

## ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM PLANTAS DE *Amaranthus cruentus*, cv. BRS ALEGRIA, SUBMETIDAS À ELICITAÇÃO

GABRIELE ESPINEL<sup>1</sup>; VICTORIA SCHMITZ<sup>2</sup>; WILLIAN SILVA BARROS<sup>3</sup>  
ALÍTCIA MORAES KLEINOWSKI<sup>4</sup>; EUGENIA JACIRA BOLACEL BRAGA<sup>5</sup>; SIDNEI  
DEUNER<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabriele.esp@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – victorianschmitz@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – wsbarros@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – amk\_bio@hotmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – jacirabraga@hotmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – sdeuner@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

Plantas de amaranto (*Amaranthus* spp., família Amaranthaceae, ordem Caryophyllales) apresentam compostos bioativos como ácido linoleico, taninos, alcaloides, flavonoides e betalaínas os quais detêm propriedades medicinais, possuindo atividades analgésicas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes, antimaláricas e antitumorais, dentre outras (KUMAR et al., 2014). Esses compostos são amplamente empregados como corantes em alimentos, fármacos e cosméticos, sendo muito requeridos devido às preocupações dos consumidores sobre alternativas aos sintéticos e também pela atividade biológica que apresentam (STINTZING; CARLE, 2007).

Porém, o baixo rendimento destes compostos é o principal entrave para atender à demanda produtiva. Nesse contexto, o aumento de fitoquímicos por elicitação surge como uma das estratégias encontradas para suprir a exigência comercial, constituindo o método mais eficaz para aumentar a produção dessas substâncias (THAKUR et al., 2018). Quando aplicado, o elicitor induz ou aprimora a biossíntese de determinada molécula (RADMAN et al., 2003).

É vasto o número de estudos relativos aos efeitos dos elicitores sobre o metabolismo secundário, contudo são escassas as pesquisas capazes de elucidar respostas relativas ao comportamento do metabolismo primário frente aos mesmos. Assim, o presente trabalho objetiva avaliar a atividade de enzimas antioxidantes e a peroxidação lipídica em plantas de *A. cruentus* elicitadas com os fitohormônios metil jasmonato (MeJa) e ácido salicílico (AS).

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e em laboratórios pertencentes à Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), município do Capão do Leão/RS. Foram utilizadas sementes de *A. cruentus*, cv. BRS Alegria, semeadas em bandejas de polipropileno contendo substrato inerte. Após a germinação, as plântulas foram irrigadas e receberam solução nutritiva a cada quatro dias, até atingirem 30 dias. Posteriormente, ocorreu a transferência das mesmas para sistema hidropônico de fluxo contínuo com raízes flutuantes, com solução nutritiva de HOAGLAND; ARNON (1950). Como controle, utilizou-se o meio anteriormente citado e, para o tratamento com elicitor, a mesma solução com acréscimo de 100 µM de MeJa ou AS.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4 (três tratamentos: controle, MeJa e AS x quatro períodos de coleta: 24, 48, 72 e 96 horas após a aplicação dos tratamentos). Cada tratamento foi composto por quatro repetições, representadas por um vaso contendo cinco plantas de *A. cruentus*.

As análises enzimáticas foram determinadas através do extrato obtido a partir da maceração de 200 mg de tecido vegetal (folhas) na presença de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e homogeneizado em 2,0 mL do tampão de extração composto por fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM.

A superóxido dismutase (SOD) foi avaliada de acordo com GIANNOPOLITIS; RIES (1977) e os resultados expressos em U mg<sup>-1</sup> proteína. A ascorbato peroxidase (APX) foi determinada seguindo metodologia proposta por NAKANO; ASADA (1981) e os resultados apresentados em µmol ASA min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> proteína. Para a avaliação da catalase (CAT) foi utilizado o protocolo proposto por AZEVEDO et al. (1998), e os resultados apresentados em µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> proteína.

Para avaliação do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e peroxidação lipídica, foram macerados aproximadamente 300 mg de matéria fresca de folhas em tampão de extração composto por ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. A quantificação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seguiu metodologia descrita por VELIKOVA et al. (2000), onde as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 390nm e a concentração expressa em µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> MF. A peroxidação lipídica foi determinada segundo CAKMAK; HORST (1991), com leitura das amostras em espectrofotômetro a 535 nm e 600 nm. Os resultados foram expressos em µmol de MDA g<sup>-1</sup> MF.

