

PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO SUBMETIDAS AO ESTRESSE POR FERRO EM HIDROPONIA

SOUZA, Éderson Lopes¹; WOYANN, Leomar Guilherme¹; AHLERT, Renata Juliana¹; ALMEIDA, Andréa Miyasaka de²; COSTA de OLIVEIRA, Antonio¹.

¹Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS; ²Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. edersonlopesouza@hotmail.com.

1 INTRODUÇÃO

O arroz é o alimento básico para mais da metade da população mundial, cerca de três bilhões de pessoas, sendo o alimento mais importante em nível mundial (IRRI, 2010). O Brasil está entre os dez maiores produtores mundiais de arroz e apesar de seu papel de liderança, estresses abióticos, como a toxidez por ferro, estão constantemente ameaçando o bom rendimento almejado pelos agricultores.

O alagamento do solo promove a solubilização de ferro e o acúmulo de Fe²⁺ na solução do solo pode atingir níveis tóxicos ao arroz. A toxidez por ferro pode ocorrer por absorção excessiva (toxidez direta ou bronzeamento) ou por deficiência nutricional múltipla (toxidez indireta ou alaranjamento), quando o ferro reduz a absorção de outros elementos (SOSBAI, 2010). No Rio Grande do Sul, até o final da década de setenta, raramente foram observados problemas com toxidez por ferro, quando as cultivares do tipo intermediário e tradicional predominavam na orizicultura do sul do Brasil. Com o advento das cultivares modernas, de porte baixo, com alto potencial produtivo, porém mais suscetíveis ao problema que as anteriores, aumentaram a frequência e a intensidade de relatos de ocorrência deste distúrbio nutricional no estado (GOMES et al., 1990; MAGALHÃES JR. et al., 2007).

O ferro na planta, ao reagir com formas reduzidas de oxigênio, catalisa a produção de espécies de radicais livres. Estas moléculas altamente reativas podem danificar os componentes celulares, levando a uma perda da integridade celular e possível morte (GUERINOT e YI, 1994). Essas espécies reativas de oxigênio causam peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados, produzindo malondialdeído (MDA) (SHULAEV e OLIVER, 2006) geralmente aceitos como indicadores de estresse oxidativo (DEL et al., 2005). Esse produto final secundário da peroxidação lipídica, ao reagir com duas moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA), produz um cromogênio vermelho com uma absorbância máxima em 532 nm (SHULAEV e OLIVER, 2006; HOEDGES et al., 1999), permitindo estimar a peroxidação dos lipídios na membrana e sistemas biológicos.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a peroxidação lipídica em folhas de plantas de arroz irrigado de diferentes cultivares submetidas ao estresse por ferro em condições hidropônicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório e casa de vegetação pertencentes ao Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com três repetições.

Quatro cultivares de arroz irrigado foram utilizadas nesse estudo, previamente caracterizadas quanto à toxidez por ferro: BR-IRGA 409, BR-IRGA 410, IRGA 417, como sensíveis e Epagri 107 como tolerante a toxidez por ferro (SOSBAI, 2007).

Inicialmente, as sementes foram esterilizadas em solução de hipoclorito de sódio 10 % durante dez minutos e lavadas com água destilada. Posteriormente, foram germinadas em câmara de germinação (BOD), a 27°C, com fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa de 100%. Após 14 dias foram transferidas para casa de vegetação sob sistema hidropônico não aerado com solução de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1938) 1× força iônica, pH 4,0, ajustado a cada dois dias. Após 45 dias de crescimento o tratamento com FeSO₄EDTA (FeSO₄.7H₂O + EDTA) foi aplicado na concentração de 7 mM e o pH ajustado diariamente. Após sete dias sob tratamento, foram coletadas folhas das plantas para estimar a peroxidação lipídica. A concentração de MDA acumulado, foi determinada em cerca de 250 mg de tecido foliar macerado em nitrogênio líquido com polivinilpirolidônio (PVPP), em seguida foi adicionado 1,3 mL da solução de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. As amostras foram centrifugadas a 10000 g por 5 minutos. A quantidade de 250 µL do extrato foi adicionada a 1,0 mL da solução de TCA 20% (p/v) contendo 0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico. As amostras foram misturadas vigorosamente e incubadas a 95°C por 30 minutos e, em seguida, a reação foi paralisada no gelo. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 10000 g por 10 minutos. Foram realizadas leituras de absorbância a 532 e 600 nm. A absorbância inespecífica de 600 nm foi subtraída da absorbância de 532 nm e a concentração de MDA foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 155 mM⁻¹ cm⁻¹ (Heath e Packer, 1968). Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias pelo teste de Tukey, com nível de significância de p ≤ 0.05, através do programa computacional SAS (SAS Learning Edition, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância possibilitou identificar diferenças significativas para o fator tratamento, evidenciando a ocorrência de peroxidação lipídica da membrana em decorrência do tratamento com 7 mM de FeSO₄EDTA (Tab. 1).

