

DANOS OXIDATIVOS EM PLANTAS DE *Erythrina crista-galli* L. SOB CONDIÇÕES DE ALAGAMENTO

WINHELMANN, M. C.¹; LARRÉ, C. F.¹; PETERS, J. A.^{1,2}

¹ Laboratório de Cultura de Tecidos, UFPel, Instituto de Biologia, Depto. Botânica, Campus Universitário S/N. Capão do Leão, RS. CEP: 96160-000 – marawinheilmann@yahoo.com.br

²Professor orientador – japeters1@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A *Erythrina crista-galli* L., popularmente conhecida como Corticeira-dobanhado, é uma árvore de porte médio, pertencente à família Fabaceae, conhecida, especialmente, pela coloração vibrante de suas flores. A corticeira está listada como planta imune ao corte, pelo CONAMA, tamanha é a devastação do seu habitat natural e devido a sua importância na restauração de mata ciliar e recuperação de ecossistemas degradados em locais com inundação periódica e de rápida duração (BACKES; IRGANG, 2002).

A capacidade das espécies de se mostrarem adaptadas a períodos de encharcamento ou inundação do solo pode ser atribuída a mecanismos de adaptação morfo-anatômicos, fisiológicos e bioquímicos (ISHIDA et al., 2002). Dependendo da espécie, da velocidade de encharcamento do solo, da altura da lâmina d'água e do tempo de submersão, esses mecanismos podem ser mais evidentes, favorecendo a sobrevivência das plantas nestes ambientes (ISHIDA et al., 2002). O excesso de água diminui a difusão de gases reduzindo a disponibilidade de oxigênio no solo e, consequentemente, para o sistema radicular das plantas. Essa depleção na disponibilidade de oxigênio sinaliza para um estresse abiótico fazendo, desta forma, com que a planta altere o seu metabolismo normal (DAT et al., 2004).

Espécies reativas de oxigênio (EROs), como o radical superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são continuamente produzidas em cloroplastos, mitocondrias e peroxissomos durante o metabolismo normal da planta. Entretanto, a produção e remoção destas EROs são extremamente controladas (MITTLER, 2002). O equilíbrio entre a produção aumentada de EROs e a capacidade de acionar rapidamente o sistema de defesa antioxidante vai refletir na resposta da planta ao estresse e, consequentemente, na sua adaptação à condição adversa proporcionada pelo alagamento (MITTLER, 2002).

O objetivo do trabalho foi determinar o nível de estresse ocasionado por diferenças nas condições hídricas, em plantas de *Erythrina crista-galli* L., através da avaliação dos danos às membranas celulares.

2. METODOLOGIA

Plantas oriundas de sementes foram cultivadas em vasos de 0,5 litros em casa de vegetação e transferidas para vasos de cinco litros. Foram utilizados dois tratamentos: plantas alagadas na raiz com a manutenção de uma lâmina de água de até 3cm acima do solo e plantas não alagadas (controle). As avaliações foram realizadas aos 10, 20, 30, 40 e 50 dias após a indução dos tratamentos. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e analisados por comparação de médias pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

O Conteúdo de Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e Peroxidação Lipídica foram determinados em aproximadamente 500mg de matéria fresca de folhas e de raízes. Os tecidos foram macerados em N_2 acrescido de 20% de polivinilpolypirrolidona (PVPP) e 2mL da solução de extração contendo ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. O homogenato foi centrifugado a 12.000g, durante 20 minutos e o sobrenadante obtido transferido para *eppendorf* de 2mL.

A quantificação de peróxido de hidrogênio foi determinada de acordo com VELIKOVA et al. (2000). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 390nm e a concentração de H_2O_2 expressa em μmol de $H_2O_2 \text{ g}^{-1}$ MF.

A peroxidação lipídica foi determinada por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme descrito por CAKMAK; HORST (1991). O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o malonodialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação, que podem ser determinados em espectrofotômetro, a 535nm e 600nm. A peroxidação foi expressa em μmol de MDA g^{-1} MF.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto ao conteúdo de H_2O_2 em tecidos foliares, foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Fig. 1A). Durante o período avaliado, as plantas alagadas apresentaram valores superiores aos observados para as plantas controle, sendo que a diferença mais acentuada ocorreu aos 10 dias, onde o conteúdo de H_2O_2 foi 35% superior nas plantas alagadas (1A). Para o grau de peroxidação lipídica, foi evidenciado um decréscimo durante os períodos avaliados para ambos os tratamentos. No entanto, as plantas submetidas ao alagamento apresentaram maior grau de peroxidação lipídica do que as plantas controle durante todo o experimento, em média 60% superiores (Fig.1B).

