciação também pôde ser observado em lâmina foliar (Figs. 3 C e D). Em secções transversais equivalentes, as células epidérmicas e os feixes vasculares aparecem mais desenvolvidos na planta estressada (Fig. 3D) do que

na planta controle (Fig. 3C). Além disso, na lâmina foliar da planta estressada pode-se notar uma maior desorganização das células do mesófilo quando comparado ao controle (Figs. 3 C e D).

A divisão do plano corporal e sua estrutura são determinadas por fatores genéticos durante o desenvolvimento do vegetal. O genoma de uma planta contém as informações fundamentais para determinar cada destino celular e, portanto, o destino anatômico da planta, segundo sua espécie. Esta diferenciação celular envolve inúmeras vias de regulação da ativação gênica, muita das quais permanecem obscuras, que interagem com sinalizadores e hormônios vegetais (WANG; LI, 2005).

As auxinas e as giberelinas são vistas como hormônios vegetais que promovem a divisão e o alongamento celular. Devido ao ácido abscísico (ABA) ser um potente antagonista da ação de ácido giberélico (GA) em arroz, sugere-se que a taxa de crescimento da planta seria determinada pelo balanço entre o inibidor e o promotor de crescimento, ABA e GA, respectivamente (KENDE; ZEEVAART, 1997). O estresse salino leva a um aumento na biossíntese de ABA (LEUNG; GRAUDAT, 1998). Em plantas sob condições de estresse salino, um desbalanço hormonal, somado a entrada de íons na célula, poderia acarretar alterações nas vias de transdução de sinal e levar a ativação precoce de genes envolvidos na diferenciação celular. Nota-se que as alterações ao nível de diferenciação celular são alterações que favorecem o desenvolvimento da planta na condição de estresse. A diferenciação precoce das células papilares encontradas na epiderme da bainha e lâmina foliar está relacionada ao melhor aproveitamento da luz solar para realização da fotossíntese, que é prejudicada pelo estresse salino. Já a diferenciação dos feixes vasculares pode estar envolvida com um melhor aproveitamento no transporte de água a partir da raiz e uma melhor distribuição da seiva elaborada.

Em raízes de arroz também observou-se alterações nos vasos xilemáticos de plantas estressadas. Estes vasos tornaram-se mais espessos provavelmente pela deposição de lignina em suas paredes. Durante a fase de ajuste osmótico ao estresse salino ocorre redução no crescimento de raízes primárias, particularmente na ponta da raiz, onde se observa baixa taxa de divisão celular e células epidérmicas não inteiramente alongadas (SERRANO, 1996). Em raízes de milho (*Zea mays* L.), crescendo em ambiente salino, observou-se que os elementos maduros do xilema encontravam-se mais próximos à ponta da raiz (5 a 10 mm) quando comparados às raízes controle (30 mm) (AZAIZEH; STEUDLE, 1991). Estes dados sugerem não apenas uma redução no crescimento, mas possivelmente uma maturação precoce destes vasos.

