

CONCENTRAÇÃO DE PROLINA EM GENÓTIPOS DE ARROZ SUBMETIDOS A DIFERENTES ESTRESSES ABIÓTICOS

THAIS MONTEIRO MIRANDA¹; VITÓRIA FRONQUETI JAEGER²; TAÍS AMANDA MUNDT³; GABRIEL BRANDÃO DAS CHAGAS⁴; ANDREIA SALDANHA⁵; CAMILA PEGORARO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – thaismird@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – vijaeger02@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – taismundt@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – gbchagas2015@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – andreia@ufpel.edu.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – pegorarocamilanp@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um alimento consumido por aproximadamente 50% da população mundial, possuindo importância nutricional, social e econômica (FENGE, XIONG e TAO, 2023; NEGI e KUMAR, 2025). No Brasil, o principal estado produtor de arroz é o Rio Grande do Sul. Devido a época de semeadura no estado, a cultura é impactada pelo estresse por frio no estádio S3, conhecido como ponto de agulha (VIANA et al., 2024). As plantas ainda podem passar por estresse salino, pois parte da água utilizada para irrigação é proveniente da Laguna dos Patos, que devido a influência do Oceano Atlântico pode conter altos níveis de sais. Além disso, a origem do solo também pode afetar os teores de sal encontrados nos campos de cultivo (OLIVEIRA et al., 2022; NEGI e KUMAR, 2025; NIE et al., 2025). Outra condição que pode prejudicar o cultivo do arroz é o déficit hídrico, condição que pode ocorrer tanto antes da entrada da lâmina de água, quanto no estádio reprodutivo e final do ciclo, devido aos períodos de seca no verão (TEJEDA et al., 2024).

Tais estresses abióticos ocasionam estresse osmótico, e podem afetar o crescimento, o desenvolvimento, a capacidade de absorção das raízes, a síntese de amido e por fim o rendimento e a qualidade nutricional dos grãos (KIM et al., 2020; FENGE, XIONG e TAO, 2023). O estresse osmótico causa uma desidratação nas células vegetais, que impacta a pressão de turgor e a estrutura geral das células. Esse desequilíbrio celular desencadeia a produção excessiva de espécies reativas de oxigénio (EROs). Dentre os mecanismos desenvolvidos pela planta para mitigar os impactos das EROs, está o ajuste osmótico. Essa estratégia envolve a produção e armazenamento de solutos adequados, como a prolina, para a planta tentar reajustar o equilíbrio osmótico celular. A prolina é um osmólito endógeno que se acumula em respostas a estresses abióticos e está associada a tolerância ao déficit hídrico, salinidade e frio (KOC, AYCAN e MITSUI, 2024).

Com isso o objetivo do trabalho foi comparar o acúmulo de prolina de plantas de arroz submetidas à déficit hídrico, frio e salinidade no início do estádio vegetativo.

2. METODOLOGIA

Foram avaliadas as cultivares IRGA 424^{RI}, BRS Pampa^{CL} e SCS 112. As sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio 1% durante cinco minutos, e depois lavadas em água destilada. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em papel Germitest®, umedecido com água destilada 2,5x seu

peso. Foram feitos 12 rolos para cada genótipo, cada um contendo 50 sementes, os quais foram mantidos em câmara de crescimento do tipo BOD, a 25 °C e fotoperíodo de 16/8h durante cinco dias. Após esse período, as plântulas de três rolos foram transferidas para novos rolos e mantidas na condição controle (25 °C, fotoperíodo de 16/8h, papel umedecido com água); as plântulas de três rolos foram transferidas para novos rolos e mantidas na condição de frio (13 °C, fotoperíodo de 16/8h, papel umedecido com água); as plântulas de três rolos foram transferidas para novos rolos e mantidas na condição de salinidade (25 °C, fotoperíodo de 16/8h, papel umedecido com solução de NaCl 120mm); e as plântulas de três rolos foram transferidas para novos rolos e mantidas na condição de déficit hídrico (25 °C, fotoperíodo de 16/8h, papel umedecido com solução de PEG 6000 -50 KPa). As plantas permaneceram nessas condições durante sete dias. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com três repetições de 30 plantas cada.

Após o período de estresse as plantas foram coletadas, separadas em parte aérea e raízes, fixadas em N líquido e armazenadas em ultrafreezer para avaliação do teor de prolina. Foram pesados 200 mg dos diferentes tecidos do arroz. Em cada amostra foi adicionado 1 mL de MCW (metanol:clorofórmio:água – 300 mL:125 mL: 75 mL) e a mistura foi agitada em vórtex. Em seguida, foram adicionados mais 3 mL de MCW no tubo Falcon, revestido com papel alumínio, completando um volume total de 4 mL. O material foi deixado para reagir por 24h no escuro.