Tabela 1 – Resumo da análise da variância, para o teor de MDA em folhas de quatro cultivares de arroz irrigado submetidas ao tratamento com 7 mM de FeSO₄EDTA e sem tratamento (controle) sob cultivo hidropônico. LGF/FAEM/UFPEL, 2011.

Fonte de Variação	QM						
	Modelo	Cultivar	Tratamento	Cultivar x Tratamento	Erro	CV (%)	Média Geral
MDA	1442,43	60,00	9814,57*	35,06	53,46	18,20	40,16

* Valores significativos a 5% de probabilidade de erro pelo teste F; QM= quadrado médio.

O grau de peroxidação lipídica foi similar nas quatro cultivares em condições de controle (sem tratamento) (Fig. 1). Dessa forma não houve diferenças significativas na peroxidação lipídica entre as diferentes cultivares, tanto sob controle, como quando as plantas foram submetidas ao estresse. Quando submetidas ao estresse por excesso de ferro, as cultivares apresentaram aumento superior a 300% no grau de peroxidação lipídica, com exceção da cultivar IRGA 417, que apresentou 217%. Esses resultados evidenciaram claramente o dano oxidativo

ocasionado pelo excesso de ferro, o que também foi relatado por Fang et al., (2001) em arroz e Gallego et al., (1996) em girassol.

A cultivar Epagri 107, caracterizada como tolerante a toxidez por ferro, apresentou dano semelhante ao verificado nas demais cultivares, sugerindo que a sua tolerância possa estar relacionada a outros mecanismos fisiológicos e não apenas à produção de reativos de oxigênio (MDA). Desse modo, o parâmetro demonstrou a ocorrência de dano oxidativo pelo estresse, porém não pôde ser utilizado para diferenciar as cultivares quanto sua tolerância ao estresse. Ahlert et al. (2011), evidenciaram a tolerância da cultivar Epagri 107 sob estresse por ferro, por não apresentar aumento significativo na concentração de ferro nas raízes em relação as cultivares BR-IRGA 409, BR-IRGA 410 e IRGA 417.

