

A COMPETIÇÃO ALTERA A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM SOJA E BIÓTIPOS DE AZEVÉM, SUSCETÍVEL E RESISTENTE A GLYPHOSATE?

**HUMBERTO FARIAS¹; CLAUDIA DE OLIVEIRA²; BRUNO MONCKS DA SILVA²;
 LEANDRO VARGAS³; DIRCEU AGOSTINETTO⁴**

¹Universidade Federal de Pelotas – humbertofarias31@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – oliveirac.agro@gmail.com; brunomoncks@gmail.com;

³Embrapa Trigo- vargas@cnpt.embrapa.br

⁴Universidade Federal de Pelotas - Orientador – agostinnetto@ig.com.br

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) se destaca entre as principais oleaginosas produzidas no mundo, seu cultivo no Brasil depende fortemente do uso de herbicidas, tendo como consequência a seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes ou tolerantes.

Nos últimos anos, os produtores observaram dificuldade para controlar o azevém (*Lolium multiflorum*) com o herbicida glyphosate, prática comumente realizada. Essas falhas no controle dificultam a dessecação das áreas de cultivo, tornando o azevém, apesar de ser planta daninha de inverno, problema nas fases iniciais de estabelecimento da soja no sul do Brasil.

A competição estabelecida entre a cultura e a plantas daninha é comum em sistemas agrícolas, acarretando redução da produtividade e da qualidade do produto final; entretanto, os efeitos variam e dependem da intensidade dessa competição. Para determinar as interações competitivas entre plantas daninhas e culturas os métodos de estudos consideram os fatores população, proporção de espécies e arranjo espacial e avaliam principalmente variáveis morfofisiológicas. Porém, faltam informações relacionadas a processos metabólicos das plantas em resposta ao estresse causado pela competição. Pesquisas evidenciam que a competição pode causar danos irreversíveis nas membranas celulares, de modo similar à aplicação de herbicida ou ao estresse por metais pesados (ZHOU et al., 2007).

O sistema de defesa enzimático das plantas inclui diversas enzimas antioxidantes, dentre as principais, podem-se citar superóxido desmutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalases (CAT) (CAVALCANTI et al., 2004). A identificação das respostas metabólicas das plantas, como a alteração na atividade de enzimas antioxidantes podem fornecer importantes informações sobre a dinâmica evolutiva da resistência aos herbicidas, e, por conseguinte, em conceber estratégias que evitem a seleção de plantas resistentes. Desta forma, o trabalho tem como objetivo avaliar a atividade enzimática na soja e em biótipos de azevém suscetível e resistente a glyphosate, sob competição.

2. METODOLOGIA

Para determinar as variações metabólicas foram conduzidos três experimentos em casa de vegetação e determinações em laboratório na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), no Município de Capão do Leão - RS, em 2011/12. Os experimentos foram conduzidos em delineamento completamente casualizado, em série de substituição, com quatro repetições.

As espécies foram semeadas em vasos com capacidade volumétrica de 8 litros, utilizando-se sementes da cultivar de soja CD226RR e sementes de azevém suscetível, oriundas de área onde nunca se utilizou o herbicida glyphosate (30° 58' 54" Sul, 54° 40' 39" Oeste); e, de biótipo de azevém resistente ao herbicida glyphosate, provenientes do Município de Tuparendi – RS (27°45'26" Sul e 54°34'27" Oeste).

No primeiro e segundo experimentos associou-se soja com os biótipos de azevém suscetível ou resistente, com população de 24 plantas por vaso (578 plantas m⁻²); e, no terceiro os biótipos de azevém, com população de 36 plantas por vaso (866 plantas m⁻²).

As proporções entre plantas de soja e azevém suscetível (experimento 1) ou resistente (experimento 2); e, entre azevém suscetível e resistente (experimento 3) foram de 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 e 0:100, respectivamente.

