

# ESTRESSE OXIDATIVO EM PLANTAS DE ARROZ, ARROZ-VERMELHO E CAPIM-ARROZ SUBMETIDAS A DÉFICIT HÍDRICO

Claudia de Oliveira<sup>1</sup>; Renan Ricardo Zandoná<sup>2</sup>; Bruno Monks da Silva<sup>3</sup>; Jessica Rodrigues Garcia<sup>4</sup>; Dirceu Agostinetto<sup>5</sup>

Palavras-chave: *Oryza* spp, *Echinochloa* spp. atividade enzimática.

## INTRODUÇÃO

A área cultivada com arroz no Brasil na safra 2013/14 foi de aproximadamente 2,4 milhões de hectares, o Estado do Rio Grande do Sul é responsável por cerca de 70% da produção do grão (CONAB, 2015), sendo sua produtividade superior à média nacional. Apesar da alta produtividade alcançada nas últimas safras, estresses abióticos e bióticos afetam a cultura reduzindo sua produtividade. Dentre os estresses destacam-se o déficit hídrico e a presença de plantas daninhas.

O estresse hídrico é o maior responsável por perdas na produção mundial de grãos, principalmente em regiões tropicais (PASSIOURA, 2007). Metade das áreas com lavouras de arroz no mundo estão sujeitas a ter sérios danos ocasionados pelo estresse hídrico (YANG & ZHANG, 2006). Além dos estresses ambientais como o déficit hídrico, a cultura do arroz irrigado é afetada negativamente pela presença de plantas daninhas, destacando-se o arroz-vermelho (*Oryza* spp.) e capim-arroz (*Echinochloa* spp.), as quais por pertencerem à mesma família botânica competem pelo nicho com a cultura e dificultam a adoção de medidas de controle, porém, diferem, entre outros aspectos, quanto sua via fotossintética.

Os diferentes tipos de estresses as quais as plantas são submetidas levam ao aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs). Para combater os estresses provocados pelas EROs, as plantas têm mecanismos de proteção antioxidante enzimático e não enzimático (MITTLER, 2002). As respostas das plantas frente aos estresses oxidativo podem auxiliar na elaboração de estratégias de manejo de plantas daninhas em lavouras de arroz. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o estresse oxidativo em plantas de arroz, arroz-vermelho e capim-arroz quando submetidas a déficit hídrico.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e as análises em laboratórios do CEHERB/FAEM/UFPeL, no ano de 2013. O delineamento experimental foi completamente casualizado com quatro repetições, sendo os tratamentos arranjados em esquema fatorial, onde o fator A constituiu-se das três espécies (arroz, arroz-vermelho e capim-arroz); e o fator B foi composto por dois níveis de déficit hídrico (com déficit e sem déficit).

As unidades experimentais foram compostas por vasos plásticos com capacidade volumétrica de 4L, contendo solução nutritiva desenvolvida pelo IRRRI (Yoshida et al., 1976). As sementes de cada espécie foram semeadas em bandejas próprias para a produção de mudas, e aos sete dias após a emergência as plantas foram transferidas para os vasos contendo solução nutritiva adotando-se população de 16 plantas por vaso. A solução

<sup>1</sup> Engº Agrº, Doutoranda em Fitossanidade, FAEM/UFPeL.oliveirac.agro@gmail.com.

<sup>2</sup> Engº Agrº, Mestrando em Fitossanidade, FAEM/UFPeL.

<sup>3</sup> Engº Agrº, Mestrando em tecnologia de sementes. FAEM/UFPeL.

<sup>4</sup> Graduanda de agronomia. FAEM/UFPeL.

<sup>5</sup> Engº Agrº, Dr. Professor do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, FAEM/UFPeL.

nutritiva foi substituída a cada cinco dias, para garantir o balanço adequado de nutrientes às plantas.

Aos 20 dias após o transplante adicionou-se a solução nutritiva, das unidades submetidas ao estresse, 10% (p/v) de polietilenoglicol 6000. A coleta do material para as análises foi realizada três dias após o início do estresse. Foram coletadas a parte aérea das plantas e armazenadas a -80°C até a determinação das variáveis metabólicas.

As variáveis analisadas foram teor de clorofilas a (Ca), clorofila b (Cb), clorofilas totais (a+b), carotenoides (CRT), peroxidação lipídica (TBARS), teor de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e atividade das enzimas catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e superóxido desmutase (SOD). Os teores de clorofilas e de carotenoides totais foram calculados pelas fórmulas de Lichtenthaler (1987), expressando-se os resultados em mg g<sup>-1</sup> de massa fresca (MF). Os danos celulares nos tecidos foram determinados pelo teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), conforme descrito por Sergier et al. (1997); e os das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), via acúmulo de aldeído malônico (MDA), conforme descrito por Health & Packer (1968). Para determinar a atividade das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT, primeiramente quantificou-se a proteína das amostras pelo método de Bradford (1976). A atividade da CAT e APX foi determinada segundo Azevedo et al. (1998); e, SOD foi determinada segundo metodologia adaptada de Giannopolitis & Ries (1977).

