

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE COMO ESTRATÉGIA DE TOLERÂNCIA À SECA EM *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith (BIGNONIACEAE)

Arthur G. L. Silva^{1*}, Natália S. Souza¹, Janyne J. D. Ventura², Jayne S. Santos³, Lennon K. S. Silva⁴, Gilberto C. Justino⁵

1. Mestrando(a) Pós-Grad Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos - UFAL

2. Graduando em C. Biológicas no Inst. de C. Biológicas e da Saúde (ICBS) - UFAL

3. Mestra em Ciências Biológicas - UFAL

4. Doutorando Pós-Grad em Produção Vegetal - UFAL

5. Professor do ICBS - UFAL – Departamento de Botânica/Orientador

Resumo

No intento de verificar se *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith utiliza o sistema antioxidante como estratégia de tolerância à seca, foi avaliada a atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e L-ascorbato peroxidase (APX), como também os níveis de peroxidação lipídica (MDA) em plantas jovens desta espécie sob estresse hídrico severo, em condições de casa de vegetação. Os resultados foram comparados com os obtidos em plantas controle através do teste *T* ($P < 0,05$) e submetidos à correlação de Pearson. Foi constatado o aumento da atividade das enzimas antioxidantes avaliadas (SOD 60%, CAT 65% e APX 57%) e da peroxidação lipídica (32%) em função do estresse hídrico. Apenas as atividades da APX e da CAT estiveram correlacionadas ao teor de MDA nas plantas estressadas, provavelmente devido à severidade do estresse. Em conclusão, o incremento da atividade antioxidante, sobretudo da CAT e APX, é utilizado como estratégia de tolerância à seca por *T. roseoalba*.

Autorização legal: SisGen – AF9C05E.

Palavras-chave: Espécies reativas de oxigênio; Fotossistema II; Estresse hídrico.

Apoio financeiro: FAPEAL.

Introdução

A vegetação da Floresta tropical sazonalmente seca (FTSS) enfrenta períodos de estresse hídrico devido às características semiáridas da região, como temperatura e níveis de radiação elevados e precipitação escassa e má distribuída. A combinação destes fatores resulta em elevadas taxas evapotranspiratórias e no ressecamento do solo durante a maior parte do ano. Frente a isto, muitas plantas nativas de regiões como esta, que experimentam o déficit hídrico, adquiriram, ao longo do tempo evolutivo, adaptações para tolerar os períodos de seca (MORO et al., 2015).

O estresse hídrico pode causar o desequilíbrio entre a produção e a eliminação das espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas pelo metabolismo normal da planta e controlados pela atividade antioxidante basal. Assim, pode ocorrer a produção exacerbada de EROs devido, por exemplo, à Reação de Mehler ou à fotoinibição, causando efeitos deletérios, como a peroxidação lipídica (SHARMA et al., 2012).

O aumento da atividade enzimática antioxidante é tido como uma das estratégias de tolerância ao estresse por deficiência hídrica (NUNES et al., 2017). Dentre as enzimas mais estudadas na avaliação da atividade antioxidante estão a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a L-ascorbato peroxidase (APX). A SOD, primeira na linha de defesa contra as EROs, dismuta o $O_2^{\cdot-}$ em O_2 e H_2O_2 . A CAT decompõe o H_2O_2 em H_2O e O_2 , e é a única enzima a eliminar H_2O_2 sem a necessidade de poder redutor. Contudo, outra enzima que também atua sobre o H_2O_2 , a APX, tem uma maior afinidade com seu substrato (NOUNJAN et al., 2018).

Tabebuia roseoalba (Ridl.) Sandwith possui distribuição disjunta ao longo das áreas de FTSSs da América do sul (MELO et al., 2016). Devido sua adaptação a ambientes secos, esta espécie é recomendada para a restauração ecológica (LORENZI, 1992). Apesar de seus usos e potencialidades, pouco se sabe sobre suas estratégias de tolerância à seca.