Após o período de reação, foi adicionado mais 1 mL de MCW, completando 5 mL, e as amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm por 30 minutos. Foram coletados 3,5 mL do sobrenadante e transferidos para um novo tubo Falcon, ao qual se adicionou 1,312 mL de água Milli-Q e 0,875 mL de clorofórmio. A mistura foi agitada em vórtex por 15 a 20 segundos e depois centrifugada a 20°C a 2.500 rpm por 30 minutos.

A fase superior, com volume entre 3,5 e 4 mL, foi coletada e colocada em um tubo Falcon protegido com papel alumínio. Para a evaporação, as amostras foram deixadas *overnight* com o frasco aberto e no escuro e, posteriormente, ficaram em banho-maria até que o peso fosse reduzido à metade. Após a concentração, o extrato foi coletado, colocado em tubos do tipo *eppendorf* e acondicionado no freezer.

Para a determinação do teor de prolina, foram utilizadas alíquotas de 300 µL do extrato, às quais foi adicionado 0,1 mL de glicina 0,1 M. O volume foi completado para 3 mL com água Milli-Q. Em seguida, foram adicionados 2 mL de ácido acético PA e 2 mL de uma solução de ninhidrina, preparada com 600 mg de ninhidrina em 15 mL de ácido acético PA e 10 mL de ácido fosfórico 6 M. Os tubos foram agitados e incubados com tampa em banho-maria a 100 °C por 35 minutos.

Após a incubação, os tubos foram colocados em banho de gelo por 20 minutos e, em seguida, foram adicionados 4 mL de tolueno PA, sendo que a presença de coloração vermelha indicava a ocorrência da reação. Por fim, os tubos foram agitados vigorosamente e foi realizada a leitura da absorbância a 515 nm.

Para determinação da concentração de prolina foi necessária a confecção de uma curva padrão, que apresentou R^2 de 0.966 e fórmula $y = 0.011x - 0.0841$, a qual foi empregada para o cálculo da concentração de prolina das amostras.

Os dados obtidos foram analisados quanto à distribuição de resíduos e análise de variância. Por fim foi feita comparação de médias usando teste de Tukey ($p < 0,05$). As análises foram feitas no programa R (R Core Team, 2025).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de prolina na raiz foi influenciado apenas pelo tratamento. A maior concentração desse osmoprotectante foi verificada sob déficit hídrico e salinidade, e não houve diferença significativa entre o frio e o controle (Tabela 1).

Tabela 1. Teor de prolina em raízes de arroz submetidos às condições controle, frio, salinidade e déficit hídrico no início do estádio vegetativo.

Tratamento	PR (mg g MF)
Déficit hídrico	0.5462 A
Salinidade	0.5070 A
Frio	0.2575 B
Controle	0.1753 B

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Na parte aérea a concentração de prolina foi influenciada pela interação genótipo x tratamento. Verificou-se que todos os estresses ocasionaram aumento na concentração de prolina, com maior quantidade sob déficit hídrico e salinidade, com exceção da cultivar BRS Pampa^{CL} em que o frio não alterou a concentração dessa molécula. Sob déficit hídrico e salinidade a cultivar IRGA 424^{RI} foi a que apresentou os maiores teores de prolina. O mesmo ocorre sob estresse por frio, porém, nesse caso IRGA 424^{RI} não difere da SCS 112 (Tabela 2).

Tabela 2. Teor de prolina em parte aérea de três genótipos de arroz submetidos às condições controle, frio, salinidade e déficit hídrico no início do estádio vegetativo.

Tratamento	PPA (mg g MF)		
	BRS Pampa ^{CL}	IRGA 424 ^{RI}	SCS 112
Controle	0.37 b A	0.41 d A	0.26 c B
Déficit hídrico	0.61 a B	0.84 a A	0.62 a B
Frio	0.37 b B	0.50 c A	0.50 b A
Salinidade	0.62 a B	0.73 b A	0.51 b C

Médias seguidas com a mesma letra maiúscula na linha e pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O acúmulo de prolina tem sido frequentemente correlacionada com a tolerância a estresses (MATTIOLI et al., 2020). As raízes são as primeiras a sentir o impacto do estresse por salinidade, que causa mudanças na homeostase, resultando em estresse osmótico. O acúmulo de prolina nos vegetais durante o estresse salino desempenha as funções de regulação osmótica, proteção antioxidante e manutenção da integridade celular, além de auxiliar na eliminação de espécies reativas de oxigênio (KOC, AYCAN e MITSUI, 2024). Similarmente, o acúmulo de prolina também está relacionado com a tolerância à seca (SADDIQUE et al., 2020), pois nessa condição esse osmólito apresenta as mesmas funções que sob salinidade. Esse comportamento pode explicar o aumento da concentração de prolina nas raízes e na parte aérea sob salinidade e déficit hídrico, atuando como estratégia das plantas de arroz para tolerar esse estresse.

