

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

RIBEIRO, Márcia Vaz¹; BENITEZ, Letícia Carvalho¹; EINHARDT, Andersom Milech¹; SERPA, Daniel Passos¹; DEUNER, Sidnei²; BRAGA¹, Eugenia Jacira Bolacel¹

¹Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, PPGFV, marciavribeiro@hotmail.com

²Laboratório de Metabolismo Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, PPGFV, sdeuner@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb., popularmente conhecida como erva-de-jacaré, é uma planta medicinal que se desenvolve em formações pioneiras do tipo restinga, geralmente em terrenos arenosos recentes, com algum teor salino (BLUM, 2008). Sendo assim, esta espécie pode ser considerada uma planta potencialmente tolerante a salinidade (GAO et al., 2007). O excesso de sal no solo aumenta consideravelmente a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas que, para proteger suas membranas celulares e organelas dos efeitos danosos desses radicais ativam um sistema de defesa antioxidante (DEUNER, 2007). Esse sistema formado por enzimas antioxidantes, reduzem de forma eficiente as EROs sob circunstâncias normais, mas, se a redução completa não ocorrer em condições de produção aumentada, o resultado pode ser um estado de estresse levando à oxidação de biomoléculas, tais como lipídios, proteínas e DNA. Estes eventos podem desencadear inativação dos componentes celulares acelerando o processo de morte celular (BUCKNER et al., 2000). Neste sentido, o sistema de defesa antioxidativo tem papel fundamental na aquisição de tolerância pelas plantas. Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade das enzimas antioxidantes em raízes 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 permaneceram 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 para 2 litros, com o mesmo substrato. Durante este período 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: zero, 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 e após 45 dias de estresse, as plantas foram coletadas e as raízes separadas e lavadas em água destilada para posterior análise. Para determinar a atividade das enzimas antioxidantes, 200 mg de raízes 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 efeitos dos tratamentos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%, utilizando-se o programa WinStat (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Verificou-se que para as plantas sob condições de estresse salino, a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) apresentaram o mesmo comportamento, com um aumento significativo de sua atividade com o aumento da salinidade. Já a Ascorbato Peroxidase (APX) apresentou um aumento menos expressivo de sua atividade, não atingindo uma diferença significativa entre as concentrações de NaCl testadas (Figura 1).

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).

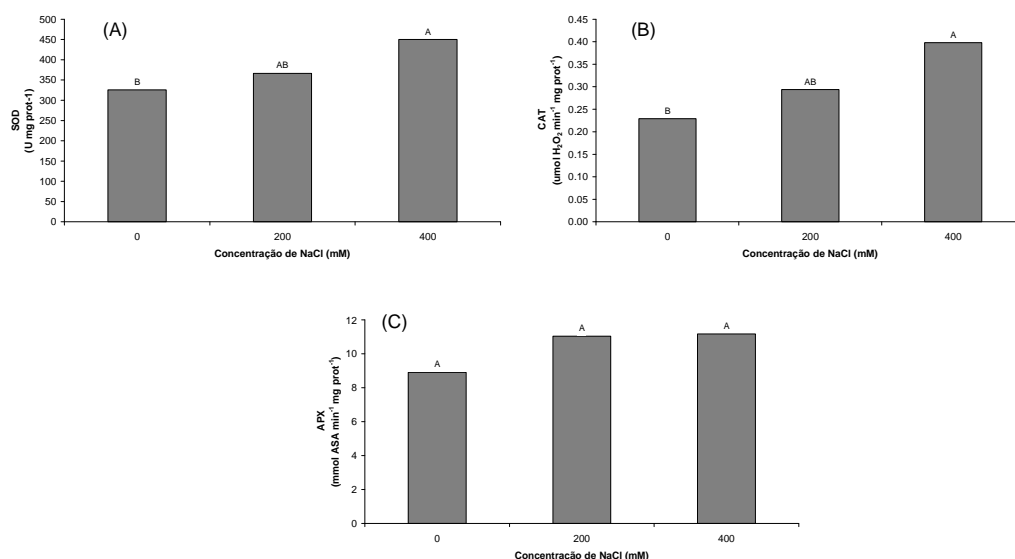


Figura 1- Atividade das enzimas SOD (A), CAT (B) e APX (C) em plantas de *Alternanthera philoxeroides*, submetidas a diferentes concentrações de NaCl. Colunas seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

4 CONCLUSÕES

O estresse salino aumenta a produção de EROs nas raízes 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.

BACCOUCH S, CHAOUI, A.; EL FERJANI, E. Nickel toxicity induces oxidative damage in *Zea mays* roots. **Journal of Plant Nutrition**, v.24, p.1085–1097, 2001.

BLUM, C. T. Lista Preliminar de Espécies Vegetais da Formação Pioneira de Influência Marinha (Restinga) no Paraná - versão 2008. **FLORAPARANÁ, Sociedade Chauá**. Disponível em www.chaua.org.br/restinga, acessado em 26/07/2010.

BUCKNER, B.; JOHAL, G. S.; JANICK-BUCKNER, D. Cell death in maize. **Physiology Plant**, v.108, p.231-239, 2000.

DEUNER, S. Sistemas antioxidantes em mudas de cafeeiro sob condições de déficit hídrico, 2007. (Doutorado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal) – Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 22/06/2007.

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.

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.