

PEROXIDAÇÃO E EXTRAVASAMENTO DE ELETRÓLITOS EM PLANTAS DE ARROZ COMPETINDO COM ARROZ-VERMELHO POR NITROGÊNIO

Marcos André Nohatto¹, Claudia de Oliveira¹, Dirceu Agostinetto², Willian Borges Domingues³, Jader Jacob Franco⁴, Nixon da Rosa Westendorff¹

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., planta daninha, dano celular.

INTRODUÇÃO

O arroz-vermelho é a principal liliopsida que causa danos à cultura do arroz, o que dificulta o controle químico (AGOSTINETTO et al., 2001). No entanto, essa planta daninha possui características diferenciadas em relação ao arroz cultivado, como crescimento inicial rápido, dossel mais alto, maior capacidade de afilamento, maior eficiência na utilização de CO₂ (ZISKA & McCLUNG, 2008) e nitrogênio (BURGOS et al., 2006), as quais podem aumentar sua habilidade competitiva, influenciando na redução da produtividade da cultura.

Dentre os fatores citados destaca-se o papel do nitrogênio (N), macronutriente essencial da planta, necessário para uma variedade de processos fisiológicos (SONG et al, 2011). Além da composição na estrutura de compostos importantes, como aminoácidos, proteínas, ácidos nucléicos, metabólitos secundários, clorofila e reguladores de crescimento (SALES et al., 2011). Esse nutriente é um dos principais recursos pelos quais as plantas competem, sendo exigido em grandes quantidades pela cultura do arroz. Trabalho conduzido por Huang et al. (2008), demonstrou que as cultivares de arroz Shanyou63 e Liangyoupeijiu requerem uma taxa mínima de 120-150 kg N ha⁻¹ para alcançar o máximo potencial produtivo.

Quando a competição do arroz-vermelho pelo nitrogênio se estabelece ocorre redução da disponibilidade do nutriente para a cultura, o que causa estresse, prejudicando processos fisiológicos e bioquímicos na planta. Essa condição de estresse celular pode ser avaliada através da peroxidação lipídica e extravasamento de eletrólitos (HUANG et al., 2004; RUBIN, 2012), o que possibilita o aumento da compreensão da resposta do arroz frente a competição com o arroz-vermelho. Diante disso, o objetivo foi avaliar a peroxidação e extravasamento de eletrólitos em plantas de arroz sob competição com arroz-vermelho submetidas a diferentes níveis de nitrogênio.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), no município de Capão do Leão - RS, na estação de cultivo 2011/12. As unidades experimentais foram compostas por vasos plásticos com capacidade volumétrica de 4 L, preenchidos com solo oriundo de lavoura orizícola. O delineamento foi completamente casualizado, com seis repetições.

O experimento foi instalado em esquema fatorial, onde o fator A foi composto por diferentes combinações da cultivar de arroz IRGA 424 e de biótipo de arroz-vermelho, variando-se as proporções relativas de plantas por vaso (sem (100:0) e com (50:50) competição do arroz-vermelho); e, o fator B foi constituído de doses de nitrogênio (0, 60, 120, 180 e 240 kg N ha⁻¹). A população de plantas foi de 32 plantas por vaso, equivalente a

¹Eng. Agr. Doutorando (a) em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, s/n - CP 354 CEP 96010-900 - Pelotas - RS - Brasil, marcosnohatto@hotmail.com. ²Eng. Agr. Professor Adjunto do Programa de Pós Graduação em Fitossanidade, UFPEL. ³Graduando em Ciências Biológicas, UFPEL. ⁴Eng. Agr. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, UFPEL.

1.143 plantas m⁻², determinada em experimento de monocultivo (dados não mostrados).

A aplicação do N foi dividida em duas partes, uma realizada em solo seco aos 15 dias após a emergência (DAE), por ocasião do início do afillamento, e outra aos 53 DAE. Um dia após a primeira aplicação da adubação foi realizada inundação das unidades experimentais.

Aos 60 DAE foram realizadas coletas da parte aérea do arroz, sendo armazenadas a -80°C até o momento da quantificação da peroxidação lipídica e extravasamento de eletrólitos. A peroxidação foi determinada em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), via acúmulo de aldeído malônico (MDA), conforme descrito por Health & Packer (1968). Para isso, 0,2 g de folhas foram macerados com nitrogênio líquido, homogeneizados em ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 1400 rpm por 20 minutos. Aliquotas de 0,5 mL do sobrenadante foram adicionadas a 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (m/v) em ácido tricloroacético 10% (m/v) e incubadas a 90°C por 20 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por 10 minutos. A absorbância foi lida a 532 nm, descontando-se a absorbância inespecífica a 600 nm. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade de 155 mM⁻¹ cm⁻¹ e os resultados foram expressos em nM MDA g⁻¹ de matéria fresca (MF).

