

ATIVIDADE DA ENZIMA ASCORBATO PEROXIDASE E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM FOLHAS DE PLANTAS DE SOJA SUBMETIDAS AO ESTRESSE POR ALAGAMENTO E POSTERIOR RECUPERAÇÃO.

DIEGO GONÇALVES RIBEIRO LUCAS¹; DOUGLAS ANTÔNIO POSSO¹,
EDUARDO PEREIRA SHIMÓIA¹, ANA CLÁUDIA BARNECHE DE OLIVEIRA²,
CRISTIANE JOVELINA DA SILVA¹, LUCIANO DO AMARANTE¹

¹Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Plantas – diegolucasgr@gmail.com

²Embrapa Clima Temperado

E-mail do Orientador – lucianoamarante@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A soja é uma das principais culturas produzidas mundialmente, e no Brasil é a principal fonte de renda da agroindústria. E, em razão da larga demanda e mercado, nos últimos anos, o seu cultivo tem ganhado cada vez mais espaço nas lavouras (CONAB, 2019).

Algumas regiões do país, como o sul do Rio Grande do Sul são caracterizadas por possuírem áreas de várzea, onde há uma maior susceptibilidade ao alagamento em virtude da presença de solos hidromórficos, que apresentam má drenagem (STRECK et al., 2008). A produção de soja nessas áreas torna-se menos produtiva. Isto, por causa da diminuição na concentração de oxigênio no solo gerada pelo alagamento, o que, faz com que a planta altere suas rotas metabólicas, bem como diminua sua produção de energia (van DONGEN; LICAUSI, 2015).

A influência do alagamento na parte aérea das plantas se dá via sinalização do ácido abscísico, o qual transportado até as células guardas induz o fechamento estomático, reduzindo a condutância e acarretando em diminuição da fotossíntese. O aumento do estresse oxidativo é decorrente do aumento da produção de EROs, que podem iniciar a peroxidação lipídica nas membranas celulares. Esse evento é de extrema importância, pois diminui a fluidez das membranas celulares, levando a desassociação de complexos proteicos no cloroplasto e nas membranas mitocondriais das folhas resultando na transferência descontrolada de elétrons para o oxigênio e na formação de EROs (TAIZ; ZIGUER, 2016).

Contudo as plantas desenvolveram linhas de defesa contra as EROs, as enzimas antioxidantes, as quais ao transferirem elétrons de compostos orgânicos para as EROs podem inativar ou neutralizar essas espécies reativas, protegendo com isso as células do estresse oxidativo (TAIZ; ZEIGUER, 2016). Nesse sentido, a ascorbato peroxidase (APX – EC 1.11.1.11), é uma das principais enzimas produzidas pelas plantas que atuam na inativação das EROs, a qual detoxifica o peróxido de hidrogênio utilizando ácido ascórbico como doador de elétrons (AZEVEDO-NETO ET al., 2006).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade da enzima antioxidante APX e o teor de peroxidação lipídica em folhas de plantas de soja, submetidas ao alagamento e posterior recuperação.

2. METODOLOGIA

Sementes de soja da linhagem PELBR7060 foram semeadas em caixas d'água com capacidade de 500 L simulando o plantio das mesmas no campo (13 sementes por metro linear e espaçamento de 20 cm entre linhas). O substrato das caixas foi constituído de uma camada de aproximadamente 15 cm de pedregulho

grosso no fundo da mesma para facilitar a drenagem. Após foi adicionada uma camada de areia e por fim, aproximadamente 30 cm de solo do próprio local (classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico típico).

As caixas foram acondicionadas a campo em uma área de 50 m² (10 x 5 m) no campo experimental da Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Terras Baixas. O substrato foi mantido em capacidade de campo e quando as plantas atingiram o estágio fenológico R2/R3 (apresentando vagens com aproximadamente 2 cm) (FEHR; CAVINESS, 1977) as plantas foram submetidas ao alagamento do sistema radicular por meio do fechamento do dreno de escoamento das caixas, formando uma lâmina d'água de 3 cm acima do substrato.

Dez dias após o início do alagamento foram coletadas as primeiras folhas completamente expandidas, selecionadas a partir do ápice das plantas, para a análise da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX; EC 1.11.1.11.) seguindo metodologia de Azevedo-Neto et al. (2006) e quantificação do teor de peroxidação de lipídeos, através da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (CAKMAK; HORST, 1991). Após o término das coletas, foi retirado a tampa do dreno das caixas, iniciando-se o período de recuperação das plantas. Passados 10 dias, realizou-se mais uma coleta de folhas para as análises descritas anteriormente.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com unidade experimental constituída de duas plantas por caixa e quatro repetições por tratamento. A escolha de tal delineamento se deu na área na qual as caixas foram mantidas, sendo consideradas uniformes as flutuações ambientais em tamanhas dimensões. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando o teste de diferença da mesma, *F*, foi significativo as médias entre as plantas controle e sob alagamento/recuperação foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico *Statistix*®.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 são apresentadas a atividade da enzima ascorbato peroxidase (A) e a peroxidação de lipídeos (B) nas folhas das plantas de soja aos 10 dias de alagamento. ode-se verificar indução na atividade da enzima ascorbato peroxidase nas folhas das plantas submetidas ao alagamento. Enquanto que na peroxidação lipídica não foi verificado diferença entre as plantas controles e plantas que estavam sob alagamento.