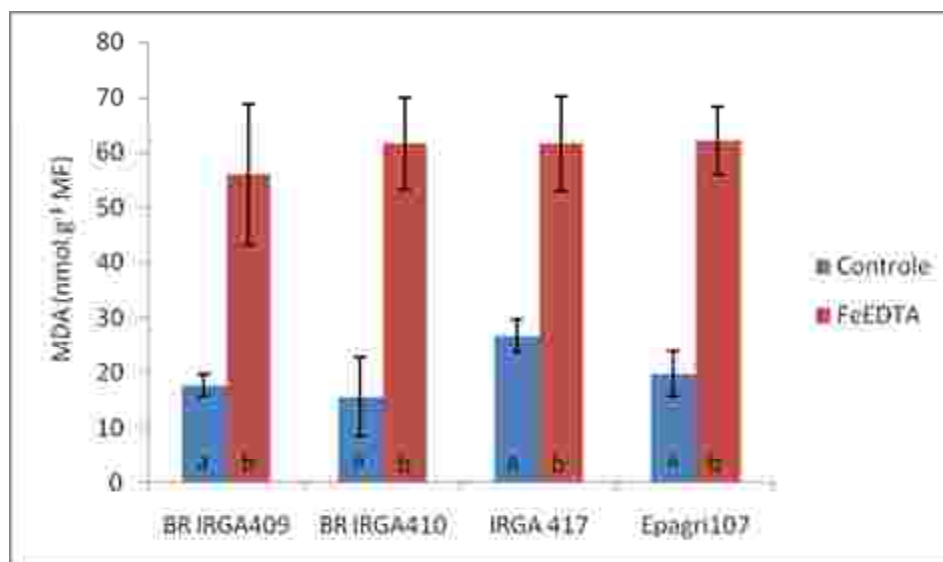


Figura 1 – Peroxidação de lipídios em folhas de quatro cultivares de arroz irrigado submetidas ao tratamento com 7 mM de FeSO₄EDTA e sem tratamento (controle) sob cultivo hidropônico. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. LGF/FAEM/UFPEL, 2011.

4 CONCLUSÃO

O aumento no grau de peroxidação lipídica em folhas de cultivares de arroz irrigado submetidas ao estresse de 7 mM de FeSO₄EDTA permite constatar dano oxidativo em decorrência do estresse. Porém, a peroxidação lipídica não pode ser utilizada como parâmetro para diferenciar cultivares quanto à tolerância ao excesso de ferro, já que a cultivar tolerante, Epagri 107, não diferiu em relação ao dano oxidativo das demais cultivares.

5 REFERÊNCIAS

AHLERT, R. J.; MULLER, C.; SOARES-BRESOLIN, A. P.; MARINI, N.; ALMEIDA, A. M.; MAIA, L. C.; COSTA DE OLIVEIRA, A. Concentração de Micronutrientes em Raízes de Cultivares de Arroz Irrigado Submetidas ao Estresse por Ferro em Solução Nutritiva. In: **Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, 6., Panorama Atual e Perspectivas do Melhoramento de Plantas. Búzios: SBMP, 2011. CD-ROM.

- DEL, R. D.; STEWART, A.J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v.15, p.316–328, 2005.
- FANG, W. C.; WANG, J.W.; LIN, C. C.; KAO, C.H. Iron induction of lipid peroxidation and effects on antioxidative enzyme activities in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, v.35, p.75-80, 2001.
- GALLEGO, S. M.; BENOVIDES, M. P.; TOMARO, M. L. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. **Plant Science**, v.121, p.151–159, 1996.
- GOMES, A. da S.; SOUSA, R.O.; DIAS, A.D.; MACHADO, M.O.; PAULETTO, E.A. A problemática da toxicidade do Fe em arroz irrigado no RS. In: **Reunião Nacional de Pesquisa de Arroz**, 4., Goiânia, 1990. **Anais...Goiânia:CNPAF/EMBRAPA**, 1990. p.116.
- GUERINOT, M.L.; YI, Y. Iron: nutritious, noxious, and not ready available, **Plant Physiology**, v.104, p.815-820, 1994.
- HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts, I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, p.189–198, 1968.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soil, **California Agricultural Experimental Station**, Circular 347, 1938.
- HODGES, D. M.; DELONG, J.M.; FORNEY, C. F.; PRANGE, R. K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, v. 207, p.604–611, 1999.
- IRRI, **International Rice Research Institute**. Disponível em: <<http://irri.org/>> Acesso em: 22 dez. 2010.
- MAGALHÃES JÚNIOR, A. M de; FAGUNDES, P. R. R; GOMES, A. S; FRANCO, D. F.; SEVERO, A. Avaliação de linhagens de arroz irrigado à toxicidade por ferro do programa de melhoramento da Embrapa. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO**, 5.; **REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO**, 27., Pelotas, 2007. Arroz irrigado: avaliando o presente, pensando o futuro... Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. p. 108-111.
- SHULAEV, V.; OLIVER, D.J. Metabolic and Proteomic Markers for Oxidative Stress. New Tools for Reactive Oxygen Species Research. **Plant Physiology**, v. 141, p. 367–372, 2006.
- SOSBAI, Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Porto Alegre: SOSBAI, 2010.
- SOSBAI, Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas: SOSBAI, 2007.
- Statistical Analysis System, **SAS: Statistical Analysis System - Getting Started with the SAS® Learning Edition**. Cary:SAS Institute, 2002.