

ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM DUAS CULTIVARES DE ARROZ SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO

ANDERSOM MILECH EINHARDT¹; ISABEL LOPES VIGHI²; MARCELO NOGUEIRA DO AMARAL²; LETÍCIA CARVALHO BENITEZ²; PRISCILA ARIANE AULER²; EUGENIA JACIRA BOLACEL BRAGA³

¹Universidade Federal de Pelotas – andersom.m.e@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas

³Universidade Federal de Pelotas – jacirabraga@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais cultivados no mundo, com grande destaque do ponto de vista econômico e social (BONOW et al., 2001), sendo a principal fonte de alimento para um terço da população (TRENTO et al., 2003).

O arroz irrigado é considerado uma cultura moderadamente sensível à salinidade, sendo assim, as regiões costeiras do RS e SC que utilizam água para irrigação de fontes conectadas ao Oceano Atlântico sofrem sua influência (SOSBAI, 2012).

Com o aumento do estresse, a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) é intensificada (DEUNER et al., 2011) e esse acúmulo pode resultar em prejuízos consideráveis.

A célula dispõe de vários mecanismos para detoxificar eficientemente essas espécies reativas de oxigênio. Moléculas antioxidantes, enzimas simples, e um sistema mais complexo de detoxificação, podem estar envolvidos na proteção celular contra ERO acumuladas (RESENDE et al., 2003).

Sabendo-se que a atividade enzimática é um dos mecanismos de defesa da planta contra a produção de ERO, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade das enzimas catalase, superóxido desmutase e ascorbato peroxidase em duas cultivares de arroz com resposta contrastante de tolerância à salinidade, após serem submetidas ao estresse salino.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas sementes de duas cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.), BRS Bojuru e BRS Pampa, consideradas tolerante e sensível, respectivamente. As sementes foram desinfestadas com hipoclorito 1%, colocadas para germinar sobre papel *Germitest* e mantidas em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12h a 25±2°C, durante 10 dias. Após este período as plântulas foram transferidas para potes plásticos (10 plantas/vaso), contendo como substrato areia lavada e irrigadas alternadamente a cada dois dias com água e solução nutritiva de Hoglang; Arnon (1938).

Quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento V4, a irrigação passou a ser realizada, em intervalos de dois dias, com solução nutritiva contendo NaCl na concentração de 150 mM, sendo aplicados 50 mL de solução salina em cada vaso (Figura 1).

A coleta do material (folhas e raízes) para as análises foi realizada durante cinco dias, com intervalos de 24 horas: T1 (tempo 1) = plantas não expostas ao sal; T2 = 24 horas; T3 = 48 horas; T4 = 72 horas; T5 = 96 horas.

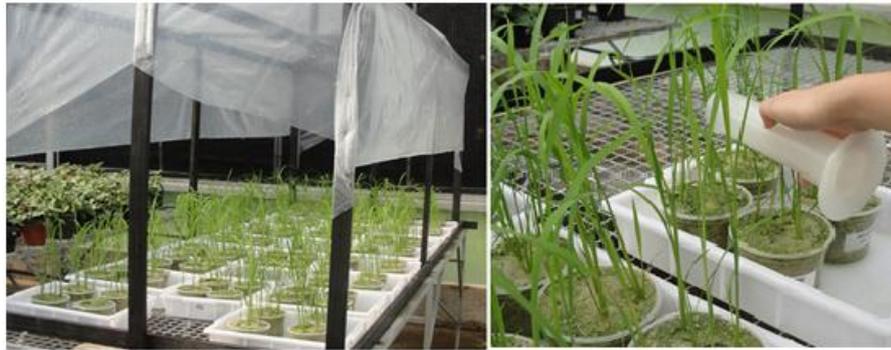


Figura 1. Plantas de arroz mantidas em casa de vegetação.

Amostras de folhas e raízes (400 mg) foram maceradas em N₂ líquido acrescido de 50% de polivinilpirrolidona e homogeneizadas em 1,5 mL do tampão de extração: fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM. O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado para a determinação da atividade enzimática. As proteínas totais foram eluídas com o mesmo tampão e sua quantificação determinada pelo método de BRADFORD (1976).

