

PRIMING COM HERBICIDAS NA REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PLANTAS DE SOJA SOB ALAGAMENTO

MAURO MESKO ROSA¹; JOÃO PAULO SOUSA GOMES²; RENAN SOUZA SILVA²; RAUL MARTINEZ CORDOVA²; GUSTAVO MAIA SOUZA²; LUÍS ANTÔNIO AVILA³

¹Universidade Federal de Pelotas – mauromeskor@gmail.com.br

³ Universidade Federal de Pelotas – lavilabr@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O alagamento é um dos principais estresses sofridos por plantas. De acordo com Setter e Waters (2010), cerca de 10% das áreas cultivadas são afetadas devido ao excesso de água no solo. Atualmente no sul do Brasil, em áreas com solos hidromórficos, o cultivo do arroz vem cedendo espaço para a cultura soja, como uma alternativa para aumentar a eficiência econômica do sistema produtivo (SARZI SARTORI, 2013). No entanto, devido as características do solo, como a drenagem deficiente, é comum situações de alagamento, que causa redução da concentração de oxigênio no solo, restringindo a respiração aeróbica das raízes (BAILEY-SERRES et al., 2012), e como consequência, ocorre o estresse oxidativo (ASHRAF, 2012).

O estresse oxidativo é a principal resposta fisiológica ao estresse abiótico, e ocorre devido à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), resultantes da redução parcial oxigênio singuleto (O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\cdot OH$), afetam várias funções celulares, causando peroxidação lipídica e danos ao DNA (FARMER e MUELLER, 2013).

Para evitar danos oxidativos, as plantas possuem um complexo sistema antioxidante formado por componentes enzimáticos e não enzimáticos, que mitigam os efeitos da EROs e mantém o equilíbrio de homeostase das plantas. As enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) atuam juntas na eliminação de EROs, através da catalisação de reações de conversão do radical superóxido em peróxido de hidrogênio (SOD) e peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular (CAT) ou somente água (APX) (GUPTA, 2018).

Estas enzimas antioxidantes podem ter sua atividade alterada devido à aplicação de herbicidas, como paraquat e oxifluorfen que em altas doses causam peroxidação lipídica e morte de plantas, através da geração de EROs no estroma do cloroplasto e no citoplasma, respectivamente (COBB e READE , 2011).

De acordo com Cataneo et al. (2005), o oxifluorfen induz a atividade da enzima superóxido dismutase, assim como o paraquat, que pode aumentar a atividade das enzimas ascorbato peroxidase, catalase e superóxido dismutase (GUPTA et al., 2018).

No intuito de aumentar a tolerância das plantas ao estresse abiótico, o uso de *priming* aparece como a ferramenta bem-sucedida, para tolerar futuras condições de estresse abiótico. O *priming* consiste no pré-tratamento de plantas com um composto químico tóxico, como peróxido de hidrogênio, óxido nítrico e sulfeto de hidrogênio (FILLIPOU et al., 2013). Segundo Savvides et al. (2016), a aplicação exógena de baixas doses dessas moléculas pode aumentar a tolerância ao estresse abiótico, devido as plantas entrarem em estado inicial de aclimatação ao estresse, gerando uma resposta rápida, forte, ou ambas, quando a planta for submetida a um posterior estresse.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de herbicidas na redução do estresse oxidativo da soja sob condições de estresse por alagamento, explorando o uso de ROS como moléculas sinalizadoras de estresse.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitossanidade, ligado à Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no município de Capão do Leão/RS, durante o período de 7 de dezembro de 2017 a 8 de fevereiro de 2018.

Sementes da cultivar TEC IRGA 6070 RR foram semeadas em vasos plásticos de polietileno com capacidade para quatro litros, os quais foram preenchidos com solo classificado como Planossolo Háplico Eutrófico Solódico (Unidade de Mapeamento Pelotas), seco, destorrado e peneirado, proveniente do horizonte A da área experimental da Palma – UFPel, livre de resíduos de herbicidas. Quando as plantas atingiram o estágio fenológico de V3, foi realizada a aplicação de subdoses dos herbicidas Oxyfluorfen ($3,2\text{ g i.a ha}^{-1}$) e Paraquat ($5,6\text{ g i.a ha}^{-1}$), de acordo com dados com curva dose-resposta realizada previamente (dados não apresentados).

