



XXII Congresso Brasileiro de

Fruticultura

Bento Gonçalves – RS

22 a 26 de outubro de 2012

**EFEITO DO ESTRESSE HÍDRICO SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS
ANTIOXIDANTES EM XILOPÓDIO DE UMBUZEIRO (*Spondias tuberosa*. Arruda)**

JULIANA MARTINS RIBEIRO¹; NATONIEL FRANKLIN DE MELO²; FRANCISCO
PINHEIRO DE ARAÚJO³; KÁTIA VALEVSKI SALES FERNANDES⁴; MÁRCIO DOS
SANTOS TEIXEIRA PINTO⁵

INTRODUÇÃO

O umbuzeiro (*Spondias tuberosa* A.), uma árvore nativa da região semiárida brasileira, é uma planta resistente à seca e também ao estresse salino (SILVA et al. 2008). Além da elevada capacidade de acumular água, plantas de umbu apresentam algumas características que conferem alta tolerância à seca, tal como o fato de serem plantas caducifolias, perdendo toda a folhagem na estação mais seca do ano e promoverem o fechamento dos estômatos durante o período mais quente do dia (SILVA et al., 2009a). Além disso, plantas de umbuzeiro podem aumentar os níveis de osmólitos protetores, quando submetidas ao efeito da seca (SILVA et al., 2009b). Tais características morfofisiológicas conferem à espécie a capacidade não somente de armazenar, mas de evitar a perda de água.

O estresse oxidativo é um processo que pode ser aumentado em plantas submetidas a diversos fatores abióticos, inclusive estresse hídrico (SANKAR et al., 2008). Os radicais livres gerados de espécies reativas de oxigênio podem comprometer a integridade celular, degradando proteínas e lipídeos. Devido a isso, o organismo vegetal desenvolveu vias metabólicas específicas para eliminação de moléculas oxidantes (GILL; TUTEJA, 2010). No entanto, ainda não existe conhecimento sobre como plantas de umbu se comportam frente ao estresse oxidativo, submetidas as condições de estresse hídrico, muito menos sobre os mecanismos fisiológicos que a espécie pode apresentar para evitar os danos gerados por espécies oxidativas originadas desse tipo de estresse

¹ Bióloga, D.Sc., Pesquisadora Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Embrapa Semiárido. Rod. BR 428, Km 152, C. P. 23, Zona Rural, Petrolina, Pernambuco, Brasil. juliana.ribeiro@cpatsa.embrapa.br;

² Biólogo, D.Sc., Pesquisador Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Embrapa Semiárido. natoniel@cpatsa.embrapa.br;

³ Agrônomo, D.Sc., Analista da Embrapa Semiárido, pinheiro@cpatsa.embrapa.br;

⁴ Bióloga, Ph. D., Professora Pesquisadora da Universidade Estadual do Norte Fluminense, cowpkat@uenf.br;

⁵ Biólogo, D.Sc., Bolsista DCR CNPq/ FACEPE, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Embrapa Semiárido, e-mail: marciostp@yahoo.com.br

(REDDY et al., 2004). O presente trabalho teve como objetivo identificar o efeito do estresse hídrico na atividade de enzimas antioxidantes em exsudatos de xilopódios de umbuzeiro, por meio da análise dos níveis da atividade de polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POX).

MATERIAL E MÉTODOS

Doze Plantas de umbuzeiros foram transferidas para potes plásticos de 20 litros, contendo areia seca (0,16 % de umidade). Seis plantas controles foram regadas diariamente, enquanto que outras seis, definidas como plantas teste, permaneceram em areia seca durante os quatro dias de tratamento, em condições de campo (máxima 35 °C mínima 20 °C) no viveiro experimental do laboratório de biotecnologia (CPATSA). Após o tratamento as plantas tiveram os xilopódios removidos, picados em pedaços de aproximadamente três centímetros e macerados em gral refrigerado (0 °C), até a obtenção de um homogeinato. Aproximadamente 100 gramas de homogeinato por amostra foi centrifugado (30 minutos, 8 000 X g, 4 °C) e obtido o equivalente a 50 mL de desobrenadante (exsudato de xilopódio). O material assim obtido foi congelado em freezer – 80 °C e usado em posteriores ensaios enzimáticos.