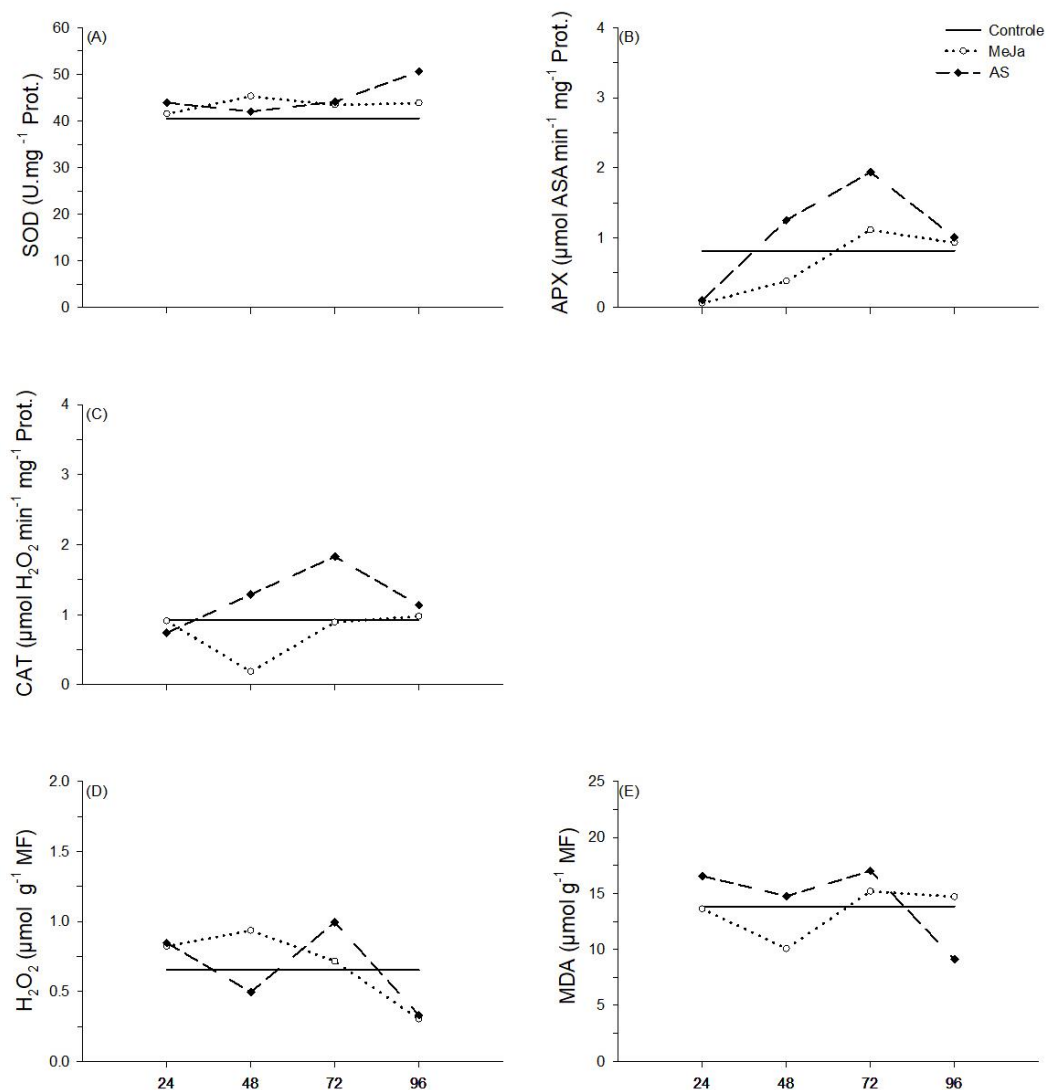
Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (p≤0,05), as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro e ajustadas de acordo com as médias do controle por meio do Programa Estatístico R Studio.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a SOD, o elicitor MeJa induziu um pico de atividade após 48 horas da aplicação, com posterior queda e estabilização. Já o elicitor AS, exatamente no mesmo período demonstrou aumento na atuação o qual se manteve até o final da análise (Figura 1A).

