

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa

PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM PARTE AÉREA E RAÍZES DE GENÓTIPOS DE BATATA EXPOSTOS AO ALUMÍNIO E AO SILÍCIO EM SISTEMA HIDROPÔNICO¹

Luana De Campos De Jesus², Athos Odin Severo Dorneles³, Aline Soares Pereira⁴, Victória Martini Sasso⁵, Liana Veronica Rossato⁶, Luciane Almeri Tabaldi⁷.

¹ Dissertação de Mestrado em Agrobiologia da UFSM.

² Bolsista CNPQ, Aluno do Curso de Graduação em Engenharia Florestal da UFSM. luanacampos@yahoo.com

³ Biólogo, Msc. Agrobiologia/UFSM. athos_odin@hotmail.com

⁴ Bióloga, Mestranda em Agrobiologia da UFSM. Bolsista CAPES. lyne_asp@hotmail.com

⁵ bolsista FAPERGS, aluno do Curso de Graduação em Engenharia Florestal da UFSM. vicksasso@yahoo.com.br

⁶ Pós Doc. do Departamento de Biologia, UFSM. liana.rossato@gmail.com

⁷ Prof. Dr^a do Departamento de Biologia, UFSM. lutabaldi@yahoo.com.br

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é um dos principais alimentos para a humanidade, consumida por mais de um bilhão de pessoas em todo mundo, devido à sua composição, versatilidade gastronômica e tecnológica, assim como pelo baixo preço de comercialização dos tubérculos. A batata cultivada (*S. tuberosum* subsp. *tuberosum*) é muito sensível a estresses abióticos como seca, frio, salinidade e alta irradiação. Além disso, alguns genótipos desta espécie são sensíveis a metais tóxicos, como o alumínio (Al), apresentando redução do sistema radicular e da parte aérea, peroxidação lipídica aumentada e inibição de algumas enzimas antioxidantes. O alumínio (Al) é o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, e o metal mais abundante, compondo cerca de 7,5% dos elementos na crosta terrestre. Apesar de sua abundância, o Al não apresenta essencialidade conhecida para o homem, sendo altamente citotóxico aos vegetais e animais. A toxicidade pode ter várias origens, mas a forte afinidade do Al por grupos fosfato em biomoléculas fosforiladas (AMP, ADP, ATP) fornece um provável mecanismo para explicar essa toxicidade. Além disso, o Al pode ocasionar um incremento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), pois tal elemento exibe uma significativa atividade pró-oxidante, promovendo oxidações biológicas tanto in vivo quanto in vitro. Nesse sentido, o Si é um elemento benéfico para algumas plantas e já se mostrou eficaz na redução da peroxidação dos lipídios de membrana via estimulação de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, mostrando assim um potencial para ser utilizado na amenização do estresse causado por Al. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos da interação entre o Si e o Al sobre a peroxidação de lipídios de membrana em genótipos de batata com distinta sensibilidade ao Al (SMIJ319-7, sensível ao Al, e SIMF212-3, tolerante ao Al).

Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Laboratório de Bioquímica de Plantas e nas casas de vegetação pertencentes ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria. Foram usados dois genótipos de batata, SMIJ319-7 (sensível ao Al) e SIMF212-3 (tolerante ao Al) (ROSSATO, 2014), obtidos do Programa de Genética e Melhoramento da Batata, UFSM, Santa Maria, RS, os quais foram propagados in vitro por 25 dias em meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose,

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa

0,1 g L⁻¹ de mio inositol e 6 g L⁻¹ de ágar. Após esse período, as plantas foram transferidas para bandejas plásticas com capacidade de 17 L contendo solução nutritiva completa, objetivando a aclimatização. Cada bandeja suportou 30 plantas. As plantas foram expostas a uma solução nutritiva completa por três dias. A solução nutritiva teve a seguinte composição (em µM): 6090,5 de N; 974,3 de Mg; 4986,76 de Cl; 2679,2 de K; 2436,2 de Ca; 359,9 de S; 243,592 de P; 0,47 de Cu; 2,00 de Mn; 1,99 de Zn; 0,17 de Ni; 24,97 de B; 0,52 de Mo; 47,99 de Fe (FeSO₄/Na-EDTA). Após este período de aclimação, as plantas foram cultivadas por quatorze dias em uma nova solução nutritiva (sem fósforo e pH 4,5±0,1) expostas a combinações de duas concentrações de Al (0 e 50 mg L⁻¹ (AlCl₃)) e três concentrações de Si (0; 0,5 e 1,0 mM (Na₂SiO₃)). Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento e quinze plantas por repetição, para cada genótipo. Com exceção do Al e do Si, as concentrações dos outros elementos minerais na solução nutritiva foram as mesmas para todos os tratamentos. A solução nutritiva com os tratamentos foi substituída a cada sete dias e o pH foi ajustado diariamente.