O aumento da atividade da enzima APX dá-se pela condição na qual as raízes se encontram. As mesmas sob alagamento, após alteração metabólica sinalizam via ácido abscísico o fechamento estomático e o mesmo causa alterações no metabolismo fotossintético, acarretando na produção de EROs o que induz a um aumento na atividade dessa enzima procurando neutralizar as mesmas (TAIZ; ZEIGER, 2016).

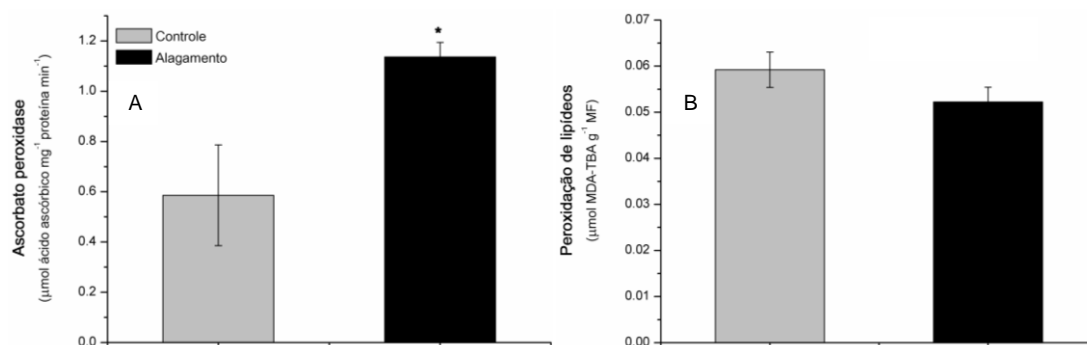


Figura 1 – (A) Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX - μmol de ácido ascórbico mg^{-1} proteína min^{-1}) e (B) peroxidação de lipídeos (μmol MDA-TBA g^{-1} MF) em folhas de plantas de soja submetidas ao alagamento do sistema radicular. Asterisco (*) indica diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre plantas controle e alagadas. Valores representam a média \pm desvio padrão (DP) ($n=4$).

Após os dez dias de recuperação foi observado que não houve diferenças significativas na atividade da APX (Figura 2A) e no teor de peroxidação lipídica (Figura 2B) entre as plantas que haviam sido alagadas e as controle. Nesse período, as condições umidade do solo passaram a ser as mesmas para os tratamentos, devido à drenagem rápida proporcionada pelo dreno presente nas caixas o que possibilitou a recuperação do sistema radicular e consequentemente a recuperação da parte aérea aos níveis das plantas controle, tanto na atividade da enzima APX quanto na peroxidação de lipídeos.

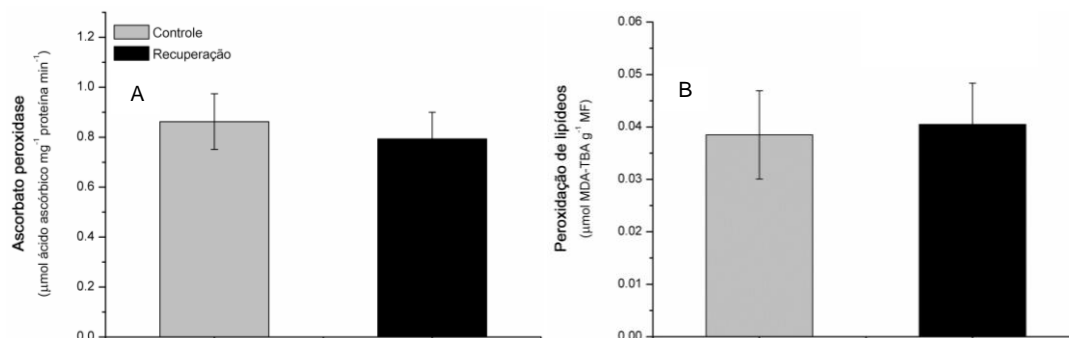


Figura 2 – (A) Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX - μmol de ácido ascórbico mg^{-1} proteína min^{-1}) e (B) peroxidação de lipídeos (μmol MDA-TBA g^{-1} MF) em folhas de plantas de soja após dez dias de recuperação do sistema radicular ao alagamento. Asterisco (*) indica diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre plantas controle e sob recuperação. Valores representam a média \pm DP ($n=4$).

Cabe salientar que a drenagem natural nos solos depende das suas características e solos hidromórficos, como os presentes na região sul do Rio Grande do Sul, muitas vezes permanecem alagados por mais tempo e demoram mais para que ocorra a total drenagem dos mesmos. Estudos mais aprofundados são necessários com a finalidade de verificar no metabolismo das plantas a real extensão dos danos causados pelo alagamento, principalmente entre genótipos, buscando entre as mesmas características que os tornem tolerantes a essa condição.

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi evidenciado a importância da enzima APX na detoxificação das EROs durante alagamento em plantas de soja, evitando a peroxidação lipídica em detrimento do alagamento das raízes, demonstrando que mesmo não estando diretamente sob influência do fator de estresse, as folhas também tem seu metabolismo alterado durante o alagamento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENEAS FILHO, J.; DE 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, p.87-94, 2006.

CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, p. 463-468, 1991.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos – Boletim grãos Agosto 2019 - Completo**. 2019. Disponível em:
< <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em 08 de Setembro de 2019.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report 80).

STRECK, E. V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C. do; SCHNEIDER, P.; GIASSEN, E.; PINTO, L. F. S. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2.ed. rev. e ampl. Porto Alegre: UFRGS: Emater/RS-Ascar, 2008. 126p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed. 2016. 888p.

van DONGEN, J. T.; LICAUSI, F. Oxygen sensing and signalling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 345-367, 2015.