

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA REDUÇÃO DA
SENSIBILIDADE AO ALUMÍNIO EM SEMENTES DE
CANOLA (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile):
GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL**

DEREK BRITO CHAIM JARDIM ROSA

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2014**

**PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA REDUÇÃO DA
SENSIBILIDADE AO ALUMÍNIO EM SEMENTES DE CANOLA
(*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile): GERMINAÇÃO E
CRESCIMENTO INICIAL**

DEREK BRITO CHAIM JARDIM ROSA
Engenheiro Agrônomo

Orientadora: PROFA. DRA. SILVANA DE PAULA QUINTÃO SCALON

Dissertação apresentada a Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre

Dourados
Mato Grosso do Sul
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil

R788p Rosa, Derek Brito Chaim Jardim.
Peróxido de hidrogênio na redução da sensibilidade
ao alumínio em sementes de canola (*Brassica
napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) : germinação e
crescimento inicial – Dourados, MS : UFGD, 2014.
58 f.

Orientadora: Profa. Dra. Silvana de Paula Quintão
Scalon.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) –
Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Canola. 2. Planta oleaginosa. I. Scalon, Silvana de
Paula Quintão. II. Título.

CDD: 634

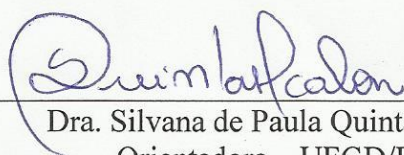
**PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE AO
ALUMÍNIO EM SEMENTES DE CANOLA (*Brassica
napus var. oleifera* (Moench) Delile): GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO
INICIAL**

por

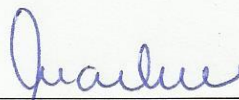
Derek Brito Chaim Jardim Rosa

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM AGRONOMIA

Aprovada em: 28/02/2014



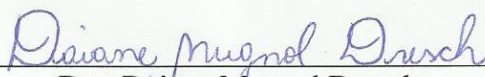
Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon
Orientadora – UFGD/FCA



Dra. Marlene Estevão Marchetti
UFGD/FCA



Dr. Etenaldo Felipe Santiago
Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul



Dra. Daiane Mugnol Dresch
UFGD/FCA (PNPD-CAPES)

²⁰Feliz o homem que se dedica à sabedoria, que reflete com inteligência, ²¹que medita no coração sobre os caminhos da sabedoria e com a mente penetra nos segredos dela.

Eclesiástico, Capítulo 14, Versículos 20 e 21.

Aos meus pais,
Edgard e Yara

Ao meu irmão e a minha sobrinha
Cedrick e Maria Antônia

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados, em especial à Faculdade de Ciências Agrárias pela oportunidade concedida;

Ao CNPq pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de estudos;

A professora Silvana de Paula Quintão Scalon pelo exemplo de profissionalismo e de mestre durante a orientação dos trabalhos.

Aos colegas Carla, Daiane, Daniele e Leandro e ao funcionário Júnior pelo auxílio nas atividades de campo e laboratoriais.

À banca examinadora pelas valiosas correções.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
CAPÍTULO I - PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E ALUMÍNIO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CANOLA (<i>Brassica napus</i> var. <i>oleifera</i> (Moench) Delile).....	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. MATERIAL E MÉTODOS	17
3. RESULTADOS	18
3. DISCUSSÃO	21
4. CONCLUSÃO	23
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO II - PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E ALUMÍNIO NA EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO INICIAL DE CANOLA (<i>Brassica napus</i> var. <i>oleifera</i> (Moench) Delile).....	26
1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAL E MÉTODOS	28
3. RESULTADOS	30
3. DISCUSSÃO	33
4. CONCLUSÃO	35
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
CAPÍTULO III - INFLUÊNCIA DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE AO ALUMÍNIO EM PLANTAS DE CANOLA (<i>Brassica napus</i> var. <i>oleifera</i> (Moench) Delile)	39
1. INTRODUÇÃO	40
2. MATERIAL E MÉTODOS	42
3. RESULTADOS	45
3. DISCUSSÃO	51
4. CONCLUSÃO	54
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE AO ALUMÍNIO EM SEMENTES DE CANOLA (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile): GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL

Derek Brito Chaim Jardim Rosa, Silvana de Paula Quintão Scalon

RESUMO

A canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) é uma Brassicaceae de apelo econômico devido a alta qualidade do seu óleo, que pode ser destinado tanto para a alimentação humana como para a produção de biodiesel. Entretanto, pouco se sabe sobre o comportamento dessa cultura quando exposta ao alumínio, que é tóxico em solos ácidos, como, por exemplo, os do Cerrado Brasileiro. Objetivou-se com este trabalho avaliar a redução na sensibilidade ao alumínio em sementes de canola previamente embebidas em peróxido de hidrogênio. Para tanto foram realizados três trabalhos e deles concluiu-se que: 1) As sementes de canola são sensíveis ao alumínio e a elevadas concentrações de peróxido de hidrogênio. Concentrações próximas de 0,11 M de peróxido de hidrogênio proporcionaram a maior porcentagem de plântulas normais. 2) A dose de 0,15 M de peróxido de hidrogênio associadas a diferentes doses de alumínio mantém a emergência de canola. Entretanto, o crescimento inicial das plantas foi prejudicado com o aumento das doses de alumínio, independentemente das concentrações de peróxido de hidrogênio empregadas. 3) O tratamento das sementes de canola com peróxido de hidrogênio, nas concentrações avaliadas, não foi eficiente em reduzir a sensibilidade das plantas ao alumínio.

Palavras chave: tolerância, oleaginosa, estresse

ABSTRACT

Canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) is a Brassicaceae with economic appeal due to the high quality of its oil, which can be designed both for human consumption and for biodiesel production. However, little is known about the behavior of this culture when exposed to aluminum, which is toxic in acidic soils such as, for example, the soils of Brazilian Savannah. The objective of this study was to evaluate the reduction in sensitivity to aluminum in canola seeds previously soaked in hydrogen peroxide. To this end, three studies were performed and it was concluded that: 1) The canola seeds are sensitive to aluminum and high concentrations of hydrogen peroxide. Concentrations near 0.11 M of hydrogen peroxide provided the greatest percentage of normal seedlings. 2) The dose 0.15 M of hydrogen peroxide associated with different dosages of aluminum keeps the canola's emergency. However, the initial growth of the plants was impaired with increasing doses of aluminum, regardless of the concentration of hydrogen peroxide used. 3) The treatment of canola seeds with hydrogen peroxide in concentrations evaluated, was not effective in reducing the sensitivity of plants to aluminum.

Keywords: tolerance, oilseed, stress

INTRODUÇÃO GERAL

A canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) é uma oleaginosa que surge no cenário produtivo do Centro-Sul brasileiro como alternativa viável de cultivo, quebrando a sucessão de gramíneas no período de inverno. A espécie, desenvolvida a partir do melhoramento genético da colza (*Brassica napus* L.), possui de 45 a 50% de óleo no grão e 34 a 38% de proteína no farelo (BAIER e ROMAN, 1992). Seu óleo foi escolhido como “produto saúde” pela Fundação Americana de Saúde por ser de excelente qualidade para o consumo humano, apresentando em sua composição mais de 60% de ácidos graxos monoinsaturados e apenas 6% de saturados, sendo estes últimos responsáveis pela elevação do colesterol no sangue. Em 1987, embalagens comercializadas deste óleo traziam escritas: “produto alimentício do ano” (MACHADO e DALPIVA, 1991).

No Cerrado Brasileiro, mais especificamente no centro-sul do Mato Grosso do Sul, levando-se em consideração a ociosidade de terras no período de outono/inverno, a canola apresenta elevado potencial. Além disso, a cultura entra como opção modificadora do cenário agrícola, quebrando a sucessão soja/milho safrinha, facilitando o controle de pragas, doenças e plantas daninhas desse sistema de produção (BROCH et al., 2009).

A acidez do solo é um dos fatores que mais limitam a produtividade das culturas em várias partes do mundo, inclusive no Brasil. Nos solos ácidos existem problemas de deficiência e/ou toxidez nutricional, e baixa atividade dos microrganismos. Os solos do Cerrado que em sua maioria apresentam essas características, proporcionam baixa produtividade em seu estado natural (FAGERIA e STONE, 1999; SILVEIRA et al., 2000). As limitações desses solos, todavia, vão além da camada arável, atingindo as camadas subsuperficiais, onde a toxidez por alumínio e a baixa disponibilidade de cálcio são os principais fatores que impedem a maximização das produções por limitar o desenvolvimento radicular e, conseqüentemente, a utilização de água e de nutrientes em profundidade (SILVA et al., 1998).

O alumínio é o terceiro elemento em abundância na litosfera, depois do oxigênio e do silício. Sua concentração é bastante expressiva nos minerais primários da fração argila, fazendo parte da rede cristalina. Para os solos do Cerrado é o segundo elemento em quantidade, superando o silício, sendo que à medida que o pH do solo diminui, sua

disponibilidade aumenta na solução, potencializando os efeitos nocivos desse elemento às culturas (MALAVOLTA, 2006). O principal efeito do alumínio às culturas está na inibição do crescimento da raiz, causado por vários mecanismos, incluindo lesões apoplásticas, interações na parede celular, membrana plasmática ou no simplasma da raiz (DIPIERRO, 2005). Como o maior efeito do alumínio está na redução do sistema radicular, sua influência sobre a absorção de nutrientes nas condições naturais poderá manifestar-se principalmente para aqueles íons cujo suprimento à raiz é na maior parte representado pelo processo de difusão, como é o caso do P e do K (CANAL e MIELNICZUK, 1983; KOCHIAN, 1995).

Condições abióticas estressoras, como é o caso do estresse por alumínio, podem estar relacionadas à produção das espécies reativas do oxigênio (ROS), representadas por oxigênio molecular (O_2), ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidroxila (OH^-). As ROS são altamente reativas e podem alterar o metabolismo celular causando danos aos carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos e a peroxidação de lipídeos e de membranas, levando a perda de íons, hidrólise de proteínas e até mesmo danos ao DNA (ZHANG et al., 2007; AZEVEDO NETO et al., 2008). Geralmente, como consequência desse estresse oxidativo, os tecidos danificados apresentam aumento na atividade dos seus sistemas antioxidantes, como por exemplo, a elevação na expressão das enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase (LIMA et al., 2002; SCHÜTZENDÜBEL e POLLE, 2002).

O peróxido de hidrogênio é uma das maiores e mais estáveis ROS, e, dependendo das concentrações empregadas, é responsável por regular e induzir processos de aclimação, defesa, desenvolvimento, reduzindo a sensibilidade das plantas aos fatores bióticos e abióticos aos quais são expostas (NEILL et al., 2002; ŚLESIAK et al., 2007). Alguns pesquisadores já trabalham com a aplicação exógena desta substância, objetivando mitigar efeitos oriundos de outros estresses, por meio do fenômeno da tolerância cruzada (BOWLER e FLUHR, 2000). A tolerância cruzada é um fenômeno baseado na existência de um sistema de defesa comum no combate ao estresse e pressupõe que um determinado fator de estresse pode induzir tolerância nas plantas a outro estresse que seja diferente do primeiro (RIZHSKY et al., 2002).

Por se tratar de uma cultura que é suscetível ao alumínio tóxico e seu cultivo ideal se localizar na faixa de pH que varia de 5,5 a 6,0 (MILLÉO e DONI FILHO, 2001), são importantes os estudos ligados às desordens fisiológicas ocasionadas por este

elemento na canola. Associado a isto, tem-se o fato de que testes envolvendo embebição de sementes desta espécie em peróxido de hidrogênio para reduzir a sensibilidade à toxidez por alumínio são desconhecidos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação e o crescimento inicial de sementes de canola previamente tratadas com peróxido de hidrogênio e submetidas ao estresse por alumínio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO NETO, A. D.; GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J. T. Salinity and oxidative stress. In: **Khan NA, Sarvajeet S (eds), Abiotic Stress and Plant Responses**, p.58-82. IK International, New Delhi. 2008.

BAIER, A. C.; ROMAN, E. S. Informações sobre a cultura da canola para o sul do Brasil. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DE PESQUISA DE CANOLA, 1., 1992, Cascavel. **Resultados...** Passo Fundo: EMBRAPA/CNPT, 1992. 10p.

BROCH, D. L.; PITOL, C.; RANNO, S. K.; BAES, I. M.; SILVA, O. M. **Culturas oleaginosas de outono/inverno e interação lavoura pecuária como alternativas para a região sul de Mato Grosso do Sul.** Tecnologia de produção soja e milho 2008/2009. Fundação MS, p.183-200, 2009.

CANAL, I. N.; MIELNICZUK, J. Parâmetros de absorção de potássio em milho (*Zea mays* L.), afetados pela interação alumínio – cálcio. **Ciência e cultura**, v.35, n.3, p.336-340, 1983.

DIPIERRO, N.; MONDELLI, D.; PACIOLLA, C.; BRUNETTI, G.; DIPIERRO, S. Changes in the ascorbate system in the response of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) roots to aluminum stress. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.529-536, 2005.

FAGERIA, N. K.; STONE, L. E. **Manejo da acidez dos solos de cerrado e de várzea do Brasil, Santo Antônio de Goiás:** EMBRAPA-CNPAP; 1999. 42p.

KOCHIAN, L. V. Cellular mechanism of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v.46, p.237-260, 1995.

LIMA, A. L. S.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A.; TÓTOLA, M. R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.47, p.239-247, 2002.

MACHADO, N. F.; DALPIVA, R. C. Canola (*Brassica napus* L.). **Revista Batavo**, v.1, p.9-13, 1991.

- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo. Ceres. 2006. 638 p.
- MILLÉO, R.; DONI FILHO, L. Marcha de absorção de enxofre por plantas de canola. **Scientia Agraria**, v.2, p.1519-1125, 2001.
- NEILL, S.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. Hydrogen peroxide signaling. *Curr. Opin. Plant Biology*, v.5, p.388-395. 2002.
- RIZHISKY, L.; HONGJIAM, L.; MITTLER, R. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. **Plant Physiology**, v.130, p.1143-1151, 2002.
- SCHÜTZENDÜBEL, A.; POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.1351-1365, 2002.
- SILVA, A. A.; VALE, F. R.; FERNANDES, L. A.; FURTINI NETO, A. E.; MUNIZ, J. A. Efeito de relações $\text{CaSO}_4/\text{CaCO}_3$ na mobilidade de nutrientes no solo e no crescimento do algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p.452-457, 1998.
- SILVEIRA, P. M.; ZIMMERMANN, E. J. P.; SILVA, S. C.; CASTRO, L. H. R. Amostragem e variabilidade espacial de características químicas de um Latossolo submetido a diferentes sistemas de preparo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.10, p.2057-2064, 2000.
- ŚLESIAK, I.; LIBIK, M.; KARPINSKA, B.; KARPINSKI, S.; MISZALSKI, Z. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. **Acta Biochemistry**, v.54, p.39-50, 2007.
- ZHANG, Y. M.; ZHANG, Z. P.; GUO, T. R. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. **Colloides and Surfaces**, v.57, p.182-188, 2007.

