

# EXCESSO DE FERRO PROMOVE LIMITAÇÕES BIOQUÍMICAS À FOTOSSÍNTSE EM PLANTAS DE ARROZ

Caroline Müller<sup>1</sup>; Marco Antonio Oliva<sup>2</sup>; Daniel Teixeira Pinheiro<sup>3</sup>; Andréa Miyasaka de Almeida<sup>4</sup>

Palavras-chave: *Oryza sativa*, carboxilação, ferro, fotossíntese, tolerância

## INTRODUÇÃO

O excesso de ferro (Fe) induz alterações fisiológicas nas plantas (BECANA *et al.*, 1998; BRIAT *et al.*, 2007), sendo um dos mais importantes estresses abióticos que limitam a produtividade de arroz em cultivo irrigado (SAHRAWAT, 2005; FAGERIA *et al.*, 2008; OLALEYE *et al.*, 2001; AUDEBERT e FOFANA, 2009).

O excesso de Fe nos tecidos foliares induz uma extensiva gama de desordens metabólicas, desencadeando estresse oxidativo (FANG *et al.*, 2001; EATON e QIAN, 2002), que pode ser responsável, em última instância, por danos nos componentes fotossintéticos (SPILLER e TERRY, 1980; LUPÍNKOVÁ e KOMENDA, 2004). A desestruturação de pigmentos dos complexos fotossintéticos promove, por sua vez, alteração no transporte de elétrons, ocasionando redução na taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e, com isso, perda da capacidade de fixação de carbono nos cloroplastos (MISHRA e DUBEY, 2005).

Para sustentar o crescimento e evitar a toxicidade do Fe celular, as plantas dependem da capacidade de armazenar e remobilizar este metal (BRIAT *et al.*, 2007). Dessa forma, a resistência ao excesso de Fe em plantas de arroz pode ser uma consequência de exclusão de Fe e/ou tolerância a altas concentrações de Fe interno. Um dos mecanismos envolvidos mais conhecidos que contribuem para a tolerância a esse metal é o seqüestro do elemento na forma de ferritina (GROSS *et al.*, 2003; MAJERUS *et al.*, 2009). No entanto, diferentes cultivares podem apresentar diferentes mecanismos para enfrentar o excesso de Fe. A manutenção das taxas fotossintéticas sob toxidez de Fe pode, assim, contribuir para a identificação rápida de fenótipos tolerantes.

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar se os efeitos da toxidez por Fe promovem alterações bioquímicas na etapa fotossintética em cultivares de arroz.

## MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.), cultivares BR-IRGA 409 e IRGA 419 foram germinadas em câmara de crescimento. Após aproximadamente 14 dias, as plântulas foram transplantadas para vasos em casa-de-vegetação, em sistema hidropônico com solução nutritiva de Hoagland sem aeração (pH 4,0, força total). Ao atingir o estádio V5 de desenvolvimento fenológico (COUNCE *et al.*, 2000), as plantas foram tratadas com sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>) em concentrações fisiológicas (0,019 mM) ou excessivas de Fe (7 mM) com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (p/p). O pH foi ajustado diariamente a 4,0 e a solução renovada a cada 4 dias.

Respostas da taxa fotossintética (A) em função da concentração de CO<sub>2</sub> interno (C<sub>i</sub>) (curva A/C<sub>i</sub>) foram realizadas, após sete dias de exposição ao excesso de Fe, em folhas completamente expandidas. Para obtenção da curva A/C<sub>i</sub>, diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> foram injetadas na câmara, controladas automaticamente por um dispositivo injetor do LI-6400xt (6400-01 CO<sub>2</sub> injector, LI-COR, USA). As medições da curva A/C<sub>i</sub> foram realizadas

<sup>1</sup> Bióloga, Dra. em Fisiologia Vegetal, Depto de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Av PH Rolfs, s/n, Campus Universitário, 36570-000, Viçosa-MG, Brasil, caroline.muller@terra.com.br.

<sup>2</sup> Biólogo, Prof. Adjunto, Universidade Federal de Viçosa, moliva@ufv.br.

<sup>3</sup> Graduando em Agronomia, Universidade Federal de Viçosa, danielhp05@hotmail.com.