As concentrações de proteínas presentes no exsudato de xilopódio foram determinadas pelo método de Bradford (1976). A atividade polifenoloxidase (PFO) foi medida em ensaio colorimétrico fazendo uso de catecol como substrato, de acordo com Pinto et al. (2008). A atividade da peroxidase (POX) foi medida em ensaio colorimétrico fazendo uso de guaiacol e peróxido de hidrogênio como substratos, de acordo com Janda et al. (2003). Os resultados foram expressos em unidades de atividade por mg de proteína (UE/mg) (atividade específica), sendo 1 UE atribuída a variação de absorvância de 0,001 por minuto. Tanto para a análise da dosagem protéica, quanto para a atividade de polifenoloxidases (PFO) e peroxidases (POX), os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições e uma planta por parcela. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey com 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra os dados relativos à medição de proteínas solúveis e atividades enzimáticas em exsudatos de xilopódios de plantas controle e submetidas ao estresse hídrico. Os dados experimentais indicaram que o estresse hídrico não alterou significativamente a concentração de proteínas de exsudatos de xilopódios (Figura 1 A). No entanto, a medição da atividade PFO em exsudatos de xilopódios de plantas estressadas foi aproximadamente quatro vezes maior, quando comparado à encontrada em plantas controle (Figura 1 B), o que representa um aumento significativo. De forma diferente ao ocorrido com PFO, não ocorreram variações detectáveis de atividade de POX em plantas submetidas ao estresse hídrico (Figura 1 C).

