

## SENESCÊNCIA INDUZIDA POR DEFICIÊNCIA DE FERRO EM RAÍZES DE PLANTAS DE ARROZ

Raul Antonio Sperotto, Tatiana Boff, Janette Palma Fett. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Instituto de Biotecnologia - Centro de Biotecnologia e Departamento de Botânica - Campus do Vale - Avenida Bento Gonçalves, 9500 - Bairro Agronomia - CEP: 91501-970 - Porto Alegre - RS - raulsperotto@yahoo.com.br

A deficiência de ferro é um problema nutricional para virtualmente todas as formas de vida e está entre as desordens nutricionais mais comuns em plantas. Baixos níveis de ferro estão associados com inibição no alongamento da raiz e aumento na formação de pêlos radiculares (Schmidt et al. 2000). Tais mudanças morfológicas estão frequentemente associadas à formação de células de transferência na rizoderme e hipoderme (Schikora & Schmidt, 2002). A formação de células de transferência induzida por deficiência de ferro é parte de um mecanismo regulatório para aumentar a área de superfície entre a planta e o solo, além de aumentar a captação deste metal (Kramer et al. 1980).

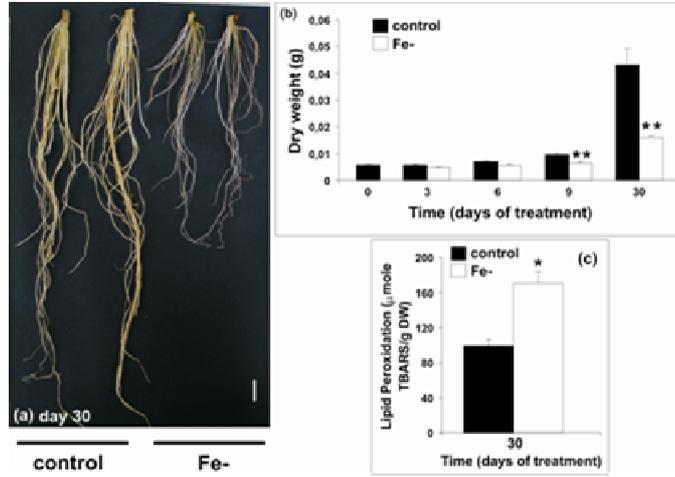
Plantas de arroz são altamente suscetíveis a baixos suprimentos de ferro (Takahashi et al. 2001), sendo que a deficiência severa leva a uma redução no crescimento e até mesmo morte celular, culminando com baixas produtividades ou perda completa da lavoura (Guerinot & Yi, 1994). A senescência e a posterior morte celular são as fases terminais do desenvolvimento de todos os órgãos da planta, incluindo folhas, caules, flores e raízes. Entretanto, a grande maioria dos estudos refere-se apenas à senescência foliar (Yoshida, 2003). As informações a respeito das mudanças que ocorrem em nível molecular, celular e fisiológico em raízes senescentes são escassas. Com o intuito de melhor entender os mecanismos que levam as raízes de arroz à senescência induzida por deficiência de ferro, o objetivo deste trabalho foi analisar e descrever os mecanismos que levam a esse processo e a subsequente morte celular.

Para tanto, plantas de arroz foram cultivadas por 3, 6, 9, 30, 50 e 70 dias em condição controle e deficiência de ferro. Através de análise com espectrofotômetro de absorção atômica, foi verificada uma menor concentração de ferro nas raízes expostas à deficiência de ferro por 9 dias (dado não mostrado). O peso seco das raízes foi significativamente menor nas raízes expostas à deficiência de ferro por 9 dias, se comparado com a situação controle. Após 30 dias de estresse, constataram-se grande diferença de tamanho e de peso seco entre as raízes das situações controle e deficiência de ferro, como mostrado nas figuras 1a e 1b. Também após 30 dias, foi verificado maior nível de peroxidação de lipídios em raízes expostas à deficiência de ferro (figura 1c), utilizando-se o método TBARS (thiobarbituric acid-reagent substances, Mihara et al. 1980). Através de análises histoquímicas, utilizando-se o reagente de Schiff (que cora aldeídos resultantes da peroxidação de lipídios, Yamamoto et al. 2001) e o corante Evans Blue, que precipita em células que apresentam degradação de membrana ou perda de integridade de membrana (marcador de morte celular, Yamamoto et al. 2001) foi possível verificar que as raízes submetidas à deficiência de ferro por 50 dias apresentaram altos níveis de peroxidação de lipídios e morte celular. Após 70 dias de tratamento, tanto as partes aéreas quanto as raízes apresentavam-se completamente mortas (dados não mostrados).

