

METABOLISMO ANTIOXIDANTE DE PLÂNTULAS DE ARROZ VERMELHO SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE LUMINOSIDADE

SEGALIN, S. R.¹, AUMONDE, T. Z.²; PEDÓ, T.³; MARTINAZZO, E. G.⁴; AMARANTE, L.⁵; VILLELA, F. A.².

Palavras-chave: *Oryza sativa* L, sombreamento, estresse abiótico, enzimas antioxidantes.

INTRODUÇÃO

O arroz irrigado é um dos principais cultivos anuais do Brasil, sendo a produção nacional de aproximadamente 11.945 mil toneladas (CONAB, 2013). Sua principal planta daninha, o arroz vermelho, planta de mesma espécie do cultivado (VILLA et al., 2006), possui alta rusticidade, resistência a condições adversas de meio ambiente, sendo de difícil controle e de elevada taxa de degrane natural.

O vigor da semente consiste em um conjunto de processos fisiológicos e envolve a capacidade de reorganização do sistema de membranas celulares, a hidrólise, translocação e alocação de reservas da semente para o eixo embrionário, sendo importante parâmetro de avaliação da qualidade da semente e rotineiramente determinado pela emergência de plântulas. As enzimas superóxido-dismutase, peroxidases e catalases estão envolvidas na remoção de radicais livres durante o processo de deterioração de sementes (ROSA et al., 2005) e também em plântulas e plantas sob condições adversas de ambiente (AUMONDE, 2012). Neste sentido, a determinação da atividade de enzimas do metabolismo antioxidante possibilita a melhor compreensão e avaliação do efeito do nível de luminosidade sobre o desempenho de sementes e plântulas de arroz vermelho.

Estudos sobre o metabolismo antioxidante em plantas daninhas ainda são escassos, não havendo conhecimento da avaliação em plântulas de arroz vermelho submetidas a níveis de luminosidade. Tais avaliações são válidas devido ao conhecimento da variabilidade de desempenho e plasticidade que diferentes espécies possuem frente a distintos níveis de radiação luminosa, podendo apresentar respostas diferenciais relacionadas ao metabolismo antioxidante da espécie.

Desse modo, o trabalho objetivou analisar o efeito de diferentes níveis de luminosidade sobre o metabolismo antioxidante de plântulas de arroz vermelho.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação modelo capela, disposta na direção norte-sul (latitude 31°52' S, longitude 52°21' W e altitude 13 m) e as análises efetuadas no Laboratório de Fisiologia de Sementes do Departamento de Fitotecnia - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

Os tratamentos consistiram de três níveis de luminosidade, sendo 35% e 65% - determinados por meio de tela de sombreamento (sombrite®); 100% - sendo as sementes e plântulas dispostas ao ambiente de casa de vegetação, sob ausência de sombreamento.

A avaliação da influência dos níveis de luminosidade sobre a emergência de plântulas de arroz vermelho foi conduzida com quatro subamostras de 50 sementes e

¹ Eng. Agr., Mestranda em Ciência e Tecnologia de Sementes, Bolsista CAPES, UFPel. Endereço: UFPel/FAEM, Programa de Pós-Graduação em C&T de Sementes, cx. 354, CEP 96001-970, Brasil. e-mail: samanthasegalin@hotmail.com

² Eng. Agr., Prof. Dr., Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Fitotecnia, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, UFPel.

³ Eng. Agr., Doutorando em Ciência e Tecnologia de Sementes, Bolsista CAPES, UFPel.

⁴ Bióloga, Dra., Pós-Doutoranda em Fisiologia Vegetal, Bolsista PNPd-CAPES, UFPel.

⁵ Eng. Agr., Prof. Dr., Departamento de Bioquímica, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, UFPel.

as telas de sombreamento foram retiradas aos 21 dias após a semeadura para possibilitar a avaliação da porcentagem de emergência de plântulas e a coleta de material vegetal para análise da atividade das enzimas antioxidantes. As amostras de material vegetal foram armazenadas em ultrafreezer a -70 °C, até a realização das análises.

Foi quantificada em parte aérea e raiz a atividade das seguintes enzimas:

Superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1): a atividade da enzima foi avaliada pela capacidade de inibição da fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) a 560 nm em meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM, conforme Giannopolitis & Ries (1977). Uma unidade de atividade da SOD foi definida como a quantidade de enzima que produz uma inibição de 50% da redução fotoquímica do NBT.

Ascorbato peroxidase (APX - EC 1.15.1.1): determinada por metodologia proposta por Nakano & Asada (1981) pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato (ASA) por 2 min a 290 nm ($\epsilon = 2.80 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). O meio de reação foi incubado a 30 °C e composto por tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) ácido ascórbico 0,5 mM, H₂O₂ 0,1 mM e extrato enzimático.

Catalase (CAT - EC 1.11.1.6): determinada conforme descrito por Azevedo et al. (1998). A atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm ($\epsilon = 39.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), durante 2 min em meio de reação de 4 mL incubado a 30 °C, contendo extrato enzimático, tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e peróxido de hidrogênio 12,5 mM.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com três tratamentos e seis repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e havendo significância, as médias foram comparadas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de sombreamento não afetaram significativamente a emergência de plântulas, que atingiu 87% nas três luminosidades empregadas. A enzima superóxido dismutase (SOD) apresentou maior atividade na parte aérea e em raízes de plântulas de arroz vermelho sob luminosidade de 35%, com posterior decréscimo nas luminosidades de 65% e 100% (Fig. 1a). A elevação na atividade desta enzima pode estar relacionada ao incremento na produção do radical superóxido (O₂[•]). A SOD é considerada a primeira enzima a atuar no sistema antioxidante, realizando a dismutação do radical superóxido a peróxido de hidrogênio (AZEVEDO NETO et al., 2006; SINHA & SAXENA, 2006).

