

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM PLÂNTULAS DE ARROZ NA PRESENÇA DE EXTRATO DE CENOURA E SALINIDADE

Sidnei Deuner¹; Cristina Copstein Cuchiara²; Cristiane Deuner³; Carolina Terra Borges³; César Iván Suárez Castellanos³; Lariza Benedetti⁴; Gabriele Espinel Ávila⁴; Ítalo Lucas de Moraes⁴

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., *Daucus carota*, germinação, estresse oxidativo

INTRODUÇÃO

O arroz é um dos cereais mais cultivados no mundo, sendo amplamente utilizado na alimentação humana, desempenhando papel importante tanto no aspecto econômico quanto social. Além de ser uma cultura extremamente versátil, que se adapta a diferentes condições de solo e clima, é considerada a espécie que apresenta maior potencial para o combate da fome no mundo (AGRIANUAL, 2012).

Em muitas áreas de cultivo do arroz, o uso de água de baixa qualidade para a irrigação e a aplicação de quantidades excessivas de fertilizantes são as principais razões para o aumento da salinidade do solo, o que pode afetar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, implicando na perda de produtividade e de qualidade, ou perda total da produção. O período de germinação e o estabelecimento das plântulas são etapas importantes para a sobrevivência das espécies principalmente nos locais em que a disponibilidade e a qualidade de água são limitadas, como é o caso de áreas que apresentam solos com elevada salinidade (LIMA et al., 2015).

Um dos principais desafios da atualidade é a identificação dos possíveis mecanismos que elevam o grau de tolerância ao estresse salino, uma vez que, ao longo da evolução, as plantas desenvolveram sofisticados mecanismos que as permitem perceber as condições adversas, ativando cascatas de transdução de sinais, as quais, consequentemente, acionam mecanismos de resposta ao estresse, levando a mudanças fisiológicas e bioquímicas. Assim, estudos que identifiquem e que permitam o entendimento de mecanismos de tolerância do arroz frente a alta salinidade são de extrema importância, a fim de garantir a sustentabilidade das lavouras nas áreas atingidas por sal, principalmente no extremo sul do Rio Grande do Sul.

É sabido que uma ampla variedade de metabólitos secundários são produzidos pelos vegetais superiores, responsáveis pela defesa natural da planta sob estresses bióticos e abióticos (RÉGO JÚNIOR et al., 2011). Estudos têm demonstrado que o β -caroteno, a vitamina C e E, e os compostos fenólicos estão relacionados à capacidade antioxidante de vários vegetais (McDONALD et al., 2001). As raízes de cenoura (*Daucus carota* L.) são fontes ricas de β -caroteno, que é um pigmento carotenoide antioxidante (BRITTON, 1992). Desta forma, o presente trabalho objetivou investigar as respostas enzimáticas antioxidantes em plântulas de arroz, cv. BRS Bojurú, submetidas a diferentes concentrações salinas e de extrato aquoso de cenoura como subsídio inicial para estudos futuros na busca de possíveis mecanismos de tolerância à salinidade.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de arroz, cv. BRS Bojurú foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos e após, lavadas por seis vezes com água destilada. Posteriormente, as mesmas foram distribuídas em rolos de papel "germitest" umedecidos a um volume de 2,5

¹ Professor Adjunto, Departamento de Botânica/DB, Instituto de Biologia/IB, Universidade Federal de Pelotas/UFPel, Caixa Postal 354, CEP 96010 – 900, Capão do Leão, RS, Brasil, Fone: (53) 3275-7640/Fax: (53) 3275-7169, sdeuner@yahoo.com.br

² Doutora em Fisiologia Vegetal, DB, IB, UFPel.

³ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Departamento de Fitotecnia, UFPel.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, DB, IB, UFPel.

vezes o seu peso com diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) ou extrato aquoso de cenoura, de forma isolada. Com base nisso, foram estabelecidos os seguintes tratamentos: T1- Controle (água); T2- Solução salina (25 mM de NaCl); T3- Solução salina (75 mM de NaCl); T4- Solução salina (150 mM de NaCl); T5- Extrato de cenoura a 10% e T6- Extrato de cenoura a 20%.