A peroxidação lipídica foi estimada seguindo o método de El-Moshaty et al. (1993). Amostras de folhas (0,5 g) e raízes (1,5 g) maceradas em nitrogênio líquido foram homogeneizadas em 4 mL de 0,2 M de tampão citrato (pH 6,5) contendo 0,5% de Triton X-100. O homogeneizado foi centrifugado a 20.000 x g por 15 min a 4°C. Um mL do sobrenadante foi adicionado a 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 20% (w/v) contendo 0,5% (w/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA). A mistura foi aquecida a 95°C por 40 min e então resfriada em banho de gelo por 15 min, sendo centrifugada a 10,000 x g por 15 minutos. A absorbância do sobrenadante foi lida a 532 e 600 nm (para corrigir a turbidez não específica). A peroxidação lipídica foi expressa como nmol MDA mg⁻¹ de proteína.

Os dados foram analisados conforme experimento bifatorial (genótipos x tratamentos) através de análise de variância e teste de Scott Knott para os tratamentos em 5% de probabilidade de erro, utilizando o aplicativo Sisvar (FERREIRA, 2008).

A concentração de malondialdeído (MDA), um dos produtos da peroxidação de lipídios de membrana, na parte aérea do genótipo sensível ao Al foi reduzida com a aplicação da maior concentração de Si na ausência de Al (Fig. 1A), sugerindo que plantas crescendo na presença de Si operam caminhos metabólicos que removem mais radicais de oxigênio nesse órgão. SHI et al. (2005) observaram que o Si promoveu uma redução na peroxidação de lipídios de membrana via estimulação de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Entretanto, no genótipo tolerante ao Al não foi observado diferença significativa em relação ao controle entre as concentrações de Si na ausência de Al. Com o aumento da concentração de Si na presença de Al houve uma redução significativa na concentração de MDA na parte aérea de ambos os genótipos, onde o Si amenizou de forma significativa os danos causados pelo Al nos lipídios de membrana. Possivelmente esta redução induzida pelo Si no acúmulo de MDA na parte aérea tenha ocasionado maior crescimento desse órgão (Fig. 1A). Esses dados também sugerem que a aplicação de Si pode efetivamente aumentar a capacidade de defesa das plantas de batata contra o estresse oxidativo induzido pela toxicidade do Al. Nas raízes (Fig. 1B), ao contrário do que foi observado na parte aérea, em ambos os genótipos foi observado um aumento na concentração de MDA quando as plantas foram expostas a maior concentração de Si na ausência de Al. Tanto no genótipo sensível quanto no genótipo