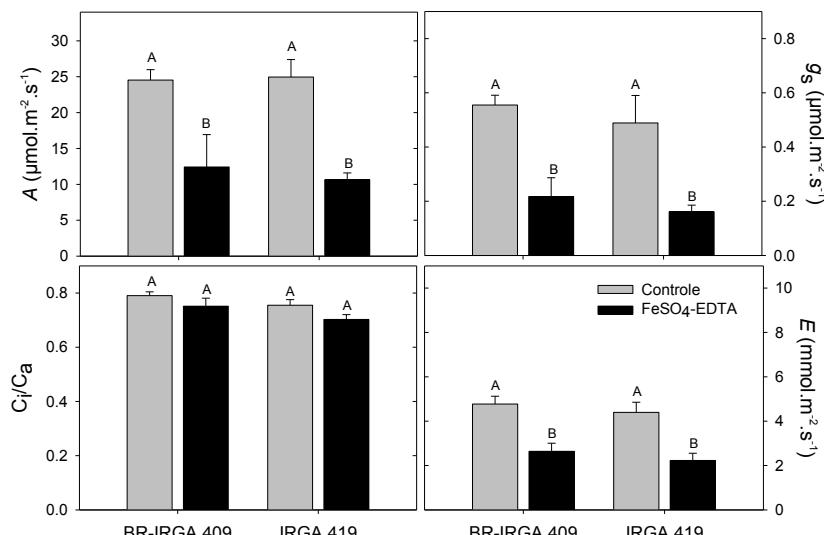
<sup>4</sup> Bióloga, Prof. Assistente, Universidad Nacional Andrés Bello, Santiago, Chile, amiya.almeida@gmail.com.

em nove níveis de  $\text{CO}_2$  (50, 100, 200, 400, 700, 1000, 1300, 1600 e 2000  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ), sob nível de irradiação de 1000  $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , temperatura e umidade ambientes. A taxa máxima de carboxilação ( $V_{\text{c},\text{max}}$ ) da enzima carboxilase/oxygenase da ribulose-1,5 bisfostato (Rubisco), a taxa de transporte de elétrons dirigindo a regeneração da ribulose-1,5 bisfostato (RuBP) ( $J_{\text{max}}$ ) e a utilização da triose fosfato ( $V_{\text{TPU}}$ ) foram calculadas a partir das curvas  $A/C_i$ , segundo Long e Bernacchi (2003) e Sharkey *et al.* (2007).

O delineamento experimental constituiu-se de blocos ao acaso, com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Scott-Knott 5% de probabilidade, pelo programa SAEG v 9.0.

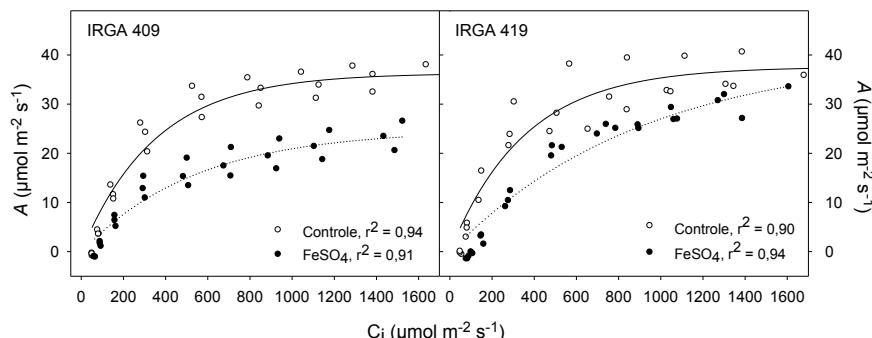
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após sete dias de exposição ao Fe, os cultivares de arroz, BR-IRGA 409 e IRGA 419, apresentaram redução significativa na taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ), quando submetidos à concentração excessiva de Fe. O cultivar IRGA 419 apresentou maior sensibilidade ao excesso de Fe com 57 % de redução em  $A$ , em relação ao controle, seguido pelo BR-IRGA 409 (49 %) (Figura 1). A queda fotossintética foi acompanhada pela redução na condutância estomática nos cultivares BR-IRGA 409 (61 %) e IRGA 419 (67 %); e, pela transpiração, em média, 47 % menor nas plantas tratadas com Fe. A razão  $C_i/C_a$ , no entanto, não apresentou alterações significativas ( $P > 0.05$ ) em níveis tóxicos de Fe (Figura 1). Desta forma, a redução em  $g_s$  não seria o fator limitante da fixação de  $\text{CO}_2$  pelas plantas de arroz cultivadas sob excesso de Fe.