CAPÍTULO I

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E ALUMÍNIO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CANOLA (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile)

Derek Brito Chaim Jardim Rosa; Silvana de Paula Quintão Scalon

RESUMO

A canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) é uma oleaginosa de elevado potencial econômico, mas poucos trabalhos relatam o comportamento dessa cultura quando exposta ao alumínio, que é fator limitante ao pleno desenvolvimento da maioria das culturas. Sabe-se também que tratamentos em sementes com peróxido de hidrogênio podem acelerar e/ou estimular sua germinação, além de promover a indução da tolerância cruzada, portanto, objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação de sementes de canola embebidas em peróxido de hidrogênio e semeadas em substrato enriquecido com alumínio. Sementes de canola, cultivar Hyola 61, foram submetidas previamente à embebição em soluções de peróxido de hidrogênio P.A. (0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 M) e posteriormente levadas para germinação em diferentes concentrações de alumínio (0,0; 8,0; 16,0 e 24,0 mmol_c dm⁻³). Foram avaliadas a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação, a porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes não germinadas, o comprimento total de plântulas e a massa seca total de plântulas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 6 x 4, com quatro repetições. Pode-se concluir que as sementes de canola são sensíveis ao alumínio e a elevadas concentrações de peróxido de hidrogênio.

Palavras chave: estresse, semente, oleaginosa

ABSTRACT

Canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) is an oilseed crop of high economic potential, but few studies have reported the behavior of this culture when exposed to aluminum, which is a limiting factor of most crops' full development. It is

also known that seed treatments with hydrogen peroxide can accelerate and/or stimulate germination, and promote the induction of cross-tolerance, then, the aim of this study was to evaluate the germination of canola seeds soaked in hydrogen peroxide and seeded on an enriched aluminum substrate. Canola seeds, cultivate Hyola 61, were previously imbibed in solutions of hydrogen peroxide PA (0.0; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4 and 0.5 M) and subsequently taken to germination at different concentrations of aluminum (0.0; 8.0; 16.0 and 24.0 mmol_c dm⁻³). There were evaluated the percentage of germination, the index of germination speed, the percentage of normal, abnormal seedlings and ungerminated seeds, the total seedling length and total seedling dry matter. The experimental design was completely randomized and the treatments were arranged in a 6 x 4 factorial design with four replications. It can be concluded that the seeds of canola are sensitive to aluminum and high concentrations of hydrogen peroxide.

Keywords: stress, seed, oilseed

INTRODUÇÃO

A canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) é uma oleaginosa da família Brassicaceae desenvolvida a partir do melhoramento genético da colza (FIGUEIREDO et al., 2003). A espécie possui importância econômica por apresentar de 45 a 50% de óleo nos seus grãos e 34 a 38% de proteína no farelo (AMIN e KHALIL, 2005). O óleo de canola é um produto nobre destinado à alimentação humana, apresentando elevado teor de ômega-3, vitamina E, gorduras monoinsaturadas, baixo teor de gorduras saturadas e melhor composição de ácidos graxos quando comparado a outros óleos vegetais. Além disso, a qualidade físico-química de seu óleo faz dessa espécie um chamariz para programas de bioenergia e biocombustíveis (CHAVARRIA et al., 2011).

A toxidez por alumínio é considerada fator limitante à produção das culturas, principalmente nos solos ácidos, como os do Cerrado brasileiro. O cátion trivalente de alumínio (Al³⁺) na solução do solo em pH igual ou inferior a 5,0; e, no interior das células vegetais, este íon metálico se liga ao fosfato na molécula de DNA, reduzindo sua atividade de replicação e transcrição, inibindo a divisão celular das raízes, o que resulta em um sistema radicular com baixa capacidade de exploração das camadas

subsuperficiais do solo e, conseqüentemente, na redução da absorção de água e nutrientes (ALVES et al., 2004; DONCHEVA et al., 2005; PEREIRA, 2008).

A presença de alumínio trocável nos solos, além de interferir no desenvolvimento das plantas, também afeta a germinação das espécies. O processo de germinação é diretamente influenciado pelas condições ambientais e, portanto, está relacionado com as propriedades do substrato no qual as sementes são expostas (CUSTÓDIO et al., 2002; YAMASHITA e GUIMARÃES, 2011). A toxicidade do alumínio pode modificar o metabolismo das sementes e aumentar a permeabilidade das membranas celulares, culminando no efluxo dos solutos do interior, o que leva à peroxidação lipídica sobre a bicamada. Em decorrência disso, o potencial elétrico da parede celular é alterado e o alumínio acaba degenerando os canais das proteínas de membrana (MACEDO et al., 2008).

O peróxido de hidrogênio é, nas plantas, responsável por regular e induzir processos como aclimatação, defesa e desenvolvimento (NEILL et al., 2002; ŠLESÁK et al., 2007). Trata-se de um radical não livre que possui carga líquida nula (HALLIWELL, 2006) e, devido sua estabilidade e alta capacidade de difusão através das membranas, atua como um mensageiro secundário, causando modificações proteicas e alterações na expressão gênica em vegetais submetidos a condições de estresse. Esta substância também está associada a mecanismos que levam ao alongamento celular, o que permite a expansão dos tecidos através da ativação dos fluxos de Ca^{2+} , podendo estimular o processo de germinação das sementes (VRANOVÁ et al., 2002; LISZKAY et al., 2004; BIENERT et al., 2006; GONDIM et al., 2010).

Alguns pesquisadores já trabalham com a aplicação exógena desta substância, objetivando mitigar efeitos oriundos de outros estresses, por meio do fenômeno da tolerância cruzada (BOWLER e FLUHR, 2000), ou, por exemplo, desencadeando processos metabólicos como a ativação de MAP-Quinases que regulam as atividades celulares e podem garantir às plantas adaptação ao ambiente a que são expostas (KOVTUN et al., 2000; SAMUEL et al., 2000).

Poucos trabalhos relatam a exposição da canola ao alumínio, sendo, portanto, de grande valia estudos ligados às desordens fisiológicas ocasionadas por este elemento. Assim, é necessário investigar se a embebição prévia das sementes de canola com peróxido de hidrogênio pode reduzir a sensibilidade ao alumínio mitigando seus efeitos deletérios. O objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação de sementes de canola

embebidas em peróxido de hidrogênio e semeadas em substrato enriquecido com alumínio.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes da Faculdade de Ciências Agrárias – FCA, na Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Foram utilizadas sementes de *Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile, cultivar Hyola 61, provenientes da Argentina, colhidas na safra 2012/13, cujo grau de umidade era 6,3% e posteriormente armazenadas em câmara fria e seca (15°C e 55% UR).

As sementes foram previamente submetidas à embebição, durante 4 horas (dado baseado em pré-testes com curva de embebição da espécie), em soluções de peróxido de hidrogênio P.A. de 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 M e depois levadas para germinação, sendo submetidas a quatro concentrações (0,0; 8,0; 16,0 e 24,0 mmol_c dm⁻³) de solução de alumínio (AlCl₃.6H₂O). A semeadura foi realizada sobre uma camada de papel Germitest[®], umedecido com 2,5 vezes o seu peso com as soluções de alumínio, em caixas acrílico-transparentes, do tipo gerbox, mantidas em câmara B.O.D. à temperatura e luminosidade constantes (25 °C; 525 μmol m⁻² s⁻¹), sendo utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento.

Durante sete dias após a semeadura, foi avaliado o índice de velocidade de germinação (IVG), calculado de acordo com a fórmula proposta por MAGUIRE (1962), e ao final, o número de plântulas normais, anormais e de sementes não germinadas. Considerou-se como germinadas as sementes que emitiram radícula com 2 mm de comprimento (NAKAGAWA, 1999; BRASIL, 2009) e plântulas normais as que apresentaram todas as suas estruturas essenciais: radícula, hipocótilo e cotilédone (NAKAGAWA, 1999).

Para avaliação do crescimento das plântulas, quatro repetições, com 15 sementes cada, foram organizadas em rolos de papel Germitest[®] (BRASIL, 2009); previamente umedecidas com solução de alumínio. Em seguida, os rolos foram envoltos em sacos de polietileno e mantidos em câmara B.O.D. à temperatura constante de 25°C. Transcorridos sete dias, foram retiradas, aleatoriamente, 10 plântulas de cada repetição e estas foram avaliadas quanto ao comprimento total e à massa seca total de plântulas (NAKAGAWA, 1999). O comprimento total de plântulas foi mensurado com o auxílio

de régua graduada em milímetros e os resultados expressos em centímetros. A massa seca total foi obtida a partir das plântulas secas em estufa regulada a $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 72 horas, até obtenção de valores constantes, determinada em balança analítica e os resultados expressos em gramas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 6 x 4 (6 concentrações de peróxido de hidrogênio e 4 doses de alumínio) com quatro repetições. Para análise dos resultados foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010) e os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos a 5% pelo teste F, foram ajustados por regressão.

RESULTADOS

O resumo das análises de variância e as médias gerais das variáveis, assim como a significância dos fatores estudados são apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1. Resumo das análises de variância do índice de velocidade de germinação (IVG), da porcentagem de germinação (%G), da porcentagem de plântulas normais (%N), anormais (%A) e sementes não germinadas (%NG), da massa seca total das plântulas (MSP) e do comprimento total de plântulas (CP) de *Brassica napus* var. *oleifera*, cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

F.V.	G.L.	Quadrados médios						
		IVG	%G	%N	%A	%NG	MSP	CP
Al	3	20,30**	0,30*	5,91**	7,10**	0,82 ^{ns}	6,96 ^{ns}	165,34**
H ₂ O ₂	5	2025,49**	11,33**	49,70**	23,51**	64,76**	4,09 ^{ns}	39,32**
Al x H ₂ O ₂	15	18,28**	0,14 ^{ns}	1,51**	3,83**	0,69 ^{ns}	2,33 ^{ns}	5,83**
Resíduo	72	3,69	0,09	0,33	0,62	0,50	3,15	1,55
CV(%)		7,17	3,19	6,97	19,92	24,86	47,97	19,84
Média		26,81	88,83%	71,52%	17,22%	11,02%	0,04g	6,28cm

** significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F

* significativo, a 5 % de probabilidade, pelo teste F

^{ns} não significativo

A interação ($p < 0,01$) das doses de alumínio e das de peróxido de hidrogênio foi observada para o índice de velocidade de germinação (IVG), a porcentagem de plântulas normais (%N), a porcentagem de plântulas anormais (%A) e o comprimento total de plântulas (CP). Foi observado o efeito isolado para o alumínio ($p < 0,05$) e também para o peróxido de hidrogênio ($p < 0,01$) na porcentagem de germinação (%G),

entretanto, para a porcentagem de sementes não germinadas (%NG) teve-se apenas o efeito isolado do peróxido de hidrogênio ($p < 0,01$). Nenhum dos fatores estudados influenciou a massa seca de plântulas (PSP) ($p > 0,05$), cujo valor médio foi 0,04 g.

Quando analisado o efeito isolado das doses de alumínio sobre a porcentagem de germinação (Figura 1A), observa-se que o valor máximo calculado (89,79%) foi obtido com a dose calculada de $7,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$.

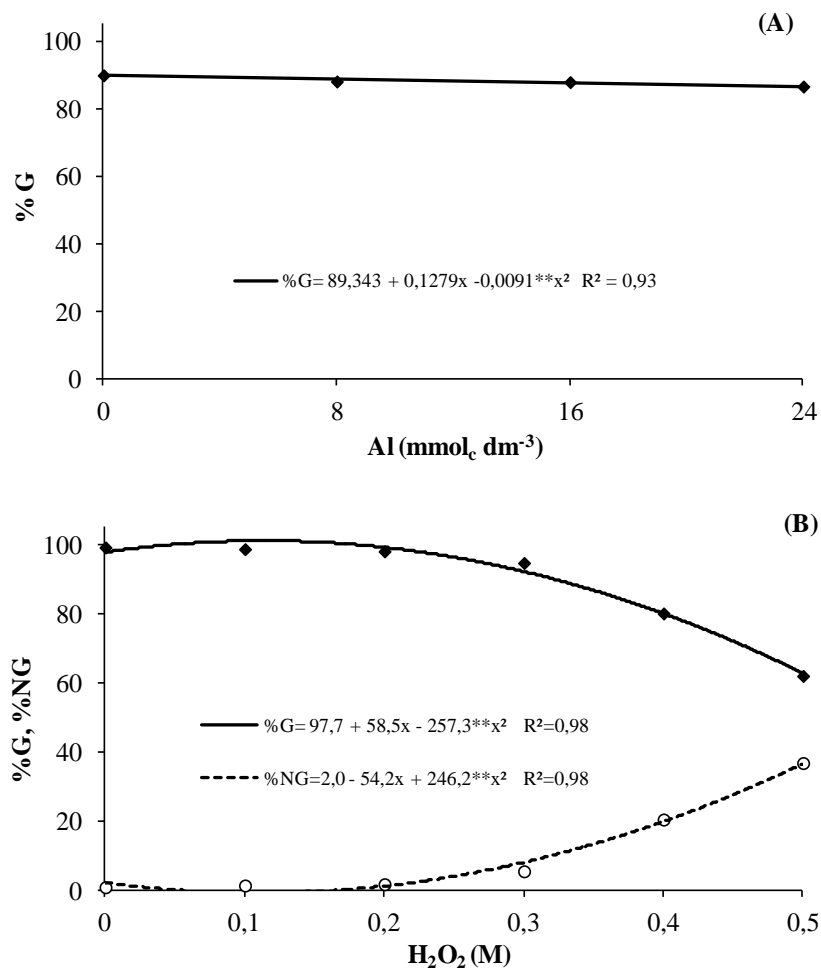


FIGURA 1. Efeito isolado (A) das doses de alumínio sobre a porcentagem de germinação (%G) e (B) das concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sobre a porcentagem de germinação (%G) e de sementes não germinadas (%NG) de plântulas de *Brassica napus* var. *oleifera*, cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

Para o efeito isolado das concentrações de peróxido de hidrogênio sobre as variáveis porcentagens de germinação e de sementes não germinadas (Figura 1B), obteve-se para a concentração calculada de 0,11 M de peróxido de hidrogênio a maior porcentagem calculada de germinação (101,02%) e a menor calculada de sementes não germinadas (-0,98%). É possível ainda, observar que, de modo geral, o aumento das

doses de peróxido de hidrogênio levou a diminuição gradativa da porcentagem de germinação e conseqüentemente a um aumento porcentual de sementes não germinadas de canola.

O índice de velocidade de germinação (IVG) apresentou o maior valor calculado (44,18) na ausência tanto de peróxido de hidrogênio quanto de alumínio e, na medida em que se aumentavam as doses de alumínio, decaíam os valores deste índice (Figura 2A). O maior valor calculado para o comprimento total de plântulas (CP) foi de 9,90 cm, quando aplicados 0,19 M e 2,82 mmol_c dm⁻³, respectivamente, de peróxido de hidrogênio e alumínio (Figura 2B).