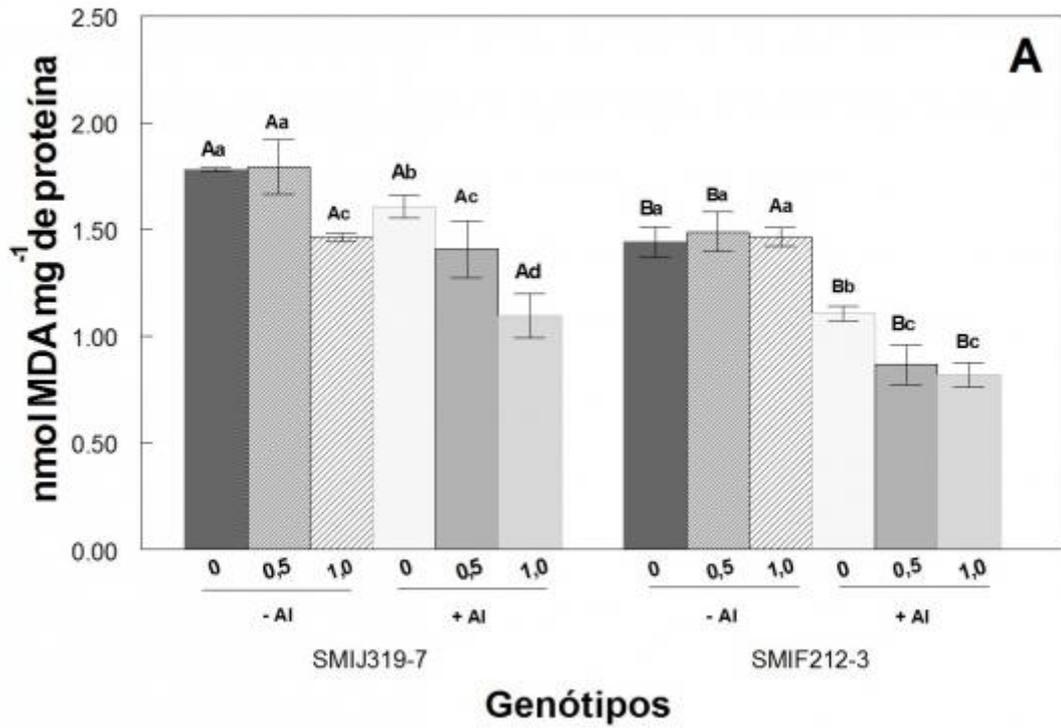
Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XX Jornada de Pesquisa

tolerante ao Al a exposição ao Al promoveu um aumento da concentração de MDA nas raízes em comparação ao controle, sendo que o genótipo sensível apresentou a maior percentagem de aumento (130% no genótipo sensível), possivelmente devido a sua característica de promover indiretamente o aumento no conteúdo de EROs (MUJIKI et al., 2011). O Al pode modificar o arranjo de lipídios de membrana, facilitando a peroxidação lipídica ocasionada pelo Fe(II) (GUTTERIDGE et al., 1985), o que poderá levar à modificações da permeabilidade de membranas. CHAFFAI et al. (2005) mostraram que o Al promove uma alteração no nível de insaturação dos ácidos graxos, ocasionando uma redução na fluidez de lipídios de membrana. Na presença de Al, GIANNAKOULA et al. (2010) e TABALDI et al. (2009) relataram maior acúmulo de MDA à medida que concentrações de Al eram aumentadas em plantas de milho e de batata sensíveis ao Al, respectivamente.

Na presença de Al, a aplicação de Si promoveu uma redução na concentração de MDA em raízes tanto no genótipo sensível (1,0 mM Si) quanto no genótipo tolerante ao Al (0,5 mM Si). Os efeitos amenizantes do Si tem sido associados com um aumento nos mecanismos de defesa antioxidantes em plantas. Em geral, o genótipo tolerante ao Al (SMIF212-3) apresentou menor peroxidação de lipídios de membrana, tanto em raízes quanto em parte aérea, comparado com o genótipo sensível ao Al (SMIJ319-7), indicando que o genótipo sensível ao Al sofre maior dano oxidativo na presença de Al.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa

