

13899 - Cloreto de sódio altera o sistema de defesa antioxidante de *Baccharis trimera*

Sodium chloride alter the antioxidant defense system from Baccharis trimera

OZIEMBLOWSKI, Márcia Maria¹; SORDI, Elisangela²; MADALOSS, Samara Luisa³; CARGNELUTTI, Denise⁴

1 Universidade Federal da Fronteira Sul-UFFS, mrcaozi@yahoo.com.br; 2 UFFS elisangelasordi@hotmail.com; 3 UFFS samaramadaloss@hotmail.com; 4 UFFS denicargnelutti@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de *Baccharis trimera* exposta ao cloreto de sódio. Plantas de *B. trimera* foram cultivadas em estufa durante seis semanas, na presença de diferentes concentrações de NaCl (0, 250 e 500 mM). Ao final do experimento, as plantas foram coletadas, separadas em raiz (R) e parte aérea (PA), homogeneizadas separadamente, centrifugadas a 4°C e o sobrenadante foi utilizado para a avaliação da atividade das enzimas antioxidantes, catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). Os resultados demonstraram um aumento (119%; n=3; p<0,05) na atividade da CAT da PA de *B. trimera* exposta a 500 mM de NaCl, quando comparado ao controle. Um aumento de 48% e 155% foi observado para a atividade da CAT da R a 250 e 500 mM, respectivamente. A atividade da APX da PA foi reduzida por 61% a 250 mM e, na R (25%; n=3;p<0,05) na concentração de 500 mM de NaCl. Portanto, o NaCl induziu alterações na atividade das enzimas antioxidantes.

Palavras-chave: Carqueja; Cloreto de sódio; Catalase; Ascorbato peroxidase.

Abstract:

The aim this work was evaluates the antioxidant activity from *Baccharis trimera* exposed to sodium chloride. *B. trimera* plants were cultivated on greenhouse by six weeks, in the presence of concentrations different of NaCl (0, 250 and 500 mM). At the end of the experiment, the plants were harvested, separated into root and shoot, homogenized separately, centrifuged at 4°C and the supernatant was used form assay of the antioxidant enzymes activity, catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX). The results demonstrate an increase (119%; n=3; p<0.05) on shoot CAT activity from *B. trimera* exposure at 500 mM NaCl, when compared to control. An increase of 48% and 155% was observed for root CAT activity at 250 and 500 mM, respectively. The shoot APX activity was reduced by about 61% at 250 mM and, in root (25%; n=3; p<0.05) in concentration of 500 mM NaCl. Therefore, NaCl induced changes on antioxidant enzymes activity.

Keywords: Carqueja; sodium chloride; Catalase, ascorbate peroxidase.

Introdução

Baccharis trimera (Less.) DC. pertence à família Asteraceae, conhecida popularmente como carqueja. A maioria das plantas deste gênero se distribui no continente Americano, no Brasil, Argentina, Bolívia, Colômbia, Chile e México. *B. trimera* é uma planta amplamente utilizada na medicina popular, principalmente para a solução de problemas hepáticos, disfunções estomacais e intestinais. A planta ainda é utilizada contra anemia, gota, úlceras e afecções cutâneas (DICKEL, RATES e RITTER, 2007; DIAS et al., 2009).

Os organismos vivos estão constantemente expostos a diversas condições de estresse. Dentre os tipos de estresse, destacam-se os estresses abióticos, aos quais as plantas estão expostas. Na presença destas condições adversas as plantas induzem a produção de espécies reativas (ERs), as quais podem lesar com os componentes celulares. Como parte dos mecanismos de defesa com tais espécies tóxicas, as plantas ativam os mecanismos de defesa antioxidante que removem o excesso de ERs evitando danos aos componentes celulares. Além dos mecanismos antioxidantes, as plantas que apresentam potenciais, podem acentuar a produção de metabólitos secundários, os quais podem auxiliar no combate ao estresse (YENDO et al., 2010). Esta resposta tem sido considerada parte dos mecanismos de defesa da planta contra as espécies reativas (ERs) tais como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxila ($\cdot OH$), e o ânion superóxido (O_2^-) (ARORA; SAIRAM; SRIVASTAVA, 2002). Tais compostos possuem inúmeras atividades biológicas e são fontes de produtos farmacêuticos bem como possuem inúmeras aplicações na agricultura tal como o manejo ecológico de pragas.

