

AÇÃO DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS DE QUINOA SUBMETIDAS AO ALAGAMENTO

**VITOR MATEUS KOLESNY¹; ANDERSON SEVERO DA SILVA¹; JÚLIO
ANTONIO²; LETÍCIA WINKE DIAS³; CAROLINE JACOME COSTA⁴;
FRANCISCO AMARAL VILLELA⁵.**

¹Bolsista de iniciação científica - Graduando em Agronomia na UFPel –
vitorcolesny20@outlook.com; andersonsevero94@hotmail.com

²Bolsista de iniciação científica - Graduando em Agronomia na UFRGS – jlantonio@hotmai.com

³Doutoranda no PPG em Ciência e Tecnologia de Sementes – UFPel - leticiawinke@yahoo.com.br

⁴Pesquisadora Embrapa Clima Temperado – caroline.costa@embrapa.br

⁵Professor no PPG em Ciência e Tecnologia de Sementes – FAEM - UFPel -
francisco.villela@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A introdução de culturas exóticas numa determinada região carece de estudos prévios, visto que sua produtividade e possível retorno econômico dependerão fundamentalmente das condições edafoclimáticas as quais a espécie foi submetida. Neste sentido, o cultivo da quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) na Região Sul do Brasil pode ser limitada principalmente nos solos de várzea, que são aqueles em que o solo se formou sob condições de hidromorfismo, onde sua principal característica é a deficiente drenagem natural, normalmente motivada pelo relevo predominantemente plano, associado a um perfil cuja camada superficial é pouco profunda e a sub-superficial é praticamente impermeável (PAULETTO et al., 1998).

Embora o cultivo da quinoa seja interessante nesta região, principalmente por interromper os sucessivos ciclos de cultivo de arroz irrigado e, mais recentemente, soja cultivada na várzea, reduzindo o potencial de inóculo de doenças e a proliferação de insetos-praga, além de permitir a rotação de agroquímicos, o sucesso do cultivo depende da tolerância desta espécie as condições de hipoxia ou, até mesmo, anoxia, e, conseqüentemente, da capacidade de suas enzimas antioxidantes em detoxificar as plantas das espécies reativas de oxigênio quando a cadeia respiratória for retomada.

Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi determinar a atividade das enzimas do metabolismo antioxidante em plantas de quinoa, quando estas são submetidas a quatro dias de alagamento do solo durante os estádios iniciais do crescimento da planta.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas sementes de quinoa da cultivar Inia Salcedo. A semeadura foi efetuada em 10/09/2016, sendo conduzido até novembro de 2016, em bandejas de polietileno preto de capacidade 20 litros contendo substrato solo do horizonte A1 de um Planossolo Háplico Eutrófico Solódico, previamente corrigido, de acordo com análise prévia do solo e baseado no Manual de Adubação (CQFS RS/SC, 2004).

As bandejas foram perfuradas na parte inferior para facilitar a drenagem do excesso de água e a manutenção da capacidade de campo do solo. A capacidade de campo foi determinada a partir da metodologia da mesa de tensão (EMBRAPA, 1997) e a partir desta, foi definido o volume de água necessário para o estabelecimento do alagamento nos períodos de 24, 48, 72 e 96 horas quando as plantas apresentavam uma (V1) e duas (V2) folhas completamente

expandidas, sendo mantida uma lâmina de 20 mm de água sobre a superfície do solo.

Foram coletadas plantas de cada tratamento em condições normais de irrigação, imediatamente após 96 horas de alagamento, 24 horas de recuperação após a retirada do alagamento e 168 horas de recuperação após a retirada do alagamento.

Para cada amostra coletada foram maceradas 0,3 g de tecido em nitrogênio e homogeneizado em tampão de extração, composto por fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM. Após centrifugação a 13.000 g por 20 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi coletado e dessalinizado em Coluna Sephadex G-25 (PD-10). O eluato foi utilizado para as análises enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) pelo método de Biemelt et al. (1998) e a quantificação das proteínas pelo método de Bradford (1976). A partir de duplicatas das amostras foram determinadas a peroxidação lipídica conforme Buege e Aust (1978), expressa em nmol de MDA g⁻¹ de massa fresca, e o peróxido de hidrogênio, expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ g de massa fresca⁻¹.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em fatorial 2 x 4 (estádios vegetativos: V1 e V2; e tratamentos: sem alagamento, 96 horas alagado, 24 e 168 horas de recuperação), com quatro repetições.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração da enzima APX foi maior nas plantas em estágio vegetativo V1 em comparação às plantas em estágio V2 (Figura 1A). Tanto em V1 quanto em V2, observou-se aumento da concentração desta enzima logo após o alagamento de 96 horas e posterior redução após um período de recuperação 24 horas. Após 168 horas a concentração desta enzima apresentou-se mais elevada do que os demais tratamentos. Justifica-se este resultado, uma vez que as peroxidases (APX e GPX) estão distribuídas ao longo da célula e catalizam a reação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para H_2O , e a produção de H_2O_2 é mediada pela atividade da enzima SOD (AZEVEDO-NETO et al., 2006).