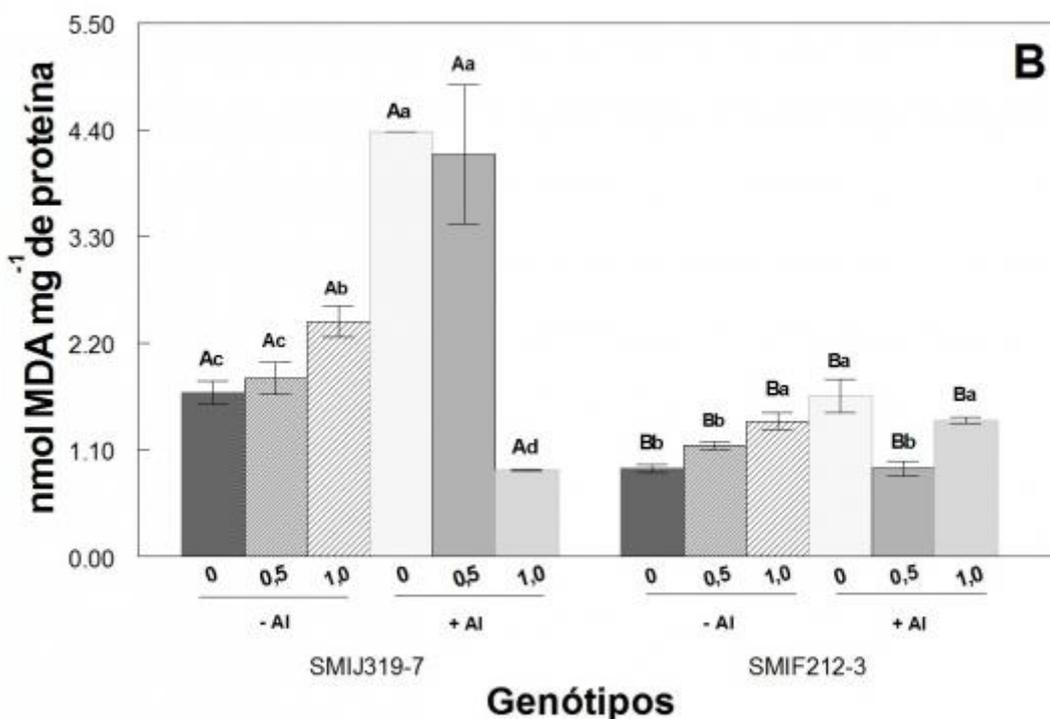


Figura 1 – Efeito de concentrações de silício (0; 0,5 e 1,0mM) sobre o conteúdo de malondialdeído (MDA) na parte aérea (A) e raiz (B) em dois genótipos de batata, SMIJ319-7 (sensível ao Al) e SMIF212-3 (tolerante ao Al) cultivados na presença (+Al, 50 mg L⁻¹) e ausência (-Al, 0 mg L⁻¹) de Al. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre genótipos dentro do mesmo tratamento. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos dentro do genótipo.

Houve uma redução significativa nos níveis de MDA nos tratamentos com Si + Al em ambos os genótipos tanto em raízes como parte aérea. Assim fica evidente o potencial do Si em amenizar o estresse causado pelo Al nesses genótipos de batata.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*; Dano oxidativo; Metais tóxicos.

Referencia:

CHAFFAI, R.; MARZOUK, B.; FERJANI, E.E. Aluminum mediates compositional alterations of polar lipid classes in maize seedlings. *Phytochemistry*, v.66, p.1903–1912, 2005.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa

EL-MOSHATY, F.I.B. et al. Lipid peroxidation and superoxide production in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco ringspot virus or southern bean mosaic virus. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.39, n.43, p.109-119, 1993.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises estatísticas e ensino de estatística. *Revista Symposium*, v.6, n.8, p.36-41, 2008.

GIANNAKOULA, A. et al. Aluminum stress induces up-regulation of an efficient antioxidant system in the Al-tolerant maize line but not in the Al-sensitive line. *Environmental and Experimental Botany*, v.39, n.67, p.487-494, 2010.

GUTTERIDGE, J.M.C. et al. Aluminum salts accelerate peroxidation of membrane lipids stimulated by iron salts. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.835, p.441-447, 1985.

MUJIKA, J.I. et al. Pro-oxidant activity of aluminum: stabilization of the aluminum superoxide radical ion. *The Journal of Physical Chemistry A*, v.115, n.67, p.6717-6723, 2011.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, v.6, n.15, p.473-497, 1962.

ROSSATO, L. V. Respostas fisiológicas e Bioquímicas ao estresse de alumínio e fósforo em genótipos de batata (*Solanum tuberosum*). Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, p.151, 2014.

SHI, Q.H. et al. Silicon mediated alleviation of Mn toxicity in *Cucumis sativus* in relation to activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase. *Phytochemistry*, v.41, n.66, p.1551-1559, 2005.

TABALDI, L.A. et al. Oxidative stress is an early symptom triggered by aluminum in Al-sensitive potato plantlets. *Chemosphere*, v.76, n.85, p.1402-1409, 2009.