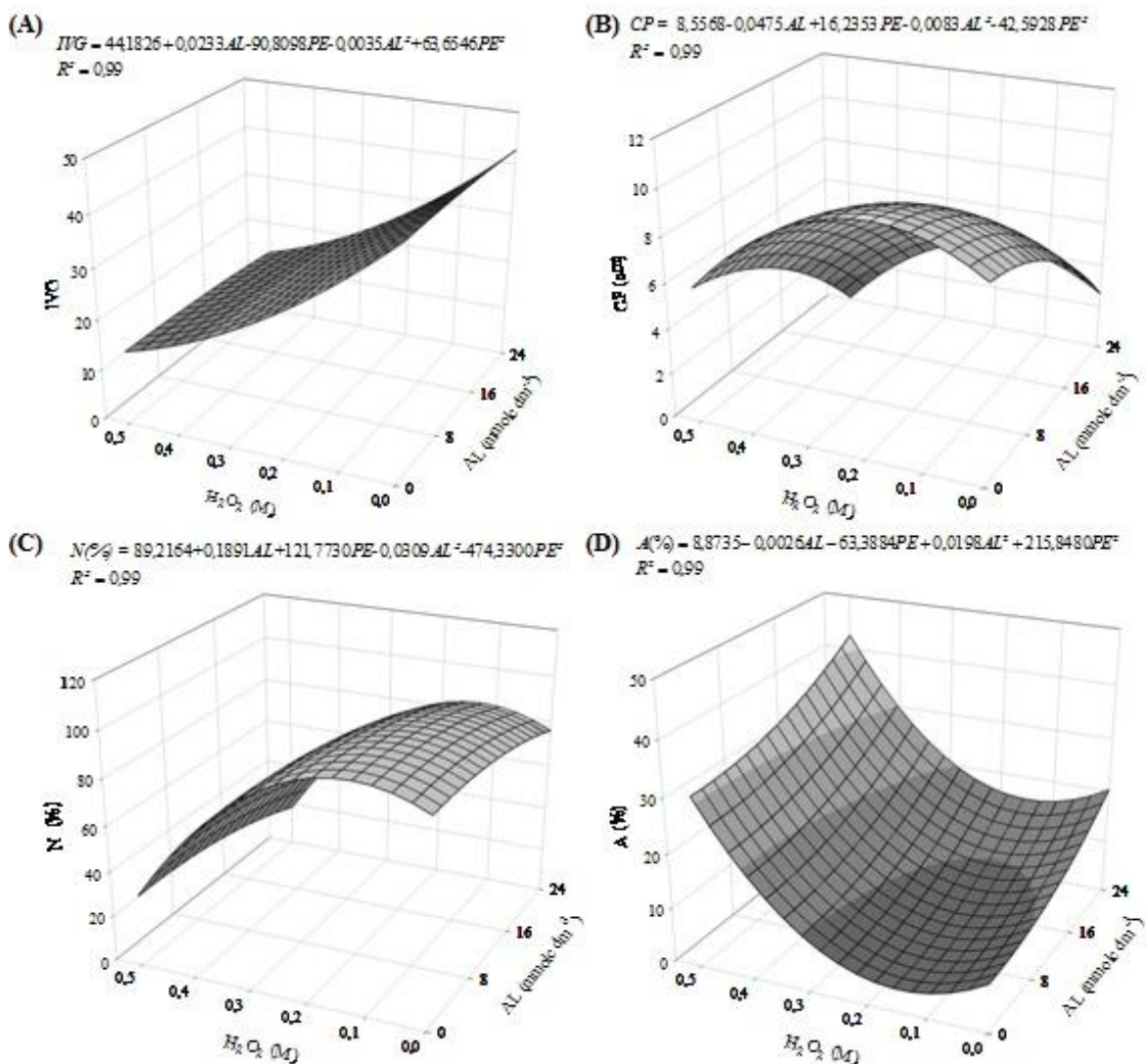


FIGURA 2. Efeito conjunto das concentrações de alumínio (Al) e de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) sobre: (A) o índice de velocidade de germinação (IVG), (B) comprimento total de plântulas (CP), (C) porcentagem de plântulas normais (%N) e (D) anormais (%A) de *Brassica napus* var. *oleifera*, cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

Já para a porcentagem de plântulas normais (%N), o maior valor calculado (97,28%) foi encontrado na combinação de 0,12 M de peróxido de hidrogênio com 3,05 mmol_c dm⁻³ de alumínio, e, para a porcentagem de plântulas anormais (%A), foi observado o menor valor calculado (4,22%) quando utilizadas a concentração de 0,14 M de peróxido de hidrogênio e a dose 0,06 mmol_c dm⁻³ de alumínio (Figuras 2C e 2D).

Em contrapartida, a concentração de 0,5 M de peróxido de hidrogênio combinada com a dose de 24 mmol_c dm⁻³ de alumínio apresentou os menores valores calculados de comprimento total de plântulas (0,10 cm) e de porcentagem de plântulas normais (18,26%) e, conseqüentemente, o maior percentual de plântulas anormais (42,48%) (Figuras 2B, 2C e 2D).

DISCUSSÃO

Os dados de germinação (Figura 1A) sugerem que a canola tolerou a presença do alumínio até a dose testada, entretanto, essa conclusão se baseia na metodologia utilizada para avaliar a germinação que foi a protrusão da radícula com até dois milímetros de comprimento. Possivelmente ocorreu o que vários pesquisadores já observaram ao tratar sementes com peróxido de hidrogênio: a aceleração e/ou estímulo da germinação das espécies (SARATH et al., 2007; GONDIM et al., 2010).

CHING (1959) trabalhando com *Pseudotsuga menziesii* constatou que a captação de oxigênio e água foram superiores quando as sementes foram tratadas com peróxido de hidrogênio, sugerindo um aumento na taxa de conversão das reservas lipídicas em carboidratos, e, conseqüentemente, na síntese de estruturas celulares, priorizando, no caso, a protrusão da radícula, semelhante aos resultados deste trabalho.

A concentração calculada de 0,11 M de peróxido de hidrogênio ao garantir a melhor porcentagem de germinação, proporcionou, possivelmente, a adequada expansão do eixo embrionário (PUNTARULO et al., 1988) e, portanto, o crescimento da radícula e a germinação das sementes (JON et al., 2001; SCHOPFER et al., 2001). Além disso, alguns autores relatam que menores concentrações de peróxido de hidrogênio podem auxiliar na degradação dos polissacarídeos das paredes celulares, via processo não enzimático o que pode levar, conseqüentemente, a expansão dos tecidos da radícula (FRY, 1998; LISZKAY et al., 2004).

O alumínio apresenta-se como elemento tóxico ao metabolismo dos vegetais, atuando especialmente na inibição da divisão celular das raízes, além de causar a redução da absorção de alguns nutrientes e limitações quanto aos mecanismos de transporte deles para a parte aérea (CLARKSON, 1966; AKAYA e TANENAKA, 2001), podendo explicar os baixos valores para comprimento de plântulas de canola, registrados neste trabalho, quando aumentadas as suas doses no meio, independentemente das concentrações de peróxido de hidrogênio empregadas.

Comportamento semelhante ocorreu com a porcentagem de plântulas anormais; quanto maiores as doses de alumínio utilizadas, maiores os valores para esta variável. O uso de doses superiores a 0,14 M de peróxido de hidrogênio, independentemente da dose de alumínio empregada, propiciou elevado percentual de anormalidade das plântulas de canola e conseqüentemente baixos percentuais de normalidade das plântulas, indicando provável estresse da cultura a essa substância quando em altas concentrações. Apesar do peróxido de hidrogênio em baixas concentrações poder se difundir facilmente através das membranas celulares e propiciar alguns efeitos benéficos, se ele estiver presente em grandes concentrações e, devido as células vegetais possuírem metais de transição, pode ocorrer a formação de radicais hidroxila (OH[•]), responsáveis por causar danos aos lipídios, proteínas e membranas (AZEVEDO NETO et al., 2008; BARREIROS et al, 2006) podendo explicar o aumento percentual de anormalidade das plântulas de canola.

Diferentemente do ocorrido com a canola, em especial quando tomada como referência a variável comprimento de plântulas, HU et al. (2009) ao trabalharem com plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.), observaram que a exposição ao cádmio era deletéria a seu crescimento, entretanto, este efeito era mitigado quando as sementes de arroz eram tratadas, durante 24 horas, com peróxido de hidrogênio a 0,01 M. Resultados similares foram observados por GONDIM et al. (2010) ao constatarem a diminuição dos efeitos do estresse salino em plântulas de milho (*Zea mays* L.) também tratadas com peróxido de hidrogênio a 0,01 M durante 36 horas.

Embora a concentração mínima de peróxido de hidrogênio utilizada neste trabalho tenha superado em 10 vezes às relatadas anteriormente, o tempo de exposição foi de 6 a 9 vezes menor que o empregado pelos autores acima citados, podendo explicar os resultados positivos ou então não prejudiciais para algumas das variáveis analisadas quando as sementes de canola foram submetidas à concentração de 0,11 M.

Os efeitos positivos do tratamento com peróxido de hidrogênio estão ligados a sua concentração e ao tempo de exposição e, portanto, é possível inferir que as menores concentrações empregadas neste trabalho foram eficientes ao desenvolvimento das plântulas de *Brassica napus* var. *oleifera*, cultivar Hyola 61.

CONCLUSÃO

As sementes de canola são sensíveis ao alumínio e a elevadas concentrações de peróxido de hidrogênio. Concentrações próximas de 0,11 M de peróxido de hidrogênio proporcionaram a maior porcentagem de plântulas normais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, V. M.; PITTA, G. V. E.; PARENTONI, S. N.; SCAHFFERT, R. E.; COELHO, A. M.; MAGALHÃES, J. V. Toxidez por alumínio e hidrogênio no crescimento de raízes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.3, p.311-318, 2004.

AMIN, R., KHALIL, S. K. Effect of pre and post-emergence herbicides and row spacing on Canola. **Sarhad Journal of Agriculture**, v.21, p.165-170, 2005.

AKAYA, M.; TAKENAKA, C. Effects of aluminum stress on photosynthesis of *Quercus glauca* Thunb. **Plant and Soil**, v.237, p.137-146, 2001.

AZEVEDO NETO, A. D.; GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J. T. Salinity and oxidative stress. **Abiotic Stress and Plant Responses**, p.58-82, 2008.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, p.113-123, 2006.

BIENERT, G. P.; SCHJOERRING, J. K.; JAHN, T. P. Membrane transport of hydrogen peroxide. **Biochemistry Biophysica Acta**, v.1758, p.994-1003, 2006.

BOWLER C.; FLUHR R. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. **Trends in Plant Science**, v.5, p.241-245, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análises de sementes**. Brasília: Mapa/ASC, 2009. 399p.

CHING, T. M. Activation of germination in Douglas fir seed by hydrogen peroxide. **Plant Physiology**, v.34, p.557-563, 1959.

- CHAVARRIA, G.; TOMM, G. O.; MULLER, A.; MENDONÇA, H. F.; MELLO, N.; BETTO, M. S. Índice de área foliar em canola cultivada sob variações de espaçamento e de densidade de semeadura. **Ciência Rural**, v.41, p.2084-2089, 2011.
- CLARKSON, D. T. Effect of aluminum on the uptake and metabolism of phosphorus by barley seedlings. **Plant Physiology**, v.41, p.165-172, 1966.
- CUSTÓDIO, C. C.; BONFIM, D. C.; SATURNINO, S. M.; MACHATO NETO, N. B. Estresse por alumínio e por acidez em cultivares de soja. **Scientia Agricola**, v.59, p.145-153, 2002.
- DONCHEVA, S.; AMENÓS, M.; POSCHENRIEDER C.; BARCELÓ, J. Root cell patterning: a primary target for aluminium toxicity in maize. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1213-1220, 2005.
- FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas** (Statistical Analysis Software) e planejamento de Experimentos – SISVAR 5.3. Lavras: UFLA, 2010.
- FIGUEIREDO, D. F.; MURAKAMI, A. E.; PEREIRA, M. A. S.; FURLAN, A. C.; TORAL, F. L. B. Desempenho e morfometria da mucosa de duodeno de frangos de corte alimentados com farelo de canola, durante o período inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1321-1329, 2003.
- FRY, S. C. Oxidative scission in plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. **Biochemical Journal**, v.332, p.507–515, 1998.
- GONDIM, F. A.; GOMES-FILHO, E.; LACERDA, C. F.; PRISCO, J. T.; AZEVEDO NETO, A. D.; MARQUES, E. C. Pretreatment with H₂O₂ in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.22, 2010.
- HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**. v.141, p.312-322, 2006.
- HU, Y.; GE, Y.; ZHANG, C.; JU, T.; CHENG, W. Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment. **Plant Growth Regulation**, v.59, p.51–61, 2009.
- JON, J. H.; BAE, Y. S.; LEE, J. S. Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism. **Plant Physiology**, v.126, p.1055–1060, 2001.
- KOVTUN, Y.; CHIU, W. L.; TENA, G.; SHEEN, J. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. **Proceedings of National Academy of Science of United States of America**, v.97, p.2940–2945, 2000.
- LISZKAY, A.; VAN DER ZALM, E.; SCHOPFER, P. Production of reactive oxygen intermediates O₂, H₂O₂, and OH by maize roots and their role in wall loosening and elongation growth. **Plant Physiology**, v.136, p.3114–3123, 2004.

MACEDO, C. M. P.; LOPES, J. C.; AMARAL, J. A. T.; FONSECA A. F. A. Germinação e vigor de sementes de café submetidas ao estresse com alumínio. **Scientia Agraria**, v.9, n.2, p.235-239, 2008.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados nos desempenhos das plântulas. *In*: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999.

NEILL S.; DESIKAN R.; HANCOCK J. Hydrogen peroxide signaling. *Curr. Opin. Plant Biology*, v.5, p.388-395, 2002.

PEREIRA, J. M.; CAMBRAIA, J.; FONSECA JUNIOR, E. M.; RIBEIRO, C. Efeito do alumínio sobre a absorção, o acúmulo e o fracionamento do fósforo em sorgo. **Bragantia**, v.67, p.961-967, 2008.

PUNTARULO, S.; SANCHEZ, R.; BOVERIS, A. Hydrogen peroxide metabolism in soybean axes at the onset of germination. **Plant Physiology**, v.86, p.626–630, 1988.

SAMUEL, M. A.; MILES, G. P.; ELLIS, B. E. Ozone treatment rapidly activates MAP kinase signalling in plants. **The Plant Journal**, v.22, p.367–376, 2000.

SARATH, G.; MITCHELL, R.; HOU, G.; BAIRD, L. M. Reactive oxygen species, ABA and nitric oxide interactions on the germination of warm-season C4-grasses. **Planta**, v.226, p.697-708, 2007.

SCHOPFER, P.; PLACHY, C.; FRAHRY, G. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid. **Plant Physiology**, v.125, p.1591–1602, 2001.

ŚLESIAK, I.; LIBIK, M.; KARPINSKA, B.; KARPINSKI, S.; MISZALSKI, Z. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. **Acta Biochemistry**, v.54, p.39-50, 2007.

VRANOVÁ, E.; INZÉ, D.; BREUSEGEM, F. V. Signal transduction during oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.1227-1236, 2002.

YAMASHITA, O. M.; GUIMARÃES, S. C. Germinação de sementes de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* em função da presença de alumínio no substrato. **Ciência Rural**, v.41, p.599-601, 2011.