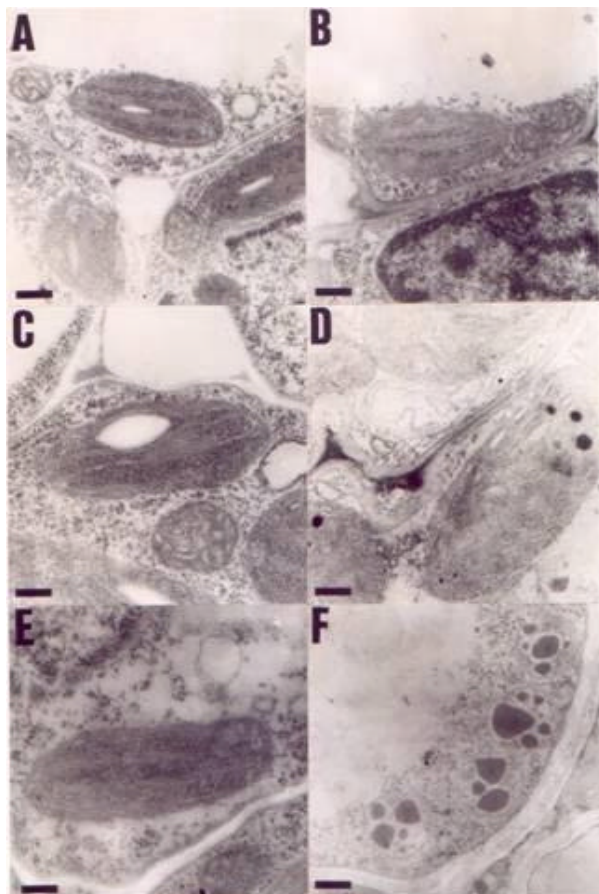


Fig. 4 - Eletromicrografias de secções transversais de bainha foliar de plantas de arroz IAC-4440. Nota-se, em especial, a desorganização dos cloroplastos da planta estressada. (A), (C) e (E) Planta controle; (B), (D) e (F) Planta tratada com 170 mM de NaCl. Barra: (A) 0,45 μ m; (B) 0,45 μ m; (C) 0,27 μ m; (D) 0,65 μ m; (E) 0,27 μ m; (F) 0,65 μ m.

Os dados observados neste trabalho sugerem que a síntese de lignina pode ser induzida em condições de estresse aumentando o espessamento dos vasos xilemáticos. Isto poderia ser causado pelo aumento na concentração de íons e pelo distúrbio na nutrição mineral, nas raízes, e pela redução no potencial hídrico do meio onde elas se encontram, quando o estresse salino é aplicado. Um aumento na espessura do vaso aumentaria sua resistência mecânica quando a planta tem de reduzir o potencial hídrico da raiz para manter a entrada de água na planta.

Estudos em nível ultraestrutural foram realizados em secções transversais de bainha e lâmina foliar. No nível subcelular, a principal alteração encontrada consiste na organização dos cloroplastos das células do mesófilo, como efeito da salinidade. Nas plantas estressadas, o grana dos cloroplastos sofreu desorganização que resultou no aumento dos espaços entre tilacóides e na dilatação das membranas tilacóides

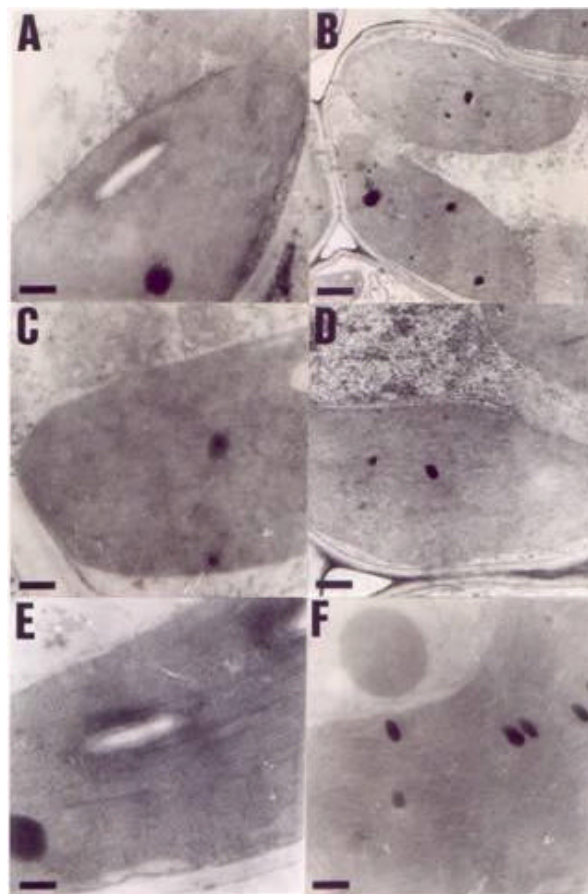


Fig. 5 - Eletromicrografias de secções transversais de lâmina foliar de plantas de arroz IAC-4440. Nota-se, em especial, a desorganização dos cloroplastos da planta estressada. (A), (C) e (E) Planta controle; (B), (D) e (F) Planta tratada com 170 mM de NaCl. Barra: (A) 0,27 μ m; (B) 0,70 μ m; (C) 0,27 μ m; (D) 0,41 μ m; (E) 0,16 μ m; (F) 0,47 μ m.

