

# DANOS CELULARES EM PLANTAS DE ARROZ E CAPIM-ARROZ CULTIVADAS SOB CONDIÇÕES DE COMPETIÇÃO

Ana Claudia Langaro<sup>1</sup>; Roberta Manica-Berto<sup>4</sup>; Marcos André Nohatto<sup>3</sup>; Rafael Salles Rubim<sup>2</sup>; Rui Carlos Zambiazzi<sup>5</sup>; Dirceu Agostinetto<sup>6</sup>

Palavras-chave: *Echinochloa* spp., peroxidação de lipídeos, TBARS.

## INTRODUÇÃO

Entre as espécies daninhas comuns nas lavouras orizícolas, destaca-se o capim-arroz (*Echinochloa* spp.). Este apresenta muitas semelhanças morfofisiológicas com as plantas de arroz, grande capacidade competitiva, além de vasta distribuição nas lavouras cultivadas e altos níveis de infestação. Esses fatores a tornam uma planta daninha de difícil controle, causando grandes perdas na produção de arroz, não somente nos estados do Sul do Brasil (AGOSTINETTO, 2008), como também em Arkansas, nos EUA (LOVELACE et al. 2001; GEALY et al., 2003).

Essa competição estabelecida entre a cultura e a plantas daninha é muito comum em ecossistemas agrícolas, que acarreta na redução da produtividade e na qualidade do produto final, como citado anteriormente. Entretanto, os efeitos são variáveis e dependem da intensidade dessa competição. Para isso, os estudos desenvolvidos até o momento, como os experimentos em séries substitutivas (VIDAL et al., 2006; AGOSTINETTO et al., 2008) tem sido usados para avaliar essa capacidade competitiva, a partir de características de crescimento, incluindo a estatura, área foliar, afilamento, produção de massa seca da parte aérea. Mas, não existem trabalhos que quantifiquem o quanto a competição possa danificar a membrana celular e, conseqüentemente, alterar o metabolismo secundário tanto da cultura como da planta daninha.

Acredita-se que a competição pode causar danos irreversíveis nas membranas celulares, assim como uma aplicação de herbicida (YIN et al., 2008), a radiação UV (TIAN & LEI, 2007), o estresse por metais pesados (ZHOU et al., 2007), podendo os mesmos serem detectados a partir da quantificação da peroxidação lipídica.

A peroxidação lipídica resulta na formação de hidroperóxidos, que são convertidos em uma série de produtos secundários, tais como espécies reativas de oxigênio, radicais livres, aldeídos, alcanos, oxiácidos, ácido jasmônico e metil jasmonatos (VICK & ZIMMERMAN, 1987; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1985). O oxigênio e os radicais livres danificam a estrutura da membrana e a sua organização, alterando a função de enzimas e de receptores ligados a membrana (VICK & ZIMMERMAN, 1987).

As principais metodologias utilizadas para a avaliação da peroxidação lipídica em sistemas biológicos medem a formação de produtos gerados durante as diferentes fases deste processo. O teste padrão, introduzido por Kohn e Liversedge, em 1944, é bastante popular porque é simples e rápido, porém inespecífico. Consiste na medida de um cromógeno róseo formado pela reação do malondialdeído (MDA) com duas moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA), em meio ácido e alta temperatura. Essa reação, chamada de

---

<sup>1</sup>Graduanda(o) em Agronomia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel, Bolsista Fapergs E-mail: namelia.langaro@gmail.com;

<sup>2</sup> Eng. Agr(a), Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade /FAEM/UFPel. E-mail: rsallesr@hotmail.com;

<sup>3</sup> Eng. Agr(a), Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade /FAEM/UFPel. E-mail: marcosnohatto@hotmail.com;

<sup>4</sup>Eng. Agr., Dr. Pós-Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade /FAEM/UFPel. E-mail: robertamanica@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Químico Industrial, Dr. Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos/FAEM/UFPel. E-mail: zambiazzi@gmail.com

<sup>6</sup> Eng. Agr., Dr. Professor do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade/FAEM/UFPel, bolsista em produtividade do CNPq; E-mail: dirceu\_agostinetto@ufpel.edu.br

“teste das substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS)”, representa múltiplos métodos que utilizam o TBA, formando o complexo MDA:TBA (1:2) (YU et al., 1986).

