

ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS DE *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. SUBMETIDAS A SALINIDADE

EINHARDT, Andersom Milech¹; RIBEIRO, Márcia Vaz¹; BENITEZ, Letícia Carvalho¹; RODRIGUES, Isabel Correa da Silva; BRAGA¹, Eugenia Jacira Bolacel¹

¹Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, andersom.m.e@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Alternanthera philoxeroides, conhecida popularmente como bredo-d'água ou erva-de-jacaré (alligator weed), é uma espécie nativa da América do Sul que apresenta em seus extratos, flavonoides glicosilados, saponinas e betalainas (PEROTTI et al., 2010). Cresce abundantemente em ecossistemas aquáticos, semi-aquáticos, terrestres e até mesmo extremamente secos, como dunas. Estudos comprovam que esta espécie é potencialmente tolerante a salinidade (GAO et al., 2007).

Uma das consequências do estresse salino nas plantas é a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais estimulam a atividade do seu aparato antioxidante para sua defesa (ESTEVES; SUZUKI, 2008), já que esses radicais (EROs), quando produzidos em excesso, podem causar peroxidação lipídica e, conseqüentemente, lesão da membrana, bem como degradação de proteínas e ácidos nucleicos (GAO et al., 2008).

As enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidases (POD), catalase (CAT), monodesidroascorbato redutase (MDHAR) e a desidroascorbato redutase (DHAR) fazem parte deste sistemas antioxidantes, eliminando as EROs (SCANDALIOS, 2005). Ao lado de outros mecanismos fisiológicos, a eficiência do sistema antioxidante aumenta a capacidade de tolerância da planta, devido à diminuição dos efeitos causados pelas EROs (GIANNAKOULA et al., 2010)

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade das enzimas antioxidantes em folhas de plantas de *A. philoxeroides* submetidas a altas concentrações de sal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *A. philoxeroides* cultivadas *in vitro* por 45 dias foram aclimatizadas em bandejas de poliestireno expandido, contendo areia lavada como substrato, e mantidas por 10 dias em câmara úmida com microaspersão. Em casa de vegetação com umidade relativa em torno de 80% e temperatura controlada (20 ± 2 °C), as plantas foram transferidas para vasos de plástico com capacidade de 2 litros, com o mesmo substrato. Foi aplicada solução nutritiva de Hoagland completa (HOAGLAND; ARNON, 1938) a cada dois dias. Decorridos 10 dias a solução nutritiva foi suspensa e iniciada a aplicação da solução salina nas concentrações: 0, 200 e 400 mM de NaCl, em um volume de 100 mL por vaso. As soluções salinas foram aplicadas em intervalos de quatro dias consecutivos, seguidos de um dia com água. Após 45 dias de estresse, as plantas foram coletadas e as folhas separadas e lavadas em água destilada para posterior análise. Para determinar a atividade das enzimas antioxidantes, 200 mg de folhas foram macerados em nitrogênio líquido

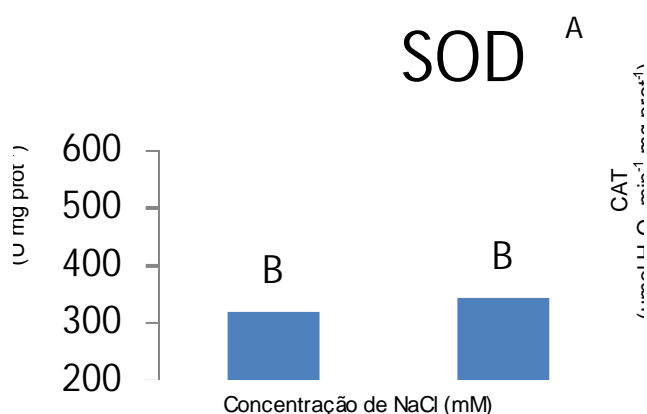
acrescido de 20% de PVPP (Polivinilpolipirrolidona) e homogeneizados em 1,5 mL de tampão de extração (Fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM). O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 g por 10 min a 4°C e o sobrenadante coletado para analisar a atividade específica das enzimas superóxido dismutase (SOD), segundo metodologia descrita por Giannopolitis; Reis (1977), catalase (CAT), de acordo com Azevedo et al. (1998), com pequenas modificações e ascorbato peroxidase (APX), conforme Nakano; Asada (1981).