Aos 40 dias após emergência (DAE) da cultura da soja e aos 60 DAE das plantas de azevém, realizou-se a coleta de folhas das plantas competidoras, separadamente, sendo feita amostras compostas com todas as plantas da unidade experimental, as quais foram armazenadas a -80°C até o momento da quantificação das variáveis.

As variáveis analisadas foram atividade das enzimas catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase, as quais foram determinadas segundo Azevedo et al. (1998).

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homocedasticidade pelo teste de Hartley e, posteriormente, foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Os efeitos das proporções, em relação ao monocultivo (testemunha) foram avaliados pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$) e, entre as proporções em mistura, pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$), separadamente para cada competidor.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se para na soja em competição com o biótipo de azevém suscetível, que ocorreu redução da atividade da CAT nas proporções 50:50 e 25:75, comparativamente ao monocultivo (Tabela 1). Já, a atividade da APX foi menor em todas as associações de plantas em relação ao monocultivo. Comparando-se as proporções com presença das competidoras, a atividade da CAT foi maior na proporção 75:25 que nas demais, enquanto para a enzima APX não houve diferença entre as proporções.

As plantas de azevém suscetível não apresentam diferença entre as proporções e o monocultivo para a variável atividade da CAT; porém, a atividade da APX foi maior em todas as proporções, em comparação à testemunha (Tabela 1). As atividades da CAT e APX foram maiores na proporção 75:25 que nas demais, enquanto considerada a competição interespecífica.

A soja em competição com o azevém resistente, apresentou menores atividades da CAT nas proporções 50:50 e 25:75 comparativamente ao monocultivo. A atividade da APX nas plantas de soja, na proporção 25:75, foi menor do que a encontrada na testemunha (Tabela 1). Quando analisada as proporções de plantas não ocorreram diferenças para a atividade da CAT. Já, a atividade da APX reduziu na proporção 25:75, quando comparada às de 75:25 e 50:50.

O biótipo de azevém resistente não apresentou diferenças entre as proporções testadas e a testemunha, para CAT. Já, a atividade da APX foi maior na proporção 75:25 que no monocultivo (Tabela 1). Analisando-se as proporções de

plantas, verificou-se, a exemplo do observado para o biótipo suscetível, maiores atividades das enzimas CAT e APX na proporção 75:25 (Tabela 1).

A diminuição na atividade de CAT em espécies em situação de estresse competitivo, possivelmente aconteceu devido ao aumento de H₂O₂, pois a catalase pode ser inativada por ligação com este composto. O elevado estresse também pode inibir a síntese da enzima ou levar a mudanças na montagem das suas subunidades (SOMASHEKARIAH et al., 1992), o que pode explicar o declínio na atividade da enzima analisada.

Tabela 1. Atividade das enzimas catalases (CAT) (UA mg⁻¹ prot. min⁻¹), peroxidases de ascorbato (APX) e dismutases de superóxido (SOD) extraídas de folhas de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate competindo entre si e com soja, cultivar CD 226 RR, em função de quatro proporções em séries substitutivas. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2011/12.

Proporção	CAT (UA mg ⁻¹ prot.min ⁻¹)		APX (UA mg ⁻¹ prot. min ⁻¹)		SOD (UA mg ⁻¹ prot. min ⁻¹)	
	Experimento I (soja:azevém suscetível)					
Soja						
100:0	0,48		2,90		7,71	
75:25	0,40 ^{ns}	a ^{1/}	2,21*	NS	11,59*	b
50:50	0,26*	b	2,15*		13,77*	a
25:75	0,23*	b	1,81*		16,45*	a
Azevém suscetível						
0:100	0,56NS		5,96		19,48NS	
25:75	0,72	b	7,44*	b	20,73	NS
50:50	0,62	b	7,32*	b	19,20	
75:25	0,96	a	15,50*	a	19,80	
Experimento II (soja:azevém resistente)						
Soja						
100:0	0,48		2,90		7,17	
75:25	0,38 ^{ns}	NS	2,86 ^{ns}	a	10,46*	NS
50:50	0,36*		2,66 ^{ns}	a	10,23*	
25:75	0,33*		1,84*	b	11,28*	
Azevém resistente						
0:100	0,30NS		6,62		39,80	
25:75	0,25	b	6,80 ^{ns}	b	30,73*	a
50:50	0,27	b	8,16 ^{ns}	b	29,00*	a
75:25	0,40	a	15,84*	a	19,51*	b