Para a avaliação da atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) foram utilizadas as metodologia descritas por Giannopolitis; Reis (1977), Azevedo et al. (1998) e Nakano; Asada (1981), respectivamente.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 2x2x5 (2 genótipos x 2 tecidos x 5 tempos de exposição ao sal) com três repetições biológicas e os dados foram submetidos à análise da variância, utilizando o software WinStat (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002), considerando significativos os resultados onde $P \leq 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de variância mostraram interação significativa (tecido x tempo) para a atividade das enzimas SOD e CAT, o que implicou na necessidade de analisar os dados com regressão polinomial para cada tecido (Figura 2 e 3) e para a variável correspondente à atividade da enzima APX entre os fatores tecido x genótipo (Tabela 1).

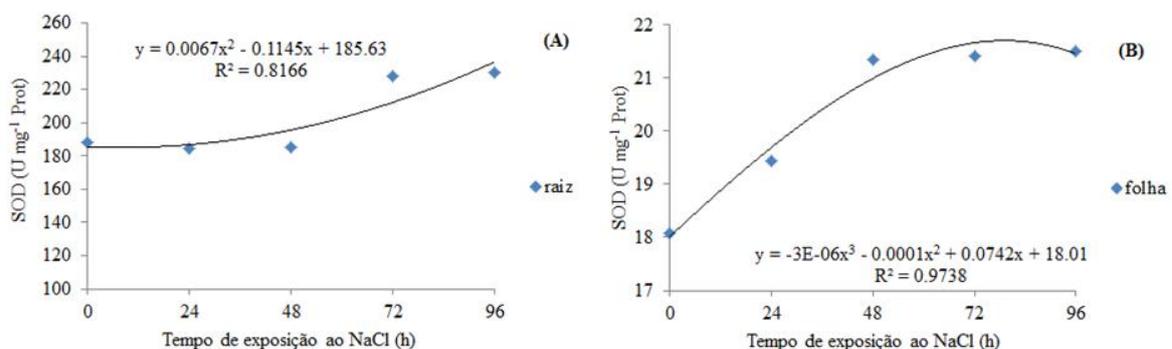


Figura 2. Atividade média da enzima SOD em raízes (A) e folhas (B) de plantas das cultivares BRS Bojuru e BRS Pampa, submetidas a 150 mM de NaCl durante 96 horas.

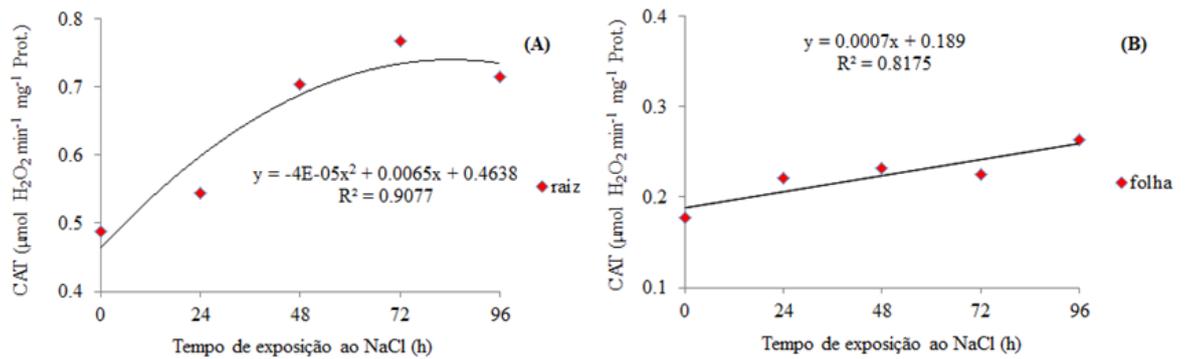


Figura 3. Atividade média da enzima CAT em raízes (A) e folhas (B) de plantas das cultivares BRS Bojuru e BRS Pampa, submetidas a 150 mM de NaCl durante 96 horas.