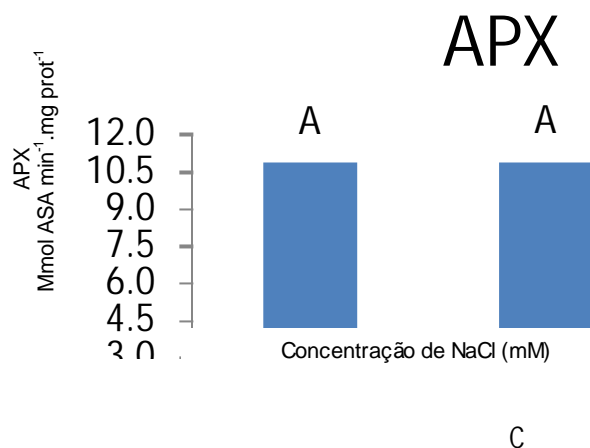
O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada uma composta de quatro observações. Para as análises enzimáticas foram utilizadas três amostras de cada tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa WinStat (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que para as plantas sob condições de estresse salino, a superóxido dismutase (SOD) apresentou um aumento significativo de sua atividade com o aumento da salinidade (Figura 1A). O mesmo pôde ser verificado com a catalase (CAT) (Figura 1B), porém ocorreu um decréscimo a partir da concentração de 200 mM. Já a ascorbato peroxidase (APX) (Figura 1C) apresentou um aumento menos expressivo de sua atividade, não atingindo uma diferença significativa entre as concentrações de NaCl testadas.

O aumento da atividade da SOD deve-se ao fato desta enzima ser a primeira a atuar no sistema antioxidante, realizando a dismutação do radical superóxido (O_2^-) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Como seu produto, o H_2O_2 é também um radical livre e seu acúmulo é tão prejudicial quanto o superóxido. O aumento significativo da atividade da enzima CAT, com o aumento da salinidade é justificado, pois esta é a enzima chave envolvida na remoção de peróxidos tóxicos nas células quando estes estão em altas concentrações, pois apresenta baixa afinidade pelo H_2O_2 . Já a APX, outra importante enzima do sistema de defesa antioxidante, não apresentou aumento significativo de sua atividade, demonstrando que esta enzima tem sua atividade aumentada apenas em concentrações menores de H_2O_2 devido sua alta afinidade pelo H_2O_2 (MITTLER, 2002).





4 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o estresse salino aumenta a produção de EROs nas folhas de *Alternanthera philoxeroides*, porém as enzimas antioxidantes atuam de forma eficiente na sua eliminação permitindo uma maior tolerância destas plantas a esse estresse.

5 REFERÊNCIAS

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v.104, p.280-292, 1998.

ESTEVES, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia brasiliensis**, v. 12, p. 662-679, 2008.

GAO, J.; QUANG, X.; YIN, L.; HE, G. Isolation of cDNA clones for genes up-regulated in drought-treated *Alternanthera philoxeroides* root. **Journal Molecular Biology Reports**, v.35, n.3, p.485-488, 2007.

GAO, J.; XIAO, Q.; DING, L.; CHEN, M.; YIN, L.; LI, J.; ZHOU, S.; HE, G. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in *Alternanthera philoxeroides* and *Oryza sativa* subjected to drought stress. **Journal of Plant Growth Regul**, v.56, n.1, p. 89-95, 2008.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; SYRUS, T.; YUPSANIS, T. Aluminum stress induces up-regulation of an efficient antioxidant system in the Al-tolerant maize line but not in the Al-sensitive line. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, p. 487-494, 2010.

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

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experimental Station**. Circ. n.347, 1938.

MACHADO, A.; CONCEIÇÃO, A. R. Programa Estatístico WinStat – Sistema de Análise Estatístico para Windows. Versão 2.0. Pelotas: UFPEL, 2002.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Plant Science**, v.7, n.9, p.405-410, 2002.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

PEROTTI, J. C.; RODRIGUES, I. C. S.; KLEINOWSKI, A. M.; RIBEIRO, M. V.; EINHARDT, A. M.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A.; BRAGA, E. J. B. Produção de betacianina em erva-de-jacaré cultivada *in vitro* com diferentes concentrações de sulfato de cobre. **Ciência Rural**, v. 40, n. 9, 2010.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 995-1014, 2005.