O extravasamento de eletrólitos foi determinado conforme descrito por Tarhanen et al. (1999). Para isso, 0,2 g de amostra foram triturados e lavados três vezes com água ultra-pura. Após este procedimento, as mesmas foram colocadas em 50 mL de água ultra-pura e deixadas por 6 horas em banho-maria a 25°C. Decorrido esse tempo, a condutância inicial (Ci) foi obtida utilizando-se um condutivímetro (Lutron, CD-4301). Posteriormente a essa leitura, as mesmas amostras foram colocadas em estufa a 90°C por 2 horas e feita a segunda leitura (Cf). O extravasamento de eletrólitos foi calculado pela relação Ci/(Ci+Cf) x 100 e o resultado foi expresso em percentagem.

Os dados obtidos foram analisados quanto a sua normalidade (teste de Shapiro Wilk) e, posteriormente submetidos à análise de variância (p≤0,05). No caso de ser constatada significância estatística, realizou-se análise de regressão, ajustando-se os dados à equação quadrática, conforme segue:

$$y = y_0 + ax + bx^2$$

onde: y = TBARS ou extravasamento; x = concentração do nutriente; e, a, y₀ e b são parâmetros estimados da equação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável TBARS, verificou-se interação entre os fatores proporções da cultura e doses de nitrogênio (Figura 1). Para o primeiro fator estudado, observou-se que as plantas de arroz submetidas à competição com arroz-vermelho apresentaram maiores valores de MDA nas doses 60 e 120 N kg ha⁻¹ (Figura 1).

O MDA é o produto da peroxidação de lipídeos, consequentemente, o maior conteúdo desse composto indica estresse oxidativo (HAN & WANG, 2002). Dessa forma, hipotetiza-se que a competição pelo nitrogênio pode induzir a produção de radicais livres que oxidaram os componentes fosfolipídicos das membranas celulares, acarretando no incremento dos teores da variável. Recentemente, estudo também demonstrou a capacidade da competição ocasionar estresse oxidativo, uma vez que foi detectado acúmulo de H₂O₂ na primeira folha e tecidos radiculares em plantas de milho em resposta a baixa relação vermelho:vermelho distante refletida pelas plantas daninhas (AFIFI & SWANTON, 2012).

Os dados ajustaram-se à equação de regressão quadrática, demonstrando bom ajuste dos dados ao modelo (Figura 1). Com base nas equações, verificou-se que as plantas de arroz apresentaram redução no teor de TBARS quando submetidas às doses crescentes de nitrogênio, atingindo uma estabilização a partir da dose 120 kg N ha⁻¹ para a proporção sem a presença do arroz vermelho, enquanto que na presença do competidor a estabilização tende a ocorrer para doses de N superiores a 180 kg ha⁻¹ (Figura 1).

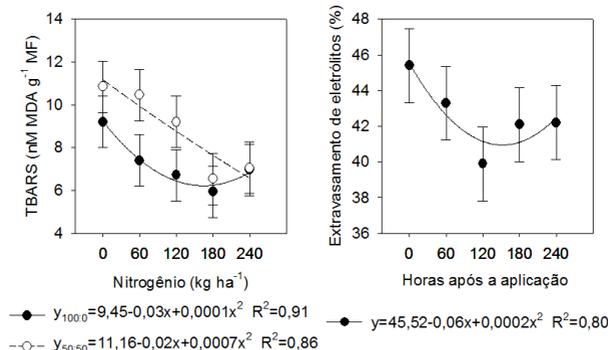


Figura 1. Efeito de diferentes doses de nitrogênio no teor de TBARS (nM MDA g⁻¹ MF) e extravasamento de eletrólitos (%) em plantas de arroz sob monocultivo (100:0) e competição com arroz-vermelho (50:50), avaliado aos 60 dias após a emergência. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2011/12. Os pontos representam os valores médios das repetições e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Com relação a variável extravasamento de eletrólitos, não houve interação entre os fatores e efeito das proporções, o que demonstra que o dano celular em resposta ao estresse oxidativo não foi suficientemente capaz de provocar aumento na presença de íons e compostos polares no citosol. Estudo avaliando os danos celulares na soja e em biótipos de azevém, suscetível e resistente ao herbicida glyphosate, também não detectou diferenças no extravasamento de eletrólitos em função da competição (OLIVEIRA, 2013).

Contudo, houve efeito para as doses de nitrogênio, verificando-se que a dose 0 kg N ha⁻¹ apresentou maior valor em comparação a dose 120 kg N ha⁻¹ (Figura 1). A explicação pode estar relacionada com a baixa capacidade do arroz sob condição de extrema limitação do recurso de eliminar os radicais livres (HUANG et al., 2004), acarretando na peroxidação das membranas celulares e extravasamento do conteúdo celular para o meio externo. Estudo realizado por Kumagai et al. (2009) também demonstrou que a deficiência de N pode incrementar o acúmulo de H₂O₂ em folhas de arroz, reduzir a capacidade de assimilação de CO₂, taxa fotossintética, condutância estomática e rendimento quântico do fotossistema II. Atividades das enzimas rubisco e ATP sintase, bem como tamanho do cloroplasto e quantidade de tilacóides também são afetados negativamente, prejudicando o processo fotossintético na cultura (LAZA et al., 1993; REDILLAS et al., 2011).