A prolina também desempenha papel vital sob estresse por frio, agindo na proteção de proteínas, enzimas e ribossomos, além de atuar como reserva de carbono e nitrogênio (ZHANG et al., 2014). Nas raízes o estresse por frio não induziu maior acúmulo de prolina, e na parte aérea o mesmo comportamento foi observado para algumas cultivares. Esse padrão pode indicar sensibilidade ao frio.

4. CONCLUSÕES

De maneira geral, ocorre uma resposta similar em plantas de arroz sob os estresses por salinidade e déficit hídrico, nos quais são observadas as maiores concentrações de prolina. Esse osmoprotectante pode atuar prevenindo danos ocasionados por esses estresses em arroz no início do estádio vegetativo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FENG, B.; XIONG, J.; TAO, L. How Rice Plants Response to Abiotic Stresses. **International Journal of Molecular Sciences.** v.24, n.16, 2023.
- KIM, Y.; CHUNG, Y. S.; LEE, E.; TRIPATHI, P.; HEO, S.; KIM, K. Root Response to Drought Stress in Rice (*Oryza sativa* L.). **International Journal of Molecular Sciences.** v.21, n.4, p.1513, 2020.
- KOC, Y. E; AYCAN, M; MITSUI, T. Self-Defense Mechanism in Rice to Salinity: Proline. **Multidisciplinary Scientific Journal.** v.7, n.1, p.103-115, 2024.
- MATTIOLI, R.; PALOMBI. N.; FUNCK, D.; TROVATO, M. Proline Accumulation in Pollen Grains as Potential Target for Improved Yield Stability Under Salt Stress. **Frontiers in Plant Science.** v.11, 2020.
- NEGI, Y.; KUMAR, K. OsWNK9 regulates the expression of key transcription factors, phytohormonal, and transporters genes to improve salinity stress tolerance in rice. **Scientific Reports.** v.15, n.30930, 2025.
- NIE, S.; HUANG, W.; HE, C.; WU, B.; DUAN, H.; RUAN, J.; ZHAO, Q.; FANG, Z. Transcription factor OsMYB2 triggers amino acid transporter OsANT1 expression to regulate rice growth and salt tolerance. **Plant Physiology.** v.197, n.2, 2025.
- OLIVEIRA, V. F.; MALTZAHN, L. E.; VIANA, V. E.; VENSKE, E.; MAIA, L. C.; COSTA DE OLIVEIRA, A.; PEGORARO, C. Characterization of rice genotypes used in Brazil regarding salinity tolerance at the seedling stage. **Revista de Ciências Agroveterinárias.** v. 21, n. 3, p. 256–262, 2022.
- R Core Team-R R Core Team-R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/> (acessado em Agosto de 2025).
- RENA, A.B.; MASCIOTTI, G.Z. The effect of dehydration on nitrogen metabolism and growth of bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres.** Viçosa, v. 23, p. 288-301, 1976.
- SADDIQUE, M. A. B.; ALI, Z.; SHER, M. A.; FARID, B.; IKRAM, R. M.; AHMAD, M. S. Proline, Total Antioxidant Capacity, and OsP5CS Gene Activity in Radical and Plumule of Rice are Efficient Drought Tolerance Indicator Traits. **International Journal of Agronomy.** v.2020, p.1-9, 2020.
- TEJEDA, L. H. C.; JOSÉ, R.; VENSHE, E.; DA LUZ, V. K.; ORTIZ, A. E. C.; JUNIOR, A. M. M.; DA MAIA, L. C.; OLIVEIRA, A. C.; PEGORARO, C. Assessment of mutant rice genotypes on growth cycle length and response to reduced water availability. **Scientia Agricola.** v.81, 2024.
- VIANA, V. E.; PEGORARO, C.; DA LUZ, V. K.; OLIVEIRA, A. C.; DA MAIA, L. C. Uncovering Key Transcription Factors Driving Chilling Stress Tolerance in Rice Germination. **DNA.** v.4, n.4, p.582-598, 2024.
- ZHANG Q.; CHEN Q.; WANG S.; HONG Y.; WANG Z. Rice and cold stress: methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci. **Rice.** v.7, 2014.