

## **TOXIDEZ POR EXCESSO DE FERRO: DISTINTOS MECANISMOS DE TOLERÂNCIA EM CULTIVARES DE ARROZ.**

Ricardo José Stein<sup>(1)</sup>, Marta Gomes Spohr<sup>(1)</sup>, Vinícius de Abreu Waldow<sup>(1)</sup>, Marcelo Sartori Grunwald<sup>(1)</sup> e Janette Palma Fett<sup>(1)</sup>. <sup>1</sup>Centro de Biotecnologia e Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. (ricajstein@yahoo.com.br).

A toxidez por excesso de ferro é um dos principais problemas para a cultura de arroz em sistema de alagamento. Perdas no rendimento de arroz derivadas da toxidez por excesso de ferro comumente variam entre 15-20%. Entretanto, em casos mais severos perdas maiores podem ocorrer (Audebert & Sahrawat, 2000). A forma de cultivo em alagamento acarreta na anoxia e decorrente elevação do pH da solução líquida do solo, levando à solubilização e redução do Fe (III) em Fe (II). Em solos ácidos, esta anoxia e decorrente acidificação do solo podem levar à redução e à solubilização de grande quantidade de ferro, antes precipitado formando quelatos e ligado à matéria orgânica presente no solo (Ponnamperuma, 1972).

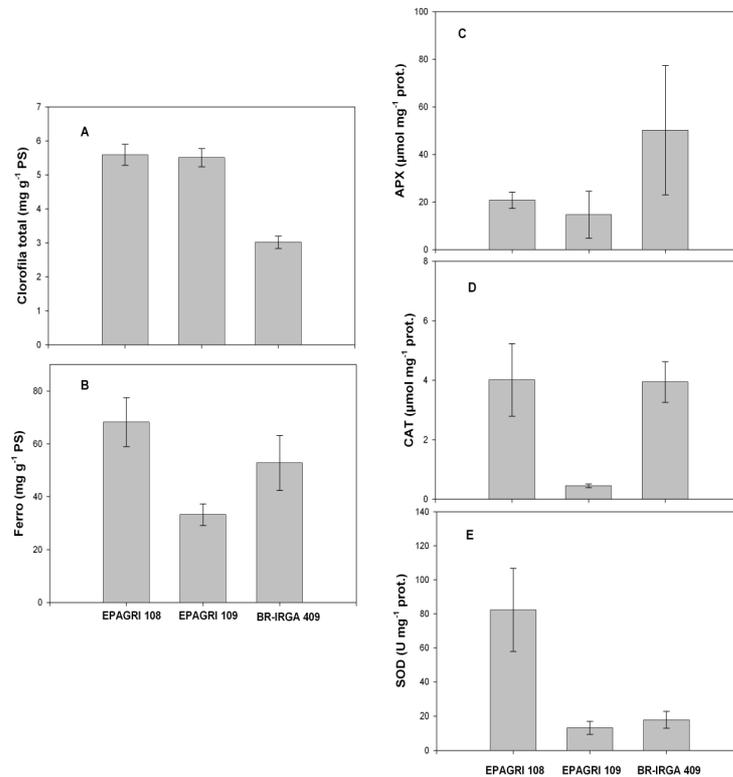
Diferentes métodos de manejo encontram-se disponíveis, e cultivares resistentes têm sido desenvolvidas (Becker & Asch, 2006). Entretanto, devido à grande variabilidade de ambientes capazes de gerar toxidez por excesso de ferro, nenhuma estratégia é universalmente aplicável. Diferentes cultivares podem apresentar distintos mecanismos de tolerância a excesso de ferro. Entretanto, poucos estudos comparando as respostas fisiológicas de diferentes cultivares encontram-se disponíveis.

Visando identificar mecanismos de tolerância ao excesso de ferro em arroz, foram analisadas as respostas fisiológicas de três genótipos, cultivados na Unidade Experimental do IRGA (Camaquã-RS). Plantas das cultivares EPAGRI 108 e EPAGRI 109 (ambas tolerantes à toxidez por excesso de ferro) e BR-IRGA 409 (sensível) foram coletadas, separadas em raízes e parte aérea, e em seguida, congeladas e mantidas a -20 °C.

Foram quantificados os teores de ferro em folhas completamente expandidas de plantas das cultivares estudadas, incinerando-se o material por 3 horas a 500 °C, acidificando-se as cinzas com HCl (concentração final de 0,5 M de HCl) e determinando-se o ferro por espectrofotometria de absorção atômica. Para análise dos teores de clorofilas, folhas completamente expandidas foram pulverizadas em nitrogênio líquido e as clorofilas extraídas com acetona 85%, sendo quantificadas de acordo com Ross (1974). Para a análise das atividades das enzimas antioxidantes ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), folhas completamente expandidas foram pulverizadas em nitrogênio líquido, e as proteínas extraídas utilizando-se 50 mM de tampão fosfato de sódio (pH 7,4), 1 % PVP, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF e 1 mM de benzamidina. Os extratos foram centrifugados a 12,000 x g (15 min, 4 °C) e o sobrenadante imediatamente utilizado para medir as atividades de APX (Klapheck et al., 1990), CAT (Klapheck et al., 1990) e SOD (Beyer & Fridovich, 1987).