A enzima ascorbato peroxidase (APX) apresentou maior atividade na parte aérea de plântulas sob luminosidade de 100% (Fig. 1b). Enquanto em raízes, a atividade da APX atingiu máximo em plântulas sob o nível de luminosidade 65%. O aumento da atividade da APX na parte aérea pode estar relacionado aos elevados níveis de H₂O₂ originado a partir da conversão do radical O₂[•] por meio de reação mediada pela SOD (SINHA & SAXENA, 2006). Segundo Foyer & Noctor (2000), a APX é uma das principais peroxidases que atua na remoção deste radical livre, utilizando ascorbato para reduzir H₂O₂ à água.

A enzima catalase (CAT) quantificada na parte aérea nas e raízes foi alterada de acordo com o nível de luminosidade (Fig. 1c e Fig. 1d). Tanto em folhas quanto em raízes a maior atividade foi verificada em plântulas sob luminosidade de 35%, seguida do decréscimo até a menor atividade enzimática em plântulas sob luminosidade de 100% (raiz) e de 65% (parte aérea). A APX tem alta afinidade pelo peróxido de hidrogênio, enquanto a CAT possui baixa afinidade, fato que a torna importante na remoção de H₂O₂ proveniente da fotorrespiração (FOYER & NOCTOR, 2000) e, evidência a menor produção de H₂O₂ em plântulas sob elevada luminosidade.

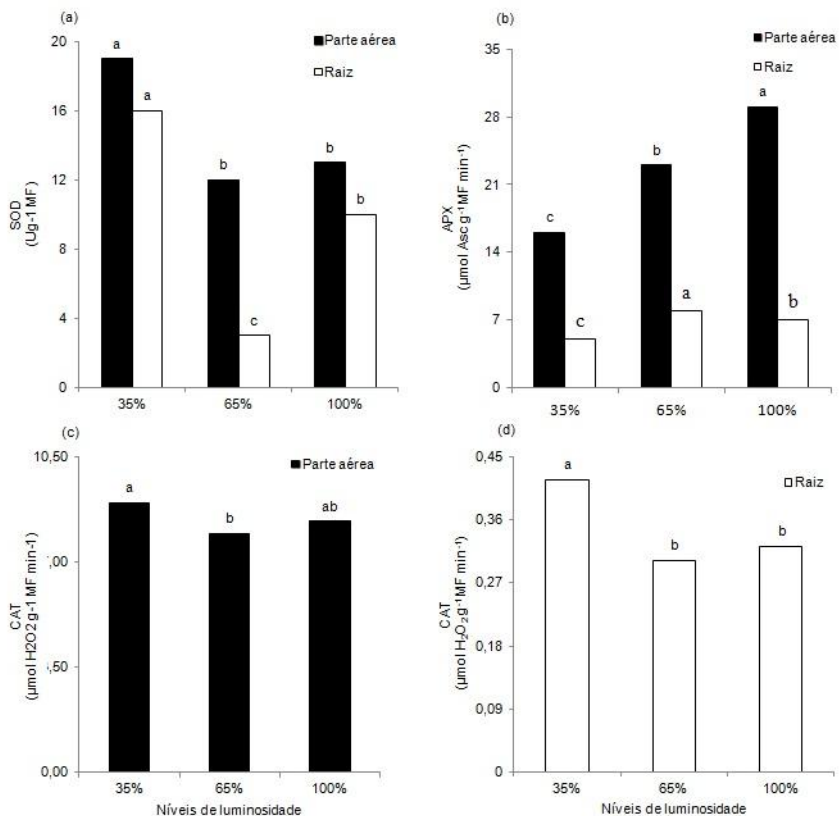


Figura 1. Atividade das enzimas SOD (a), APX (b) e CAT (c,d) em plântulas de arroz vermelho sob níveis de luminosidade.

É possível evidenciar que nas raízes e na parte aérea de plântulas sob o nível de luminosidade de 35%, após a atuação da SOD, a enzima responsiva pela detoxificação do peróxido possivelmente tenha sido a CAT. O estímulo à elevação da atividade da SOD e APX é essencial para a manutenção do equilíbrio entre a formação e degradação de radicais livres potencialmente danosos ao sistema celular vegetal (SINHA & SAXENA, 2006). É importante frisar que o arroz é planta de metabolismo C_3 e apresenta fotorrespiração. Desse modo, altas luminosidades podem provocar além da perda de carbono, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio.

CONCLUSÃO

Extremos de luminosidade alteram de forma distinta, em parte aérea e raiz, a atividade das enzimas antioxidantes estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUMONDE, T. Z.; Ação de extratos vegetais no desempenho de sementes e plântulas de alface e arroz vermelho. 2012. 67 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.
- 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, n. 2, p. 280-292, out. 1998.
- AZEVEDO NETO, A. D. et al. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, n.1, p. 87-94, mai. 2006.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos 2011/12. Oitavo Levantamento. Maio de 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_06_03_15_28_45_boletim_mai_2013.pdf>. Acesso em 31 mai. 2013.
- FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. **New Phytologist**, v. 146, n. 3, p. 359-388, jun. 2000.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, fev. 1977.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.
- ROSA, S. D. V. F. et al. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *lea* associadas à tolerância de sementes milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 91-101, dec. 2005.
- SINHA, S.; SAXENA, R. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. **Chemosphere**, v. 62, n. 8, p. 1340-1350, mar. 2006.
- VILLA, S. C. C. et al. Arroz tolerante a imidazolinonas: controle do arroz-vermelho, fluxo gênico e efeito residual do herbicida em culturas sucessoras não-tolerantes. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 761-768, out/dez. 2006.