

ENZIMAS DO SISTEMA ANTIOXIDANTE E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM PLANTAS DE ARROZ SOB ESTRESSE SALINO

BENITEZ, Letícia Carvalho¹; RIBEIRO, Márcia Vaz¹; ARGE, Luis Willian Pacheco¹; DEUNER, Sidnei²; EINHARDT, Andersom Milech¹; BRAGA, Eugenia Jacira Bolacel¹

¹Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, PPGFV, leticiaobenitez@yahoo.com.br

²Laboratório de Metabolismo Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, PPGFV, sdeuner@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

As plantas estão constantemente expostas a estímulos causados por agentes bióticos e abióticos, responsáveis por alterações em seu metabolismo que podem reduzir sua produtividade. Condições de estresse abiótico, como a salinidade do solo e da água de irrigação tem limitado a produtividade de culturas de importância econômica, como no caso do arroz.

A salinidade é caracterizada pelo acúmulo de sais em níveis prejudiciais às plantas, ocorrendo em condições de baixa precipitação pluviométrica, alta evapotranspiração, má drenagem dos solos e irrigação mal conduzida (ALMEIDA et al., 2001). Uma alternativa para contornar as perdas ocasionadas pela salinidade é a utilização de cultivares tolerantes, capazes de ativar mecanismos que permitam seu desenvolvimento sob condições adversas.

Nos últimos anos, tem-se dado especial atenção aos danos celulares causados pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) sob condições de estresse (BLOKHINA et al., 2003). Estes radicais, quando produzidos em excesso, podem ser destrutivos para a célula ao reagir com os ácidos graxos insaturados dos fosfolípidos das membranas e alterar a sua funcionalidade, promovendo a peroxidação de lipídios. Algumas das enzimas antioxidantes envolvidas na eliminação das EROs em plantas incluem a Superóxido Dismutase (SOD), Ascorbato Peroxidase (APx), Glutathione Peroxidase (GPX), Catalase (CAT), Monodesidroascorbato Redutase (MDHAR) e a Desidroascorbato Redutase (DHAR) (SCANDALIOS, 2005). Ao lado de outros mecanismos fisiológicos, a eficiência do sistema antioxidante aumenta a capacidade de tolerância da planta, devido à diminuição dos efeitos causados pelas EROs (GIANNAKOULA et al., 2010). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar o nível de peroxidação de lipídios de membrana e a atividade específica das enzimas SOD, APx e CAT em plantas de arroz expostas ao NaCl.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.), cultivar BRS Ligeirinho, foram postas para germinar em vasos plásticos com capacidade de 2 litros, contendo areia previamente lavada, como substrato. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação com umidade relativa do ar de 70%, temperatura de 25±2°C e irrigação diária, alternada com água e solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1938). Aos 14 dias após a semeadura, a irrigação passou a ser realizada com água, solução nutritiva e água + NaCl, alternadamente. Os tratamentos foram constituídos de três concentrações de NaCl (0, 150 e 300 mM) acrescidas à água de irrigação. Após 30

dias de exposição ao sal foi quantificado o grau de peroxidação dos lipídios de membrana e a atividade específica das enzimas antioxidantes Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato Peroxidase (APX), nas folhas de arroz. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por 10 plantas. Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey (5%). O nível de peroxidação de lipídios de membrana nos tecidos foliares (400 mg) foi medido em termos do conteúdo de malondialdeído (MDA), determinado pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBA), segundo método descrito por BUEGE & AUST (1978). Para determinar a atividade enzimática foram utilizados 400 mg de tecido foliar macerados em N₂ líquido acrescido de 50% de PVPP (Polivinilpolipirrolidona) e homogeneizado em 1,5 mL do tampão de extração (fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0; EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM). A atividade da SOD foi avaliada de acordo com a metodologia proposta por GIANNOPOLIS & REIS (1977) e as leituras realizadas a 560 nm. A atividade da CAT foi determinada conforme descrito por AZEVEDO et al. (1998), com algumas modificações, e monitorada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm. A atividade da APx foi realizada segundo NAKANO & ASADA (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A enzima Superóxido dismutase (SOD), que atua na primeira linha de defesa contra a EROs, dismutando o superóxido (O₂⁻) a peróxido de hidrogênio (H₂O₂), apresentou diminuição de 35,7% da sua atividade específica com o aumento da concentração de NaCl. Esta diminuição foi estatisticamente significativa entre as concentrações de 0 e 300 mM, onde a atividade foi de 645,43 e 414,94 U mg prot⁻¹, respectivamente (Figura 1). Resultados semelhantes foram observados por YAN et al. (1996), os quais verificaram reduções na atividade da SOD em plantas de milho sob períodos prolongados de alagamento.