Para a obtenção do extrato de cenoura, suas raízes foram limpas e trituradas em centrífuga (modelo Mondial *premium*), utilizada para o processamento de suco de frutas, e seu extrato filtrado em papel filtro. O extrato aquoso resultante foi diluído em água destilada nas concentrações estabelecidas.

A germinação foi conduzida em germinador tipo BOD regulado a 25°C e, após sete dias da indução dos tratamentos, 10 plântulas de três repetições de cada tratamento foram coletadas para as análises enzimáticas. Para isso, \pm 200 mg de matéria fresca de folhas e raízes foi macerado em N₂, acrescido de 20% de PVPP (polivinilpolipirrolidona) e homogeneizado com 1,8 mL de meio de extração (tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,8; EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 20 mM). O homogenato foi centrifugado a 13.000 g por 20 minutos (4°C) e o sobrenadante utilizado para determinação da atividade das enzimas e para a quantificação das proteínas pelo método de BRADFORD (1976).

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977) no meio de reação (fosfato de potássio 100 mM pH 7,8; metionina 14 mM; EDTA 0,1 μ M; NBT 75 μ M e riboflavina 2 μ M). Uma unidade da SOD foi considerada a quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio. Os resultados foram expressos em U mg⁻¹ proteína.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada segundo NAKANO; ASADA (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato (ASA) a 290 nm. O meio de reação foi composto de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), ácido ascórbico 0,5 mM e H₂O₂ 0,1 mM e extrato enzimático. O decréscimo na absorbância foi monitorado por um minuto e meio e os resultados foram expressos em μ mol ASA min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada conforme descrito por Azevedo et al. (1998). O extrato enzimático foi adicionado ao meio de reação (tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM) e a atividade da enzima foi monitorada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm, durante um minuto e meio. Os resultados foram expressos em μ mol H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

O trabalho foi conduzido em blocos inteiramente casualizados, os resultados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados, é importante ressaltar que no tratamento T4 (150 mM de NaCl), aos sete dias após a semeadura ainda não haviam sementes germinadas e assim não foram analisadas quanto a atividade enzimática. Para os demais tratamentos, a enzima SOD nas folhas expressou aumento significativo em sua atividade no T3 (75 mM de NaCl) e T6 (20 % de extrato de cenoura). No tratamento salino esta resposta já era esperada devido ao estresse causado pela salinidade do meio. Já para o tratamento com extrato de cenoura, a presença de β -caroteno em sua composição, que é um pigmento antioxidante, pode ter sido o responsável pelo aumento na atividade da SOD. Ainda para esta enzima, nas raízes, somente no T3 houve aumento significativo.

Para a APX, nas folhas somente no T3 houve aumento significativo, sendo este somente em relação aos tratamentos T2 e T5, não diferindo do T1 e T6 (Figura 1C) e, nas raízes não houve diferença significativa (Figura 1D).

A CAT, enzima que, assim como a APX, atua na remoção do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), produto da dismutação do ânion superóxido pela SOD, no presente estudo atuou de forma sincronizada as demais enzimas analisadas, mostrando maior atividade no tratamento T3, embora este tenha diferido significativamente somente do T5 nas folhas e

do T1, T5 e T6 nas raízes (Figura 1 E e F).

