

# PRODUÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DANOS CELULARES PELA APLICAÇÃO DE PROFOXYDIM NA CULTURA DO ARROZ

Ana Claudia Langaro<sup>1</sup>; Roberta Manica-Berto<sup>3</sup>; Marcos André Nohatto<sup>2</sup>; Franciele Mariani<sup>2</sup>; Rui Carlos Zambiasi<sup>4</sup>; Dirceu Agostinetto<sup>5</sup>

Palavras-chave: herbicida, estresse oxidativo, metabólitos secundários.

## INTRODUÇÃO

A utilização do herbicida profoxydim, inibidor da enzima acetil CoA carboxilase (AC-Case), para controle em pós-emergência de plantas daninhas na cultura do arroz irrigado tem apresentado problemas de fitotoxicidade na cultura. A utilização de herbicidas pode provocar nas plantas cultivadas o aumento da produção de radicais livres, especialmente espécies reativas de oxigênio (EROs) (MARTINEZ-CAYUELA, 1998). Conseqüentemente, tais moléculas altamente reativas irão reagir com os lipídios formadores das membranas, originando a peroxidação lipídica, que, além de formar novos radicais lipídicos, danificam irreversivelmente as membranas celulares (HESS, 2000; FLECK & VIDAL, 2001). A resposta direta do dano às membranas celulares pela peroxidação lipídica é o extravasamento do conteúdo celular para o meio que estiver envolvendo os tecidos danificados (KRUSE et al., 2006), desestruturando diversos processos fisiológicos e metabólicos das plantas.

Para combater os danos provocados pelas EROs, as plantas desenvolveram dois mecanismos de proteção, um sistema antioxidante enzimático e outro não enzimático (MITTLER, 2002). No sistema antioxidante não enzimático está incluído a produção de compostos fenólicos, que são sintetizados pelas plantas em resposta a algum tipo de estresse (NICHOLSON & HAMMERSCHMIDT, 1992), como a utilização de herbicidas. Assim, a determinação dos compostos fenólicos, bem como a peroxidação e o extravasamento de eletrólitos constituem-se como ferramentas para a avaliação dos efeitos dos herbicidas em nível celular nas plantas, surgindo à possibilidade de utilizar tais variáveis para compreender o comportamento fitotóxico do herbicida profoxydim na cultura do arroz.

O objetivo do trabalho foi avaliar a produção de compostos fenólicos e danos celulares devido à utilização do herbicida profoxydim na cultura do arroz.

## MATERIAL E MÉTODOS

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 dezembro 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 orizícola, peneirado e adubado conforme as recomendações para a cultura do arroz irrigado (SOSBAI, 2010). O delineamento experimental foi o completamente casualizado, com quatro repetições.

Para a etapa em casa de vegetação, foi realizada aplicação do herbicida profoxydim, na dose de 400 g i.a. ha<sup>-1</sup>, aos 30 dias após a semeadura. Para isso, utilizou-se

<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), Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade /FAEM/UFPel. E-mail: marcosnohato@hotmail.com; francielemariani@boll.com

<sup>3</sup>Eng. Agr., Dr. Pós-Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade /FAEM/UFPel. E-mail: robertamanica@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Químico Industrial, Dr. Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos/FAEM/UFPel. E-mail: zambiasi@gmail.com

<sup>5</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

pulverizador costal, pressurizado com CO<sub>2</sub>, munido com bicos tipo leque e pontas 110.015, e volume de calda equivalente a 150 L ha<sup>-1</sup>. Posteriormente, foram realizadas coletas da parte aérea das plantas aos 7 e 20 dias após a aplicação do tratamento (DAT), em plantas que receberam herbicida e do tratamento comparativo (controle), sem aplicação de herbicida. Após as coletas, as folhas foram armazenadas a -80°C até o momento da quantificação dos compostos fenólicos e dos danos celulares, via TBARS e por extravasamento de eletrólitos.

A determinação de compostos fenólicos foi realizada de acordo com método descrito por Singleton & Rossi (1965), com modificações. Para a etapa de extração pesou-se 2 g de amostra triturada, dilui-se em 20 mL de metanol, colocou-se em banho-maria a 25°C, durante 3 horas. Após este período, a amostra foi filtrada com algodão para balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com metanol. Para a etapa de quantificação dos fenóis foi retirado 1 mL do extrato obtido e adicionado 10 mL de água ultra-pura e 0,5 mL de Folin-Ciocalteu 2N, deixando-se reagir por 3 minutos, e após foram adicionados 1,5 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% (m/v), permanecendo no escuro por mais 2 horas. Realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Ultrspec 2000 UV/Visível - Pharmacia Biotech) no comprimento de onda de 765 nm. Foi elaborada curva padrão de ácido gálico e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE) por grama de matéria fresca (MF).

Os danos celulares nos tecidos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), foram determinados 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. Aliquotas 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 absorbância foi lida a 532 nm, descontando-se a absorbância inespecífica a 600 nm. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade 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.