(Figs. 4 e 5). Nas plantas submetidas a estresse, tanto em bainha (Figs. 4 B, D e F) como lâmina foliar (Fig. 5 B, D e F), observa-se o aumento no número de plastoglobulos no estroma dos cloroplastos. Na bainha foliar da planta estressada foram encontrados vários elaioplastos (Fig. 4F), que são leucoplastos contendo lipídeo. No entanto, os cloroplastos da planta controle acumularam grãos de amido (Figs. 4 e 5). As alterações citomorfológicas mais intensas foram observadas na bainha foliar da planta submetida ao estresse salino (Fig. 4).

A análise ultraestrutural celular de plantas de arroz estressadas, mostrando o cloroplasto como a principal organela afetada pelo estresse salino, concorda com dados já observados em plantas de ervilha (*Pisum sativum* L.) (HERNÁNDEZ *et al.*, 1995) e em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) (FLOWERS *et al.*, 1985; BORGES *et al.*, 2004) em condições de estresse salino e em plantas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) (VIERA DA

SILVA *et al.*, 1974) em condições de estresse hídrico. A mais importante alteração observada nos cloroplastos consiste na desorganização das membranas tilacóides.

A redução na concentração de clorofila é um dos efeitos primários da salinidade sobre a fotossíntese em plantas sensíveis ao estresse salino (SALAMA *et al.*, 1994), além do efeito causado pelo fechamento dos estômatos e os efeitos diretos sobre processos bioquímicos e fisiológicos. Em plantas sujeitas a estresse salino, nota-se superprodução de radicais livres nos cloroplastos. Como a concentração de CO₂ diminui, como resultado do fechamento dos estômatos, há também redução na disponibilidade de NADP⁺ que éceptor de elétrons do fotossistema 1 (PS 1). Concomitantemente, ocorre a geração das espécies reativas de oxigênio, a partir da hidrólise da H₂O (HERNÁNDEZ *et al.*, 1995). Isto causaria reações oxidativas tóxicas mediadas por O₂⁻ e/ou H₂O₂ que prejudicariam as membranas celulares, em particular a membrana tilacóide. Este efeito seria ainda pronunciado pelo fato de que íons sódio são inibidores da atividade das metaloenzimas superóxido dismutase (SOD) em plantas sensíveis a salinidade (HERNÁNDEZ *et al.*, 1995).

Os cátions mono e divalentes associam-se as membranas plasmáticas e desempenham importantes papéis estruturais, como o empilhamento de membranas adjacentes na grana (BARBER, 1982). O estresse salino deve alterar a composição iônica do estroma afetando as cargas na superfície da membrana tilacóide, além do próprio efeito do Na⁺, contribuindo para a sua desorganização (SALAMA *et al.*, 1994). Desta forma, em adição à perda de moléculas de clorofila, todos os componentes dos fotossistemas, o transporte de elétrons na membrana e o gradiente de prótons entre o lúmen do tilacóide e o estroma, envolvido na produção de ATP serão afetados.

Os efeitos descritos acima são suficientes para inibir a fotossíntese, limitando a produção de açúcar e energia para a planta. SALAMA *et al.* (1994) mostrou que em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) o acúmulo de grãos de amido em cloroplastos foi uma resposta geral a salinidade em todos os cultivares testados, embora os cultivares tolerantes contivessem grãos maiores que os sensíveis. Isto foi atribuído a danos que poderiam ser causados por alta salinidade nas enzimas responsáveis pela síntese de sacarose no citosol, ou, danos nas próprias enzimas que degradam o amido no cloroplasto. Estas enzimas são também reguladas pela concentração de fosfato que seria afetada pelo estresse salino. Os dados observados em arroz, cultivar IAC-4440, mostraram o contrário, ou seja, em plantas estressadas não se observou a presença de grãos de amido no estroma dos cloroplastos.