CAPÍTULO II

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E ALUMÍNIO NA EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO INICIAL DE CANOLA (*Brassica napus var. oleifera* (Moench) Delile)

Derek Brito Chaim Jardim Rosa; Silvana de Paula Quintão Scalon

RESUMO

A canola (*Brassica napus var. oleifera* (Moench) Delile) é uma oleaginosa que apresenta elevado potencial de cultivo nos solos do Cerrado, porém, estes solos possuem uma limitação ao desenvolvimento da maioria das culturas que é a presença de grande quantidade de alumínio. Sabe-se que o peróxido de hidrogênio pode funcionar como agente mitigador dos danos oriundos de situações estressoras aos vegetais, portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do peróxido de hidrogênio e do alumínio na emergência e no crescimento inicial de plântulas de canola. Sementes de canola, cultivar Hyola 61, foram submetidas previamente à embebição em soluções de peróxido de hidrogênio P.A. (0,0; 0,075; e 0,15 M) e posteriormente submetidas à semeadura em Latossolo Vermelho distroférico com diferentes doses de alumínio (0,0; 10,0; 20,0 e 30,0 mmol_c dm⁻³). Foi avaliada a porcentagem de emergência, o índice de velocidade de emergência, a porcentagem de sobrevivência, índice de clorofila, altura de planta, comprimento da maior raiz e a massa seca de raízes e da parte aérea. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 3 x 4 com quatro repetições. Embora o peróxido de hidrogênio tenha mantido a emergência, o crescimento inicial das plantas foi prejudicado com o aumento das doses de alumínio.

Palavras chave: estresse, crescimento inicial, oleaginosa

ABSTRACT

Canola (*Brassica napus var. oleifera* (Moench) Delile) is an oilseed crop that has a high potential for cultivation on Cerrado soils, but these soils have a limitation to the

development of most cultures that is the presence of large amounts of aluminum. It is known that hydrogen peroxide can act as agent of mitigating damages caused by stressful situations to plants, so, this study aimed to evaluate the effect of hydrogen peroxide and aluminum on emergence and early growth of canola seedlings. Canola seed, cultivate Hyola 61, were previously imbibed in solutions of hydrogen peroxide PA (0.0; 0.075; and 0.15 M) and subsequently subjected to seeding in an Oxisol with different doses of aluminum (0.0; 10.0; 20.0; and 30.0 mmol_c dm⁻³). There were evaluated the percentage of emergence, the index of emergence speed, survival percentage, chlorophyll index, plant height, length of roots and dry weight of roots and shoots. The experimental design was completely randomized and the treatments were arranged in a 3 x 4 factorial design with four replications. Although hydrogen peroxide has maintained the emergency, the initial growth of the plants was impaired with increasing doses of aluminum.

Keywords: stress, early growth, oilseed

INTRODUÇÃO

A canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) é a terceira oleaginosa mais produzida no mundo pois seu óleo apresenta elevado valor econômico, sendo empregado na indústria alimentícia e como matéria prima para a produção de biodiesel (SCHUCHARDT et al., 1998). Apesar de ser uma cultura adaptada a climas temperados, a canola apresenta-se como potencial opção ao cultivo safrinha nos sistemas de produção de grãos da região Centro Oeste do Brasil (TOMM, 2005). Além disso, é apreciada naquelas regiões em que ocorrem, frequentemente, condições adversas ao desenvolvimento de outras culturas (ÁVILA et al., 2007).

No Cerrado Brasileiro, mais especificamente no centro-sul do Mato Grosso do Sul, ao se levar em consideração a grande ociosidade de terras no período de outono/inverno, a canola apresenta elevado potencial de exploração, e entra como opção modificadora da paisagem agrícola ao quebrar a sucessão soja/milho safrinha, além de facilitar o controle de pragas, doenças e plantas daninhas desse sistema de produção (BROCH et al., 2009).

A acidez do solo é um dos fatores que mais limitam a produtividade das culturas em cerca de 50% da crosta terrestre, inclusive no Brasil (KOCHIAN, et al., 2004). Nos

solos ácidos do Cerrado existem problemas de deficiência e/ou toxidez nutricional e baixa atividade microbiana (FAGERIA e STONE, 1999; SILVEIRA et al., 2000), merecendo destaque a ação do alumínio. Este elemento é o terceiro em abundância na litosfera e sua concentração é bastante expressiva na fração argila, que limita o desenvolvimento das plantas e, à medida que o pH desses solos diminui, sua disponibilidade é aumentada, potencializando seus efeitos nocivos e deletérios às culturas (MALAVOLTA, 2006). O principal efeito do alumínio está associado à inibição da divisão celular da raiz, o que acaba limitando a absorção de nutrientes e água pelas plantas (MACEDO et al., 2008).

Pesquisadores estudam o efeito do peróxido de hidrogênio, uma espécie reativa do oxigênio (ROS), como agente mitigador dos danos oriundos de situações estressoras aos vegetais por meio do fenômeno da tolerância cruzada (BOWLER e FLUHR, 2000). Nessas situações, ele, regula a ação de genes e proteínas que provavelmente conferem a tolerância a múltiplos fatores, favorecendo também a ativação de MAP-Quinases que regulam as atividades celulares, podendo garantir às plantas adaptação ao ambiente a que são expostas (KOVTON et al., 2000; SAMUEL et al., 2000; DESIKAN et al., 2001).

São escassas as pesquisas que relatam o comportamento da canola quando exposta ao alumínio presente nos solos do Cerrado Brasileiro. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do peróxido de hidrogênio e do alumínio na emergência e no crescimento inicial de plântulas de canola.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em estufa coberta com polietileno, da Faculdade de Ciências Agrárias – FCA, na Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, durante junho de 2013. Foram utilizadas sementes de *Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile, cultivar Hyola 61, provenientes da Argentina, colhidas na safra 2012/13, cujo grau de umidade era 6,3% e posteriormente armazenadas em câmara fria e seca (15°C e 55% UR).

As sementes foram previamente submetidas à embebição, durante 4 horas, em soluções de peróxido de hidrogênio P.A. nas concentrações de 0,0; 0,075 e 0,15 M (dados baseados em pré-testes) em câmara B.O.D. à temperatura e luminosidade

constantes (25 °C; 525 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e, posteriormente, levadas para germinação, quando foram expostas a quatro doses (0,0; 10,0; 20,0 e 30,0 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$) de alumínio ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

A semeadura foi realizada em bandejas de polipropileno que continham como substrato 6 Kg de Latossolo Vermelho distroférico (coletado em profundidade de 0-20 cm em área com afloramentos de rocha) previamente peneirado em peneira com malha de 4 mm. Foram semeadas quatro linhas espaçadas de 7 cm, com 50 sementes cada, distantes entre si de 1 cm e alocadas a 1 cm de profundidade e cobertas com o mesmo Latossolo. Após a semeadura o solo foi irrigado com as soluções de alumínio nas doses supracitadas. A umidade, ao longo do período experimental, foi mantida a 70% da capacidade de campo, com a reposição da água evapotranspirada mediante diferença de massa diária das bandejas, identificada por meio de uma balança de prato instalada na área experimental. No Quadro 1 são apresentados os valores para os atributos químicos de acordo com a metodologia adotada por CLAESSEN (1997) para a caracterização do solo utilizado.

QUADRO 1. Caracterização dos atributos químicos do Latossolo Vermelho utilizado durante o período experimental. Dourados-MS, UFGD, 2013.

pH CaCl_2	pH H_2O	pH SMP	P (mg dm^{-3})	K ----- $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ -----	Al
5,09	5,45	6,74	3,47	2,09	2,40
Ca	Mg	H+Al	SB	T	V%
----- $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ -----					
45,0	18,0	25,3	65,09	90,39	72,0

Após o 21º dia da semeadura, foi avaliado o índice de velocidade de emergência (IVE), empregando-se a metodologia proposta por MAGUIRE (1962) e ao final, quando os valores eram constantes, foi contabilizado a porcentagem de emergência e a porcentagem de sobrevivência de plântulas (NAKAGAWA, 1999). Posteriormente, foram retiradas aleatoriamente 10 plântulas de cada repetição para avaliação das seguintes características: altura das plântulas; comprimento da raiz principal; massa seca da parte aérea; massa seca das raízes e índice de clorofila, este último com a utilização de um clorofilômetro Minolta – SPAD 502. A altura das plântulas e o comprimento da raiz principal foram mensurados com o auxílio de régua graduada em

milímetros e os resultados expressos em centímetros. A massa seca da parte aérea e das raízes foi obtida a partir das plântulas secas em estufa regulada a $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 72 horas, até obtenção de valores constantes, determinada em balança analítica e os resultados expressos em miligramas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 3 x 4 (3 concentrações de peróxido de hidrogênio e 4 doses de alumínio) com quatro repetições. Para análise dos resultados foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010) e os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos a 5% pelo teste F, foram ajustados por regressão.

RESULTADOS

O resumo das análises de variância e as médias gerais das variáveis, assim como a significância dos fatores estudados são apresentados no Quadro 2.

QUADRO 2. Resumo das análises de variância da porcentagem de emergência (%E), do índice de velocidade de emergência (IVE), da porcentagem de sobrevivência (%S), do índice de clorofila (IC), da altura (ALT), do comprimento da raiz principal (CRP), da massa seca de raízes (MSR) e da massa seca da parte aérea (MSA) de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

F.V.	G.L.	Quadrados médios			
		%E	IVE	%S	IC
Al	3	1970,88**	575,46**	4582,52**	59,66**
H ₂ O ₂	2	243,58*	4,78 ^{ns}	1006,02**	19,05 ^{ns}
Al x H ₂ O ₂	4	463,13**	55,24**	1006,02**	10,92 ^{ns}
Resíduo	27	50,00	14,49	44,29	7,94
CV(%)		8,45	14,51	7,38	8,89
Média		83,66%	26,24	90,22%	31,68
F.V.	G.L.	ALT	CRP	MSR	MSA
Al	3	10,83**	13,89**	29,67**	0,26 ^{ns}
H ₂ O ₂	2	0,38 ^{ns}	0,21 ^{ns}	3,13 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Al x H ₂ O ₂	4	0,42 ^{ns}	0,16 ^{ns}	2,63 ^{ns}	0,10 ^{ns}
Resíduo	27	0,32	0,34	2,01	0,10
CV(%)		12,78	13,88	34,55	11,30
Média		4,42cm	4,35cm	19,66mg	7,04mg

** significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F

* significativo, a 5 % de probabilidade, pelo teste F

^{ns} não significativo

Houve interação significativa ($p < 0,01$) das doses de alumínio e das concentrações de peróxido de hidrogênio para porcentagem de emergência (%E), porcentagem de sobrevivência (%S) e índice de velocidade de emergência (IVE). O efeito isolado do alumínio ($p < 0,01$) se manifestou para índice de clorofila (IC), altura (ALT), comprimento da raiz principal (CRP) e massa seca de raízes (MSR). Não foi observado o efeito isolado do peróxido de hidrogênio ($p < 0,01$). A massa seca da parte aérea (MSA) não apresentou efeito de nenhum dos fatores estudados e seu valor médio foi de 7,04 mg.

A emergência (Figura 1A) das sementes de canola foi menor na presença de 30,0 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ de alumínio, com valores de 66,34 e 72,30% nas concentrações de 0,0 e 0,075 M de peróxido de hidrogênio, respectivamente. Estes resultados são inferiores quando comparados com a concentração de 0,15 M de peróxido de hidrogênio, que apresentou valor médio de 84,60%, não variando entre as doses de alumínio. Os valores máximos calculados para a porcentagem de emergência foram de 95,10% na ausência de peróxido de hidrogênio combinado com a dose calculada de 7,49 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ de alumínio e de 95,38% na concentração de 0,075 M de peróxido de hidrogênio com 4,24 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ de alumínio.

Para o índice de velocidade de emergência (IVE), a dose de 0,15 M de peróxido de hidrogênio também não diferiu estatisticamente em nenhuma das doses de alumínio estudadas, apresentando valor médio de 26,3 (Figura 1B). Por outro lado, este valor foi superior na dose de 30,0 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ de alumínio, quando comparado às concentrações de 0,0 e 0,075 M de peróxido de hidrogênio, que proporcionaram menores valores calculados (12,43 e 16,61 respectivamente). Os maiores valores calculados para o IVE (33,08 e 31,13), foram respectivamente observados quando combinadas as doses de 4,67 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ com 0,0 M e 2,68 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ com 0,075 M.

Entretanto, para porcentagem de sobrevivência (%S) dessa espécie, como se pode observar na Figura 1C, o aumento gradativo da concentração de alumínio, em especial, na maior concentração de peróxido de hidrogênio, apresentou o menor percentual de sobrevivência calculado (28,4%). Para doses de 0,0 e 0,075 M de peróxido de hidrogênio na condição de 30,0 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ de alumínio os valores percentuais de sobrevivência calculados foram 75,3 e 84,8%, respectivamente. Os maiores valores calculados de sobrevivência de canola foram encontrados com a dose de 9,0 $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ de alumínio e, a partir de então, decresceram gradativamente.

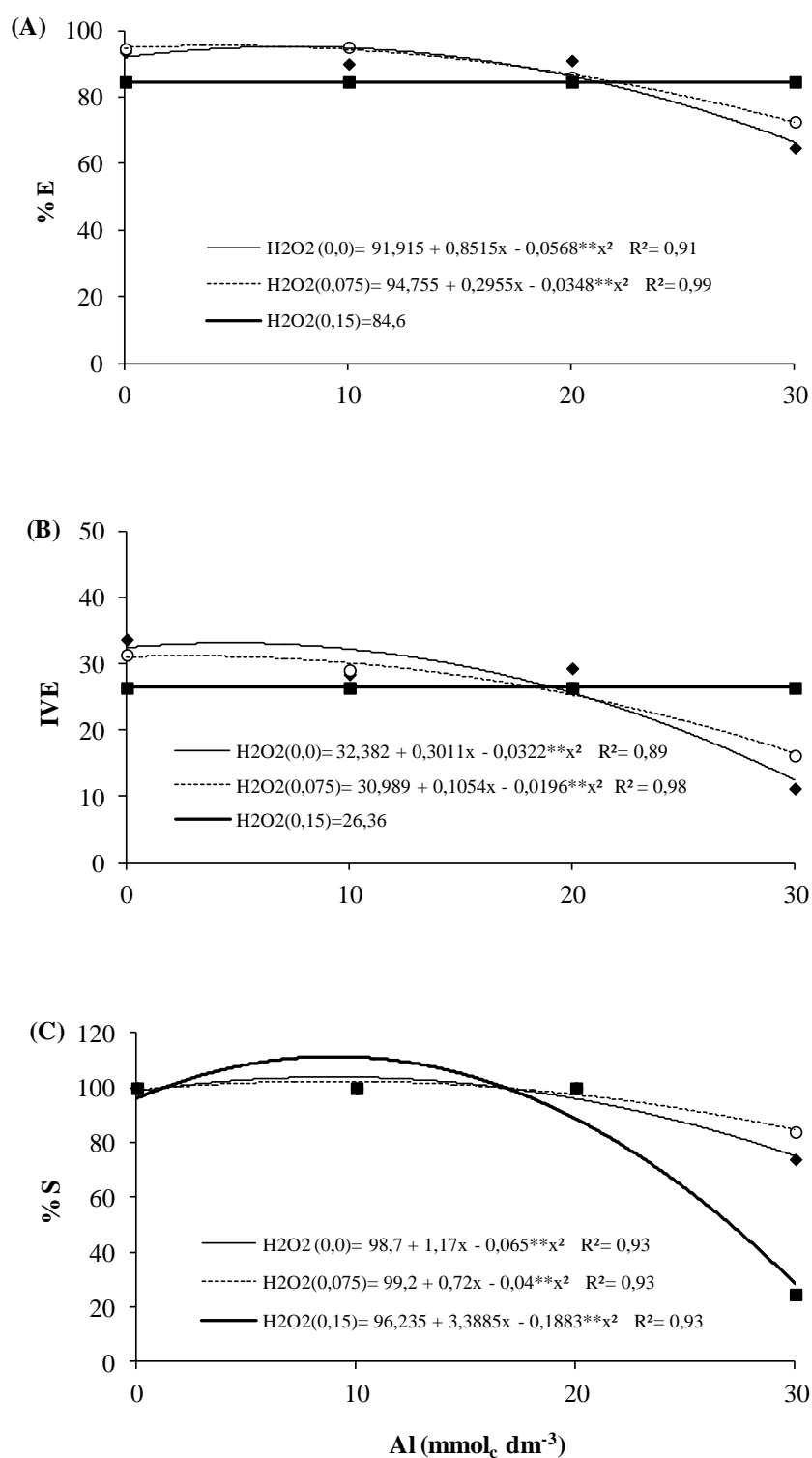


FIGURA 1. Efeito conjunto das concentrações de alumínio (Al) e de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) sobre: **(A)** a porcentagem de emergência (%E), **(B)** índice de velocidade de emergência (IVE) e **(C)** porcentagem de sobrevivência (%S) de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61 aos 21 dias após a semeadura. Dourados-MS, UFGD, 2013.