Tabela 1. Atividade da enzima APX em raízes e folhas de plantas de arroz (BRS Bojuru e BRS Pampa), submetidas a 150 mM de NaCl durante 96 horas

Tecido	Genótipo	
	BRS Bojuru	BRS Pampa
Raiz	7.90 Aa*	5.24 Ab
Folha	0.78 Ba	0.96 Ba

(*) Letras maiúsculas comparam os diferentes tecidos dentro de cada genótipo e letras minúsculas comparam os diferentes genótipos dentro de cada tecido.

Para a atividade da SOD, foi observado aumento em sua atividade com o tempo de exposição ao NaCl nas raízes e folhas de ambos os genótipos. Nas folhas, este aumento foi observado a partir do T2, enquanto que nas raízes a partir de T3.

A atividade da CAT nas raízes apresentou aumento até o T4, seguido de redução em T5, embora a atividade neste tempo tenha sido maior que nas plantas controle. Nas folhas, o aumento da atividade da CAT foi observado até T3, com sequente redução e aumento, em T4 e T5, respectivamente.

Para a enzima APX, foi constatada interação entre os fatores qualitativos tecido x genótipo, sendo as maiores médias de atividade observadas nas raízes de ambos os genótipos. Comparando-se os dois genótipos analisados, houve diferença apenas na atividade referente à folha, sendo maior no genótipo BRS Bojuru.

No que se refere às proteínas totais, houve efeito significativo apenas para o fator tecido de maneira isolada, sendo o maior teor de proteínas observado nas folhas de plantas de arroz (Figura 2).

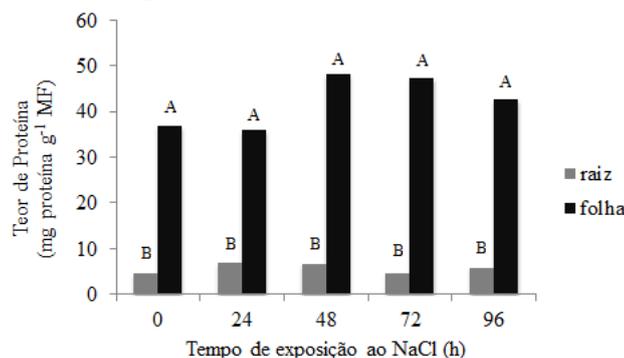


Figura 2. Teor de proteína em raízes e folhas de plantas de arroz submetidas a diferentes tempos de exposição ao sal. Letras diferentes comparam os tecidos dentro de cada tempo de exposição ao NaCl.

4. CONCLUSÕES

A salinidade aumenta a atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase em arroz, sendo esta variável em função do tecido e do tempo de exposição.

A atividade da enzima ascorbato peroxidase em resposta ao sal é variável em função do tecido e do genótipo de arroz.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, R. A.; ALAS R. M.; SMITH, R. J.; LEA P. J. Responses of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiol Plant**, v. 104, p. 280-292, 1998.

BONOW, S.; AUGUSTIN, E.; FRANCO, D. F.; PETERS, J. A.; TERRES, A. L. da S. Caracterização isoenzimática de genótipos de arroz. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 291-300, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-254, 1976.

DEUNER, C.; MAIA, M. de S.; DEUNER, S.; ALMEIDA, A. da S.; MENEGHELLO, G. E. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. **Rev. Bras. de Sementes**, v. 33, n. 4, p. 711-720, 2011.

GIANNOPOLITIS, C. N.; REIS, S. K. Superoxide dismutases: II. Purification and purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedlings. **Plant Physiol**, v.59, p. 315-318, 1977.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experimental Station**, Circ. n.347, 1938.

MACHADO, A.; CONCEIÇÃO, A. R. Programa Estatístico WinStat – Sistema de Análise Estatístico para Windows. Versão 2.0. Pelotas: UFPEL, 2002.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant & Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies Ativas de Oxigênio na Resposta de Defesa de Plantas a Patógenos. **Fitopatologia Brasileira**. V. 28, P. 123-130, 2003.

SOSBAI. XXIX Reunião técnica da cultura do arroz irrigado. Itajaí, 179 p., 2012.