A concentração de CAT foi maior para as plantas em estágio V2 em relação as plantas em V1 em todos os tratamentos, exceto após 168 horas de recuperação do alagamento, onde foi semelhante em ambos os estádios (Figura 1B). Em V1, houve declínio da concentração de CAT imediatamente após 96 horas de alagamento e após 24 horas de recuperação. A concentração da enzima elevou-se a uma concentração semelhante ao tratamento sem alagamento após 168 horas de recuperação. Em V2, a concentração de CAT não foi significativamente alterada pelos tratamentos.

Em relação a SOD, em ambos os estádios vegetativos houve aumento gradativo da concentração desta enzima após o alagamento, e após os períodos de recuperação (Figura 1C). Entretanto, as plantas em estágio V1 altas concentração de SOD logo após 24 horas de recuperação, enquanto que as plantas em V2 só atingiram concentração semelhante no tratamento 168 horas de recuperação.

A dismutação do oxigênio reativo (O_2^*) em H_2O_2 é mediada pela FeSOD nos cloroplastos, MnSOD na mitocôndria, e pela Cu/ZnSOD no cloroplasto e no citoplasma. A reação enzimática é 10000 vezes mais rápida do que a dismutação espontânea. O H_2O_2 é detoxificado em H_2O e O_2 pela enzima CAT. Contudo, a atividade da SOD e da CAT é regulada de modo diferente durante o alagamento como estratégia de sobrevivência (LUO et al., 2012). Em *Alternanthera*

philoxeroides, por exemplo, a SOD e a CAT tem sua atividade reduzida nas folhas, mas recuperam sua atividade após o período de submersão (BAILEY-SERRES e VOESENEK, 2008).