Por outro lado, a equação ajustada indica que o aumento da dose de N para valores superiores a 180 N kg ha⁻¹, poderá ocasionar aumento do estresse oxidativo, independente da competição (Figura 1), indicando que a utilização de doses elevadas desse nutriente pode provocar dano celular. Além disso, há relatos que a alta concentração de nitrogênio aumenta o desenvolvimento de doenças, como brusone (LONG et al., 2000) e insetos (LU et al., 2007) na cultura; e decresce o conteúdo de lignina e hemicelulose das paredes celulares, causando acamamento de plantas de arroz (LEE et al., 1990).

Com base nos resultados, pode-se inferir que tanto a utilização de doses excessivas de nitrogênio quanto à limitação desse recurso podem provocar uma condição de estresse oxidativo em plantas de arroz, sendo agravada pela presença do arroz-vermelho. Com isso, destaca-se a necessidade do manejo adequado de nutrientes e controle de plantas daninhas, a fim de reduzir danos celulares na cultura e consequentemente, favorecer a expressão do potencial produtivo.

CONCLUSÃO

As plantas de arroz com competição do arroz-vermelho apresentam maiores valores de

peroxidação lipídica quando submetidas as doses de 60 e 120 kg N ha⁻¹.

A competição não altera o extravasamento de eletrólitos, contudo, a baixa disponibilidade do nitrogênio pode elevar os valores da variável em comparação à dose 120 kg N ha⁻¹.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFIFI, M.; SWANTON, C. Early physiological mechanisms of weed competition. **Weed Science**, v.60, n.4, p.542-551, 2012.
- AGOSTINETTO, D. et al. Arroz-vermelho: ecofisiologia e estratégias de manejo. **Ciência Rural**, v.31, n.2, p.341-349, 2001.
- BURGOS, N.R. et al. Competitive N uptake between rice and weedy rice. **Field Crops Research**, v.99, n.2/3, p.96-105, 2006.
- HAN, Y.C.; WANG, C.Y. Physiological basis of bentazon tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) lines. **Weed Biology and Management**, v.2, n.4, p.186-193, 2002.
- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts.I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, n.1, p.189-198, 1968.
- HUANG, J. et al. Determination of optimal nitrogen rate for rice varieties using a chlorophyll meter. **Field Crops Research**, v.105, n.1/2, p.70-80, 2008.
- HUANG, Z.A. et al. Effects of nitrogen deficiency on gas exchange, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzymes in leaves of rice plants. **Photosynthetica**, v.42, n.3, p.357-364, 2004.
- KUMAGAI, E. et al. Effect of nitrogen-deficiency on midday photoinhibition in flag leaves of different rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Photosynthetica**, v.47, n.2, p.241-246, 2009.
- LAZA, R.C. et al. Cultivar differences in growth and chloroplast ultrastructure in rice as affected by nitrogen. **Journal of Experimental Botany**, v.44, n.11, p.1643-1648, 1993.
- LEE, D.B. et al. Influence of nitrogen and silica on the yield and the lodging related traits of paddy rice. **Research Reports of the Rural**, v.32, n.2, p.15-23, 1990.
- LONG, D.H. et al. Effect of nitrogen fertilization on disease progress of rice blast on susceptible and resistant cultivars. **Plant Disease**, v.84, n.4, p.403-409, 2000.
- LU, Z.X. et al. Effect of nitrogen fertilizer on herbivores and its stimulation to major insect pests in rice. **Rice Science**, v.14, n.1, p.56-66, 2007.
- OLIVEIRA, C. **Mudanças morfofisiológicas e metabólicas em biótipos de azevém, suscetível e resistente a glyphosate, em competição com soja**. 2013. 81f. Dissertação (Mestrado em fitossanidade) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- REDILLAS, M.C.F.R. et al. JIP analysis on rice (*Oryza sativa* cv Nipponbare) grown under limited nitrogen conditions. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v.54, n.5, p.827-832, 2011.
- RUBIN, R.S. **Alterações morfofisiológicas em biótipos de arroz-vermelho em competição com arroz-irrigado**, 2012. 101f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- SALES, M.A. et al. Morphological and physiological responses of weedy red rice (*Oryza sativa* L.) and cultivated rice (*O. sativa*) to N supply. **American Journal of Plant Sciences**, v.2, n.4, p.569-577, 2011.
- SONG, C. et al. Proteomic analysis of nitrogen stress-responsive proteins in two rice cultivars differing in N efficiency. **Journal of Integrated Omics**, v.1, n.1, p.78-87, 2011.
- TARHANEN, S. et al. Membrane permeability response of lichen *Bryoria fuscescens* to wet deposited metals and acid rain. **Environmental Pollution**, v.104, n.1, p.121-129, 1999.
- ZISKA, L.H.; McCCLUNG, A. Differential response of cultivated and weedy (red) rice to recent and projected increases in atmospheric carbon dioxide. **Agronomy Journal**, v.100, n.5, p.1259-1263, 2008.