Os valores de altura, comprimento da raiz principal e massa seca de raízes decresceram gradativamente na medida em que se aumentavam as doses de alumínio, diferentemente do teor de clorofila, cujo maior valor (34,9) se manifestou na presença de 30,0 mmol_c dm⁻³ de alumínio (Figura 2).

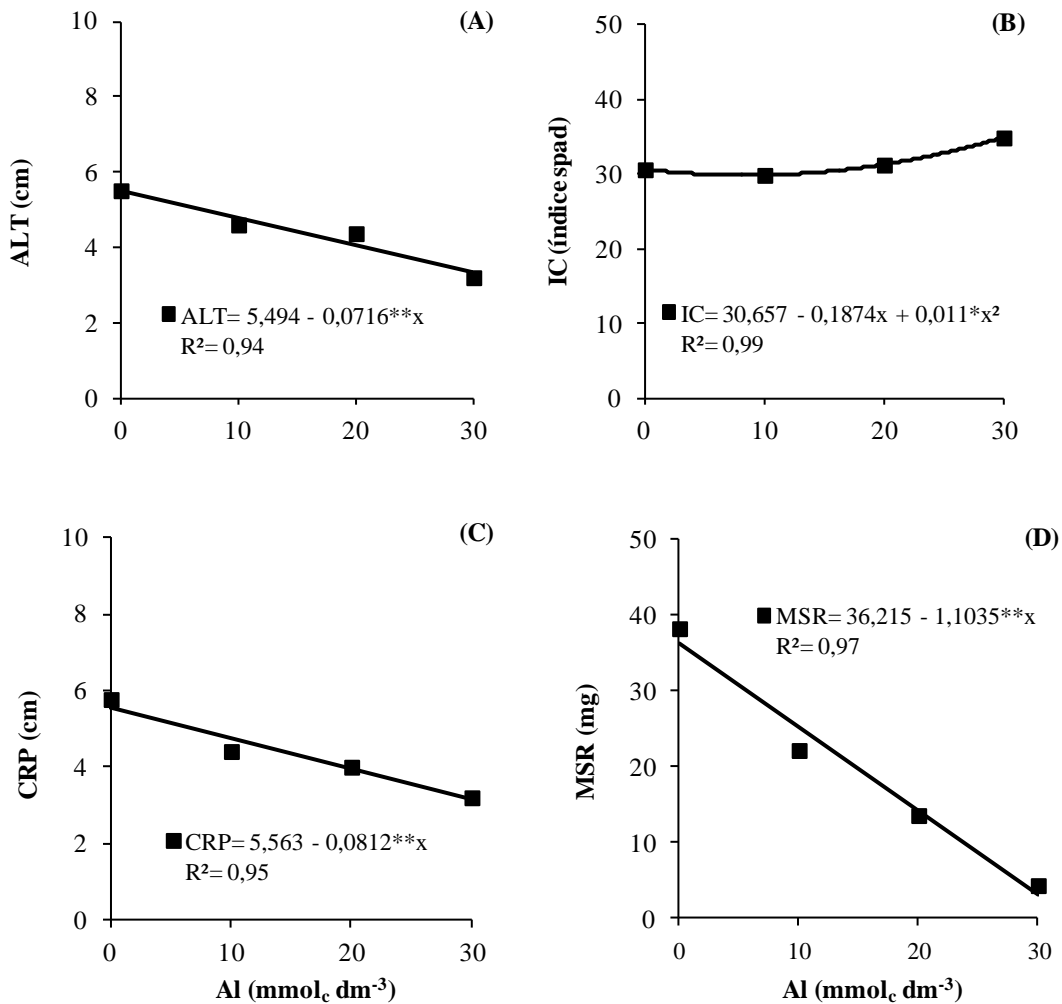


FIGURA 2. Efeito isolado das concentrações de alumínio (Al) sobre: (A) altura das plantas (ALT); (B) índice de clorofila (IC); (C) comprimento da raiz principal (CRP) e (D) massa seca das raízes (MSR) de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

DISCUSSÃO

O peróxido de hidrogênio pode induzir a síntese ou a ativação de vários fatores de transcrição que estão associados à indução de enzimas que promovem a defesa antioxidante (MULLINEAUX et al., 2000; ARGAWAL et al., 2005), ou seja, quando o

vegetal é submetido, a algum fator abiótico estressor, a presença de peróxido de hidrogênio desencadeia um processo de defesa ao estresse. Este fato ajuda a explicar, ao se avaliar a porcentagem de emergência, porque a maior concentração de peróxido de hidrogênio (0,15 M) retardou os efeitos do estresse pelo alumínio a 30,0 mmol_c dm⁻³ (Figura 1A).

A mesma teoria empregada aos resultados supracitados pode ser adotada quando observado, na Figura 1B, o índice de velocidade de emergência (IVE), corroborando para isso, o fato de que, dependendo de sua concentração, o peróxido de hidrogênio pode abrandar o efeito do estresse causado pelo alumínio, mediante a regulação de sistemas de sinalização, por meio do fenômeno de tolerância cruzada (BOWLER e FLUHR, 2000).

Por outro lado, o IVE, é reflexo direto de eventuais estresses ambientais que acabam tornando mais restritas as condições nas quais as sementes têm capacidade de germinarem e emergirem (COOPELAND e McDONALD, 2001). Isso, atrelado às menores concentrações de peróxido de hidrogênio (0,0 e 0,075 M), ajuda a explicar o porquê do decréscimo desse índice quando as sementes de canola foram submetidas, de modo geral, a doses superiores a 10,0 mmol_c dm⁻³ de alumínio.

Com relação à porcentagem de sobrevivência (Figura 1C), observa-se que as plântulas de canola foram prejudicadas quando submetidas à dose de 20,0 mmol_c dm⁻³ de alumínio, caracterizando a intolerância dessa espécie a elevados valores desse elemento. A situação agravou-se ainda mais quando observada a interação da maior dose de alumínio (30,0 mmol_c dm⁻³) com a maior concentração de peróxido de hidrogênio (0,15 M). Neste caso, provavelmente pode ter ocorrido, cumulativamente ao excesso de peróxido de hidrogênio nos tecidos das plântulas, a produção de outras espécies reativas do oxigênio (ROS), que são altamente reativas e podem ter alterado o metabolismo celular causando danos aos carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos, além da deterioração das membranas lipídicas (GONDIM et al., 2010).

O sintoma mais facilmente reconhecido pelo estresse ao alumínio é a inibição do crescimento da zona radicular, uma vez que sua absorção pelas plantas acaba afetando as células e organelas em nível morfológico e citogenético, prejudicando o desenvolvimento e o estabelecimento das culturas (MACEDO et al., 2008; CRESTANI et al., 2009). Segundo KOCHIAN (1995), a inibição da extensão do crescimento da raiz é comumente usada como uma medida de toxicidade do alumínio. Estudos de

toxicidade deste elemento em raízes sugerem que a produção de espécies reativas do oxigênio pode contribuir para a inibição induzida pelo alumínio no alongamento das raízes das plantas (YAMAMOTO et al., 2003; MORITA et al., 2007; DELHAIZE et al., 2009).

Esse sintoma fica visível quando observados, o comprimento da raiz principal (Figura 2C) e massa seca de raízes das plântulas de canola (Figura 2D), pois seus valores decresceram gradativamente com o aumento das doses do elemento, caracterizando uma situação de estresse para a cultura. Além disso, pode-se observar o mesmo comportamento para a altura (Figura 2A), o que caracteriza uma resposta secundária aos efeitos do alumínio, uma vez que este elemento também pode causar modificações no metabolismo de minerais, atingindo os mecanismos de transporte para parte aérea e sua funcionalidade (LINDON et al., 1999; KONRAD et al., 2005).

O alumínio, ao causar desordens morfofisiológicas tais como injúrias na parede celular, na membrana plasmática e no núcleo, acaba prejudicando a divisão e expansão das células, e conseqüentemente, a expansão foliar, resultando em folhas de menor área (HARTWIG et al., 2007). Visualmente observou-se que as plantas submetidas às maiores doses de alumínio apresentaram menor lâmina foliar (dados não apresentados), o que pode ter levado, momentaneamente, a um aumento na concentração dos pigmentos de clorofila por área foliar. Assim, acredita-se que novos trabalhos deveriam ser realizados a fim de verificar o efeito estressante do alumínio sobre o índice de clorofila.

CONCLUSÃO

A dose de 0,15 M de peróxido de hidrogênio associadas a diferentes doses de alumínio mantém a emergência de canola. Entretanto, o crescimento inicial das plantas foi prejudicado com o aumento das doses de alumínio, independentemente das concentrações de peróxido de hidrogênio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, S.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C.; TYAGI, A.; MEENA, R. C. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. **Plant Science**, v.169, p.559-570, 2005.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; FAGLIARI, J. R.; SANTOS, J. L. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, p.98-106, 2007.

BOWLER, C.; FLUHR, R. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. **Trends in Plant Science**, v.5, p.241-245, 2000.

BROCH, D. L.; PITOL, C.; RANNO, S. K.; BAES, I. M.; SILVA, O. M. **Culturas oleaginosas de outono/inverno e interação lavoura pecuária como alternativas para a região sul de Mato Grosso do Sul**. Tecnologia de produção soja e milho 2008/2009. Fundação MS, p.183-200, 2009.

CLAESSEN, M. E. C. (Org.).1997. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS. 212p.

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principles of Seed Science and Technology**. 4ed. Burgess Publishing Company, Minneapolis. 2001.

CRESTANI, M.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; SILVA, J. A. G.; SOUZA, V. Q.; PARACHU, E. A. M.; SILVEIRA, G.; RIBEIRO, G.; LUCHE, H. S. Estresse por alumínio em genótipos de aveia preta em condição hidropônica. **Bragantia**, v.68, n.3, p.639-649, 2009.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R.; RAMAN, H.; GUPTA, S.; HORST, W. J. A. A second mechanism for aluminum resistance in wheat relies the constitutive efflux of citrate from roots. **Plant Physiology**, v.149, p.340-351, 2009.

DESIKAN, R.; MARKERNESS, S. A. H.; HANCOCK, J. T.; NEILL, S. J. Regulation of the arabidopsis transcriptome by oxidative stress. **Plant Physiology**, v.127, p.159-172, 2001.

FAGERIA, N. K.; STONE, L. E. **Manejo da acidez dos solos de Cerrado e de várzea do Brasil, Santo Antônio de Goiás**: EMBRAPA-CNPAP; 1999. 42p.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas** (Statistical Analysis Software) e planejamento de Experimentos – SISVAR 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

GONDIM, F. A.; GOMES-FILHO, E.; LACERDA, C. F.; PRISCO, J. T.; AZEVEDO NETO, A. D.; MARQUES, E. C.. Pretreatment with H₂O₂ in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.22, 2010.

HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; BERTAN, I.; SILVA, J. A. G.; SCHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; MAIA, L. C.; FONSECA, D. A. R.; REIS, C. E. S. Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, p.219-228, 2007.

- KOCHIAN, L. V. Cellular mechanism of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v.46, p.237-260, 1995.
- KOCHIAN, L. V.; HOEKENGA, O. A.; PINEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.459-493, 2004.
- KONRAD, M. L. F.; SILVA, J. A. B.; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**, v.64, n.3, p.339-347, 2005.
- KOVTUN, Y.; CHIU, W. L.; TENA, G.; SHEEN, J. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. **Proceedings of National Academy of Science of United States of America**, v.97, p.2940–2945, 2000.
- LINDON, F. C.; RAMALHO, J. C.; BARREIRO, M. G.; LAURIANO, J. A. Modulation of photosystem 2 reactions mediated by aluminium toxicity in *Zea mays*. **Photosynthetica**, v.34, p.151-156, 1999.
- MACEDO, C. M. P.; LOPES, J. C.; AMARAL, J. A. T.; FONSECA A. F. A. Germinação e vigor de sementes de café submetidas ao estresse com alumínio. **Scientia Agraria**, v.9, n.2, p.235-239, 2008.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-77, 1962.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo. Ceres. 2006. 638 p.
- MORITA, A.; YANAGISAWA, O.; TAKATSU, S.; MAEDA, S.; HIRADATE, S. Mechanism for the detoxification of aluminum in roots of tea plant (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). **Phytochemistry**, v.10, p.235-240, 2007.
- MULLINEAUX, P.; BALL, L.; ESCOBAR, C.; KARPINSKA, B.; CREISSEN, G.; KARPINSKI, S. Are diverse signalling pathways integrated in the regulation of Arabidopsis antioxidant defense gene expression in response to excess excitation energy? **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v.355, p.1531–1540, 2000.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados nos desempenhos das plântulas. *In*: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999.
- SAMUEL, M. A.; MILES, G. P.; ELLIS, B. E. Ozone treatment rapidly activates MAP kinase signalling in plants. **The Plant Journal**, v.22, p.367–376, 2000.
- SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.9, p.199-210, 1998.

SILVEIRA, P. M.; ZIMMERMANN, E. J. P.; SILVA, S. C. da; CASTRO, L. H. R. de. Amostragem e variabilidade espacial de características químicas de um Latossolo submetido a diferentes sistemas de preparo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 2057-2064, 2000.

TOMM, G. O. **Situação em 2005 e perspectivas da cultura de canola no Brasil e em países vizinhos**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005, 21p.

