



## **CRESCIMENTO E ATIVIDADE DE PEROXIDASES EM RAÍZES DE PLÂNTULAS DE SOJA SUBMETIDAS AO ÁCIDO *m*-HIDROXIFENILACÉTICO**

*Jennifer Munik Bevilaqua*<sup>1</sup>; *Rita de Cássia Siqueira Soares*<sup>2</sup>; *Aparecida Maria Dantas Ramos*<sup>3</sup>; *Anderson Ricardo Soares*<sup>4</sup>; *Oswaldo Ferrarese-Filho*<sup>4</sup>

**RESUMO:** Plantas superiores regularmente liberam compostos orgânicos no ambiente. Estes se acumulam no solo e influenciam o crescimento e o desenvolvimento das plantas vizinhas, com efeitos positivos e/ou negativos, em um fenômeno chamado alelopatia. No solo, estes compostos aleloquímicos podem ser rapidamente absorvidos por outras plantas, e eventualmente, causarem danos ao crescimento. Relatos de pesquisas anteriores relacionam o ácido *m*-hidroxifenilacético (*m*-HPA) ao fraco crescimento e baixa produção de soja em monoculturas contínuas, destacando seu efeito autotóxico. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar o possível efeito alelopático de *m*-HPA em raízes de soja. Após três dias de germinação, 25 plântulas de soja foram submetidas à incubação em câmara de crescimento com aeração (25°C, fotoperíodo de 12h) em solução nutritiva pH 6.0, contendo ou não *m*-HPA em diferentes concentrações. Após 24 horas de exposição das raízes, o crescimento e a atividades das peroxidases (PODs) foram determinados. Os resultados revelaram diminuição no crescimento das raízes, assim como aumentos nas atividades das PODs solúvel e ligada o que sugere uma possível influência sobre a lignificação, devido estresse causado pelo aleloquímico. Embora os mecanismos completos ainda não tenham sido resolvidos, as alterações enzimáticas, a produção e a incorporação de lignina e o aumento na rigidez da parede celular contribuem para a redução no crescimento da raiz.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ácido *m*-hidroxifenilacético; alelopatia; *Glycine max*; peroxidase.

### **1 INTRODUÇÃO**

O termo alelopatia foi cunhado por Molisch (1937) e significa do grego *allelon* = de um para outro, *pathós* = sofrer. O conceito descreve a influência de um organismo sobre o outro, seja prejudicando ou favorecendo o segundo, e sugere que o efeito é causado por biomoléculas (aleloquímicos) produzidas por uma planta e lançadas no ambiente, seja na fase aquosa do solo ou substrato, seja por substâncias gasosas volatilizadas no ar que cerca as plantas terrestres (Rizvi et al, 1992). Rice (1984) definiu alelopatia como “qualquer efeito direto ou indireto danoso ou benéfico que uma planta (incluindo

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. Bolsista de iniciação científica do CNPq (IC Balcão). [jennifer\\_bevilaqua@hotmail.com](mailto:jennifer_bevilaqua@hotmail.com)

<sup>2</sup> Doutoranda do programa de pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. [ritacsiqueira@hotmail.com](mailto:ritacsiqueira@hotmail.com)

<sup>3</sup> Bióloga da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. [ramosamp@yahoo.com.br](mailto:ramosamp@yahoo.com.br)

<sup>4</sup> Professor Doutor da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. Departamento de Bioquímica. [arsoares2@uem.br](mailto:arsoares2@uem.br); [oferrarese@uem.br](mailto:oferrarese@uem.br)

microrganismos) exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente”.

A atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas, inseticidas e nematicidas (defensivos agrícolas). A maioria destas substâncias provém do metabolismo secundário, porque na evolução das plantas representaram alguma vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas (Waller, 1999).

Relatos de pesquisas anteriores relacionam *m*-HPA ao fraco crescimento e baixa produção de soja em monoculturas contínuas, revelando que este composto inibiu significativamente o crescimento radicular e agiu na estrutura celular modificando a expressão gênica de raízes de soja estudadas (WEI-BIN et al, 2009).