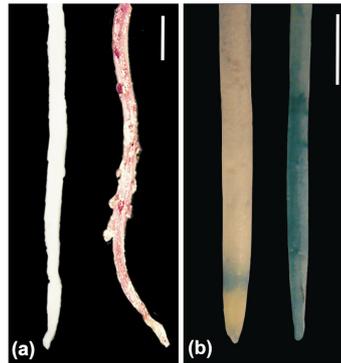
A peroxidação de membranas celulares afeta severamente a sua funcionalidade e integridade, além de produzir danos irreversíveis às células (Halliwell & Gutteridge, 1989). A composição lipídica das membranas é um dos principais alvos suscetíveis a danos (Davies, 1987) e acredita-se que a peroxidação de lipídios seja um processo mediado por radicais livres (Thompson et al. 1987). Uma das principais características de senescência em tecidos vegetais é o aumento no nível de peroxidação lipídica juntamente com um aumento na produção de malonildialdeído (MDA), produto formado durante a decomposição dos ácidos graxos poliinsaturados de membranas, induzido por radicais livres. A presença de MDA é considerada um bom indicador da ocorrência de estresse

oxidativo, e, dessa forma, pode ser feita uma estimativa do grau de estresse oxidativo sofrido pelo tecido (Hodges et al. 1996). O aumento na peroxidação de lipídios nas raízes de arroz sob deficiência de ferro pode indicar uma diminuição na atividade de enzimas antioxidantes. Entretanto, existe pouca informação a respeito do estresse oxidativo gerado pela deficiência de ferro. Sabe-se que durante processos de senescência, algumas enzimas antioxidantes aumentam sua atividade, enquanto outras diminuem (Kingston-Smith et al. 19997), provavelmente dependendo da espécie examinada e se a senescência é natural ou induzida por estresse.

Os resultados obtidos sugerem que a deficiência de ferro, assim como outros tipos de estresses, pode desencadear um processo de senescência nas raízes de arroz, elevando o nível de peroxidação de lipídios e diminuindo a integridade da membrana plasmática, resultando em morte da planta.



**Figura 1:** Caracterização da senescência de raízes induzida por deficiência de ferro. Crescimento de raiz (a), peso seco (b) e peroxidação de lipídios (c) foram avaliados em raízes de arroz submetidas a 3, 6, 9 e 30 dias a tratamentos controle e deficiência de ferro. Os valores correspondem a média  $\pm$  erro padrão ( $n = 10$  para peso seco e  $n = 4$  para peroxidação de lipídios). Médias com um ou dois asteriscos são diferentes segundo o teste  $t$  ( $P \leq 0.05$  e  $P \leq 0.01$ , respectivamente). A barra indica 1 cm.



**Figura 2:** Detecção histoquímica da peroxidação de lipídios e da perda de integridade da membrana plasmática. As raízes de arroz foram mantidas em condição controle ou de deficiência de ferro por 50 dias. As raízes foram coradas com o reagente Schiff (a, peroxidação de lipídios) ou com o corante Evans Blue (b, perda de integridade da membrana plasmática). A coloração positiva com os dois reagentes foi detectada apenas nas raízes em deficiência de ferro. A barra em cada figura indica 1 mm.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Davies K J A (1987) **Protein damage and degradation by oxygen radicals.** Journal of Biological Chemistry 262: 9895-9901.
- Guerinot M L, Yi Y (1994) **Iron: nutritious, noxious, and not readily available.** Plant Physiology 104: 815-820.
- Halliwell B, Gutteridge J M C (1989) **Free radicals in biology and medicine.** 2<sup>nd</sup> edn., Oxford, Clarendon Press.
- Hodges D M, Andrews C J, Johnson D A, Hamilton R I (1996) **Antioxidant compound responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines.** Physiologia Plantarum 98: 685-692.
- Kingston-Smith A H, Thomas H, Foyer C H (1997) **Chlorophyll a fluorescence, enzyme and antioxidant analyses provide evidence for the operation of alternative electron sinks during leaf senescence in a stay-green mutant of *Festuca pratensis*.** Plant Cell Environment 20: 1323-1337.
- Kramer D, Römheld V, Landsberg E, Marschner H (1980) **Induction of transfer-cell formation by iron deficiency in the root epidermis of *Helianthus annuus* L.** Planta 147: 335-339.
- Mihara M, Uchiyama M, Fukazawa K (1980) **Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl<sub>4</sub> intoxication, and vitamin E deficiency.** Biochemical Medicine 23: 302-311.
- Schikora A, Schmidt W (2002) **Formation of transfer cells and H<sup>+</sup>-ATPase expression in tomato roots under P and Fe deficiency.** Planta 215: 304-311.
- Schmidt W, Tittel J, Schikora A (2000) **Role of hormones in the induction of Fe deficiency responses in *Arabidopsis* root.** Plant Physiology 122: 1109-1118.
- Takahashi M, Nakanishi H, Kawasaki S, Nishizawa N K, Mori S (2001) **Enhanced tolerance of rice to low iron availability in alkaline soils using barley nicotianamine aminotransferase genes.** Nature Biotechnology 19: 466-469.
- Thompson J E, Legge R L, Barber R F (1987) **The role of free radicals in senescence and wounding.** New Phytology 105: 317-344.
- Yamamoto Y, Kobayashi Y, Matsumoto H (2001) **Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots.** Plant Physiology 125: 199-208.
- Yoshida S (2003) **Molecular regulation of leaf senescence.** Current Opinion in Plant Biology 6: 79-84.

Agradecimentos: Capes, CNPq, IRGA e CIAT.