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo verificar se *T. roseoalba* utilizaria o aumento da atividades das enzimas antioxidantes como estratégia de tolerância ao estresse por déficit hídrico.

Metodologia

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas, em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 10 repetições cada.

Vinte plantas de *T. roseoalba* com cerca de dois anos de idade foram obtidas do Instituto de Preservação da Mata Atlântica (IPMA, Rio Largo) e transferidas para vasos preenchidos com 20 kg de solo oriundo do CECA. Após 30 dias de aclimação às condições da casa de vegetação, as plantas foram divididas em dois tratamentos: (1) controle, cujas plantas foram mantidas em solo em capacidade de campo; e (2) estresse, submetido através da suspensão da rega até que fossem verificadas taxas fotossintéticas próximas a zero, o que ocorreu ao 15º dia

(Figura 1a e Figura 2).

Durante o experimento foram registrados os dados microclimáticos do interior da casa de vegetação através de um estação meteorológica (Delta-T Devices, Cambridge, England). As médias durante o período do experimento foram: 27,3 °C de temperatura, 79% de umidade do ar e 484,6 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação solar.

O acompanhamento diário das taxas fotossintéticas foi realizado entre as 8:00 e 10:00 horas, em uma das folhas do primeiro par de folhas completamente expandidas, através de um analisador portátil de CO_2 à infravermelho (LI-COR, Lincoln, USA) com as especificações: densidade de fluxo de fótons de 2000 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$, estabelecida com o auxílio de uma curva de luz, CO_2 de referência de 500 ppm e temperatura de 27 °C. A umidade do solo também foi medida diariamente através dos sensores SM 150 e HH2 (Marconi, Piracicaba, Brasil) (Figura 1b).

Figura 1. Médias diárias de: (a) taxa fotossintética e (b) umidade do solo das plantas de *T. rosealba* sob dois tratamentos durante o experimento. N = 10.

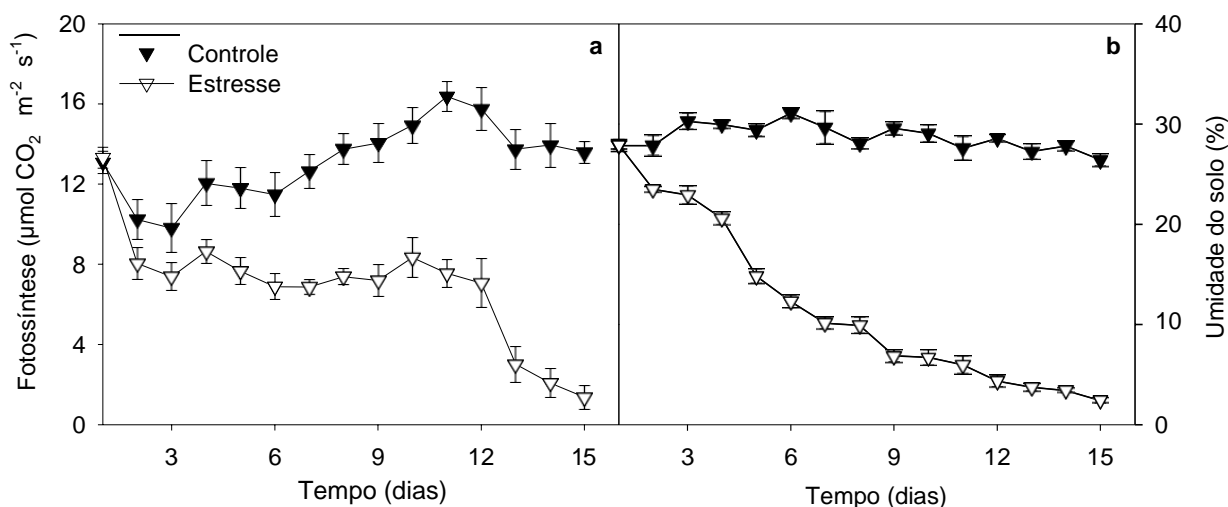


Figura 2. Aspecto das plantas de *T. rosealba* sob dois tratamentos hídricos ao 15º dia do experimento.