O sistema de defesa antioxidante é composto pelos antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos. Dentre os antioxidantes enzimáticos, a superóxido dismutase (SOD) participa ativamente na remoção do O_2^- gerado através de diferentes processos do metabolismo celular. As enzimas catalase e ascorbato peroxidase removem o H_2O_2 (MITTLER, 2002). Apesar do forte indício de que o estresse oxidativo estimula a síntese de compostos secundários pelo vegetal, como um mecanismo de defesa, são escassos os trabalhos que focalizam no perfil antioxidante (antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos) de plantas expostas a um estresse e sua correlação com a produção de metabólitos secundários.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil antioxidante, através da atividade das enzimas antioxidantes catalase e ascorbato peroxidase em plantas de *B. trimera* exposta ao cloreto de sódio, para propor o uso de tal sal em processos de elicitação e produção de metabólitos secundários em *B. trimera*.

Metodologia

Os exemplares de *B. trimera* foram coletados no Seminário Nossa Senhora de Fátima localizado no município de Erechim – RS. As estacas foram propagadas na presença do ácido indolbutírico (AIB) ($1g L^{-1}$) como hormônio de enraizamento. As estacas foram inseridas em vasos contendo substrato Maxfértil. Os vasos foram mantidos em estufa e as estacas foram irrigadas diariamente durante toda a condução do experimento.

Após 60 dias de crescimento, os tratamentos foram aplicados nas concentrações de 0, 250 e 500 mM de NaCl. Para evitar choque osmótico, as concentrações de NaCl foram aumentadas gradualmente, aplicando-se 100 mM NaCl por dia, até que fossem atingidas as concentrações desejadas. Cada vaso recebeu cerca de 200 mL de solução. Após seis semanas de tratamento, as plantas foram coletadas aleatoriamente, sendo seis plantas por tratamento.

A parte aérea foi separada do sistema radicular, e ambos foram homogeneizados separadamente em tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH 7,8) contendo 1mM EDTA,

2% de polivinilpirrolidina e 10 ml L⁻¹. As amostras foram centrifugadas a 13.000 g por 20 minutos a 4°C e o sobrenadante foi utilizado para os ensaios bioquímicos (ZHU et al., 2004). A atividade da CAT foi ensaiada seguindo o método descrito por Aebi (1984), com algumas modificações, por monitorar o desaparecimento do H₂O₂ a 240 nm em espectrofotômetro. A atividade da APX foi mensurada de acordo com o método descrito em Zhu et al.(2004) através da avaliação da oxidação do ascorbato dependente do H₂O₂ a qual foi registrada a 290 nm.

A concentração de proteína total nos extratos foi determinada pelo método de Bradford (1976), usando albumina bovina sérica como padrão. A absorbância das amostras foi registrada a 595 nm e foi expressa em mg L⁻¹.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado consistindo de três repetições para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA), utilizando o teste Tukey com 95% de significância (p<0,05) com o auxílio do software STATISTICA 6.1.

Resultados e discussão

Os resultados para a atividade da catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), da parte aérea e sistema radicular de *B. trimera* exposta a diferentes concentrações de NaCl durante 6 semanas, estão ilustrados na figura 1A e B. Na parte aérea, a atividade da CAT foi aumentada (119,11%) somente na maior concentração de NaCl (500 mM), quando comparado ao controle. Além disso, um aumento linear (48% e 155% para 250 e 500 mM, respectivamente) foi observado para a atividade de tal enzima no sistema radicular de *B. trimera* com o aumento das concentrações de NaCl no substrato (Figura 1A). Vários estudos relataram a ativação da CAT de plantas crescendo na presença do NaCl (CHANG et al., 2012; RASOOL et al., 2013). As enzimas antioxidantes CAT e APX são importantes para a regulação dos níveis intracelulares de H₂O₂. A CAT localiza-se principalmente nos peroxissomos e glioxissomos, local onde ela é eficaz na conversão de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água e oxigênio molecular (MITTLER, 2002). A concentração de saturação de tal enzima permanece em torno de 30 mM de H₂O₂. Portanto, sugere-se que altas concentrações de NaCl (500 mM) acentuem a produção de espécies reativas tal como o H₂O₂, fato evidenciado pelo aumento expressivo na atividade da enzima CAT (ativa em concentrações milimolares de H₂O₂).