Os dados foram testados quanto à homocedasticidade e normalidade, sendo que, para as variáveis atividade das enzimas CAT, APX e SOD os dados foram transformação pela equação da raiz quadrada  $x = \sqrt{y+1}$ . Em seguida os dados foram submetidos à análise da variância pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ). Havendo significância, os efeitos de plantas foram avaliados pelo teste Duncan ( $p \leq 0,05$ ) e dos níveis de déficit hídrico pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se interação entre os fatores plantas e déficit hídrico para as variáveis, teor de Ca, Cb, a+b e CRT e atividade das enzimas CAT, SOD (tabela 1). Para as variáveis, atividade da enzima APX e teor de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verificou-se efeito do fator espécie (tabela 2). Para a variável TBARS não foi observado efeito dos fatores testados.

Para o teor de pigmentos em arroz e arroz-vermelho se observou redução quando as plantas foram submetidas a déficit hídrico, com exceção do teor CRT em arroz (tabela 1). Nas plantas de capim-arroz não se verificou diferença do teor dos pigmentos em função do déficit hídrico.

Na condição sem déficit hídrico as plantas de arroz e arroz-vermelho apresentaram maior teor de Ca que o capim-arroz (tabela 1). Já, quando as plantas foram submetidas à restrição de água o arroz apresentou mais Ca que o arroz-vermelho e o capim-arroz. Para Cb em plantas sem déficit o arroz-vermelho continha mais o pigmento que as demais plantas testadas, porém quando as plantas foram submetidas ao déficit as plantas de arroz diferiram das demais apresentando maior conteúdo de Cb. As plantas de arroz e arroz-vermelho apresentaram mais clorofilas totais (a+b) quando estas estavam hidratadas que o capim-arroz, sendo que na condição com déficit observou-se maior teor dos pigmentos nas plantas de arroz. Para CRT verificou-se o arroz-vermelho sem déficit continham mais deste pigmento que o arroz e capim-arroz, já nas plantas estressadas, o arroz apresentou mais carotenoides, sendo seguidas pelo arroz-vermelho e o capim-arroz apresentou a menor concentração CRT. No geral verificou-se que em plantas em condições ideais de hidratação, o capim arroz apresenta menor teor de pigmentos fotossintetizantes, contudo o estresse hídrico não ocasiona a redução dos pigmentos nas plantas dessa espécie, diferentemente do que acontece em plantas de arroz e arroz-vermelho.

Em arroz e arroz-vermelho não se observou diferença na atividade das enzimas CAT e SOD quando as plantas estavam com ou sem déficit, já em capim-arroz observou-se aumento da atividade das enzimas quando as plantas foram submetidas a déficit hídrico (tabela 1). Para a atividade da CAT quando as plantas estavam sem déficit hídrico não se verificou diferença entre as plantas testadas, já quando estas estavam na situação de

estresse o arroz e arroz-vermelho apresentaram menor atividade que o capim-arroz. A atividade da enzima SOD foi maior em plantas de arroz sem déficit que nas demais plantas, enquanto em plantas com déficit hídrico o capim-arroz novamente apresentaram maior atividade que o arroz e arroz-vermelho. As CAT's são enzimas que convertem o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub>, enquanto, as SOD's são enzimas que catalisam a conversão de radicais livres O<sub>2</sub><sup>-</sup> a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> (RESENDE et al. 2003).

Verificou-se que o arroz e arroz-vermelho apresentaram maior atividade da enzima APX quando comparado ao capim-arroz (tabela 2). Em plantas de arroz foi observado maior teor de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, seguidas pelo arroz-vermelho, sendo que plantas de capim-arroz apresentaram o menor teor.

Tabela 1 - Teores de clorofila *a* (Ca), *b* (Cb), total (*a+b*), carotenoides totais (CRT) (mg g<sup>-1</sup>), atividade das enzimas catalase (CAT) (UA<sup>1</sup>mg<sup>-1</sup> prot. min<sup>-1</sup>) e superóxido desmutase (SOD) (UA<sup>1</sup>mg<sup>-1</sup> prot. min<sup>-1</sup>), extraídas de folhas arroz, arroz-vermelho e capim-arroz submetidos ou não a déficit hídrico. FAEM/UFPEL, Capão do Leão/RS, 2013.