Outra forma de avaliar os danos celulares foi através da permeabilidade relativa das membranas, determinada por meio do extravasamento de eletrólitos conforme descrito por Tarhanen et al. (1999). Para isso, 0,2 g de amostra foram triturados e lavados três vezes com água ultra-pura para a retirada do conteúdo das células rompidas durante o corte e de outros eletrólitos aderidos às folhas. Após este procedimento, as mesmas foram colocadas em 50 mL de água ultra-pura e deixadas por 6 horas em banho-maria a 25°C. Decorrido esse tempo, a condutância inicial (Ci) foi obtida utilizando-se um condutivímetro (Lutron, CD-4301). Posteriormente a essa leitura, as mesmas amostras foram colocadas em estufa a 90°C por 2 horas e feita a segunda leitura (Cf). O extravasamento de eletrólitos foi calculado pela relação  $Ci/(Ci+Cf) \times 100$  e o resultado foi expresso em percentagem.

Os dados foram analisados quanto a sua normalidade e homocedasticidade e, posteriormente, submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ). Os efeitos das coletas foram comparados pelo o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável compostos fenólicos, verificou-se diferença entre as épocas de coleta após a aplicação do herbicida profloroxim (Tabela 1). Tais resultados possivelmente estão associados aos mecanismos de proteção das plantas ao herbicida, em especial ao sistema antioxidante não enzimático. Após a aplicação do herbicida, ocorreu a ativação das defesas químicas e bioquímicas da planta, aumentando o conteúdo desses compostos de metabolismo secundário.

Quanto a variável peroxidação, verificou-se aumento dos níveis de MDA ao longo do tempo, sendo mais pronunciado na segunda coleta das plantas (Tabela 1). Esses resultados devem-se ao aumento da produção das EROs após a aplicação do herbicida,

ocasionando danos nas estruturas dos ácidos graxos insaturados, presentes na composição das membranas biológicas das organelas celulares. Trabalho conduzido por Hassan & Alla (2005), também relatou aumento no conteúdo de MDA em plântulas de milho e feijão após a exposição das plantas a herbicidas inibidores do Fotossistema II, o que sugere que a formação dos sintomas de fitotoxicidade evidenciados na cultura do arroz são decorrentes dos danos provocados pelos herbicidas às membranas biológicas.

Com relação ao extravasamento de eletrólitos, ao contrário do que se esperava, não ocorreu aumento após a aplicação do herbicida (Tabela 1). A explicação para esse fato decorreria da possibilidade do herbicida não causar danos suficientes ao ponto de serem observados na análise de extravasamento celular.

Tabela 1 - Efeito do herbicida profoxydim em plantas de arroz no teor de fenóis totais, TBARS e extravasamento de eletrólitos, avaliado em duas épocas de coleta. UFPel, Capão do Leão - RS, 2011

Tratamento	Fenóis Totais (mg GAE g <sup>-1</sup> de MF)	Teores de TBARS (nM MDA g <sup>-1</sup> de MF)	Extravasamento de Eletrólitos (%)
Controle	20,75 b <sup>1/2</sup>	6,22 b	43,65 a
7 DAT <sup>2</sup>	22,47 b	6,78 b	43,21 a
20 DAT	36,51 a	18,59 a	43,45 a
CV (%)	11,66	18,11	5,69

<sup>1/2</sup> Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). <sup>2</sup> Dias após a aplicação do tratamento.

## CONCLUSÃO

O uso do herbicida profoxydim provoca distúrbios no metabolismo de plantas de arroz, devido à formação de radicais livres que afetam os níveis de peroxidação, aumentando a produção de compostos fenólicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FLECK, N. G.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores do fotossistema 2. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO Jr., A. (Eds.). **Herbicidologia**, p.100-112, 2001.
- HASSAN, N.M.; ALLA, M.M.N. Oxidative stress in herbicide-treated broad bean and maize plants. **Acta physiologiae plantarum**, v.27, p.429-438, 2005.
- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, p.189-198, 1968.
- HESS, F.D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, v.48, p.160-170, 2000.
- KRUSE, N.D.; et al. Estresse oxidativo em girassol (*Helianthus annuus*) indica sinergismo para a mistura dos herbicidas metribuzin e clomazone. **Planta Daninha**, v.24, p.379-390, 2006.
- MARTINEZ-CAYUELA, M. Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. **Ars Pharmaceutica**, v.39, p.5-18, 1998.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **TRENDS in Plant Science**, v.7, p.405-410, 2002.
- NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.30, p.369-89, 1992.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.
- SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, RS: SOSBAI, 188p. 2010.
- TARHANEN, S. et al. Membrane permeability response of lichen *Bryoria fuscescens* to wet deposited heavy metals and acid rain. **Environmental Pollution**, v.104, p.121-129, 1999.