O arroz é uma planta do tipo C3 e, portanto, só realiza a assimilação de CO₂ através da ação da

enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). A redução e inibição na assimilação de CO₂ em plantas de arroz estressadas se dariam não apenas pela redução na atividade da Rubisco, mas, também pelo fechamento dos estômatos que reduz as trocas gasosas. Isto afetaria o ciclo de Calvin no estroma e a produção dos precursores de sacarose no citosol e amido no estroma. Além da necessidade de açúcar para obtenção de energia, plantas submetidas ao estresse salino necessitam de sacarose para atuar como osmoprotetor. É possível que nestas plantas de arroz, os grãos de amido no cloroplasto passem a ser imediatamente convertidos em sacarose durante o estresse salino, antes que maquinaria enzimática necessária para esta conversão seja afetada.

O acúmulo de lipídeos na forma de plastoglôbulos ou elaioplastos durante o estresse salino pode ser decorrente das alterações estruturais geradas na membrana tilacóide. Por meio de experimentos de microscopia eletrônica de amostras crio-fraturadas de *Dunaliella salina*, uma planta tolerante à salinidade, observou-se que durante choque hiperosmótico havia perda de superfície membranar em cloroplastos, mitocôndrias e núcleo celular. Observou-se também que o choque hiperosmótico elevou em 124% a quantidade de ácidos graxos livres, sugerindo a ativação de fosfolipases. Assim, as mudanças no metabolismo de fosfolipídeos poderiam ser um mecanismo para reter ou incorporar componentes membranares no retículo endoplasmático, o qual funcionaria como um reservatório de membranas durante o choque hiperosmótico (EINSPAHR *et al.*, 1988). As informações experimentais descritas neste trabalho não são suficientes para extrapolar o argumento do acúmulo de lipídeos nos cloroplastos. No entanto, pode-se sugerir que as alterações nas membranas tilacóides observadas nos cloroplastos de arroz, sejam apenas estruturais ou, também, ao nível de sua composição, poderia acarretar o acúmulo de lipídeos nos cloroplastos de células estressadas por salinidade.

Sabe-se também que o acúmulo de íons sódio na planta de arroz é mais intenso em bainhas e lâminas foliares mais maduras e, portanto, mais externas, e que é maior em bainha do que em lâmina foliar (GARCIA *et al.*, 1997). Os experimentos citomorfológicos foram realizados nos tecidos mais maduros da planta de arroz. Dessa forma, nota-se claramente que existe uma correlação entre o acúmulo de íons sódio e os efeitos citomorfológicos nos tecidos ma

CONCLUSÕES

1. O estresse salino (170 mM NaCl) causa um espessamento nos vasos xilemáticos em raiz de plantas de arroz IAC-4440.

2. O estresse salino induz a diferenciação celular da epiderme e dos feixes vasculares em bainha e lâmina foliar de plantas de arroz IAC-4440.

3. O estresse salino gera alterações citomorfológicas causando desorganização das membranas tilacóides, redução no amido acumulado e acúmulo de lipídeos na forma de plastoglobulos em plantas de arroz IAC-4440.