Plantas da cultivar sensível (BR-IRGA 409) apresentaram típicos sintomas de toxidez por excesso de ferro, como bronzeamento, necrose e descoloração das folhas, não observados em plantas das cultivares tolerantes (EPAGRI 108 e EPAGRI 109). Folhas de plantas da cultivar sensível apresentaram menores níveis de clorofilas quando comparadas com folhas das duas cultivares tolerantes (Figura 1A). A degradação de moléculas de clorofila observada pode estar diretamente relacionada com o efeito foto-tóxico gerado e pelo acúmulo de níveis excessivos de ferro nas folhas.

O acúmulo de ferro também apresentou um padrão contrastante entre as cultivares utilizadas (Figura 1B). Plantas das cultivares EPAGRI 108 e BR-IRGA 409 apresentaram níveis semelhantes do metal em suas folhas completamente expandidas, em contraste com plantas da cultivar EPAGRI 109, que apresentaram níveis inferiores do metal. Este distinto padrão de acúmulo de ferro observado entre as cultivares estudadas pode estar diretamente relacionado aos diferentes mecanismos de tolerância empregados pelas cultivares EPAGRI 108 e EPAGRI 109.



**Figura 1.** Teores de (A) ferro, (B) clorofila total (clorofilas *a* + *b*) e atividade das enzimas antioxidantes (C) APX, (D) CAT e (E) SOD em folhas completamente expandidas de plantas das cultivares EPAGRI 109, EPAGRI 108 e BR-IRGA 409. Os valores representam a média de 6 amostras (n=6)  $\pm$  erro padrão.

A atividade da enzima APX mostrou-se maior em plantas da cultivar sensível (Figura 1C). A atividade de CAT mostrou-se superior nas cultivares BR-IRGA 409 e EPAGRI 108 (ambas com níveis de ferro igualmente altos) em comparação com plantas da cultivar EPAGRI 109. Ambas enzimas estão envolvidas no metabolismo de peróxido de hidrogênio, uma espécie reativa de oxigênio.

Enquanto a maior atividade de APX identificada em plantas da cultivar BR-IRGA 409 pode ser diretamente relacionada ao estresse gerado pelos altos níveis de ferro, a maior atividade de CAT observada na mesma cultivar e na cultivar EPAGRI 108 pode estar relacionada com os efeitos comuns do excesso de ferro em ambas cultivares. A enzima CAT está envolvida principalmente com a fotorrespiração, atuando como um mecanismo de desvio da energia recebida através dos fotossistemas. No entanto, plantas da cultivar EPAGRI 108 são tolerantes ao excesso de ferro, ao passo que plantas da cultivar BR-IRGA 409 são sensíveis. A capacidade de tolerar níveis altos de ferro (comparáveis com os níveis da cultivar sensível) observada na cultivar EPAGRI 108 pode estar relacionada com a maior atividade de SOD apresentada em suas folhas completamente expandidas (Figura 1E).

A enzima SOD é responsável pela desmutação de ânions superóxido em diferentes compartimentos celulares, e tem sido relacionada com os mais diversos tipos de estresses ambientais (Alscher et al, 2002). Assim, a capacidade de plantas da cultivar EPAGRI 108 tolerarem níveis de ferro semelhantes aos observados na cultivar sensível pode estar relacionada com a capacidade antioxidativa dos seus tecidos foliares.

Os resultados obtidos neste trabalho podem indicar que as duas cultivares tolerantes analisadas nesse estudo fazem uso de distintos mecanismos de tolerância ao excesso de ferro. Um possível mecanismo empregado pela cultivar EPAGRI 109 poderia ser o impedimento da absorção de altos níveis de ferro pela sua raiz, resultando em níveis menores de ferro em suas folhas. O mecanismo empregado pela cultivar tolerante EPAGRI 108 (que acumula níveis de ferro semelhantes aos da cultivar sensível) pode estar relacionado com a capacidade antioxidativa, demonstrada através de uma maior atividade de SOD.

Mais informações são necessárias para a compreensão das relações entre as cultivares tolerantes. Uma definição precisa dos mecanismos de tolerância empregados por plantas de arroz frente a concentrações tóxicas de ferro é necessária para a cultura, assim como para uma melhor compreensão da homeostase de ferro em plantas de arroz.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ALSCHER, R.G.; ERTURK, N.; HEATH, L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **J. Exp. Bot.**, v.53, p.1331-1341, 2002.
- AUDEBERT, A.; SAHRAWAT, K.L. Mechanisms for iron toxicity tolerance in lowland rice. **J. Plant Nutr.**, v.23, p.1877-1885, 2000.
- BECKER, M.; ASCH, F. Iron toxicity- Conditions and management concepts. **J. Plant Nutr. Soil Sci.**, v.168, p.558-573, 2005.
- BEYER, W.F.; FRIDOVICH, I. Assaying of superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. **Anal. Biochem.**, v.161, p.559-566, 1987.
- ROSS C.W. **Plant Physiology Laboratory Manual**. Wadsworth Publishing Company. 1974.
- KLAPHECK, S.; ZIMMER, Z.; COSSE, H. Scavenging of hydrogen peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* by ascorbate peroxidase. **Plant Cell Physiol.**, v.31, n.7, p.1005-1013, 1990.
- PONNAMPERUMA, F.N. The chemistry of submerged soils. **Adv. Agron.**, v.24, p.29-96, 1972.

Agradecimentos: CNPq, CAPES, CIAT e IRGA.