Resultados obtidos por NORASTEHNIA; NOJAVAN-ASGHARI (2006) demonstraram que a aplicação de MeJa foi capaz de elevar a atividade de enzimas antioxidantes em plantas de milho. Contudo, no presente trabalho, este efeito foi mais evidente para a SOD, sendo APX e CAT inibidas pela presença do fitohormônio (Figuras 1B-1C). Ambas são as principais enzimas envolvidas na remoção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em plantas (FERRARI, 2010) e, para este composto (Figura 1D), o referido elicitor provocou aumentos nos teores logo nas primeiras 24 horas e somente após 96 horas, ficou abaixo do controle. De acordo com os resultados para a peroxidação lipídica na presença de MeJa, valores superiores ao tratamento controle foram observados apenas após 72 horas com posterior queda. Pode - se inferir ausências de efeitos prejudiciais até o supracitado momento, mesmo com a ínfima atividade enzimática (Figura 1E). Esse contexto indica que outros compostos foram responsáveis pela proteção celular, a exemplo de flavonoides os quais podem ser induzidos através da aplicação do MeJa.

O AS pode inibir a atuação de APX e CAT, desencadeando aumentos nos níveis de  $H_2O_2$ , promovendo respostas adaptativas nos vegetais (FERRARI, 2010). Porém, este resultado foi observado somente no último momento de avaliação. GONDOR et al. (2016) também verificaram aumento na atividade enzimática frente ao AS, corroborando os dados exibidos.



**Figura 1.** Atividade das enzimas Superóxido dismutase (A), Ascorbato peroxidase (B) e Catalase (C), conteúdo de  $H_2O_2$  (D) e peroxidação lipídica (E) em folhas de *Amaranthus cruentus*, cv. BRS Alegria, cultivadas em hidroponia na presença de metil jasmonato (MeJa) e ácido salicílico (AS), durante 24, 48, 72 e 96 horas, após aplicação dos elicitores.

O comportamento da peroxidação lipídica nas plantas submetidas ao AS foi análogo ao apresentado para o  $H_2O_2$ , indicando a ineficácia da ação enzimática na redução dos efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (Figura 1E). As respostas obtidas para esta variável podem ser corroboradas por ALI et al. (2007) os quais observaram estresse oxidativo em plantas de *Panax ginseng* tratadas com os mesmos elicitores estudados no presente trabalho. Contudo, após 96 horas, ocorreu declínio na ação enzimática de APX e CAT bem como nos teores de peróxido e peroxidação. Possivelmente essa mitigação tenha sido ocasionada por

moléculas do metabolismo secundário com grande capacidade antioxidante, ativadas pela sinalização por AS ocorrida nas primeiras horas de indução dos tratamentos.

#### 4. CONCLUSÕES

A presença dos elicitores MeJa e AS altera a homeostase redox de plantas de *A. Cruentus*, cv. BRS Alegria, sendo o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gerado possível indutor de metabólitos secundários.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, M.; HAHN, E.-J.; PAEK, K.-Y. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 607-621, 2007.
- AZEVEDO, R.A et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v.104, p.280-292, 1998.
- CAKMAK, I; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxido dismutase, catalase, and peroxidases activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, n.3, p. 463-468, 1991.
- FERRARI, S. Biological elicitors of plant secondary metabolites: Mode of action and use in the production of nutraceuticals. In: **Bio-Farms for Nutraceuticals**. Springer, Boston, MA, 2010. p. 152-166.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.
- GONDOR, O. et al. Salicylic acid induction of flavonoid biosynthesis pathways in wheat varies by treatment. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1447, 2016.
- HOAGLAND D.R.; ARNON, D. I. **The waterculture method for growing plants without soil**. Berkeley: Agric. Exp. Stn., Univ. of California, 1950.
- KUMAR, R. et al. An inside review of *Amaranthus spinosus* Linn: a potential medicinal plant of India. **International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry**, v. 4, n. 3, p. 643-653, 2014.
- 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.
- NORASTEHNIA, A.; NOJAVAN-ASGHARI, M. Effect of methyl jasmonate on the enzymatic antioxidant defense system in maize seedling subjected to paraquat. **Asian J Plant Sci**, v. 5, n. 1, p. 17-23, 2006.
- RADMAN, R. et al. Elicitation of plants and microbial cell systems. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 37, n. 1, p. 91-102, 2003.
- STINTZING, F.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in food science & technology**, v. 15, n. 1, p. 19-38, 2004.
- THAKUR, M. et al. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2018.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.