REFERÊNCIAS

- ALPASLAN, M.; GÜNES, A.; TABAN, S. Salinity resistance of certain rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Turkish Journal of Biology*, v.23, p.499-506, 1999.
- AZAIZEH, H.; STEUDLE, E. Effects of salinity on water transport of excised maize (*Zea mays* L.) roots. *Plant Physiology*, v.97, p.1136-1145, 1991.
- BARBER, J. Influence of surface charges on thylacoid structure and function. *Annual Review of Psychology*, v.33, p.261-295, 1982.
- BETHKE, P.C.; DREW, M.C. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annum* during progressive exposure to NaCl salinity. *Plant Physiology*, v.99, p.219-226, 1992.
- BORGES, R.; MIGUEL, E.C.; DIAS, J.M.R.; CUNHA, M.; BRESSAN-SMITH, R.E.; OLIVEIRA, J.G.; SOUZA-FILHO, G.A. Ultrastructural, physiological and biochemical analyses of chlorate toxicity on rice seedlings. *Plant Science*, v.166, p.1057-1062, 2004.
- BOZZOLA, J.J.; RUSSELL, L.D. *Electron microscopy: principles and techniques for biologists*. 2.ed. Sudbury: Jones and Bartlett Publ, 1999. 670p.
- COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. Brasil. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 7 mai. 2006.
- DIONISIO-SESE, M.L.; TOBITA, S. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, v.135, p.1-9, 1998.
- EINSPAHR, K.J.; MAEDA, M.; THOMPSON JR., G.A. Concurrent changes in *Dunaliella salina* ultrastructure and membrane phospholipid metabolism after hyperosmotic shock. *Journal of Cell Biology*, v.107, p.529-538, 1988.
- FLOWERS, T.J.; DUQUE, E.; HAJIBAGHERI, M.A.; MCGONIGLE, T.P.; YEO, A.R. The effect of salinity on leaf ultrastructure and net photosynthesis of two varieties of rice: Further evidence for a cellular component of salt-resistance. *New Phytologist*, v.100, p.37-43, 1985.
- GARCIA, A.B.; ENGLER, J.A.; IYER, S.; GERATS, T.; VAN MONTAGU, M.; CAPLAN, A.B. Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. *Plant Physiology*, v.115, p.159-169, 1997.
- HERNÁNDEZ, J.A.; OLMOS, E.; CORPAS, F.J.; SEVILLA, F.; DEL RÍO, L.A. Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Science*, v.105, p.151-167, 1995.
- KANG, S.; TITUS, J.S. Increased proteolysis of senescing rice leaves in the presence of NaCl and KCl. *Plant Physiology*, v.91, p.1232-1237, 1989.
- KENDE, H.; ZEEVAART, J.A.D. The five "classical" plant hormones. *Plant Cell*, v.9, p.1197-1210, 1997.
- LEUNG, J.; GIRAUDAT, J. Abscisic acid signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.49, p.199-222, 1998.
- SALAMA, S.; TRIVEDI, S.; BUSHEVA, M.; ARAFA, A.A.; GARAB, G.; ERDEI, L. Effects of NaCl salinity on growth, cation accumulation, chloroplast structure and function in wheat cultivars differing in salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, v.144, p.241-247, 1994.
- SERRANO, R. Salt tolerance in plants and microorganisms: Toxicity targets and defense responses. *International Review of Cytology*, v.165, p.1-52, 1996.
- USBERTI FILHO, J.A.; AZZINI, L.E.; CAMARGO, O.B.A.; SOAVE, J.; SCHIMIDT, N.C.; VILELA, O.V.; GALLO, P.B.; SAKAI, M. TISELLI FILHO, O.; YANAI, K.; VITTI, P. IAC 4440: Novo cultivar de arroz para o Estado de São Paulo. *Boletim Técnico do Instituto Agrônomo*, v.107, 10p., 1996.
- VIEIRA DA SILVA, J.; NAYLOR, A.W.; KRAMER, P. Some ultrastructural and enzymatic effects of water stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.71, p.3243-3247, 1974.
- WANG, Y.; LI, J. The plant architecture of rice (*Oryza sativa*). *Plant Molecular Biology*, v.59, p.75-84, 2005.
- YEO, A.R.; FLOWERS, T.J. Accumulation and localisation of sodium ions within the shoots of rice (*Oryza sativa*) varieties differing in salinity resistance. *Plant Physiology*, v.56, p.343-348, 1982.
- YEO, A.R.; LEE, K.-S.; IZARD, P.; BOURSIER, P.J.; FLOWERS, T.J. Short- and long-term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, v.42, p.881-889, 1991.
- YOSHIDA, S.; FORNO, D.A.; COCK, J.H.; GOMEZ, K.A. (1976). *Laboratory manual for physiological studies of rice*. Los Baños: International Rice Research Institute, 83p.

Recebido em 11/9/07

Aceito em 29/4/09