YAMAMOTO, Y.; MATSUMOTO, H.; DEVI, S. R. Na intracellular mechanism of aluminum tolerance associated with high antioxidant status in cultured tobacco cells. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.97, p.59-68, 2003.

CAPÍTULO III

INFLUÊNCIA DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE AO ALUMÍNIO EM PLANTAS DE CANOLA (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile)

Derek Brito Chaim Jardim Rosa; Silvana de Paula Quintão Scalon

RESUMO

A canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) é uma oleaginosa de inverno, cujas áreas de cultivo no Brasil estão sendo ampliadas, merecendo destaque o Cerrado, cujo solos, caracteristicamente ácidos, contribuem para a solubilização do alumínio, agente abiótico estressor responsável pela inibição do crescimento do sistema radicular. Foi comprovado que o peróxido de hidrogênio pode ativar mecanismos de proteção, estimulando a tolerância nas plantas contra diferentes estresses e, em vista disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do peróxido de hidrogênio na redução da sensibilidade ao alumínio em plantas de canola. Sementes de canola, cultivar Hyola 61, foram embebidas em soluções de peróxido de hidrogênio P.A. (0,0; 0,075 e 0,15 M) e depois submetidas a 60 dias de cultivo em Latossolo Vermelho distroférico com diferentes doses de alumínio (0,0; 10,0 e 20,0 mmol_c dm⁻³). As plantas foram avaliadas quanto a: altura; índice de clorofila; fluorescência da clorofila *a*; massa fresca e seca da parte aérea e das raízes, e suas relações; o comprimento da raiz principal; e, atividade enzimática de superóxido dismutase das raízes e das folhas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial. Pode-se concluir que o tratamento das sementes de canola com peróxido de hidrogênio, nas concentrações avaliadas, não foi eficiente em reduzir a sensibilidade das plantas ao alumínio.

Palavras chave: estresse, tolerância, oleaginosa

ABSTRACT

Canola (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile) is a winter oilseed, whose growing areas in Brazil are being expanded, with emphasis to Cerrado, whose soils characteristically acids contributes to the solubilization of aluminum, an abiotic stressor agent responsible for the inhibition of the growth of the root system. It was shown that hydrogen peroxide can activate protective mechanisms, encouraging tolerance in plants against various stresses and, in view of this, the aim of this study was to evaluate the potential of hydrogen peroxide in reducing sensitivity to aluminum in canola plants. Canola seeds, cultivate Hyola 61, were soaked in solutions of hydrogen peroxide PA (0.0; 0.075 and 0.15 M) and then subjected to 60 days of cultivation in an Oxisol with different doses of aluminum (0.0; 10.0 and 20.0 mmol_c dm⁻³). The plants were evaluated by: height; chlorophyll index; chlorophyll *a* fluorescence; fresh and dry mass of shoots and roots, and their relationships; the length of the main root; and enzymatic activity of superoxide dismutase of roots and leaves. The experimental design was completely randomized and the treatments were arranged in a factorial design. It can be concluded that the treatment of canola seed with hydrogen peroxide in the tested concentrations was not effective in reducing the susceptibility of plants to aluminum.

Keywords: stress, tolerance, oilseed

INTRDUÇÃO

A canola é uma oleaginosa de inverno, pertence à família das crucíferas e ao gênero *Brassica* (*Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile), cujo óleo, por apresentar elevados teores de ômega-3 (ácido linolênico), vitamina E, gorduras monoinsaturadas, baixo teor de gorduras saturadas e melhor composição de ácidos graxos é extremamente indicado à alimentação humana. Devido o grande interesse na produção de proteínas e de óleos de alta qualidade e o incentivo à produção de bioenergia e de biocombustíveis, as áreas de cultivo de canola no Brasil estão sendo pouco a pouco ampliadas, merecendo destaque, as terras do Cerrado que ficam ociosas no período de outono/inverno (MILLÉO e DONI FILHO, 2001; BROCH et al., 2009; CHAVARRIA, 2011).

Aproximadamente um terço do território brasileiro é composto pelo Cerrado e, sobre os solos deste bioma se desenvolve grande parte da agricultura nacional. Nas regiões tropicais e subtropicais, os solos são caracteristicamente ácidos, o que contribui para a solubilização do alumínio, tornando-o prejudicial às plantas, sendo que, a inibição do crescimento do sistema radicular e o seu engrossamento são os sintomas mais facilmente observados quando as plantas são expostas a ele, o que as tornam mais suscetíveis ao déficit hídrico e à deficiência nutricional (PIÑEROS et al., 2005; BONI et al., 2009).

Além das características morfológicas, outra consequência muito comum da maioria dos estresses bióticos e abióticos, é que deles resultam o aumento na produção das espécies reativas do oxigênio (ROS). Sucessivas reduções do oxigênio molecular resultam em compostos intermediários como o ânion superóxido, a hidroxila e o peróxido de hidrogênio, todos potencialmente tóxicos, podendo causar a oxidação de proteínas, lipídeos das membranas e danos às moléculas do DNA. Geralmente, como consequência desse estresse oxidativo, os tecidos danificados apresentam elevados níveis de proteínas carboniladas, malondialdeídos, etileno e, apresentam também, o aumento na atividade dos sistemas antioxidantes das plantas, como por exemplo, a elevação na expressão das enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase (LIMA et al., 2002; SCHÜTZENDÜBEL e POLLE, 2002).

Por muito tempo as ROS foram consideradas moléculas perigosas, cujos níveis deveriam ser mantidos o mais baixo possível, entretanto, esta opinião vem se modificando rapidamente. Atualmente, sabe-se que as espécies reativas do oxigênio podem fazer parte de importantes rotas de defesa nas plantas (JOO et al., 2001). Dentre elas, merece destaque o peróxido de hidrogênio, cuja atividade está comprovadamente ligada a processos que modulam a expressão gênica e a transdução celular em resposta aos estímulos extracelulares, podendo ativar mecanismos de proteção contra diferentes condições de estresse, aumentando a tolerância das plantas, ao menos em parte, aos fatores bióticos e abióticos aos quais são constantemente expostas (DESIKAN et al., 2001; GUAN et al., 2000).

Apesar de algumas plantas apresentarem diversos mecanismos de tolerância ao alumínio, esta varia diferentemente entre espécies e indivíduos de uma mesma espécie (SCHLINDWEIN et al., 2003; TABALDI et al., 2007), o que justifica o estudo do comportamento de plantas canola quando expostas a este elemento. O objetivo foi

avaliar o potencial do peróxido de hidrogênio na redução da sensibilidade ao alumínio em plantas de canola.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em estufa coberta com polietileno, da Faculdade de Ciências Agrárias – FCA, na Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, durante o período de junho a agosto de 2013. Foram utilizadas como material de estudo sementes de *Brassica napus* var. *oleifera* (Moench) Delile, cultivar Hyola 61, provenientes da Argentina, colhidas na safra 2012/13, cujo grau de umidade era 6,3% e posteriormente armazenadas em câmara fria e seca (15°C e 55% UR).

As sementes foram previamente submetidas à embebição, durante 4 horas, em soluções de peróxido de hidrogênio P.A. nas concentrações de 0,0; 0,075 e 0,15 M (dados baseados em pré-testes) em câmara B.O.D. à temperatura e luminosidade constantes (25 °C; 525 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e, posteriormente, levadas para germinação, quando foram expostas a três doses (0,0; 10,0 e 20,0 mmolc dm^{-3}) de alumínio ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

A unidade experimental foi constituída por três plantas de canola, que foram semeadas em vasos plásticos com capacidade para cinco litros e que receberam como substrato 6 Kg de Latossolo Vermelho distroférico (coletado em profundidade de 0-20 cm em área com afloramentos de rocha) previamente peneirado em peneira com malha de 4 mm. Primeiramente, a quantidade de solo utilizada foi colocada em sacos plásticos transparentes, evitando, com esse procedimento, eventuais perdas de água e nutrientes por lixiviação. Esse conjunto foi disposto nos vasos, e posteriormente foi irrigado com as soluções de alumínio nas doses supracitadas. No Quadro 1 são apresentados os valores para os atributos químicos de acordo com a metodologia adotada por CLAESSEN (1997) para a caracterização do solo utilizado.

A semeadura foi realizada no dia seguinte a irrigação e, em cada vaso, foram colocadas 10 sementes a 1 cm de profundidade. Após 15 dias da semeadura foi realizado o desbaste mantendo-se três plantas por vaso. Nesta mesma data foi realizada a fertiirrigação, segundo a recomendação descrita por NOVAIS et al. (1991) para adubação em vasos. A umidade, ao longo do período experimental, foi mantida a 70% da capacidade de campo, com a reposição da água evapotranspirada mediante diferença

de massa diária dos vasos, identificada por meio de uma balança de prato instalada na área experimental.

QUADRO 1. Caracterização dos atributos químicos do Latossolo Vermelho utilizado durante o período experimental. Dourados-MS, UFGD, 2013.

pH CaCl ₂	pH H ₂ O	pH SMP	P (mg dm ⁻³)	K -----mmol _c dm ⁻³ -----	Al
5,09	5,45	6,74	3,47	2,09	2,40
Ca	Mg	H+Al	SB	T	V%
-----mmol _c dm ⁻³ -----					
45,0	18,0	25,3	65,09	90,39	72,0

As avaliações experimentais foram realizadas a cada 10 dias de idade das plantas (20, 30, 40, 50 e 60 dias), sendo determinadas as variáveis: altura, índice de clorofila e a fluorescência da clorofila *a*. Ao final do experimento, foram avaliadas também: massa fresca e seca da parte aérea e das raízes, a relação entre massa fresca da parte aérea e das raízes, a relação entre massa seca da parte aérea e das raízes, o comprimento da raiz principal e a atividade enzimática de superóxido dismutase tanto das raízes quanto da parte aérea.

Para a determinação do índice de clorofila foi utilizado o clorofilômetro Minolta SPAD 502, sendo determinados quatro pontos por unidade experimental, locados a 2 cm de distância das folhas situadas no terço médio das plantas (ARGENTA et al., 2001). A altura das plantas e o comprimento da raiz principal foram mensurados com o auxílio de régua graduada em milímetros e os resultados expressos em centímetros. A massa seca da parte aérea e das raízes foi obtida em estufa regulada a 60±2°C por 72 horas, até obtenção de valores constantes, determinada em balança analítica e os resultados expressos em gramas.

As medidas de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas em folhas completamente expandidas do terço médio das plantas, obtidas por meio do fluorômetro OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA), fornecendo dados de fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_M) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_V/F_M). Foram calculados também, a fluorescência variável ($F_V = F_M - F_0$) e estimada a razão F_V/F_0 (PEREIRA et al., 2000). O procedimento foi realizado entre 8 e 10h, sendo as folhas submetidas previamente a um período de 30 minutos de

adaptação ao escuro com o auxílio de cliques adaptadores, para que todos os centros de reação nessa região foliar estivessem com a oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons.

Para avaliar eventuais sinais de estresse nas plantas determinou-se, ao final do estudo, a atividade da enzima superóxido dismutase por meio de extrato obtido da homogeneização de 1 g de raízes e folhas frescas de cada tratamento, fragmentadas em almofariz, previamente acondicionadas em nitrogênio líquido. Em seguida adicionaram-se 2 ml de solução de extração, constituída de EDTA 100 μ M em tampão de fosfato de potássio 0,1 M, contendo 20 mg de PVP (Polivinil Polipirrolidona), procedendo-se uma nova homogeneização. O homogeneizado foi centrifugado por 20 minutos a 4000 rpm e do sobrenadante (extrato enzimático) foram coletados 50 μ L e diluídos para 1:5 (v:v) com solução de extração à mistura de reação, constituída de L-metionina 13 mM; azul de nitrotetrazólio (NBT) 0,44 μ M; EDTA 100 μ M e riboflavina 1 μ M, em tampão de fosfato de sódio 50 μ M, pH 7,8 (DEL LONGO et al., 1993).

A reação foi conduzida em câmara de reação a 25 °C, durante 15 minutos, sendo iniciada pelo acendimento de duas lâmpadas fluorescentes de 15 W (GIANNOPOLITIS e RIES, 1977). A produção de formazana azul, resultante da foto-redução do NBT, foi medida pela determinação do incremento na absorbância a 560 nm, que foi subtraída de um “branco”, no qual a mistura de reação foi mantida no escuro (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 3 x 3 (3 concentrações de peróxido de hidrogênio e 3 doses de alumínio) com quatro repetições, para avaliar as variáveis ao final do experimento. Para as avaliações experimentais realizadas a cada 10 dias de idade das plantas, o delineamento experimental também foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 3 x 3 x 5 (3 concentrações de peróxido de hidrogênio, 3 doses de alumínio e 5 idades das plantas) com quatro repetições.

Para análise dos resultados foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010) e os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos a 5% pelo teste F, foram comparados por teste de médias (Tukey 5%) ou por regressão.

RESULTADOS

O resumo das análises de variância das variáveis avaliadas ao fim do experimento, bem como suas médias gerais e a significância ou não dos fatores estudados são apresentados no Quadro 2. As concentrações de alumínio influenciaram ($p < 0,05$) a maioria das variáveis estudadas excetuando-se a massa fresca da parte aérea, cuja média foi de 53,92 g. Foi registrado efeito conjunto das doses de alumínio com a utilização de peróxido de hidrogênio ($p < 0,05$) apenas sobre a atividade enzimática de superóxido dismutase das raízes.

QUADRO 2. Resumo das análises de variância da massa fresca da parte aérea (MFA) e das raízes (MFR), da relação entre MFA e MFR (MFA/MFR), da massa seca da parte aérea (MSA) e das raízes (MSR), da relação entre MSA e MSR (MSA/MSR), do comprimento da raiz principal (CRP) e da atividade enzimática de superóxido dismutase das raízes (SODR) e das folhas (SODF) de *Brassica napus* var. *oleifera*, cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

F.V.	G.L.	Quadrados médios				
		MFA	MFR	MFA/MFR	MSA	MSR
Al	2	6,87 ^{ns}	24,29**	1,98**	2,33*	30,81**
H ₂ O ₂	2	0,06 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Al x H ₂ O ₂	4	2,61 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,29 ^{ns}	2,53 ^{ns}
Resíduo	27	6,11	0,6	0,03	0,5	2,43
CV(%)		10,61	14,46	10,1	8,93	20,53
M. geral		53,92g	29,63g	2,47	5,33g	5,15g

F.V.	G.L.	MSA/MSR	CRP	SODR	SODF
Al	2	0,40**	497,56**	1,24**	0,62*
H ₂ O ₂	2	0,01 ^{ns}	5,03 ^{ns}	0,30*	0,36 ^{ns}
Al x H ₂ O ₂	4	0,02 ^{ns}	34,37 ^{ns}	0,22*	0,21 ^{ns}
Resíduo	27	0,02	10,5	0,05	0,12
CV(%)		9,29	9,26	1,74	3
M. geral		1,37	35,00cm	0,94	0,37

** significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F

* significativo, a 5 % de probabilidade, pelo teste F

^{ns} não significativo

Os valores da massa fresca e seca das raízes, da massa seca da parte aérea e o comprimento da raiz principal (Quadro 3), apresentaram valores mínimos na dose de 20,0 mmol_c dm⁻³, que diferiu estatisticamente da dose de 0,0 mmol_c dm⁻³ de alumínio.