No dia do estresse máximo (15º dia) foi realizada a coleta de material foliar para as análises bioquímicas e enzimáticas. A atividade da enzima SOD (EC 1.15.1.1) foi determinada de acordo com o método descrito por Giannopolitis e Ries (1977). A atividade da CAT (EC 1.11.1.6) foi determinada de acordo com Haver e McHale (1987). A atividade APX (EC 1.11.1.11) foi determinada de acordo com Nakano e Asada (1981). A dosagem de proteínas, necessária para os cálculos das atividades das enzimas supramencionadas, foi realizada de acordo com Bradford (1976). A peroxidação lipídica foi quantificada pelo teor de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e expressa em equivalentes de malondialdeído (MDA), segundo Cakmak e Horst (1991).

Os resultados foram comparados pelo teste *T* ($P < 0,05$) através do software *R*. Para investigar a relação entre as variáveis em cada tratamento foi utilizado o Coeficiente de correlação de Pearson, através do software *SigmaPlot*® versão 11.0. Os gráficos foram elaborados com o auxílio do software *SigmaPlot*® versão 11.0.

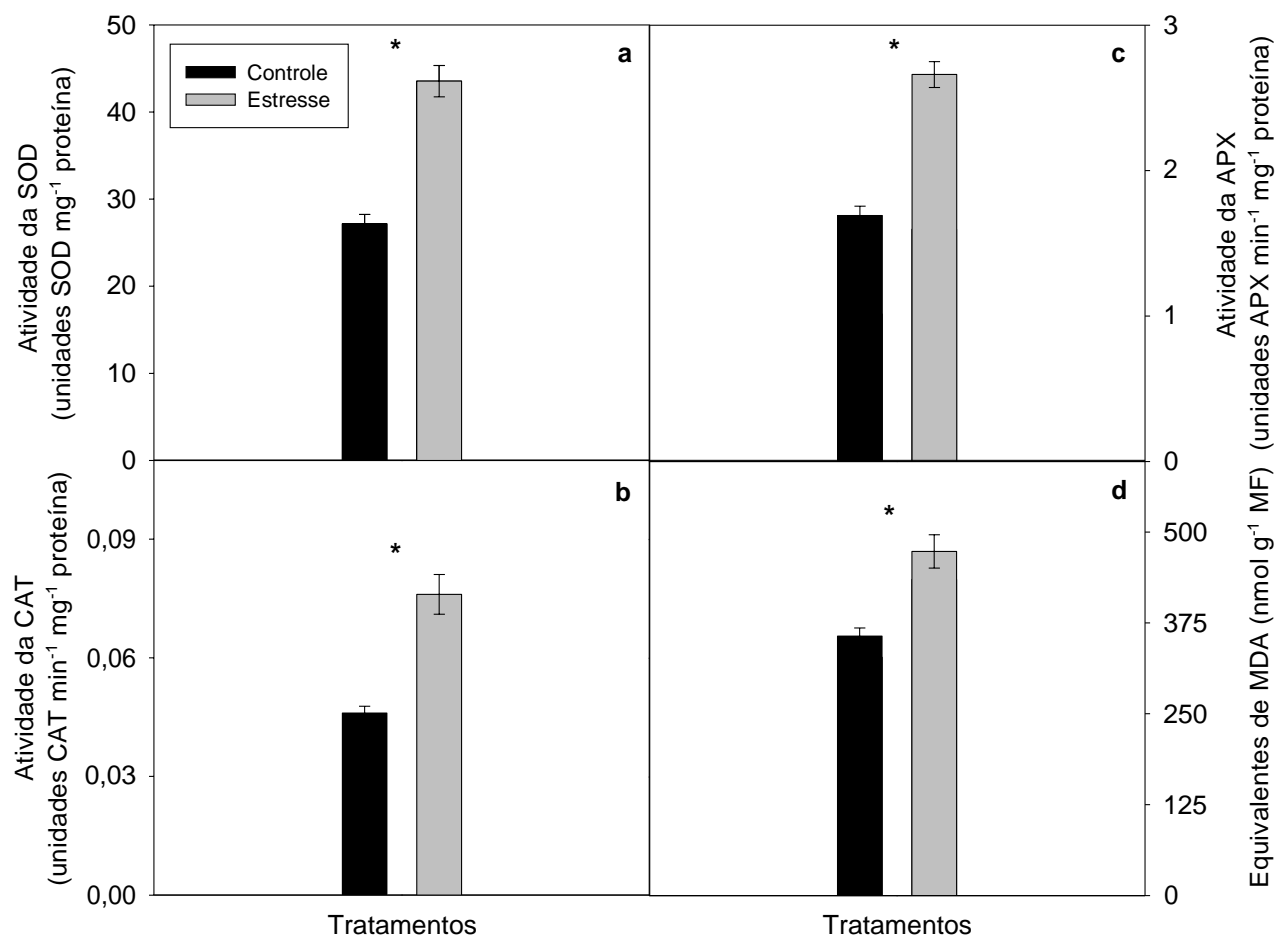
Resultados e Discussão

Foi constatado aumento da atividade das enzimas antioxidantes em função do estresse por déficit hídrico. A atividade da SOD aumentou cerca de 60% (Figura 3a). De maneira similar à SOD, foi verificado o incremento de cerca de 65% na atividade da CAT (Figura 3b) e de cerca de 57% na atividade da APX (Figura 3c).

Como esperado, houve incremento nos níveis de peroxidação lipídica como consequência do estresse. Nas plantas sob déficit hídrico foi verificado um aumento de cerca de 32% no conteúdo de MDA em relação as

plantas do tratamento controle (Figura 3d).