**Figura 1.** Taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ); condutância estomática ( $g_s$ ); transpiração ( $E$ ) e razão  $C_i/C_a$  em dois cultivares de arroz expostos ao  $\text{FeSO}_4$ -EDTA (7 mM), por sete dias, em sistema hidropônico. Barras representam médias  $\pm$  EP. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P > 0,05$ ).

A redução na taxa fotossíntese máxima observada com o aumento das concentrações internas de  $\text{CO}_2$  (curva  $A/C_i$ ), nas plantas cultivadas em sulfato ferroso, indica que níveis tóxicos de Fe promoveram limitações na etapa bioquímica da fotossíntese (Figura 2). Este fato pode ser confirmado pela redução significativa em  $V_{c,\text{max}}$  pela enzima Rubisco somente para a cultivar IRGA 419 (64 %) (Tabela 1). Em adição, alterações em  $J_{\text{max}}$  e  $V_{\text{TPU}}$  não foram significativas em ambos os genótipos. A redução na atividade da carboxilase da rubisco tem sido descrita sob estresse severo de Fe (TAYLOR *et al.*, 1982), possivelmente pela degradação da subunidade maior da Rubisco promovido por espécies reativas de oxigênio (DESIMONE *et al.*, 1996).



**Figura 2.** Regressão não-linear hiperbólica das curvas  $A/C_i$  em cultivares de arroz submetidos a 7 mM de sulfato ferroso por sete dias sob condição hidropônica.

**Tabela 1.** Taxa de carboxilação máxima pela Rubisco ( $V_{c,\text{max}}$ ), taxa de transporte de elétrons para regeneração da RuBP ( $J_{\text{max}}$ ) e utilização da triose fosfato ( $V_{\text{TPU}}$ ) em cultivares de arroz expostos ao  $\text{FeSO}_4$ -EDTA (7 mM), por sete dias.

		$V_{c,\text{max}}$	$J_{\text{max}}$	$V_{\text{TPU}}$
BR-IRGA 409	Controle	$104.5 \pm 12.0\text{a}$	$154.6 \pm 11.1\text{a}$	$11.6 \pm 0.78\text{a}$
	$\text{FeSO}_4$ -EDTA	$84.4 \pm 12.3\text{a}$	$124.6 \pm 25.9\text{a}$	$9.9 \pm 1.54\text{a}$
IRGA 419	Controle	$105.1 \pm 15.9\text{a}$	$149.5 \pm 18.1\text{a}$	$11.5 \pm 0.83\text{a}$
	$\text{FeSO}_4$ -EDTA	$37.7 \pm 4.0\text{b}$	$114.7 \pm 1.5\text{a}$	$9.5 \pm 0.54\text{a}$

Médias  $\pm$  EP seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, para cada parâmetro, pelo teste de Scott-knott, 5 % de probabilidade.

## CONCLUSÕES

Sob níveis normais de  $\text{CO}_2$ , a toxidez de Fe reduziu a fotossíntese e condutância estomática de forma semelhante em ambos os cultivares, sem alterar contudo a razão  $C_i/C_a$ . Entretanto, sob condições saturantes de  $\text{CO}_2$ , em níveis tóxicos de Fe, foi possível observar que a redução na fotossíntese foi devida à limitações bioquímicas, inferência essa suportada pela redução em  $V_{c,\text{max}}$  na cultivar BR-IRGA 409. Estes dados somados a dados anteriores permitem afirmar que o cultivar IRGA 419 possui maior tolerância a níveis tóxicos de Fe por apresentar menor limitações bioquímicas à fotossíntese nestas condições.