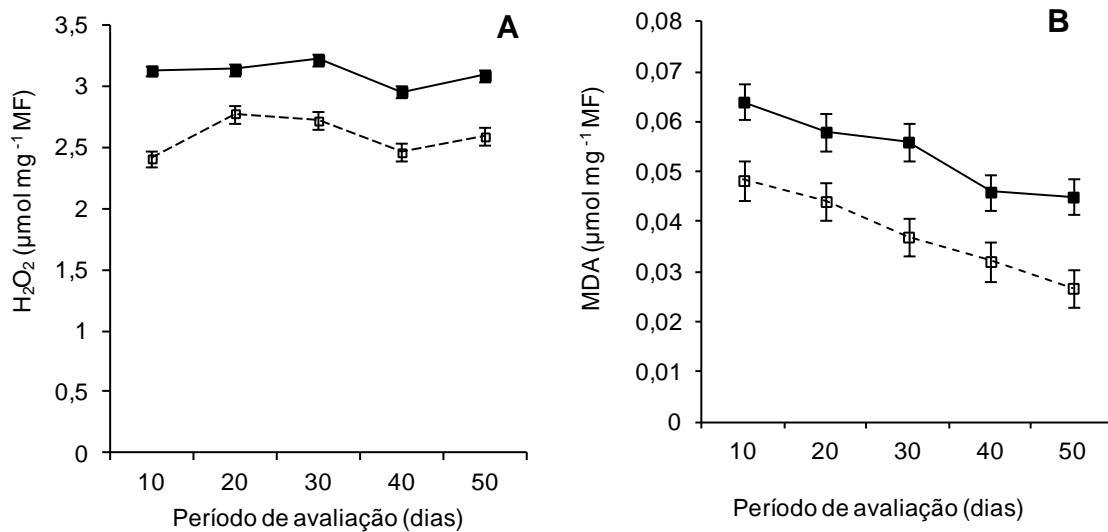


Figura 1. Conteúdo de H_2O_2 (A) e de MDA (B) em folhas de plantas de corticeira do banhado submetidas ao estresse por alagamento-E (■) e plantas controle-C (□). Barras representam o erro padrão da média de quatro repetições.

Os resultados obtidos para a quantificação dos teores de H_2O_2 nos tecidos radiculares mostraram valores mais elevados aos 10 dias, período em que as plantas alagadas apresentaram níveis significativamente superiores as plantas do tratamento controle. A partir deste período houve redução nos teores de H_2O_2 , os

quais não diferiram entre os tratamentos (Fig. 2A). Para a peroxidação de lipídios, nas raízes o comportamento foi muito semelhante ao observado nas folhas, com diferença significativa entre os tratamentos em todos os períodos avaliados, sendo os maiores valores observados para as plantas alagadas (Fig. 2B).

