

ATIVAÇÃO DO SISTEMA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICO EM PLANTAS DE ARROZ SUBMETIDAS À APLICAÇÃO DE PENOXSULAM

Ana Claudia Langaro¹; Claudia de Oliveira²; André da Rosa Ulgim²; Queli Ruchel¹; Daniela Tessaro³,
Dirceu Agostinetto⁴

Palavras-chave: *Oryza sativa*, atividade enzimática, herbicida

INTRODUÇÃO

Os herbicidas, amplamente utilizados para o controle de plantas daninhas, podem induzir uma situação de estresse nas plantas como resposta à aplicação, podendo também levá-las a morte.

A atividade biológica de um herbicida está associada à absorção, translocação, metabolização e sensibilidade da planta. Altas concentrações de herbicidas induzem supressão da germinação de sementes, redução no crescimento de raízes e parte aérea, clorose e distúrbios nas funções fisiológicas (SPIRIDONOV et al., 2010), além de promover a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (VAN CAMP et al., 1994).

O estresse oxidativo é uma resposta da planta, que se manifesta em rápida e transitória geração de EROs (APEL & HIRT 2004), quando a planta é submetida a estresse biótico e/ou abiótico. As principais formas de EROs são: radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila ($\cdot OH$) e oxigênio singlet (1O_2). Os radicais superóxido e peróxido, em geral, não são tóxicos, porém, quando em excesso são convertidos em radicais hidroxilas (CHANDRU et al., 2003). A produção adicional de EROs nas células vegetais altera a taxa de sua eliminação pelos sistemas antioxidantes (HALLIWELL, 2006).

As plantas possuem vários mecanismos para minimizar os efeitos causados pelo estresse oxidativo, incluindo enzimas antioxidantes e metabólitos que detoxificam essas formas de EROs. O mais importante mecanismo se refere à atuação das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT), além do aumento dos níveis de antioxidantes não-enzimáticos como ascorbato, glutatona, tocoferol, alcaloides, flavonoides e carotenoides (ASADA, 1999; APEL & HIRT, 2004).

O balanço entre as atividades da SOD, APX e CAT é crucial para se determinar os níveis basais de radicais $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 . Este balanço juntamente com o sequestro de íons metálicos previne a formação de radicais hidroxilas nas reações de Haber-Weiss e Fenton (IANNELLI et al., 1999).

Sugere-se que o efeito do herbicida na produção de EROs e na ativação do sistema de defesa das plantas, pelas enzimas detoxificadoras, pode ser variável ao longo do tempo, devido ao modo de ação do herbicida e também em função da capacidade de metabolização da planta. A quantificação da atividade das enzimas detoxificadoras do sistema antioxidante das plantas cultivadas, submetidas à aplicação de herbicidas, permite elucidar a contribuição do sistema de defesa e os mecanismos de seletividade. Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do herbicida penoxsulam na ativação do sistema antioxidante enzimático de plantas de arroz ao longo do tempo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e no Laboratório de metabolismo secundário pertencente ao Centro de Herbologia (CEHERB)/FAEM/UFPel, localizado no município do Capão do Leão, RS, durante a estação de crescimento 2012/13.

¹ Eng. Agr(a)., Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade /FAEM/UFPel. namelia.langaro@gmail.com

² Eng. Agr(a)., Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade /FAEM/UFPel.

³ Graduando(a) em Agronomia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel.

⁴ Eng. Agr., Dr. Professor da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo as unidades experimentais compostas por potes com capacidade de 0,5 litros preenchidos com substrato. Cada unidade experimental constitui-se de seis plantas da cultivar IRGA 417.

Quando as plantas atingiram o estádio V4, foi realizada a aplicação do herbicida penoxsulam, (Ricer[®]), na dose 200 mL ha⁻¹. Os tratamentos foram constituídos de épocas de coleta das amostras foliares, após a aplicação do herbicida penoxsulam, sendo elas: 0, 2, 4, 8, 16, 32 e 64 horas após a aplicação do tratamento (HAT) e posteriormente armazenado a temperatura de -80°C até o momento das análises.

As variáveis analisadas foram atividade das enzimas catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase, as quais foram determinadas segundo Azevedo et al. (1998).