As relações entre a massa fresca da parte aérea e das raízes e a massa seca da parte aérea e das raízes, apresentaram comportamento crescente com o aumento das

doses de alumínio, com valores máximos de 4,24 e 2,02 respectivamente, indicando que as maiores doses de alumínio interferiram no desenvolvimento do sistema radicular das plantas de canola. A atividade de superóxido dismutase das folhas se elevou com o aumento das doses de alumínio, diferindo estatisticamente quando comparadas as maiores doses com a ausência deste elemento (Quadro 3).

QUADRO 3. Valores médios da massa fresca da parte aérea (MFA) e das raízes (MFR), da relação entre MFA e MFR (MFA/MFR), da massa seca da parte aérea (MSA) e das raízes (MSR), da relação entre MSA e MSR (MSA/MSR), do comprimento da raiz principal (CRP) e da atividade enzimática de superóxido dismutase das folhas (SPDF) de *Brassica napus* var. *oleifera*, cultivar Hyola 61 em função das doses de alumínio. Dourados-MS, UFGD, 2013.

Al (mmol _c dm ⁻³)	MFA ^{ns} (g)	MFR** (g)	MFA/ MFR**	MSA* (g)
0	50,12	44,31 a	1,20 c	6,04 a
10	56,94	30,46 b	1,98 b	5,32 ab
20	54,71	14,16 c	4,24 a	4,65 b
CV(%)	10,61	14,46	10,1	8,93
Al (mmol _c dm ⁻³)	MSR** (g)	MSA/ MSR**	CRP** (cm)	SODF* (U µg proteína ⁻¹)
0	7,50 a	0,92 b	42,27 a	0,31 b
10	5,45 ab	1,18 b	32,70 b	0,40 a
20	2,50 b	2,02 a	30,02 b	0,40 a
CV(%)	20,53	9,29	9,26	3,00

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, 5% de probabilidade)

** significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F

* significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F

^{ns} não significativo

A atividade enzimática de superóxido dismutase das raízes não diferiu estatisticamente em nenhuma das doses de alumínio estudadas quando as sementes de canola foram embebidas com 0,15 M de peróxido de hidrogênio. Por outro lado, diferiram quando comparadas as doses de 0,0 e 20,0 mmol_c dm⁻³ de alumínio naqueles tratamentos em que as sementes de canola foram embebidas com as concentrações de 0,0 e 0,075 M de peróxido de hidrogênio (Quadro 4).

QUADRO 4. Efeito conjunto das concentrações de alumínio (Al) e de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) sobre a atividade enzimática de superóxido dismutase das raízes de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

Al (mmol _c dm ⁻³)	Superóxido dismutase das raízes (U µg proteína ⁻¹)		
	H ₂ O ₂ (M)		
	0	0,075	0,15
0	0,93 Ba	0,76 Bb	0,85 Aab
10	0,95 Ba	0,95 Aa	0,96 Aa
20	1,10 Aa	1,04 Aab	0,96 Ab

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey 5% de probabilidade)

Letras maiúsculas comparam médias na coluna e minúsculas na linha

No resumo da análise de variância das variáveis avaliadas a cada 10 dias durante o período experimental (Quadro 5), observa-se que não houve significância ($p > 0,05$) em nenhuma das interações estudadas (alumínio e peróxido de hidrogênio; alumínio e dias após a semeadura; peróxido de hidrogênio e dias após a semeadura; alumínio, peróxido de hidrogênio e dias após a semeadura), exceto quando avaliado o índice de clorofila ($p < 0,01$) para a interação alumínio e peróxido de hidrogênio.

As doses de alumínio e os dias após a semeadura influenciaram, isoladamente, a altura das plantas de canola ($p < 0,01$). Foram observados também efeitos isolados ($p < 0,05$) para as doses de alumínio, para as concentrações de peróxido de hidrogênio e para os dias após a semeadura nas variáveis de fluorescência máxima, fluorescência variável, eficiência quântica potencial do fotossistema II e razão F_v/F_o . A fluorescência inicial, contudo, apresentou significância ($p < 0,01$) apenas para os dias após a semeadura.

O índice de clorofila (Quadro 6) decresceu, de modo geral, com o aumento das doses de alumínio utilizadas. Por outro lado, o tratamento de embebição das sementes de canola com peróxido de hidrogênio na concentração de 0,15 M apresentou o maior valor, quando aplicada a dose de 20,0 mmol_c dm⁻³ de alumínio, diferindo significativamente das demais concentrações avaliadas.

QUADRO 5. Resumo das análises de variância do índice de clorofila (IC), da fluorescência inicial (F_0), da fluorescência máxima (F_M), da fluorescência variável (F_V), da eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_V/F_M), da razão F_V/F_0 (F_V/F_0) e da altura das plantas (ALT) de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

F.V.	G.L.	Quadrados médios			
		IC	F_0	F_M	F_V
Al	2	3066,67**	184,65 ^{ns}	61327,70**	64782,90**
H ₂ O ₂	2	730,05**	357,61 ^{ns}	72813,95**	67730,43**
DAS ¹	4	535,61**	2953,06**	128092,04**	107953,51**
Al x H ₂ O ₂	4	517,87**	461,96 ^{ns}	11464,90 ^{ns}	8262,88 ^{ns}
Al x DAS	8	22,19 ^{ns}	182,08 ^{ns}	7065,30 ^{ns}	5680,66 ^{ns}
H ₂ O ₂ x DAS	8	5,80 ^{ns}	130,83 ^{ns}	4466,45 ^{ns}	3019,07 ^{ns}
Al x H ₂ O ₂ x DAS	16	8,80 ^{ns}	307,38 ^{ns}	4879,68 ^{ns}	4774,66 ^{ns}
Resíduo	180	107,2	422,65 ^{ns}	9134,88	8707,5
CV (%)		26,27	10,7	9,2	10,9
Média geral		39,41	190,7	1039,8	849,2

F.V.	G.L.	F_V/F_M	F_V/F_0	ALT
Al	2	3,61**	1,87*	331,31**
H ₂ O ₂	2	3,72**	2,00*	87,51 ^{ns}
DAS ¹	4	2,77**	3,60**	1831,54**
Al x H ₂ O ₂	4	0,24 ^{ns}	0,16 ^{ns}	38,49 ^{ns}
Al x DAS	8	0,15 ^{ns}	0,13 ^{ns}	5,52 ^{ns}
H ₂ O ₂ x DAS	8	0,17 ^{ns}	0,06 ^{ns}	6,96 ^{ns}
Al x H ₂ O ₂ x DAS	16	0,43 ^{ns}	0,33 ^{ns}	6,39 ^{ns}
Resíduo	180	0,73	0,61	29,31
CV (%)		3,3	17,3	33,8
Média geral		0,8	4,5	16,01cm

¹ Dias após a semeadura

** significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F

* significativo, a 5 % de probabilidade, pelo teste F

^{ns} não significativo

QUADRO 6. Efeito conjunto das concentrações de alumínio (Al) e de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) sobre o índice de clorofila (IC) de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61 aos 60 dias após a semeadura Dourados-MS, UFGD, 2013.

Al (mmol _c dm ⁻³)	Índice de Clorofila (Índice Spad)		
	H ₂ O ₂ (M)		
	0	0,075	0,15
0	45,32 aA	44,00 aA	44,28 aA
10	41,91 aA	41,21 aA	41,22 aA
20	22,24 bB	25,55 bB	32,94 aB

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey 5% de probabilidade)

Letras maiúsculas comparam médias na coluna e minúsculas na linha

A altura das plantas de canola (Quadro 7) diferiu estatisticamente das demais doses de alumínio apenas quando aplicado $20,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, e, analisando o efeito isolado dos dias após a semeadura, observa-se que as plantas de canola apresentaram crescimento linear ao longo do tempo (Figura 1).

QUADRO 7. Efeitos isolados das doses de alumínio (Al), e das concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sobre a altura das plantas (ALT) de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

Al ($\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3}$)	ALT** (cm)	H_2O_2 (M)	ALT ^{ns} (cm)
0	17,47 a	0	17,26
10	16,90 a	0,075	15,37
20	13,60 b	0,15	15,41
CV(%)	33,80	CV(%)	33,80

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, 5% de probabilidade)

** significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F

^{ns} não significativo

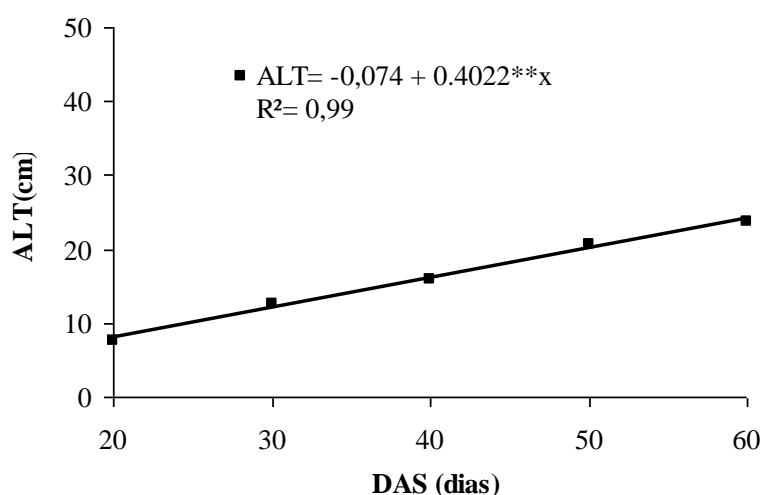


FIGURA 1. Efeitos isolados dos dias após a semeadura (DAS) sobre a altura das plantas (ALT) de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

Quanto à fluorescência da clorofila *a*, é possível observar que, excetuando a fluorescência inicial, na ausência de alumínio foram obtidos os maiores valores para todas as outras variáveis, diferindo estatisticamente da maior dose empregada neste trabalho (Quadro 8). Quando analisado o efeito isolado do peróxido de hidrogênio, observa-se que, para todas as variáveis (exceção à fluorescência inicial), a aplicação de sua maior concentração (0,15 M) resultou na obtenção dos maiores valores, que diferiram estatisticamente dos tratamentos cuja concentração de peróxido era 0,0 M.

QUADRO 8. Valores da fluorescência inicial (F_0), da fluorescência máxima (F_M), da fluorescência variável (F_V), da eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_V/F_M) e da razão F_V/F_0 (F_V/F_0) observados em função das concentrações de alumínio (Al) e de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

Al ($mmol_c dm^{-3}$)	F_0^{ns}	F_M	F_V	F_V/F_M	F_V/F_0
0	190,183	1075,555 a	885,366 a	0,824 a	4,689 a
10	189,233	1030,166 b	840,933 b	0,814 ab	4,502 ab
20	192,633	1013,850 b	821,216 b	0,808 b	4,335 b
H_2O_2 (M)	F_0^{ns}	F_M	F_V	F_V/F_M	F_V/F_0
0	193,300	1001,966 b	813,500 b	0,800 b	4,346 b
0,075	190,283	1047,100 a	853,800 ab	0,810 ab	4,473 ab
0,15	188,466	1070,500 a	880,206 a	0,820 a	4,707 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, 5% de probabilidade)

Houve um pico na atividade da fluorescência da clorofila *a* aos 40 DAS para as variáveis fluorescência inicial (Figura 2A), fluorescência máxima e fluorescência variável (Figura 2B) cujos valores obtidos foram, respectivamente de, 197,36; 1102,46 e 913,41. Para a eficiência quântica potencial do fotossistema II (Figura 2C) e a razão F_V/F_0 (Figura 2D), os valores máximos foram observados aos 20 DAS (0,82 e 4,90, respectivamente).

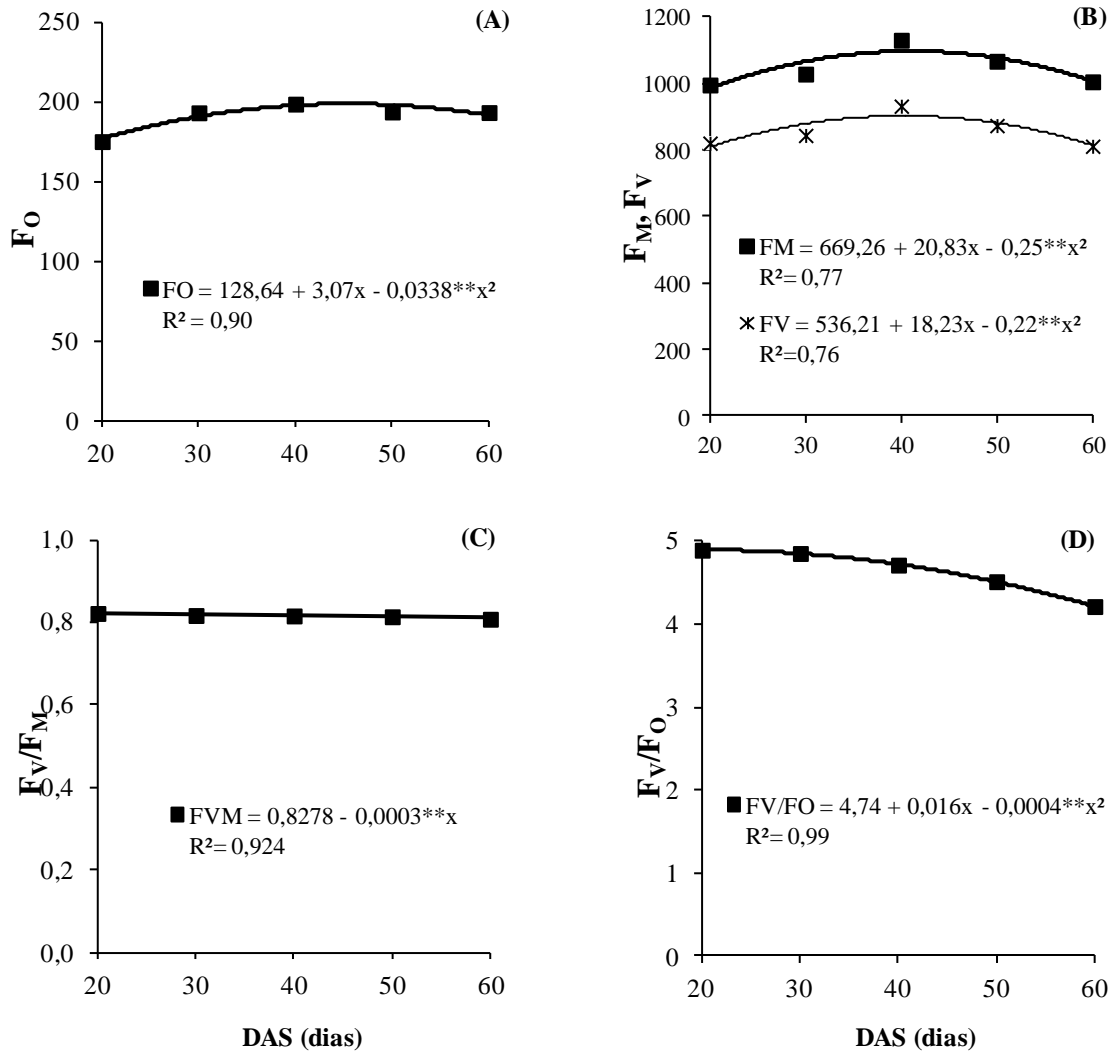


FIGURA 2. Valores da (A) fluorescência inicial (F_0), (B) da fluorescência máxima (F_M) e da fluorescência variável (F_V), (C) da eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_V/F_M) e (D) da razão F_V/F_0 (F_V/F_0) de *Brassica napus* var. *oleifera* cultivar Hyola 61. Dourados-MS, UFGD, 2013.