* ou ^{ns} média difere da testemunha (T), na coluna, pelo teste Dunnett (p≤0,05). ^{1/}Médias seguidas por mesma letra na coluna, em presença dos competidores, não diferem entre si pelo teste Duncan (p≤0,05). NS médias não diferem entre si na coluna pelo teste F.

Observaram-se aumentos na atividade da SOD em plantas de soja convivendo com azevém, seja suscetível ou resistente (Tabela 1). Quando analisado o efeito das proporções, verificou-se que, para soja convivendo com o biótipo suscetível, a proporção de plantas 75:25 ocasionou menor atividade da enzima SOD; porém, quando convivendo com o resistente, não houve variação.

Em plantas de soja e de azevém resistente verificou-se comportamento inverso para a SOD, em relação ao encontrado para a CAT e APX; ou seja, a atividade da superóxido desmutase aumentou quando a soja e o biótipo resistente encontravam-se nas proporções com maior número de plantas de azevém (Tabela

1). A maior atividade dessa enzima, nessas circunstâncias, é creditada ao maior estresse a que as plantas foram submetidas nestes tratamentos. Com isso, as espécies ativaram seus sistemas de defesa enzimático, aumentando a atividade da SOD; porém, as demais enzimas analisadas não foram afetadas.

A SOD é a primeira enzima no processo de desintoxicação, catalisando a dismutação de superóxido (O_2^-) a H_2O_2 e O_2 . O H_2O_2 produzido é, por sua vez, convertido em H_2O e O_2 , por enzimas como CAT e APX (WANG et al., 2004). Desta forma, supõe-se que, quando a atividade da SOD é aumentada, ocorra também aumento da atividade das enzimas que metabolizam o H_2O_2 . No entanto, não foi o que se verificou no presente trabalho.

Para o azevém suscetível competindo com a soja, não houve diferenças na atividade da SOD das proporções testadas com a testemunha e, tampouco, entre proporções (Tabela 1). No caso azevém resistente, a atividade da SOD decresceu nas proporções, comparativamente à testemunha. Na competição interespecífica, a proporção 75:25 ocasionou menor atividade dessa enzima, comparativamente as demais.

Para a competição entre os biótipos de azevém suscetível e resistente a glyphosate, não houve modificação na atividade das enzimas antioxidantes estudadas em nenhum dos dois biótipos (dados não apresentados).

4. CONCLUSÕES

Em plantas de soja, a competição interespecífica com azevém diminui a atividade das enzimas antioxidantes CAT e APX e eleva a SOD.

Entre os biótipos de azevém suscetível e resistente a glyphosate, a competição não altera a atividade das enzimas antioxidantes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, R.A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998.

CAVALCANTI, F.R.; OLIVEIRA, J.T.A.; MARTINS-MIRANDA, A.S.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, v.163, n.3, p.563-571, 2004.

SOMASHEKARAIH, S.V.; PADMAJI, K.; PRASAD, A.R.K. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedling of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): involvement of lipid peroxidation in chlorophyll degradation. **Physiologia Plantarum**, v.85, n.1, p.85-89, 1992.

WANG, S.H.; YANG, Z.M.; LU, B.; LI, S.Q.; LU, Y.P. Copper induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea* L. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.45, n.1, p.203-212, 2004.

ZHOU, Z.S.; HUANG, S.Q.; GUO, K.; MEHTA, S.K.; ZHANG, P.C.; YANG, Z.M. Metabolic adaptations to mercury-induced oxidative stress in roots of *Medicago sativa* L. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.101, n.1, p.1-9, 2007.