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk) e, posteriormente, foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). No caso de ser constatada significância estatística, realizou-se a análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeito dos tratamentos para as atividades das enzimas APX e SOD (Figuras 1 e 2). A ausência de significância estatística para a atividade da CAT (dados não apresentados) pode decorrer da menor afinidade da enzima pelo peróxido de hidrogênio, em comparação com a APX. A atividade da SOD aumentou com o período após aplicação, até cerca de 16 horas, estabilizando-se posteriormente (Figura 1). Maior atividade da SOD nas plantas tem sido correlacionada com a tolerância ao estresse oxidativo (IANNELLI et al., 1999). Estas proteínas pertencem ao grupo de metalo-enzimas que protegem as células dos radicais superóxidos, catalisando a dismutação do O_2^- em O_2 e H_2O_2 (IANNELLI et al., 1999). Em discos de folhas de milho, incubados com o herbicida, a atividade da SOD foi aumentada conforme o aumento da concentração do herbicida e do tempo de incubação. Plantas tratadas com paraquat (DOULIS et al., 1998; STAJNER et al., 2004), glyphosate (MITEVA et al., 2005), alachlor e metachlor (STAJNER et al., 2004), também causaram ativação da SOD. A hipótese é de que a atividade da SOD aumenta em resposta a acumulação de EROS, particularmente sob condições que pode levar a morte da célula (DOULIS et al., 1998).

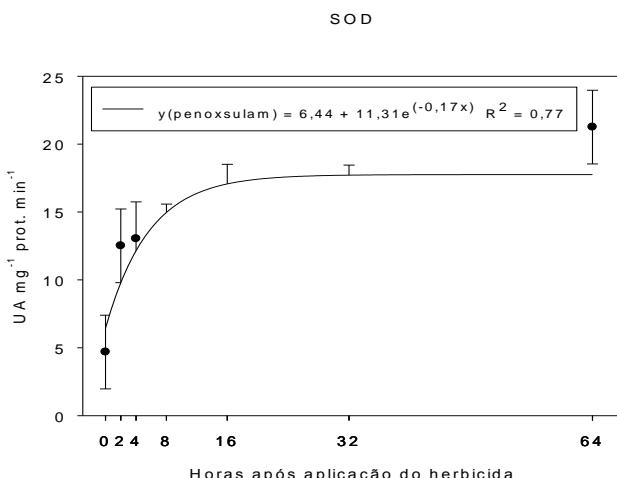


Figura 1 – Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em função da aplicação do herbicida

penoxsulam avaliada as 0, 2, 4, 8, 16, 32, e 64 horas após a aplicação do tratamento. FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2013.

O tratamento com penoxsulam resultou em decréscimo da atividade da enzima APX até oito horas após a aplicação (Figura 2). Resultado similar foi verificado em plantas de milho submetidas à aplicação de fluometuron (HASSAN & NEMAT ALLA, 2005). Acredita-se que as peroxidases tenham papel substancial na eliminação de danos celulares induzidos por xenobióticos (MITEVA et al., 2005). Por ser predominantemente citosólica e organelar (FOYER & NOCTOR, 2000), a APX utiliza o ascorbato como seu doador de elétrons específicos para eliminação do H_2O_2 produzido pela SOD, através da via Halliwell-Asada. A APX é a primeira enzima inativada após pequeno período de luz (MANO et al., 2001), e mesmo na ausência do herbicida, a adição de H_2O_2 , no escuro, inativa a APX (HOSSAIN & ASADA, 1984).