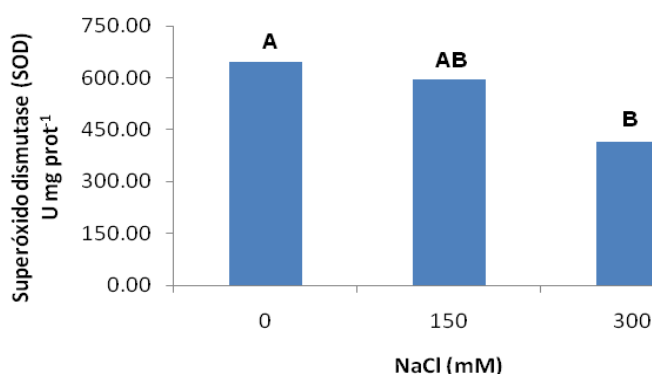


Figura 1. Atividade específica da enzima Superóxido dismutase (SOD) em plantas de arroz, cv. Ligeirinho, submetidas a diferentes concentrações de NaCl, durante 30 dias.

A atividade das enzimas Catalase e Ascorbato peroxidase nas folhas de arroz seguiu a mesma tendência de redução observada para a enzima SOD, no entanto, esta diminuição não foi estatisticamente diferente com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação (Figura 2A e 2B). Resultados semelhantes foram observados por USHIMARU et al. (1999) em plântulas de arroz, nas quais a deficiência de O₂ não alterou a atividade dessas enzimas.

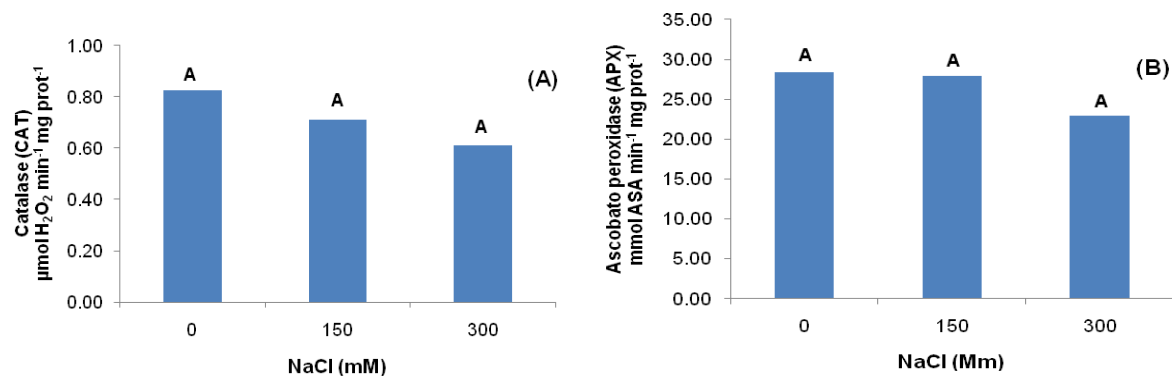


Figura 2. Atividade específica das enzimas Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX) em plantas de arroz, cv. Ligeirinho, submetidas a diferentes concentrações de NaCl, durante 30 dias.