As peroxidases (PODs) são enzimas associadas a vários processos fisiológicos como biossíntese de lignina e estresse biótico e abiótico. A POD solúvel, localizada no apoplasto e citosol, está relacionada com a catálise de reações oxidativas, enquanto que a ligada à parede celular é responsável pela polimerização oxidativa de monolignóis para síntese de lignina. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos de *m*-HPA no comprimento e biomassas (fresca e seca) das raízes de plântulas de soja, assim como, nas atividades das peroxidases – solúvel e ligada.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

**Procedimentos gerais.** Sementes de soja foram acondicionadas em papel Germitest e postas a germinar (câmara escura, 25°C e 72 h). A seguir, 25 plântulas foram submetidas à incubação de 24 horas, em câmara de germinação com aeração (25°C, fotoperíodo de 12h) em solução nutritiva pH 6,0, contendo ou não *m*-HPA (0,1; 0,25; 0,5 e 1mM). As raízes foram medidas antes e após incubação, determinando as diferenças entre os comprimentos iniciais e finais. Os resultados foram expressos em centímetros (Herrig et al, 2002). Após exposição em solução nutritiva, as raízes primárias foram separado por excisão e imediatamente determinado o peso fresco. Posteriormente as raízes foram acondicionadas em estufa, a 80°C por 24 horas, para determinação do peso seco.

**Atividade das peroxidases (PODs).** Raízes frescas de plântulas desenvolvidas nas condições já descritas foram maceradas com tampão fosfato 67 mM (0,5 g de tecido em 5,0 ml de tampão) pH 7,0 (Herrig et al, 2002). A suspensão foi centrifugada (1700xg, 5 minutos, 4°C) e o sobrenadante utilizado como extrato de POD solúvel. O precipitado foi lavado com 5,0 ml de água deionizada até que o sobrenadante estivesse isento de POD solúvel. Ao precipitado foram adicionados 2,0 ml de NaCl 1M e deixado em repouso por uma hora, em geladeira. O sobrenadante, obtido após centrifugação, representa a POD ligada. A determinação da atividade das PODs baseou-se nos estudos desenvolvidos por Cakmak e Horst (1991) e foi adaptado, para raízes de soja, por Herrig et al (2002). A atividade das enzimas foi analisada em espectrofotômetro, a 470 nm. O substrato utilizado foi o guaiacol, e os resultados foram expressos em µmoles de tetraguaiacol formados por minuto por grama de matéria fresca.

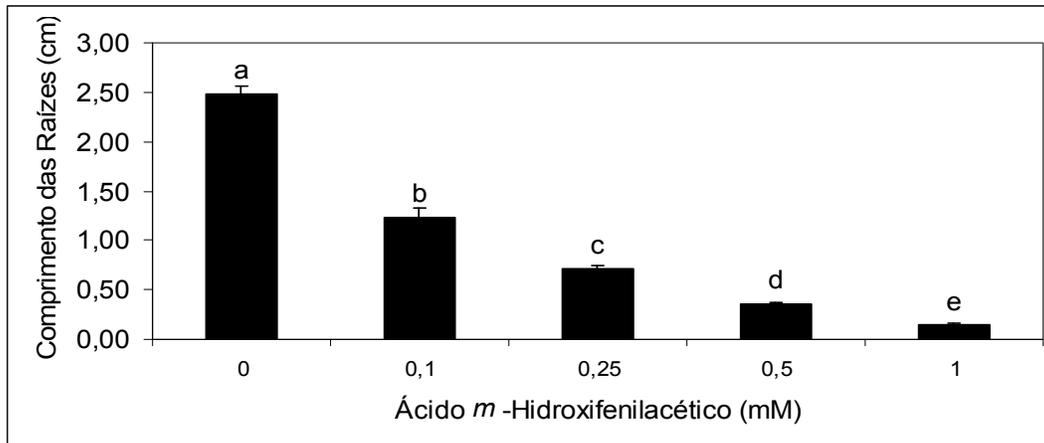
**Análise estatística.** Foram realizadas de quatro a cinco repetições e as diferenças significativas foram comprovadas pelo teste de variância com o programa Sisvar (Versão 5.3, UFLA, Brasil). Diferenças foram avaliadas de acordo com Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