Sete dias após a aplicação dos herbicidas, as plantas foram submetidas ao alagamento, e cinco dias após, quando a condutância estomática (dados não apresentados) dos tratamentos alagados apresentava cerca de 65% inferior ao tratamento controle sem alagamento, amostras foliares foram coletadas para as análises de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.

O conteúdo de peróxido de hidrogênio, uma medida indireta dos danos celulares nos tecidos foi determinado segundo metodologia utilizada por Loreto e Velikova (2001), e o conteúdo de espécies reativas do ácido tiobarbútirico (TBARS), que determina a peroxidação lipídica via acúmulo de aldeído malônico foi realizado seguindo metodologia descrita por Health e Packer (1968). Para proceder essas análises, aproximadamente 0,200g das amostras folhares foram maceradas em nitrogênio líquido, homogeneizados em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% (m/v) e centrifugados a 14000 rpm por 20 minutos.

Para determinação do conteúdo de H_2O_2 , foram adicionadas alíquotas de 0,2 mL do sobrenadante em tampão fosfato 10 mM (pH 7,0) e 1 mL de iodeto de potássio 1M. Após, a solução foi deixada em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente, sendo que a absorbância foi lida em um comprimento de onda de 390 nm. Além disso foi realizada uma curva padrão de peróxido de hidrogênio, na qual a absorbância das amostras foram comparadas, e assim determinado o resultado, expresso em μM de $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$.

Para determinação das espécies reativa do ácido tiobarbutírico foram coletadas alíquotas de 0,5 mL do sobrenadante, e adicionadas 1,5 mL de ácido tiobarbutírico (TBA) 0,5% (m/v) e ácido tricloroacético 10% (m/v), sendo que posteriormente foram incubadas a 90°C por 20 minutos. Após a incubação, a reação foi paralisada, pois as amostras foram colocadas no gelo por 10 minutos. A absorbância foi lida a 535 nm, descontando-se a absorbância inespecífica a 600 nm. Calculou-se a concentração de MDA utilizando-se o coeficiente de absorvidade de 155 mM cm^{-1} , expressando-se resultados em nmol de MDA g^{-1} de massa fresca.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$) e posteriormente foram comparados pelo intervalo de confiança (95% de confiança).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas submetidas ao alagamento apresentaram maior conteúdo de peróxido que plantas não alagadas, independente do fator de pré-exposição aos herbicidas, possivelmente devido a uma inibição do ciclo de Calvin causada pelo alagamento (Ashraf, 2009). Além disso, plantas pré-tratadas com oxyfluorfen apresentaram um maior conteúdo de peróximo em comparação a plantas pré-tratadas com paraquat ou que o tratamento controle. Isso pode ser explicado, pelo fato de que as plantas pré-tratadas com oxifluorfen apresentaram uma alta atividade de superóxido dismutase e catalase (dados não apresentados). Entretanto, os tratamentos com paraquat e sem priming apresentaram uma menor atividade da catalase, e consequentemente um maior acúmulo de peróxido de hidrogênio. De acordo com Andrade et al. (2018), uma alta atividade da superóxido dismutase pode causar o acúmulo de peróxido de hidrogênio se a atividade da catalase não seguir a mesma tendência.

A peroxidação lipídica foi afetada diferentemente de diferentes formas pelo alagamento e pela pré-exposição a herbicidas. Sabe-se que o alagamento pode elevar os níveis de MDA que é um produto formado durante a peroxidação lipídica, devido à ação de espécies reativas de oxigênio, o que afeta a integridade das membranas (GILL e TUTEJA, 2010).