Inúmeros trabalhos relataram a diminuição na atividade enzimática após longos períodos de exposição ao estresse. LEE et al. (2001) ao quantificar a atividade das enzimas SOD, CAT, APX e GR (Glutathiona redutase) em plantas de arroz cultivadas com 150 mM de NaCl, observaram aumento na atividade das enzimas SOD e APX até 3 dias de exposição ao sal e diminuição após este período. Ao avaliar o nível de peroxidação de lipídios de membrana nos tecidos foliares foi possível constatar aumento estatisticamente significativo no conteúdo de malondialdeído (MDA) entre os tratamentos controle e 300 mM de NaCl, os quais apresentaram teores de 0,037 para 0,059 $\text{nmol MDA g}^{-1} \text{ MF}$, respectivamente (Figura 3).

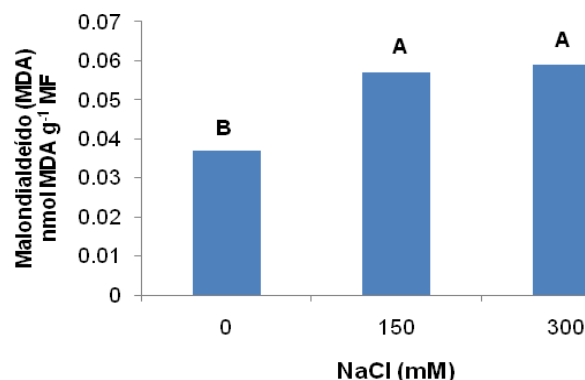


Figura 3. Peroxidação lipídica em plantas de arroz, cv. Ligeirinho, submetidas a diferentes concentrações de NaCl, durante 30 dias.

De acordo com CAKMAK & HORST (1991), a redução na atividade de algumas enzimas, como a Catalase, indica que, em algumas plantas mantidas sob condições de estresse, o H_2O_2 produzido pode ser mais consumido em processos oxidativos, como na peroxidação de lipídios, do que eliminado do metabolismo pela ação de enzimas antioxidantes. Esta afirmação pode justificar a baixa atividade enzimática e alta peroxidação lipídica observada neste trabalho.

4 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos conclui-se que em plantas de arroz, da cultivar BRS Ligeirinho, a maior parte das espécies reativas de oxigênio produzidas, como o H₂O₂, são preferencialmente consumidas pela peroxidação lipídica.

5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. de A.C.; GONÇALVES, N.J.M.; GOUVEIA, J.P.G. de; CAVALCANTE, L.F. Comportamento da germinação de sementes de arroz em meios salinos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 3, n. 1, p. 47-51, 2001.

AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. 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**, Copenhagen, v. 104, p. 280-292, 1998.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91, p. 179-194, 2003.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

CARMAK, I.; HORST, W.J. Effect of Al lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max* L.). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 834, p. 463-468, 1991.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; SYRUS, T.; YUPSANIS, T. Aluminum stress induces up-regulation of an efficient antioxidant system in the Al-tolerant maize line but not in the Al-sensitive line. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 67, p. 487-494, 2010.

GIANNOPOLIS, C.N.; REIS, S.K. Superoxide dismutases: Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soil**. University of California College of Agriculture, Berkeley, Circular 347. 1938.

LEE, D.H.; KIM, Y.S.; LEE, C.B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **Journal Plant Physiology**, v. 158, p. 737-745, 2001.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 32, n.5, p. 867-880, 1981.

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto (SP), v. 38, p. 995-1014, 2005.

USHIMARU, T.; KANEMATSU, S.; SHIBASAKA, M.; TSUJI, H. Effect of hypoxia on the antioxidative enzymes in aerobically grown rice (*Oryza sativa*) seedlings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 107, n. 2, p. 181-187, 1999.

YAN, B.; DAI, Q.; LUI, X.; HUANG, S.; WANG, Z. Flooding-induce membrane damage, lipid oxidation and oxygen generation in corn leaves. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 79, p. 261-268, 1996.