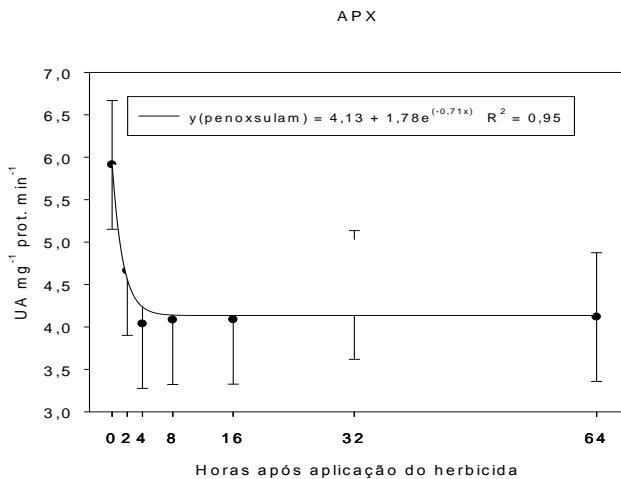


Figura 2 – Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) em função da aplicação do herbicida penoxsulam avaliada as 0, 2, 4, 8, 16, 32, e 64 horas após a aplicação do tratamento. CEHERB/FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2013.

A indução do estresse oxidativo também foi demonstrada pela ação de xenobióticos, incluindo paraquat, glyphosate e norflurason (DOULIS et al., 1998; MITEVA et al., 2005). No entanto, em milho e feijão particularmente, nem todos herbicidas induzem estresse oxidativo (HASSAN & NEMAT ALLA, 2005).

Acredita-se que mudanças na atividade de enzimas antioxidantes expostas a aplicação de herbicidas e avaliadas ao longo do tempo estão diretamente ligadas a supressão do estresse oxidativo através da eliminação de EROS produzidas pela aplicação do herbicida.

CONCLUSÃO

O herbicida penoxsulam causa ativação das enzimas APX e SOD ao longo do tempo, as quais podem estar relacionadas à reversão dos danos causados pelo estresse oxidativo em plantas de arroz irrigado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APEL, K.; HIRT, H. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*, v. 55, p. 373-399, 2004.

- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excesso photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 601-639, 1999.
- AZEVEDO, R.A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998.
- CHANDRU, H.K. et al. Kinetics of wound-induced activation of antioxidative enzymes in *Oryza sativa*: differential activation at different growth stages. **Plant Science**, v. 164, p.935-941, 2003.
- DOULIS, A.G.; DONAHUE, J.L.; ALSCHER, R.G. Differential Responses to Paraquat Induced Oxidative Injury in a Pea (*Pisum sativum*) Protoplast System. **Physiologia Plantarum**, v. 102, p. 461-471, 1998.
- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxigen processing in photosynthesis: regulation and signaling. **New Phytologist**, v. 146, p. 359-388, 2000.
- HALLIWELL, B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. **Plant Physiology**, v. 141, p. 312-322, 2006.
- HASSAN, N.M.; NEMAT ALLA, M.M. Oxidative stress in herbicide-treated broad bean and maize plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 27, p. 429-438, 2005.
- HOSSAIN, M.A.; ASADA, K. Inactivation of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts on dark addition of hydrogen peroxide: its protection by ascorbate. **Plant & Cell Physiology**, v. 25, p. 1285-1295, 1984.
- IANNELLI M. A. et al. Tolerance to low temperature and paraquat mediated oxidative stress in two maize genotypes. **Journal of Experimental Botany**, v. 50, p. 523-532, 1999.
- MANO, J. et al. Chloroplastic ascorbate peroxidase is the primary target of methylviologen-induced photooxidative stress in spinach leaves: its relevance to monodehydroascorbate radical detected with in vivo ESR. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1504, p. 275-287, 2001.
- miteva, L. et al. Alterations of the Content of Hydrogen Peroxide and Malondialdehyde and the Activity of Some Antioxidant Enzymes in the Roots and Leaves of Pea and Wheat Plants Exposed to Glyphosate. **Comptes rendus de l'Acade'mie bulgare des Sciences**, v. 58, p. 723-728, 2005.
- SPIRIDONOV, YU.YA.; ZHEMCHUZHIN, S.G., Current Problems in Herbicide Investigation (2006-2008). **Agrokhimiya**, v. 7, p. 73-91, 2010.
- ŠTAJNER, D. et al. Herbicide Induced Oxidative Stress in Lettuce, Beans, Pea Seeds and Leaves. **Biologia Plantarum**, v. 47, p. 575-579, 2004.
- VAN CAMP, W. et al. Elevated levels of superoxide dismutase protect transgenic plants against ozone damage. **Nature Biotechnology**, v. 12, p. 165-168, 1994.