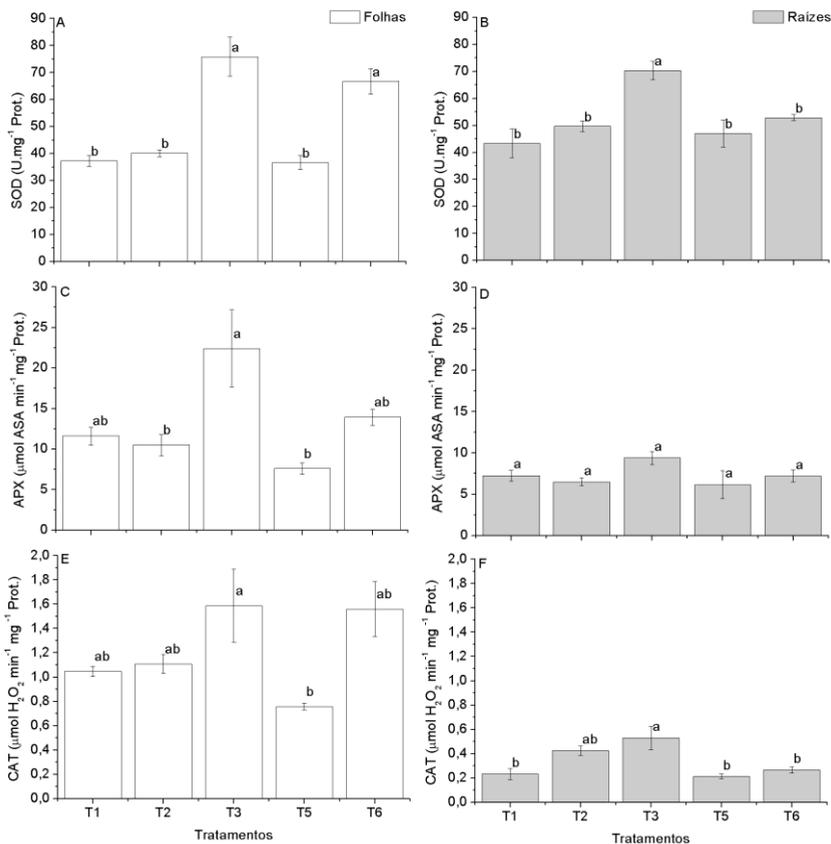


Figura 1. Atividade das enzimas antioxidantes: Superóxido dismutase (SOD) – A, B; Ascorbato peroxidase (APX) – C, D e Catalase (CAT) – E, F, em folhas e raízes de plântulas de arroz cv. BRS Bojuru submetidas ao estresse salino e extrato aquoso de cenoura. Letras minúsculas distintas diferem pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Barra indica erro padrão da média.

Sengundo Zhang (1997), o extrato de raízes de cenoura possui atividade estimulante ao crescimento, podendo ser usado como bioestimulante na produção agrícola. Abbas & Akladios (2013) avaliando a atividade de algumas enzimas em plantas de *Vigna sinensis* relacionando o uso de extrato de cenoura e salinidade, observaram aumento na atividade da peroxidase tanto no tratamento com salinidade (100 mM) quanto com extrato de cenoura. Resultados que corroboram com o presente estudo, umas vez que, principalmente para os tecidos foliares, a elevada salinidade e o extrato de cenoura a 20% induziu expressivo aumento na atividade enzimática.

CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que concentrações salinas a partir de 75 mM de NaCl induzem ao estresse oxidativo.

A aplicação do extrato de cenoura a 20% aumenta os níveis de antioxidantes enzimáticos e assim, por se tratar de um antioxidante natural, germinar sementes de arroz em extrato de cenoura e posteriormente semear em ambiente salino, pode reduzir os efeitos negativos da salinidade, o que deverá ser comprovado em estudos futuros.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, S.M. and AKLADIOUS, S.A. Application of carrot root extract induced salinity tolerance in cowpea (*Vigna sinensis* L.) seedlings. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, p. 795-806, 2013.

AGRIBUS. Anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, 2012. p. 165-176.

AZEVEDO, R. A. et al. Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 48-54, 1976.

BRITTON, G. **Carotenoids**. In: Natural foods colorants, Hendry, G.F., Blackie, New York, p.141-148, 1992.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, fev. 1977.

LIMA, M. F. P. et al. Emergência e crescimento inicial de plântulas de albizia submetidas à irrigação com água salina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.19, n. 2, feb. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-43662015000200106&script=sci_arttext>. Acesso em: 17 jun. 2015.

McDONALD, S.; PRENZLER, P.D.; ANTOLOVICH, M.; ROBARDS, K. Phenolics content and antioxidant activity of olive extracts. **Food Chemistry**, v. 73, p. 73-84, 2001.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

RÊGO JÚNIOR, N.O.; FERNANDEZ, L.G.; CASTRO, R.D. de; SILVA, L.C.; GUALBERTO, S.A.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, M.V. da. Compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos brutos de espécies vegetais da caatinga. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 14, p. 50-57, 2011.