Figura 3. Atividade das enzimas: (a) SOD, (b) CAT e (c) APX, e (d) teor de equivalentes de MDA em plantas de *T. roseoalba* sob dois tratamentos. "***" Indica diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste T; N = 10.



Nas plantas do tratamento controle a atividade da SOD esteve correlacionada negativamente com o teor de MDA (Tabela 1).

Em plantas estressadas, as enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX estiveram positivamente correlacionadas entre si (Tabela 1). Nas plantas deste tratamento ainda foi constatada a correlação negativa entre a atividade das enzimas CAT e APX, e o conteúdo de MDA (Tabela 1).

Tabela 1: Correlação de Pearson entre a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX, e o teor de equivalentes de MDA em plantas de *T. roseoalba* sob dois tratamentos: controle (acima da diagonal) e estresse por déficit hídrico (abaixo da diagonal).

| Variáveis | SOD | APX | CAT | MDA |
|-----------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| SOD | --- | 0,21 | -0,29 | -0,68* |
| APX | 0,64* | --- | -0,54 | 0,44 |
| CAT | 0,90** | 0,84** | --- | -0,19 |
| MDA | -0,51 | -0,97** | -0,76** | --- |

(*) Significante a 5% ($P < 0,05$) e (**) significante a 1% ($P < 0,01$); N = 10.

As EROs são mantidas em baixas concentrações pelo balanço entre sua produção e eliminação, pela atividade do sistema antioxidante (NOUNJAN et al., 2018). Através da correlação verificada entre a atividade da enzima SOD e o conteúdo de MDA nas plantas do tratamento controle, pode ser sugerido que a SOD tem uma função chave para equilíbrio da concentração basal das EROs em *T. roseoalba*. Estudos realizados por outros autores como Bowler et al. (1992) e Sharma et al. (2012) corroboram com esta linha de pensamento, e apontam que a SOD é a primeira linha de defesa contra EROs e está presente na maioria dos compartimentos celulares onde as EROs são produzidas.