## AGRADECIMENTOS

CNPq, CAPES/PROCAD e FAPEMIG pela concessão de bolsa de estudo e financiamento de projeto. EMBRAPA Clima Temperado, EPAMIG e EPAGRI pelas sementes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Audebert, A.; Fofana, M. (2009) Rice Yield Gap due to Iron Toxicity in West Africa. *Journal of Agronomy & Crop Science* v. 195, p. 66-76.

Becana, M.; Moran, J.-F.; Iturbe-Ormaetxe, I. (1998) Iron-dependant oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stresses: toxicity and antioxydant protection. *Plant Soil* v. 201, p. 137-147.

Briat, J.-F.; Curie, C.; Gaumard, F. (2007) Iron utilization and metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology* v. 10, p. 276-282.

Counce, P.; Keisling, T.C.; Mitchell, A.J. (2000) A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. *Crop Science* v. 40, p. 436-443.

Desimone, M.; Henke, A.; Wagner, E. (1996) Oxidative stress induces partial degradation of the large subunit of Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase in isolated chloroplasts of barley. *Plant Physiology* v. 111, p. 789-796.

Eaton, J.W.; Qian, M. (2002) Molecular bases of cellular iron toxicity. *Free Radical Biology and Medicine* v. 32, p. 833-840.

Fageria, N.K.; Santos, A.B.; Barbosa Filho, M.P.; Guimarães, C.M. (2008) Iron toxicity in lowland rice. *Journal of Plant Nutrition* v. 31, p. 1676-1697.

Fang, W.; Wang, J.; Lin, C.; Kao, C. (2001) Iron induction of lipid peroxidation and effects on antioxidative enzyme activities in rice leaves. *Plant Growth Regulation* v. 35, p. 75-80.

Gross, J.; Stein, R.J.; Fett-Neto, A.G.; Fett, J.P. (2003) Iron homeostasis related genes in rice. *Genetics and Molecular Biology* v. 26, n. 4, p. 477-497.

Long, S.P.; Bernacchi, C.J. (2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* v. 54, n. 392, p. 2393-2401.

Lupíková, L.; Komenda, J. (2004) Oxidative modifications of the photosystem II D1 protein by reactive oxygen species: from isolated protein to cyanobacterial cells. *Photochemistry and Photobiology* v. 79, n. 2, p. 152-162.

Majerus, V.; Bertin, P.; Lutts, S. (2009) Abscisic acid and oxidative stress implications in overall ferritin synthesis by African rice (*Oryza glaberrima* Steud.) seedlings exposed to short term iron toxicity. *Plant Soil* v. 324, p. 253-265.

Mishra, S.; Dubey, R.S. (2005) **Heavy metal toxicity induced alterations in photosynthetic metabolism in plants.** Cap 45 p. 832-850. In: Pessarakli, M. (Ed.) *Handbook of Photosynthesis*. 2 Ed. 862 p.

Olaileye, A.O.; Tabi, F.O.; Ogunkunle, A.O.; Singh, B.N.; Sahrawat, K.L. (2001) Effect of toxic iron concentrations on the growth of lowlands rice. *Journal of Plant Nutrition* v. 24, p. 441-457.

Sahrawat, K.L. (2005) Managing iron toxicity in lowland rice: the role of tolerant genotypes and plant nutrients. Session 15: Challenges to expanding rice production in unfavorable environments, p 452-254. In: Toriyama, K.; Heong, K.L.; Hardy, B. (Eds.) *Rice is life: scientific perspectives for the 21st century*. Proceedings of the World Rice Research Conference held in Tokyo and Tsukuba, Japan 590 p.

Sharkey, T.D.; Bernacchi, C.J.; Farquhar, G.D.; Singsaas, E.L. (2007) In Practice: Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment* v. 30, n. 9, p. 1035-1040.

Spiller, S.; Terry, N. (1980) Limiting Factors in Photosynthesis. II. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiology* v. 65, p. 121-125.

Taylor, S.E.; Terry, N.; Huston, R.P. (1982) Limiting Factors in Photosynthesis. III. Effects of iron nutrition on the activities of three regulatory enzymes of photosynthetic carbon metabolism. *Plant Physiology* v. 70, p. 1541-1543.