

EXCESSO DE FERRO PROMOVE LIMITAÇÕES BIOQUÍMICAS À FOTOSÍNTESE EM PLANTAS DE ARROZ

Caroline Müller¹; Marco Antonio Oliva²; Daniel Teixeira Pinheiro³; Andréa Miyasaka de Almeida⁴

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 CO₂ 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 sequestro 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 estágio V5 de desenvolvimento fenológico (COUNCE *et al.*, 2000), as plantas foram tratadas com sulfato ferroso (FeSO₄) 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 CO₂ interno (*C_i*) (curva *A/C_i*) foram realizadas, após sete dias de exposição ao excesso de Fe, em folhas completamente expandidas. Para obtenção da curva *A/C_i*, diferentes concentrações de CO₂ foram injetadas na câmara, controladas automaticamente por um dispositivo injetor do LI-6400xt (6400-01 CO₂ injector; LI-COR, USA). As medições da curva *A/C_i* foram realizadas

¹ 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.

² Biólogo, Prof. Adjunto, Universidade Federal de Viçosa, moliva@ufv.br.

³ Graduando em Agronomia, Universidade Federal de Viçosa, danielhp05@hotmail.com.

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

em nove níveis de CO_2 (50, 100, 200, 400, 700, 1000, 1300, 1600 e 2000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$), sob nível de irradiância de 1000 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura e umidade ambientes. A taxa máxima de carboxilação ($V_{c,\text{max}}$) da enzima carboxilase/oxigenase da ribulose-1,5 bisfostato (Rubisco), a taxa de transporte de elétrons dirigindo a regeneração da ribulose-1,5 bisfostato (RuBP) (J_{max}) e a utilização da triose fosfato (V_{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 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 CO_2 pelas plantas de arroz cultivadas sob excesso de Fe.

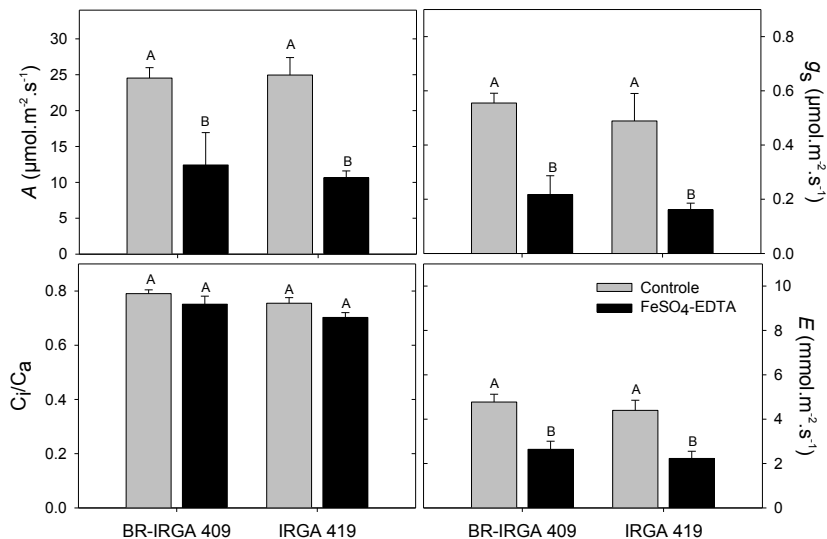


Figura 1. Taxa de assimilação líquida de CO_2 (A); condutância estomática (g_s); transpiração (E) e razão C_i/C_a em dois cultivares de arroz expostos ao FeSO_4 -EDTA (7 mM), por sete dias, em sistema hidropônico. Barras representam médias \pm EP. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,05$).

A redução na taxa fotossíntese máxima observada com o aumento das concentrações internas de 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 $V_{c,\max}$ pela enzima Rubisco somente para a cultivar IRGA 419 (64 %) (Tabela 1). Em adição, alterações em J_{\max} e V_{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).

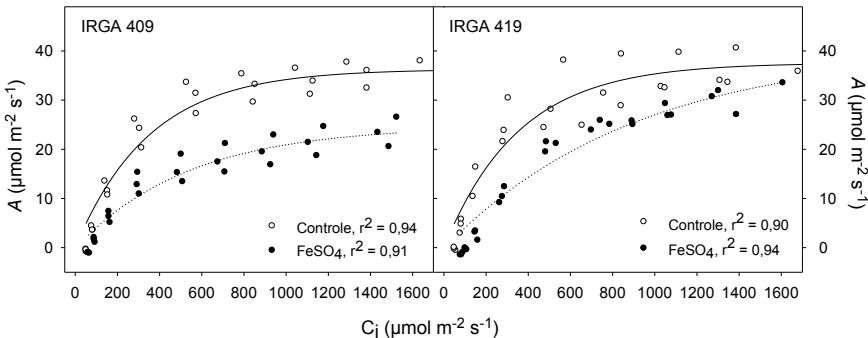


Figura 2. Regressão não-linear hiperbólica das curvas A/C_i em cultivares de arroz submetidos a 7 mM de sulfato ferroso por sete dias sob condição hidropônica.

Tabela 1. Taxa de carboxilação máxima pela Rubisco ($V_{c,\max}$), taxa de transporte de elétrons para regeneração da RuBP (J_{\max}) e utilização da triose fosfato (V_{TPU}) em cultivares de arroz expostos ao FeSO_4 -EDTA (7 mM), por sete dias.

		$V_{c,\max}$	J_{\max}	V_{TPU}
BR-IRGA 409	Controle	104.5 ± 12.0a	154.6 ± 11.1a	11.6 ± 0.78a
	FeSO_4 -EDTA	84.4 ± 12.3a	124.6 ± 25.9a	9.9 ± 1.54a
IRGA 419	Controle	105.1 ± 15.9a	149.5 ± 18.1a	11.5 ± 0.83a
	FeSO_4 -EDTA	37.7 ± 4.0b	114.7 ± 1.5a	9.5 ± 0.54a

Médias±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 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 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 $V_{c,\max}$ 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.
- Lupínková, 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) Absciscic 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.
- Olaleye, 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.; Singaas, 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.