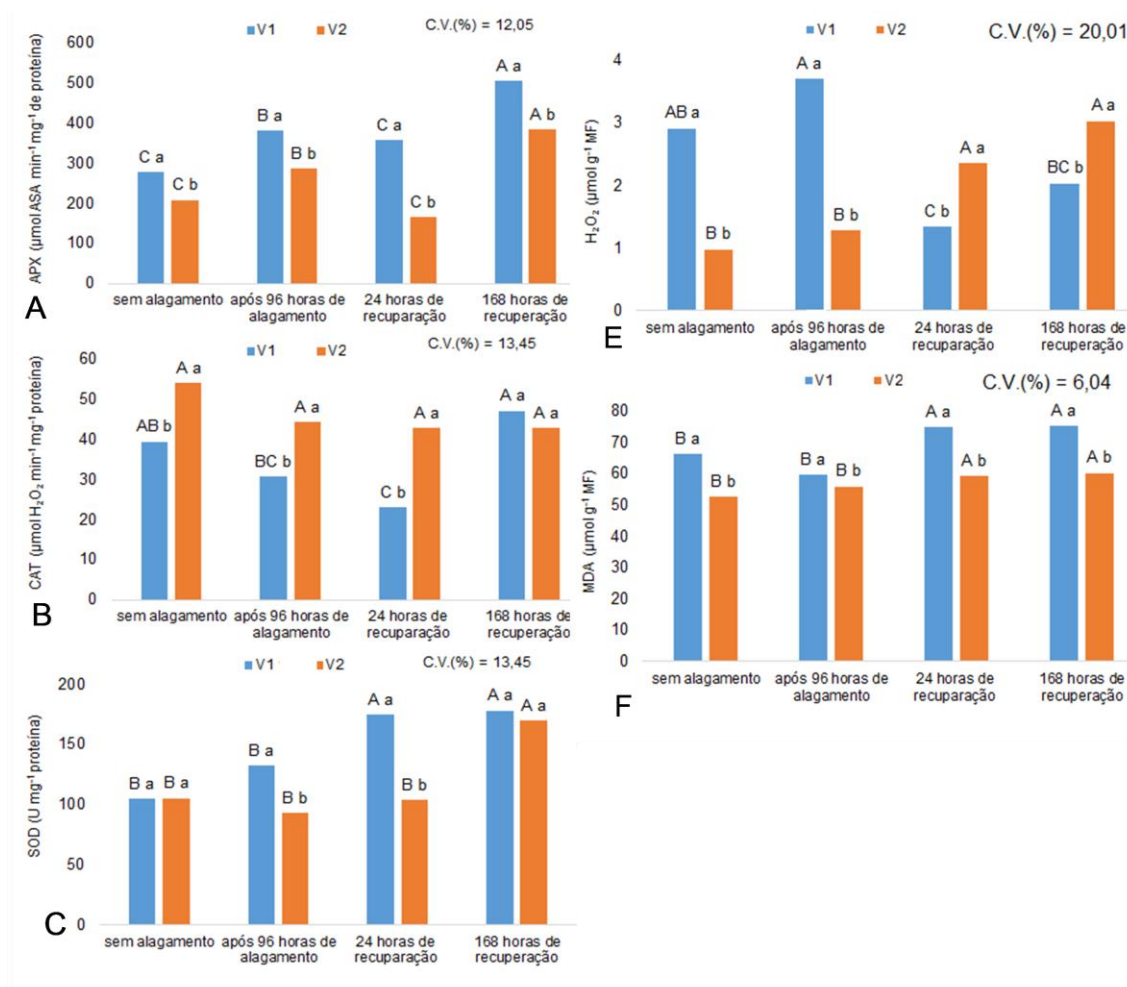


Figura 1. Atividade da ascorbato peroxidase (APX) (A), catalase (CAT) (B), superóxido dismutase (SOD) (C), Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (D) e peroxidação lipídica (MDA) (E) em plantas de quinoa em condições normais, submetidas a 96 horas de alagamento, e após 24 e 168 horas de recuperação.

V1 e V2 = plantas com uma e duas folhas completamente expandida.

Barras seguidas da mesma letra minúscula não diferem nos estádios vegetativos v1 e v2 em cada condição de alagamento.

Barras seguidas da mesma letra maiúscula não diferem para condição de alagamento dentro de cada estágio vegetativo.

Contrariamente ao esperado, a concentração de peróxido de hidrogênio praticamente não se elevou nas plantas em estágio vegetativo V1 quando estas foram expostas a 96 horas de alagamento, e foi reduzida a concentrações mais baixas do que o tratamento sem alagamento após 24 e 168 horas de recuperação (Figura 1D), o que pode indicar que a atividade das enzimas antioxidantes foi eficiente em detoxificar essa substância. Nas plantas em V2 a concentração de peróxido de hidrogênio foi elevada após 24 horas de recuperação, mantendo-se assim mesmo após 168 horas de recuperação.

Já a peroxidação lipídica, para plantas de ambos os estádios vegetativos, esta foi maior 24 e 168 horas após a retirada do alagamento, embora, de modo geral, as plantas em V2 tenham apresentado menor peroxidação lipídica (Figura 1E).

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que, embora o alagamento de 96 horas durante os estádios em que as plantas de quinoa, cultivar INIA Salcedo, encontram-se com uma e duas folhas completamente expandidas, interfira no crescimento inicial, essas plantas apresentam alta capacidade de recuperação, principalmente quando o estresse ocorre no estágio de duas folhas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO NETO, A.D.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; ABREU, C.E.B.; GOMES-FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and experimental botany**, v. 56, n.1, p.87-94, 2006.
- BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK, L.A. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. **Annual Review Plant Biology**, v.59, n.1, p.313-239, 2008
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v.116, n.2, p.651-658, 1998.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.7, n.72, p.248-254, 1976.
- BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzimology**, v.52, p.302-310, 1978.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO RS/SC - CQFS-RS/SC. **Manual de adubação e de calagem para o Estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre, SBCS/Núcleo Regional Sul, UFRGS, 2004. 400p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA — EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. 212p.
- NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.49, n.1, p. 249-279, 1998.
- LUO, F.L.; THIELE, B.; JANZIK, I.; ZENG, B.; SCHURR, U.; MATSUBARA, S. De-submergence responses of antioxidative defense systems in two wetland plants having escape and quiescence strategies. **Journal of Plant Physiology**. v.169, n.17, p.1680-1689, 2012.