A elevação acentuada na atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX verificada nas plantas estressadas provavelmente está relacionada ao desequilíbrio entre a produção e eliminação das EROs (NOUNJAN et al., 2018), como verificado por Cerqueira et al. (2015), que constatou o aumento na produção de H₂O₂ em plantas em consequência do estresse por déficit hídrico. O incremento da atividade antioxidante também

foi verificado em outros estudos utilizando plantas cultivadas, como o de Prajapat et al. (2018), e também espécies arbóreas como *Schinus terebinthifolia* Raddi, (NUNES et al., 2017), que, como *T. roseoalba*, também passam por períodos de estresse por déficit hídrico em seu ambiente natural.

Os resultados obtidos são indicativos de que *T. roseoalba* utiliza a elevação na atividade das enzimas SOD, CAT e APX, como uma estratégia na tentativa de aliviar os danos causados pela ação nociva das EROs ao seu metabolismo durante o estresse.

O fato que apenas a atividade das enzimas CAT e APX possuíram correlação com os níveis de peroxidação lipídica nas plantas sob estresse está de acordo com o estudo de Barbosa et al. (2014), que aponta que a CAT e a APX são os principais componentes antioxidantes durante o estresse severo, quando os níveis de H₂O₂ estão relativamente altos.

Apesar do incremento verificado na atividade da SOD, sua ação não foi suficiente para que fosse detectada uma correlação com os teores de MDA, provavelmente devido à severidade do estresse. Segundo Barbosa et al. (2014) o substrato da SOD, o O₂⁻, pode sofrer dismutação espontânea e, ainda, desativar enzimas que contêm metal, como a própria SOD, quando em altas concentrações.

Conclusões

T. roseoalba investe no incremento da atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX, como estratégia de tolerância ao estresse por déficit hídrico. Dentre estas enzimas, a CAT e APX provavelmente desempenham um papel de destaque quando o estresse se torna severo.

Referências bibliográficas

- BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciênc Rural**. Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, mar. 2014.
- BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol**. Palo Alto, vol. 43, p. 83-116, jun. 1992.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**. [S.l.], vol. 72, p. 248-254, mai. 1976.
- CAKMAK, I.; HORST, J. H. Effects of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiol Plant**. Copenhagen, vol. 83, p. 463-468, nov. 1991.
- CERQUEIRA, R. C. et al. Fisiologia e metabolismo foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação. **Rev Bras Ciênc Agrár**. Recife, vol. 10, n. 2, p. 211-217, abr. 2015.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiol**, [S.l.], vol. 59, n. 2, p. 309-314, fev. 1977.
- HAVIR, E. A.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiol**. [S.l.], vol. 84, n. 2, p. 450-455, jun. 1987.
- LORENZI, Harri. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. vol. 1, 5ª ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992, p. 69.
- MELO, W. A. et al. Coalescent simulation and paleodistribution modeling for *Tabebuia roseoalba* do not support south american dry forest refugia hypothesis. **PLoS ONE**. [S.l.], vol. 11, n. 7, ID: e0159314, jul. 2016.
- MORO, M. F. et al. The role of edaphic environment and climate in structuring phylogenetic pattern in seasonally dry tropical plant communities. **PloS One**. [S.l.], vol. 10, n. 3, ID: e0119166, mar. 2015.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiol**. Kyoto, vol. 22, n. 5, p. 867-880, ago. 1981.
- NOUNJAN, N. et al. High performance of photosynthesis and osmotic adjustment are associated with salt tolerance ability in rice carrying drought tolerance QTL: physiological and co-expression network analysis. **Front Plant Sci**. Lausanne, vol. 9, ID: 1135, ago. 2018.
- NUNES, D. P. et al. Photosynthetic and enzymatic metabolism of *Schinus terebinthifolius* Raddi seedlings under water deficit. **Ciênc Agrotec**. Lavras, vol. 41, n. 6, p. 676-682, nov./dez. 2017.
- PRAJAPAT, P. et al. Effect of water stress on antioxidative enzymes and glycine betaine content in drought tolerant and drought susceptible cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes. **Indian J Biochem Bio**. New Delhi, vol. 55, p. 198-204, jun. 2018.
- SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **J Bot**. London, vol. 2012, ID: 217037, jan. 2012.