Neste teste utiliza-se como padrão o MDA, que é um dialdeído formado como um produto secundário durante a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) por cisão *beta* dos AGPI peroxidados, principalmente o ácido araquidônico (JANERO, 1990). Representando um dos produtos finais da peroxidação lipídica, o seu nível indica o grau de estresse oxidativo pelo qual o tecido vegetal foi submetido (GUO et al., 2004).

Em condições de estresse severo pode ocorrer um aumento considerável na produção de radicais livres que podem levar a uma cascata de eventos que inicia com a peroxidação de lípídeos, avança para degradação de membranas e morte celular (GREGGAINS et al., 2000). Desta forma, o objetivou-se avaliar o impacto da competição sobre os danos celulares em folhas e colmos de arroz e capim-arroz.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e laboratório na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel), em Capão do Leão-RS, no período de novembro de 2010 a fevereiro de 2011. Os ensaios em casa de vegetação foram alocados em vasos plásticos com capacidade volumétrica de 8 L, preenchidos com solo oriundo de lavoura arizícola, peneirado e adubado conforme as recomendações para a cultura do arroz irrigado (SOSBAI, 2010). O delineamento experimental foi o completamente casualizado, com quatro repetições.

O experimento foi conduzido em série substitutiva, utilizando-se a população de 24 plantas vaso<sup>-1</sup> (equivalente a 942 plantas m<sup>-2</sup>), determinada em experimento preliminar por Agostinetto et al. (2008). Este experimento, que avaliou a convivência do cultivar de arroz com o capim-arroz, variou as proporções relativas de plantas por vaso de 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 e 0:100 (0:24, 6:18, 12:12, 18:6 e 24:0), com manutenção da população total de plantas. Aos 50 dias após a emergência (DAE), foram realizadas coletas da parte aérea do arroz e do capim-arroz, separando-as em folha e colmo, as mesmas foram armazenadas a -80°C até o momento da quantificação dos danos celulares via TBARS.

Os danos celulares nos tecidos foram determinados em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), via acúmulo de aldeído malônico (MDA), conforme descrito por HEALTH & PACKER, 1968. Para isso, 0,2 g de folhas foram macerados com nitrogênio líquido e homogeneizados em ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 7830 rpm por 20 minutos. Alíquotas de 0,5 mL do sobrenadante foram adicionadas a 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (m/v) em ácido tricloroacético 10% (m/v) e incubadas a 90°C por 20 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por 10 minutos. A absorvância foi lida a 532 nm, descontando-se a absorvância inespecífica a 600 nm. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvância de 155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> e os resultados foram expressos em nM MDA g<sup>-1</sup> de matéria fresca.

Os dados foram analisados quanto a sua normalidade e homocedasticidade e, posteriormente, submetidos à análise de variância (p≤0,05). Os efeitos das proporções foram avaliados pelo teste de Dunnett e das partes da planta foram avaliados pelo teste de t (p≤0,05), separadamente em relação ao arroz e ao capim-arroz.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de MDA tanto nas folhas quanto no colmo de ambas as plantas amostradas foram significativamente maiores nas folhas, indicando que a competição produz uma maior quantidade de radicais livres, o que acarreta no aumento do estresse oxidativo na folha (Tabela 1). Hipotetiza-se que esses resultados sejam relacionados a competição por luz entre a cultura e a planta daninha. A capacidade competitiva das plantas daninhas pode depender, não só da sua capacidade de competir por luz, mas também da sua capacidade de reduzir os efeitos de sombra, alterando sua morfologia e partição de

biomassa (GIBSON & FISCHER, 2001).