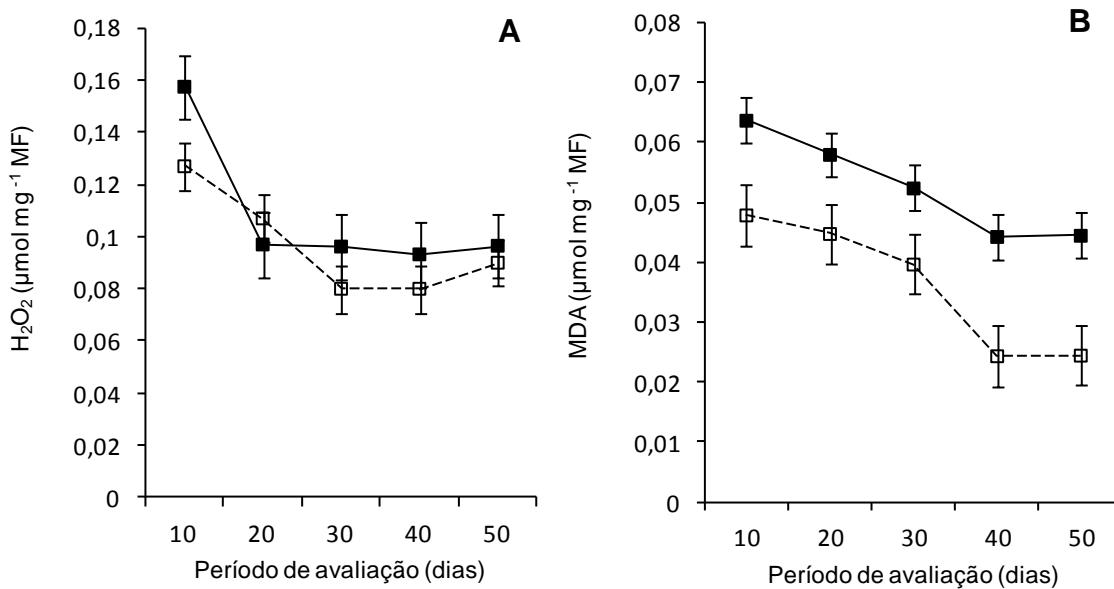


Figura 2. Conteúdo de H_2O_2 (A) e de MDA (B) nas raízes principais de plantas de corticeira do banhado submetidas ao estresse por alagamento-E (■) e plantas controle-C (□). Barras representam o erro padrão da média de quatro repetições.

Nos últimos anos tem-se dado mais atenção aos danos celulares oxidativos causados pela exposição das raízes ao alagamento, condição em que a fosforilação oxidativa é reduzida ou paralisada em razão da deficiência de oxigênio (BLOKINA et al., 2003). Uma limitação na molécula de O_2 faz com que a adição de elétrons ocorra por meio de reações sequenciais de redução univalente formando os radicais conhecidos como EROs (SCANDALIOS, 2002).

Em plantas, sob condições de hipoxia ou anoxia no solo, ocorre um aumento na produção de EROs, as quais podem causar danos oxidativos em diferentes partes das plantas (VERMA; DUBEY, 2003). O H_2O_2 , que é a forma protonada do íon peróxido, não é um radical livre, pois não possui qualquer elétron não pareado. No entanto, o H_2O_2 tem uma grande importância nos sistemas biológicos pela facilidade de difusão através da camada bilipídica da membrana celular e por sua capacidade de gerar o radical OH^\bullet na presença de metais divalentes (SCANDALIOS, 2002). A reação desses radicais com lipídios é capaz de desencadear uma cascata de reações culminando na peroxidação de lipídios das membranas. Alterações na estrutura e nas funções das membranas, resultante da peroxidação de lipídios, são também caracterizados sob estresse por alagamento e podem resultar em danos ao funcionamento celular (MITTLER et al., 2004). Os mecanismos requeridos é que vão determinar o grau de tolerância de cada espécie a esta condição.

Os ácidos graxos poliinsaturados presentes na membrana são altamente sensíveis ao ataque do radical hidroxila (OH^\bullet). Logo, a peroxidação lipídica mediada, pela ação de radicais livres, pode ser utilizada como indicador da prevalência do estresse oxidativo (KAPPUS, 1985). Neste estudo, a eficiente atuação de enzimas antioxidantes nas raízes (dados não apresentados) evitou o aumento dos níveis de H_2O_2 e, consequentemente, na redução da peroxidação de lipídios de membranas, avaliado pela formação de MDA (Fig. 2 A e B).

4. CONCLUSÕES

O alagamento, durante o período estudado, não compromete as plantas de *Erythrina crista-galli* L., visto que estas são capazes de acionar mecanismos adaptativos, que reduzem os danos celulares oxidativos, provocados no início do alagamento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul** : guia de identificação & interesse ecológico – as principais espécies nativas sul-brasileiras. Instituto Souza Cruz, Rio de Janeiro, 2002, 322p.
- BLOKINA, O.; VIROLAINEM, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v. 9, p. 179-194. 2003.
- CAKMAK, I.; HORST, W.J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v.83, n.3, p.463-468, 1991.
- DAT, J.F.; CAPELLI, N.; FOLZER, H.; BOURGEADE, P.; BADOT, P.M. Sensing and signaling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 273-282, 2004.
- ISHIDA, F.; OLIVEIRA, L.E.M.; CARVALHO, C.J.R.; ALVES, J.D. Efeitos da inundação parcial e total sobre o crescimento, teor de clorofila e fluorescência de *Setaria anceps* e *Paspalum repens*. **Ciência e agrotecnologia**, v.26, n.6, p.1152-1159, 2002.
- KAPPUS, H. Lipid peroxidation: Mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance. In: Sies H (ed), **Oxidative stress**, Academic Press, London, 1985, p.273-310.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n.9, p.405-410, 2002.
- MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, v.9, p.490-498. 2004.
- SCANDALIOS, J.G. The rise of ROS. **Trends in Biochemical Science**, v.27, n. 9, p.483-486, 2002.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. **Plant Science**, v.151, p.59-66, 2000.
- VERMA, S.; DUBEY, R.S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. **Plant Science**, v.164, p.645-655, 2003.