DISCUSSÃO

Os efeitos biológicos causados pela toxicidade do alumínio se mostram mais evidentes nas raízes devido a sua baixa mobilidade nas plantas, ocorrendo primeiramente inibição da expansão e alongação das células, e depois o comprometimento na divisão celular desses órgãos, levando, conseqüentemente, a sua diminuição (SIVAGURU et al., 1999). Este sintoma caracterizador de estresse por alumínio também foi observado neste trabalho com as plantas de canola ao se avaliar a massa fresca, a massa seca e o comprimento da raiz principal (Quadro 3).

O fato dos efeitos do alumínio tóxico se manifestarem inicialmente nas raízes das plantas provavelmente justifica o porquê da maioria dos estudos se realizarem nestes órgãos (SILVA, 2013). Entretanto, alguns pesquisadores relatam que a diminuição no desenvolvimento aéreo de plantas submetidas ao estresse por alumínio pode ser um sintoma secundário advindo da limitação imposta ao sistema radicular, comprometendo a absorção e o transporte de água e nutrientes (AKAYA e TAKENAKA, 2001; HARTWIG et al., 2007), o que poderia explicar a pequena diminuição, na medida em que se aumentavam as doses de alumínio, dos resultados obtidos para as variáveis massa seca da parte aérea (Quadro 3) e altura das plantas de canola (Quadro 7).

O aumento das relações massa fresca da parte aérea e das raízes (Quadro 3) e massa seca da parte aérea e das raízes (Quadro 3) com a elevação das doses de alumínio avaliadas neste trabalho, evidencia que, de fato, a ação do alumínio se manifesta prioritariamente no sistema radicular das plantas como citado anteriormente. Atrelado a isso, observa-se que, mesmo quando expostas à condição estressora, as plantas de canola apresentaram, ao longo do tempo, crescimento linear da parte aérea (Figura 1).

Observa-se, no Quadro 3 que houve, nas folhas de canola, um pequeno aumento na atividade enzimática de superóxido dismutase o que poderia indicar que o aumento dos níveis de alumínio é responsável por causar alguma desordem oxidativa, perturbando o redox celular, e conseqüentemente elevando a produção das espécies reativas de oxigênio (ROS), que são altamente citotóxicas e dão origem a danos nas proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, causando, por exemplo, a peroxidação das membranas e a perda de íons (SCHÜTZENDÜBEL e POLLE, 2002; GUO et al., 2007).

A mesma teoria também pode ser utilizada para explicar os resultados observados com relação à atividade de superóxido dismutase nas raízes de canola (Quadro 4). Na medida em que se aumentavam as doses de alumínio, aumentava-se a atividade dessa enzima, entretanto, tal comportamento não foi manifestado para o tratamento cujas sementes foram previamente embebidas em 0,15 M de peróxido de hidrogênio. Provavelmente esta concentração de peróxido de hidrogênio pode ter induzido a ativação de mecanismos que promovem a defesa antioxidante das células vegetais, estimulando sistemas de sinalização em resposta ao estresse oxidativo provocado pelo alumínio (MULLINEAUX et al., 2000; NEILL et al., 2002; AGAWAL et al., 2005).

Os resultados obtidos com o índice de clorofila (Quadro 6), independentemente dos tratamentos utilizados durante o processo de embebição das sementes reforçam a sensibilidade das plantas de canola à toxicidade provocada pelo alumínio. Provavelmente o dano oxidativo gerado pode ter inibido a ação do ácido aminolevulínico desidratase (ALA-D), enzima sensível aos metais e catalisadora das reações que dão origem à clorofila (PEREIRA et al., 2006). A diminuição da atividade da ALA-D associada à redução do conteúdo de clorofila tem sido relatada em muitas plantas expostas a diferentes concentrações de chumbo, cádmio e mercúrio (STOBART et al., 1985). Dessa forma, a concentração reduzida de clorofila pode ser reflexa aos danos induzidos pelo alumínio na parte aérea das plantas de canola. Apesar do dano provocado, quando analisadas as diferenças entre os tratamentos prévios de embebição das sementes, observa-se que a maior concentração de peróxido de hidrogênio levou às menores perdas do pigmento clorofila, reforçando a teoria de que o peróxido de hidrogênio pode promover ação antioxidativa.

Quando as plantas são expostas a estresse, alterações no estado funcional das membranas dos tilacóides dos cloroplastos provocam mudanças nas características dos sinais de fluorescência, os quais podem ser quantificados nas folhas (RIBEIRO et al, 2003; BAKER e ROSENQVST, 2004).

Os valores da fluorescência inicial (F_0) não diferiram estatisticamente em nenhuma das doses de alumínio e concentrações de peróxido de hidrogênio avaliadas (Quadro 8). F_0 é a fluorescência quando a quinona, receptora primária de elétrons do FSII (QA), está totalmente oxidada e o centro de reação do FSII está aberto, situação iminente à ativação das reações fotoquímicas. O aumento de F_0 , quando ocorre, pode refletir na diminuição da capacidade de transferência da energia de excitação da antena para o centro de reação do FSII ou até mesmo causar danos a este centro de reação (BAKER e ROSENQVST, 2004), fato que provavelmente não aconteceu, neste trabalho, com as plantas de canola.

A fluorescência máxima (F_M) indica a intensidade máxima de fluorescência que ocorre quando praticamente toda QA está reduzida e os centros de reação são incapazes de aumentar as reações fotoquímicas, atingindo sua total capacidade (BAKER e ROSENQVST, 2004). Ou seja, eventuais decréscimos nos seus valores, oriundos de condições estressoras, podem indicar uma deficiência na fotorredução da QA, afetando diretamente o fluxo de elétrons entre os fotossistemas e reduzindo a fotossíntese

(SILVA et al., 2006); fato que provavelmente aconteceu com as plantas de canola, já que o aumento das doses de alumínio levaram a redução da F_M (Quadro 8).

A F_V/F_M é uma estimativa da eficiência quântica máxima da atividade fotoquímica do FSII, quando todos os centros de reação do FSII estão abertos (BAKER e ROSENQVST, 2004). A diminuição dessa relação, bem como a diminuição da razão F_V/F_0 (amplificadora das pequenas variações detectadas por F_V/F_M) indicam inibição na atividade fotoquímica, sendo utilizadas para detectar perturbações no sistema fotossintético causada por eventuais estresses bióticos e abióticos (KONRAD et al., 2005) mas, valores de F_V/F_M na faixa de 0,781 a 0,832 indicam que as plantas estão saudáveis, não estressadas (MAKI e COLUMBO, 2001; PERCIVAL, 2005). Ou seja, para este trabalho, mesmo havendo uma diminuição estatisticamente significativa das referidas relações com o aumento das doses de alumínio, esta não foi suficiente para indicar uma situação de estresse, uma vez que os valores obtidos se encontraram dentro da faixa numérica supracitada (Quadro 8).

Quando se observa o efeito isolado do peróxido de hidrogênio sobre as variáveis de fluorescência da clorofila *a*, é possível identificar que, para todas elas, excetuando-se a F_0 , a aplicação de 0,15 M diferiu estatisticamente do controle (concentração 0,0 M). Provavelmente, a maior concentração de peróxido de hidrogênio utilizada na embebição das sementes de canola propiciou a ativação de um aparato enzimático responsável pela defesa ao estresse oxidativo oriundo da exposição ao alumínio tóxico. KOVTUN et al. (2000) mencionam que o peróxido de hidrogênio apresenta resposta diferenciada nas plantas dependendo das concentrações em que é encontrado, podendo ativar funções de proteção e/ou imunização a diferentes condições de estresse.

CONCLUSÃO

O tratamento das sementes de canola com peróxido de hidrogênio, nas concentrações avaliadas, não foi eficiente em reduzir a sensibilidade das plantas ao alumínio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, S.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C.; TYAGI, A.; MEENA, R. C. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. **Plant Science**, v.169, p.559-570, 2005.

AKAYA, M.; TAKENAKA, C. Effects of aluminum stress on photosynthesis of *Quercus glauca* Thunb. **Plant and Soil**, v.237, p.137-146, 2001.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.13, n.2, p.158-167, 2001.

BAKER, N. R.; ROSENQVST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.55, p.1607-1621, 2004.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Anal Biochemistry**, v.44, n.1, p.276-287, 1971.

BONI, T. A.; PRIOLI, A. J.; PRIOLI S. M. A. P.; LUCIO, L. C.; MELLO, R. Inheritance of aluminum tolerance in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.9, p.147-153, 2009.

BROCH, D L; PITOL, C; RANNO, S K; BAES, I M; SILVA, O M. **Culturas oleaginosas de outono/inverno e interação lavoura pecuária como alternativas para a região sul de Mato Grosso do Sul**. Tecnologia de produção soja e milho 2008/2009. Fundação MS, p. 183-200, 2009.

CHAVARRIA, G.; TOMM, G. O.; MULLER, A.; MENDONÇA, H. F.; MELLO, N.; BETTO, M. S. Índice de área foliar em canola cultivada sob variações de espaçamento e de densidade de semeadura. **Ciência Rural**, v.41, p.2084-2089, 2011.

CLAESSEN, M. E. C. (Org.).1997. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS. 212p.

DEL LONGO, O. T.; GONZÁLES, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.

DESIKAN, R.; MARKERNESS, S. A. H.; HANCOCK, J. T.; NEILL, S. J. Regulation of the arabidopsis transcriptome by oxidative stress. **Plant Physiology**, v.127, p.159-172, 2001.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas** (Statistical Analysis Software) e planejamento de Experimentos – SISVAR 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

GUAN, L. M.; ZHAO, J.; SCANDALIOS, J. G. Cis-elements and trans-factors that regulate expression of the maize Cat1 antioxidant gene in response to ABA and osmotic stress: H₂O₂ is the likely intermediary signaling molecule for the response. **The Plant Journal**, v.22, p.87-95, 2000.

GUO, T. R.; ZHANG, G. P.; ZHANG, Y. H. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. **Colloids and Surfaces: Biointerfaces**, v.57, n.2, p.182-188, 2007.

HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; BERTAN, I.; SILVA, J. A. G.; SCHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; MAIA, L. C.; FONSECA, D. A. R.; REIS, C. E. S. Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, p.219-228, 2007.

JOO, H. J.; BAE, Y. S.; LEE, J. S. Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism. **Plant Physiology**, v.126, p.1055-1060, 2001.

KONRAD, M. L. F.; SILVA, J. A. B.; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de café sob estresse de alumínio. **Bragantia**, v.64, n.3, p.339-347, 2005.

KOVTUN, Y.; CHIU, W. L.; TENA, G.; SHEEN, J. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. **Proceedings of National Academy of Science of United States of America**, v.97, p.2940-2945, 2000.

LIMA, A. L. S.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A.; TÓTOLA, M. R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.47, p.239-247, 2002.

MAKI, D. S.; COLUMBO, S. J. Early detection of the effects of warm storage on conifer seedlings using physiological tests. **Forest Ecology and Management**, v.154, p.237-249, 2001.

MILLÉO, R.; DONI FILHO, L. Marcha de absorção de enxofre por plantas de canola. **Scientia Agraria**, v.2, p.1519-1125, 2001.

MULLINEAUX, P.; BALL, L.; ESCOBAR, C.; KARPINSKA, B.; CREISSEN, G.; KARPINSKI, S. Are diverse signalling pathways integrated in the regulation of Arabidopsis antioxidant defense gene expression in response to excess excitation energy? **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v.355, p.1531-1540, 2000.

NEILL, S.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. Hydrogen peroxide signaling. *Curr. Opin. Plant Biology*, v. 5, p. 388-395. 2002.

NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J.; GARRIDO, W. E.; ARAÚJO, J. D.; LOURENÇO, S. (Coord.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília: EMBRAPA-SEA, 1991. 189-253p.

PERCIVAL, G. C. The use of chlorophyll fluorescence and environmental stress in leaf tissue of tree oak (*Quercus*) species. **Journal of Arboriculture**, v.31, p.215-227, 2005.

PEREIRA, L. B.; TABALDI, L. A.; GONÇALVES, J. F.; JUCOSKI, J. O.; PAULETTO, M. M.; WEIS, S. N.; NICOLOSO, F. T.; BORHER, D.; ROCHA, J. B. T.; SCHETINGER, M. R. C. Effect of aluminum on daminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) and the development of cucumber (*Cucumis sativus*). **Environmental and Experimental Botany**, v.57, n.106-115, 2006.

PEREIRA, W. E.; SIQUEIRA, D. L.; MARTINEZ, C. A.; PUIATTI, M. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, p. 513-520, 2000.

PIÑEROS, M. A.; SHAFF, J. E.; MANSLANK, H. S.; ALVES, V. M.; KOCHIAN, L. V. Aluminum resistance in maize cannot be solely explained by root organic acid exudation. A comparative physiological study. **Plant Physiology**, v.137, p.231-241, 2005.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F. Early photosynthetic responses of sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.62, p.167-173, 2003.

SCHLINDWEIN, J. A.; NOLLA, A.; ANGHINONI, I.; MEURER, E. J. Redução da toxidez de alumínio em raízes de soja por culturas antecessoras no sistema plantio direto. **Agrociência**, v.9, p.85-88, 2003.

SCHÜTZENDÜBEL, A.; POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.1351- 1365, 2002.

SILVA, J. A. G.; REIS, C. E. S.; CRESTANI, M.; SOUSA, R. O.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F. Absorção de cálcio e magnésio por cultivares de aveia submetidas a níveis de toxidez por alumínio. **Semina**, v.34, p.3563-3576, 2013.

SILVA, M. M. P.; VASQUEZ, H. M.; BRESSAN-SMITH, R.; SILVA, F. C.; ERBESDOBLER, E. D. A.; JUNIOR, P. S. C. A. Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.35, n.1, p.67-74, 2006.

SIVAGURU, M.; BALUSKA, F.; VOLKMANN, D.; FELLE, H. H.; HORST, W. J. Impacts of aluminum on the cytoskeleton of the maize root apex. Short-term effects on the distal part of the transition zone. **Plant Physiology**, v.119, p.1073-1082, 1999.

STOBART, A. K.; GRIFITHS, W. T.; BUKHARI, I. A.; SHERWOOD, R. P. The effect of aluminum on the biosynthesis of chlorophyll on leaves of barley. **Plant Physiology**, v.63, p.223-228, 1985.

TALBALDI, L. A.; NICOLOSO, F. T.; CASTRO, G. Y.; CARGNELUTTI, D.; GONÇALVES, J. F.; RAUBER, R.; SKREBSKY, E. C.; SCHETINGER, M. R. C.; MORSCH V. M.; BISOGNIN, D. A. Physiological and oxidative stress responses of four potato clones to aluminum in nutrient solution. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.19, p.211-222, 2007.