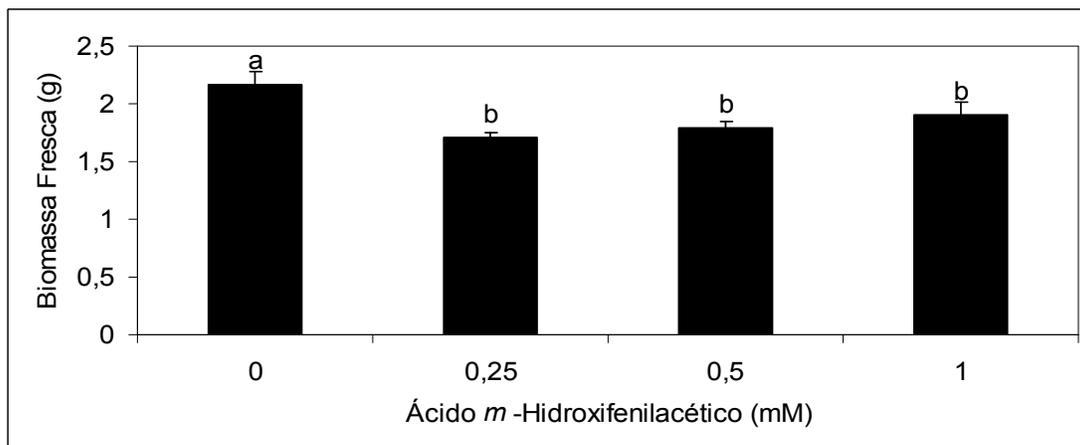
Na **figura 1**, é possível observar que houve um decréscimo no comprimento das raízes de soja proporcional ao aumento da concentração de *m*-HPA. Essa inibição chegou

a 94% na maior concentração do aleloquímico, quando comparado ao controle. As biomassas (frescas e secas) também sofreram redução em relação ao controle (**Figuras 2 e 3**). As PODs solúvel e ligada foram ativadas em até 44 e 39%, respectivamente (**Figura 4**).

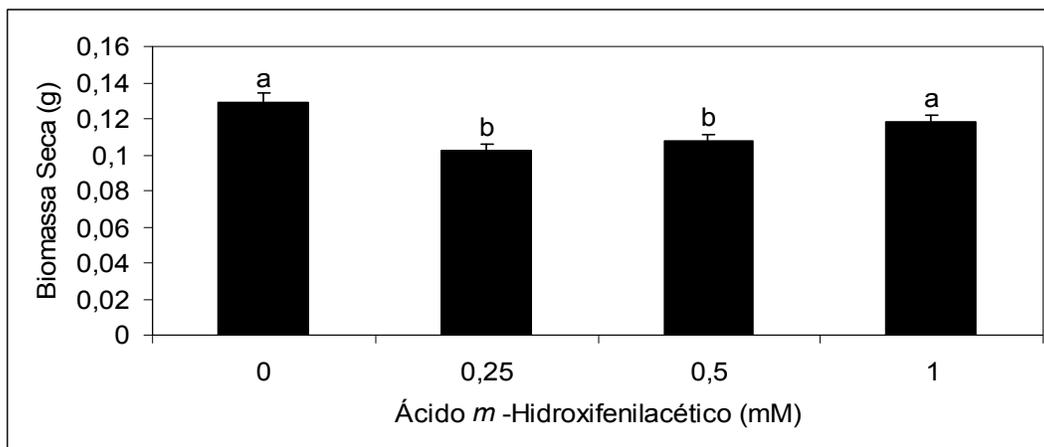
Os resultados indicam uma relação entre a inibição do crescimento e o aumento nas atividades das PODs. Entre as inúmeras funções atribuídas às peroxidases, destacam-se o fato de que as solúveis estão envolvidas em reações oxidativas ao passo que as ligadas, na lignificação da parede celular. Diante disso, os resultados sugerem que o estresse causado pelo aleloquímico *m*-HPA pode estar relacionado ao processo de lignificação, o que pode restringir o crescimento das raízes e, por conseguinte, da planta. Medidas dos conteúdos de lignina em raízes submetidas ao *m*-HPA poderão fortalecer esta hipótese.