Plantas	Arroz		Arroz-vermelho		Capim-arroz	
	Ca (mg.g <sup>-1</sup> )					
Sem déficit	2,45	* <sup>2</sup> a <sup>3</sup>	2,83	* a	1,61	<sup>ns</sup> b
Com déficit	1,88	a	1,57	b	1,53	b
	Cb (mg.g <sup>-1</sup> )					
Sem déficit	0,81	* b	1,05	* a	0,62	<sup>ns</sup> b
Com déficit	0,66	a	0,56	b	0,54	b
	(a+b) (mg.g <sup>-1</sup> )					
Sem déficit	3,05	* a	3,89	* a	2,23	<sup>ns</sup> b
Com déficit	2,55	a	2,14	b	2,07	b
	CRT (mg.g <sup>-1</sup> )					
Sem déficit	0,62	<sup>ns</sup> b	0,73	* a	0,38	<sup>ns</sup> b
Com déficit	0,65	a	0,47	b	0,35	c
	CAT (UA mg <sup>-1</sup> prot. min <sup>-1</sup> )					
Sem déficit	1,07	<sup>ns</sup> a	1,07	<sup>ns</sup> a	1,09	* a
Com déficit	1,08	b	1,07	b	1,14	a
	SOD (UA mg <sup>-1</sup> prot. min <sup>-1</sup> )					
Sem déficit	1,56	<sup>ns</sup> a	1,18	<sup>ns</sup> b	1,01	* b
Com déficit	1,14	b	1,08	b	1,59	a

<sup>1</sup>UA= unidade ativa. <sup>2</sup>Médias na coluna seguidas por <sup>ns</sup> e \* indicam diferença não significativa e significativa, respectivamente pelo teste t (p≤0,05). <sup>3</sup>Médias seguidas por mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste Duncan (p≤0,05).

Tabela 2 - Atividade das enzimas ascorbato peroxidase (APX) (UA<sup>1</sup>mg<sup>-1</sup> prot. min<sup>-1</sup>), e teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (mM/g) em folhas de arroz, arroz-vermelho e capim-arroz submetidos ou não a déficit hídrico. FAEM/UFPEL, Capão do Leão/RS, 2013.

Plantas	APX		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
	UA mg <sup>-1</sup> prot. min <sup>-1</sup>		mM/g	
Arroz	1,26	a <sup>2</sup>	4,89	a
Arroz-vermelho	1,24	a	3,76	b
Capim-arroz	1,10	b	0,93	c
CV(%)	17,96		20,90	

<sup>1</sup>UA= unidade ativa. <sup>2</sup>Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Duncan (p≤0,05).

As plantas de arroz, arroz-vermelho e capim-arroz apresentam respostas diferenciadas ao estresse oxidativo ocasionado pelo déficit hídrico, sendo observado que as plantas de capim-arroz ativaram o sistema antioxidante, aumentando a atividade das enzimas CAT e SOD, o que contribuiu para manutenção do teor de pigmentos fotossintéticos

em plantas de capim-arroz. Por outro lado, para o arroz e arroz-vermelho, em geral, verificou-se redução dos pigmentos nas plantas submetidas a restrição de água. As clorofilas e os carotenoides são pigmentos ligados à eficiência fotossintética e, em consequência, ao crescimento e adaptação das plantas a diversos ambientes (FORCE et al. 2003). Assim, o declínio do teor desses compostos pode comprometer a atividade fotossintética, prejudicando o desenvolvimento das plantas.

O capim-arroz, provavelmente por ser uma planta C<sub>4</sub>, mostrou-se mais adaptado ao déficit hídrico que o arroz e arroz-vermelho. O mecanismo de concentração de CO<sub>2</sub>, em plantas C<sub>4</sub>, decorre da necessidade de reduzir as perdas com a fotorrespiração que acontecem em ambientes com alta temperatura e pouca água (TAIZ & ZEIGER 2013). Já, entre as plantas de arroz e arroz-vermelho, em geral, não se observou resposta diferencial ao estresse oxidativo, sendo que este resultado similar pode ser atribuído a sua similaridade, já que pertencem a mesma espécie.

## CONCLUSÃO

As plantas de arroz e arroz-vermelho, quando submetidas ao déficit hídrico em geral, diminuem o teor de pigmentos fotossintéticos e não ativam o sistema antioxidante.

As plantas de capim-arroz quando submetidas ao déficit hídrico apresentam maior resposta antioxidante, tendo menor dano oxidativo que plantas de arroz e arroz-vermelho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

BRADFORD, M.A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

CONAB. **Levantamentos de safra**: Levantamento grãos safra 2013/14. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase. **Plant Physiology**, v.59, n.2, p.309-314, 1977.

HEALTH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, p.189-198, 1968.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: COLOWICK, S. P.; KAPLAN, N. O. **Methods in enzymology**. San Diego: Academic Press, 1987. p.350-382.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p.405-410, 2002.

PASSIOURA, J. The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. **Journal of Experimental Botany**, v.58, p.113-117, 2007.

RESENDE, M.L.V.; SALGADO, S.M.L.; CHAVES, Z.M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.2, p.123-130, 2003.

SERGIER, I.; ALEXIEVA, V.; KARANOV, E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plant. **Comptes Rendus de l'Académie Bulgare des Sciences**, v.51, p.121-124, 1997.

YANG, J.; ZHANG, J. Grain filling of cereals under soil drying. **New Phytologist**, v.169, p.223-236, 2006.

YOSHIDA, S. et. al. Laboratory manual for physiological studies of rice. **The International Rice Research Institute**. Los Bafos, Philippines, 1976. p.54-72.