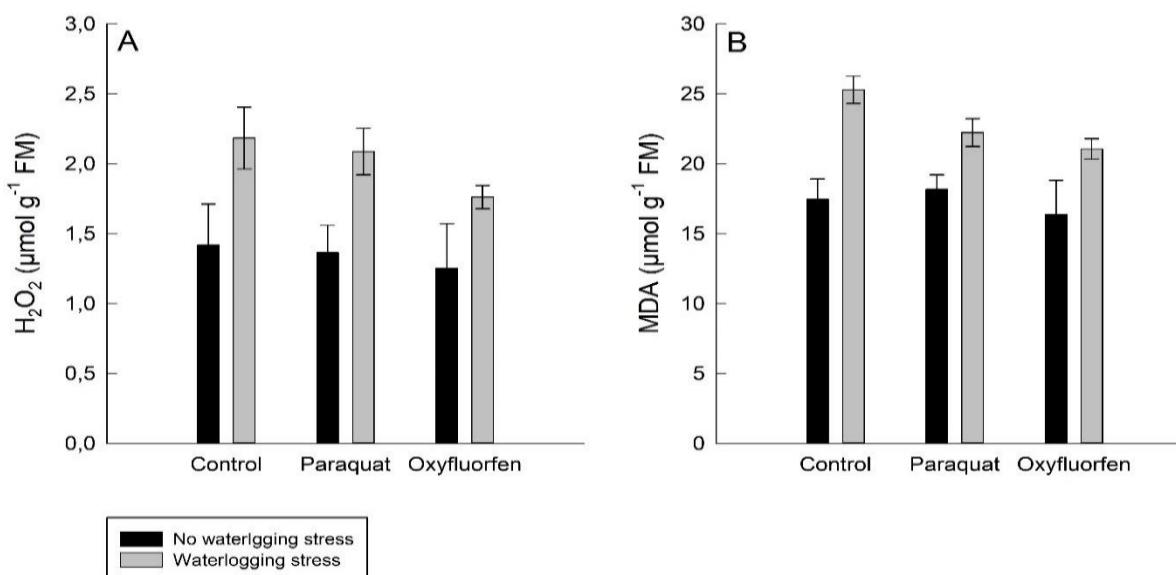


Figura 1. Conteúdo de peróxido de hidrogênio (A) e peroxidação lipídica (B) em plantas de soja pré-tratadas com Paraquat e Oxyfluorfen

Por outro lado, as plantas pré-tratadas mostraram uma redução na peroxidação lipídica. Segundo Andrade et al. (2018) a aplicação de peróxido de hidrogênio em plantas de soja sob alagamento pode reduzir a peroxidação lipídica, devido ao aumento da atividade do sistema antioxidante.

4. CONCLUSÕES

O pré-tratamento de plantas com subdoses dos herbicidas oxyfluorfen e paraquat reduz o conteúdo de peróxido de hidrogênio e o estresse oxidativo em plantas de soja submetidas ao alagamento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, Cinthia Aparecida et al. Hydrogen peroxide promotes the tolerance of soybeans to waterlogging. **Scientia Horticulturae**, v. 232, p. 40-45, 2018

ASHRAF, Muhammad Arslan. Waterlogging in plants: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 13, p. 1976-1981, 2012.

BAILEY-SERRES, Julia et al. Making sense of low oxygen sensing. **Trends in plant science**, v. 17, n. 3, p. 129-138, 2012.

CATANEO, Ana Catarina et al. Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycine max L.*) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 4, n. 2, p. 23-31, 2005.

COBB, Andrew H.; READE, John PH. **Herbicides and plant physiology**. John Wiley & Sons, 2011

FARMER, Edward E.; MUELLER, Martin J. ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 429-450, 2013.

FILIPPOU, Panagiota et al. Plant acclimation to environmental stress using priming agents. In: **Plant acclimation to environmental stress**. Springer, New York, NY, 2013. p. 1-27.

GILL, Sarvajeet Singh; TUTEJA, Narendra. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GUPTA, Dharmendra K.; PALMA, José M.; CORPAS, Francisco J. Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants. 2018.

LORETO, F.; VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**, v.127, p.1781-1787, 2001.

SARZI SARTORI, Gerson Meneghetti et al. Sistemas de preparo do solo e de semeadura no rendimento de grãos de soja em área de várzea. **Ciência Rural**, v. 46, n. 3, 2016

SAVVIDES, Andreas et al. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible?. **Trends in plant science**, v. 21, n. 4, p. 329-340, 2016

SETTER, T. L.; WATERS, I. Review of prospects for germplasm improvement for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. **Plant and Soil**, v. 253, n. 1, p. 1-34, 2003..