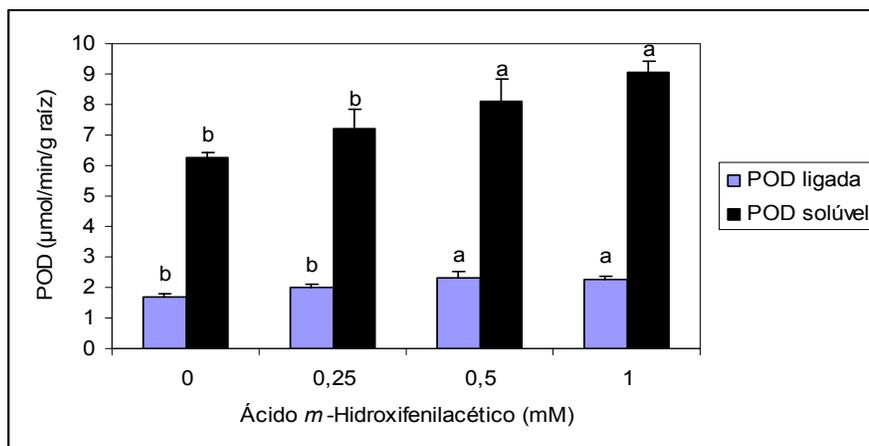
**Figura 1.** Efeitos do *m*-HPA no comprimento das raízes de soja. Valores médios  $\pm$  erro padrão da média ( $n = 4$ ), seguidos por diferentes letras são significativamente diferentes de acordo com o teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



**Figura 2.** Efeitos do *m*-HPA na Biomassa fresca das raízes de soja. Valores médios  $\pm$  erro padrão da média ( $n = 5$ ), seguidos por diferentes letras são significativamente diferentes de acordo com o teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



**Figura 3.** Efeitos do *m*-HPA na Biomassa seca das raízes de soja. Valores médios  $\pm$  erro padrão da média ( $n = 5$ ), seguidos por diferentes letras são significativamente diferentes de acordo com o teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



**Figura 4.** Efeitos do *m*-HPA nas atividades das peroxidases solúvel e ligada das raízes de soja. Valores médios  $\pm$  erro padrão da média ( $n = 5$ ), seguidos por diferentes letras são significativamente diferentes de acordo com o teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados denotam uma relação entre a redução do crescimento das plântulas, provocado pelo composto *m*-HPA e a ativação das peroxidases, enzimas envolvidas diretamente na lignificação dos tecidos. Um aumento na produção de lignina aumenta a rigidez da parede celular e possivelmente contribui para a redução no crescimento das raízes das plantas estudadas.

#### REFERÊNCIAS

- CAKMAK, Ismail; HORST, Walter J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide-dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologiae Plantarum**, v.83, p.463-468, 1991.
- HERRIG, Vanessa et al. Peroxidase and pHenylalanine ammonia-lyase activities, pHenolic acid contents, and allelochemicals-inhibited root growth of soybean. **Biological Research**, Santiago, v.35, n.1, p. 59-66, 2002.

MOLISCH, Hans. **Der Einfluss einer Pflanze auf die andere: Allelopathie**. Berlin: Jena Fischer, 1937.

RIZVI, S.J.H.; HAQUE, H.; SINGH, U.K.; RIZVI, V. **Allelopathy: Basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992. p.1-10.

RICE, Elroy Leon. **Allelopathy**. 2 ed. New York: Academic Press, 1984.

WALLER, G.R. Recent advances in allelopathy. Cádiz: Universidad del Cádiz, 1999.

WEI-BIN, Ruan et al. Effects of *m*-hydroxy-pHenylacetic acid on cell ultrastructural changes and gene expression in soybean roots. **Allelopathy Journal**. v. 24, n 2, p. 271-282, 2009.