As plantas podem competir entre si e com outras espécies pelos recursos luz, água, nutrientes e, em algumas situações, também por CO<sub>2</sub>. Nesse contexto, o colmo de arroz (Tabela 1), apresentou baixo dano celular com a presença do competidor. Enquanto que, na folha, a competição intraespecífica (Testemunha) resultou em uma maior produção de espécies reativas, sendo superior as demais proporções, ou seja, ocorre estresse maior pela competição intraespecífica do que a interespecífica. Segundo Hakansson (2003), a biomassa e as proporções de diferentes partes de uma planta podem mudar em resposta a competição intraespecífica.

Quanto ao capim-arroz, quando avaliado na folha, a presença da cultura acarreta no capim-arroz menor peroxidação lipídica, ou seja, a competição interespecífica reduziu o dano celular no capim-arroz. Isso ocorreu até certo ponto, no momento em que aumentou a proporção para 75:25 (arroz:capim-arroz), o estresse provocado superou a testemunha.

O dano de membrana causado pela competição pode ser considerado elevado (Tabela 1) quando comparado aos danos causados pela aplicação de isoproturon em trigo, em que o teor variou de 1 a 7 nM MDA g<sup>-1</sup> de matéria fresca para raiz e folha, respectivamente (YIN et al., 2008). E, similar ao ser comparado aos danos causados pela toxicidade de alumínio em plantas *Vicia faba* L., que apresentou variação no teor de MDA, entre 9 a 25 nM g<sup>-1</sup> de matéria fresca (ZANG et al., 2009). Porém, muito inferior aos dados obtidos por Sairam e Srivastava (2001), que diferenciaram genótipos de trigo submetidos ao estresse hídrico e obtiveram valores entre 550 a 1150 nM MDA g<sup>-1</sup> de matéria fresca.

Tabela 1 - Teores de TBARS (nM MDA g<sup>-1</sup> de matéria fresca) extraídos de folhas e de colmos de arroz e capim-arroz, em função de quatro proporções em séries substitutivas. FAEM/UFPEl, Capão do Leão/RS, 2011

| Proporção de plantas<br>(arroz:capim-arroz) | Arroz                 |         |
|---|-----------------------|---------|
|   | Folha                 | Colmo   |
| 100:0 (T)                                   | 18,80 a <sup>1/</sup> | 2,25 b  |
| 75:25                                       | 10,03 a*              | 2,75 b  |
| 50:50                                       | 12,83 a*              | 2,42 b  |
| 25:75                                       | 11,93 a*              | 3,94 b  |
|   | Capim-arroz           |         |
| 0:100 (T)                                   | 11,39 a               | 6,10 b  |
| 25:75                                       | 7,97 a*               | 2,19 b* |
| 50:50                                       | 5,61 a*               | 3,70 a* |
| 75:25                                       | 14,26 a*              | 2,26 b* |

<sup>1/</sup> Médias seguidas por mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de t (p≤0,05). \* Média difere da testemunha (T), na coluna, pelo teste de Dunnett (p≤0,05).

## CONCLUSÃO

O aumento da peroxidação lipídica e, conseqüentemente, o dano as membranas celulares, como resultado do estresse oxidativo causado pela competição entre o arroz e o capim arroz foi maior nas folhas de arroz.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINETTO, D.; GALON, L.; MORAES, P.V.D.; RIGOLI, R.P.; TIRONI, S.P.; PANOZZO, L.E. Competitividade relativa entre cultivares de arroz irrigado e biótipos de capim-arroz (*Echinochloa* spp.). **Planta Daninha**, v.26, n.4, p.757-766, 2008.

GEALY, D.R.; WAILES, E.J.; ESTORNINOS, L.E. JR.; CHAVEZ, R.C. Rice cultivar differences in suppression of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) and economics of reduced propanil rates. **Weed Science**, v.51, p.601-609, 2003.

- GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W.E.; QUICK, W.P.; ATHERTON, N.M. Metabolism-induced free radical activity does not contribute significantly to loss of viability in moist-stored recalcitrant seeds of contrasting species. **New Phytologist**, v.148, p.267-276, 2000.
- GIBSON, K.D.; FISCHER, A.J. Relative growth and photosynthetic response of water-seeded rice and *Echinochloa oryzoides* (Ard.) Fritsch to shade. **International Journal of Pest Management**, v.47, p.305-309, 2001.
- GUO, T.R.; ZHANG, G.P.; ZHOU, M.X.; WU, F.B.; CHEN, J.X. Effects of aluminum and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barley genotypes with different Al resistance. **Plant and Soil**, v.258, p.241–248, 2004.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. 1985. **Lipid peroxidation a radical chain reaction**. In: Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (Eds.), *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford, pp. 139±205.
- HAKANSSON, S. 2003. **Weeds and Weed Management on Arable Land—An Ecological Approach**. Wallingford, UK: CABI. 288 p.
- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.9, p.189-198, 1968.
- JANERO, D.R. Malondialdehyde and thiobarbituric acidreactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. **Free Radical Biology and Medicine**, v.9, p.515-540, 1990.
- LOVELACE, M.L.; TALBERT, R.E.; DILDAY, R.H.; SCHERDER, E.F.; BUEHRING, N.W. 2001. **Use of allelopathic rice with reduced herbicide rates for control of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*)**. Pages 75–88 in R. J. Norman and J.-F. Meullenet, eds., B.R. Wells Arkansas Rice Research Studies-2000. Research Series 485. Fayetteville, AR: University of Arkansas Agricultural Experiment Station.
- SAIRAM, R.K.; SRIVASTAVA, G.C. Water Stress Tolerance of Wheat (*Triticum aestivum* L.): Variations in Hydrogen Peroxide Accumulation and Antioxidant Activity in Tolerant and Susceptible Genotypes. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.186, p.63-70, 2001.
- SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, RS: SOSBAI, 188p. 2010.
- TIAN, X.R.; LEI, Y.B. Physiological responses of wheat seedlings to drought and UV-B radiation. Effect of exogenous sodium nitroprusside application. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.54, n.5, p.676-682, 2007.
- VIDA, F.B.P.; FISCHER, A.J.; LACA, E.; FERNANDEZ, G.; MACKILL, D. Relating rice traits to weed competitiveness and yield using path analysis. **Weed Science**, v.54, n.6, p.1122-1131, 2006.
- VICK, B.A.; ZIMMERMAN, D.C., 1987. **Oxidative systems for modification of fatty acids: the lipoxigenase pathway**. In: Stumpf, P.K. (Ed.), *The Biochemistry of Plants, Lipids: Structure and Function*, 9th ed. Academic Press, New York, pp. 54±89.
- YIN, X.L.; JIANG, L.; SONG, N.H.; YANG, H. Toxic Reactivity of wheat (*Triticum aestivum*) plants to herbicide isoproturon. **Journal of Agronomy and Food Chemistry**, v.56, n.12, 2008.
- YU, L.W.; LATRIANO, L.; DUNCAN, S.; HARTWICK, R.; WITY, G. High-performance liquid chromatography analysis of the thiobarbituric acid adducts of malonaldehyde and trans- trans-muconaldehyde. **Analytical Biochemistry**, v.156, p.326-333, 1986.
- ZHANG, H.; ZHANG, S.; MENG, Q.; ZOU, J.; JIANG, W.; LIU, D. Effects of aluminum on nucleoli in root tip cells, root growth and the antioxidant defense system in *Vicia faba* L. **Acta Biologica Cracoviensis, Series Botanica**, v.51, n.2, p.99-106, 2009.
- 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, p.1-9, 2007.