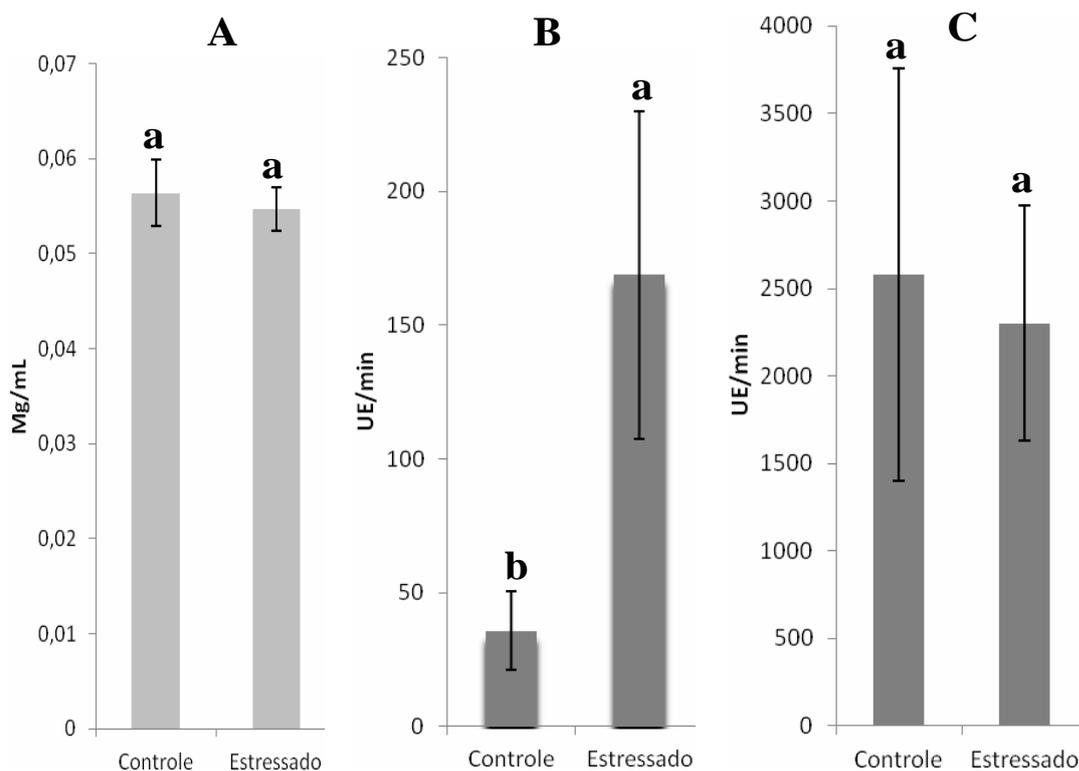


Figura 1 - Medição de proteínas solúveis e atividades enzimáticas em exsudatos de xilopódios de plantas controle e teste. A: Concentração protéica; B: Atividade específica de polifenoloxidase (PFO) e C: Atividade específica de peroxidase (POX).

Embora não tenham ocorrido variações detectáveis de atividade de peroxidases em plantas submetidas ao estresse hídrico, as atividades específicas desta enzima em exsudatos de xilopódios, independentes de estarem ou não estressadas, foram muito elevadas, indicando que a POX poderia estar envolvida em uma proteção constitutiva desse tecido contra este estresse. O fato do aumento de atividade da polifenoloxidase ter ocorrido sem o aumento da concentração protéica em plantas estressadas pode ser um indicativo de uma indução na síntese ou ativação da PFO em exsudato de xilopódios submetidos ao estresse hídrico. Os níveis de atividade de polifenoloxidases apresentam uma relação direta com tolerância vegetal ao estresse hídrico (Mayer, 2006), o que pode significar uma forma de proteção do tecido vegetal contra o estresse oxidativo, gerado em tais circunstâncias. Apesar do papel fisiológico de enzimas do ciclo oxidativo como PFO e POX não ser ainda bem esclarecido, o aumento de PFO frente ao estresse hídrico bem como os elevados níveis de POX em exsudato de xilopódio podem levar a inferência da importância dessas enzimas na proteção de umbuzeiro a ação da seca.

CONCLUSÕES

- Os níveis de polifenoloxidase (PFO) em exsudatos de xilopódios de umbuzeiro aumentam em valor superior a quatro vezes quando plantas são submetidas a estresse hídrico.

- Exsudatos de xilopódios de umbuzeiro apresenta, de forma constitutiva elevados níveis de peroxidase (POX).

AGRADECIMENTOS

À FACEPE e à Embrapa Semiárido pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants **Plant Physiology and Biochemistry**. v.48, p.909-930. 2010
- JANDA, T.; SZALAI, G.; RIOS-GONZALES, K.; VEISA, O.; PALDI, E., Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. **Plant Science**. v.164, p.301–306, 2003.
- MAYER, A. M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places?: A review. **Phytochemistry**, New York, v. 67, p. 2318- 2331, 2006.
- PINTO, M. S. T.; SIQUEIRA, F. P.; OLIVEIRA, A. E. A.; FERNANDES, K. V. S. A wounding-induced PPO from cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. **Phytochemistry** v.69, p.2297-2302. 2008.
- REDDY, A. R.; CHIATANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants **Journal of Plant Physiology**, v.161, p. 1189–1202. 2004.
- SANKAR, B.; JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; OMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Relative efficacy of water use in five varieties of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. under water-limited conditions. **Colloids Surf. B: Biointerfaces**, v. 62, p.125-9. 2008.
- SILVA, E. C. R.; NOGUEIRA, J. M. C.; ARAUJO, F. P.; MELO, N. F. ; AZEVEDO-NETO, A. D. Physiological responses to salt stress in young umbu plants. **Environmental and Experimental Botany**. v. 63, p.147-157. 2008.
- SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; VALE, F. H. A.; ARAÚJO, F. P.; PIMENTA, M. A.; Stomatal changes induced by intermittent drought in four umbu tree genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v.21, p.33-42. 2009a.
- SILVA, E. C., NOGUEIRA, R. J. M. C.; VALE, F. H. A., MELO, N. F., ARAÚJO, F. P. Water relations and organic solutes production in four umbu (*Spondias tuberosa*) tree genotypes under intermittent drought. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v..21, n.1, p.43-53, 2009 b.