No entanto, um efeito contrário foi observado para a atividade da APX, tanto para o sistema radicular quanto para a parte aérea de *B. trimera* exposta a diferentes concentrações de NaCl (Figura 1B). A atividade da APX da parte aérea foi reduzida por 61% na concentração mais baixa de NaCl (250 mM) e, na raiz, a atividade de tal enzima foi reduzida por 25% quando *B. timera* foi exposta a 500 mM de NaCl, quando comparados com os seus respectivos controles (Figura 1B). Tarchoune et al. (2012) relatou um decréscimo na atividade da APX da parte aérea de *Ocimum basilicum* L. quando exposto ao estresse salino por 30 dias. Além disso, Khosravinejad, Heydari e Farboodnia (2008) estudando duas variedades de cevada submetidas ao estresse salino por 3 dias, obtiveram um aumento linear nas atividades da CAT e APX tanto na parte aérea quanto na raiz com o aumento das concentrações de NaCl. A APX está presente em diversos compartimentos celulares

a qual disputa H_2O_2 à custa de ascorbato (MITTLER, 2002). Tal enzima é ativa em concentrações micromolares do substrato (H_2O_2). Assim, a baixa atividade de tal enzima pode ser devido a concentração alta de H_2O_2 que pode estar sendo produzida na presença do NaCl em *B. trimera*. Portanto, a ativação da CAT estaria compensando a atividade de varredura da APX.

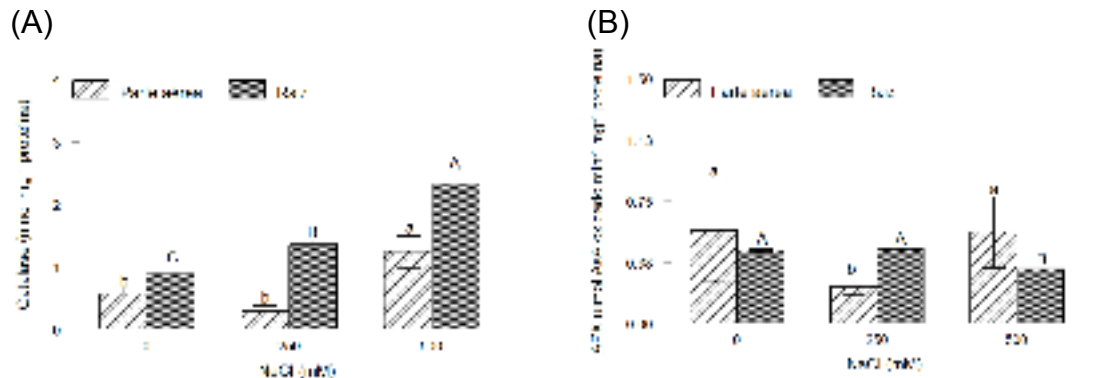


Figura 1. Atividade da catalase (A) e ascorbato peroxidase (B) da parte aérea e sistema radicular de *B. trimera* exposta a diferentes concentrações de NaCl durante seis semanas. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey para $p < 0,05$.

Conclusões

O cloreto de sódio induz estresse oxidativo em *B. trimera* evidenciado através da ativação das enzimas antioxidantes. Logo, este sal, poderia ser utilizado em processos de elicitação em plantas que possuem potencial para produção de metabólitos secundários, visto que, na presença de um estresse, as plantas ativam os mecanismos de defesa, tais como os antioxidantes e os compostos secundários. Tais compostos possuem aplicações na área da agricultura e na farmacêutica.

Agradecimentos

FAPERGS, CNPq e UFFS

Referências bibliográficas:

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v.105, p.121-126, 1984.
- ARORA, A.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current Science**, v.82, n.10, p.1227-1238, maio 2002. Disponível: <<http://paymanhassibi.persiangig.com/document/Plant%20Oxidative%20Stress.pdf>>. Acesso em: 05 fev. 2012.
- BRADFORD, M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein- Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, n.72, p.248-254, 1976. Disponível em: <<http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/lab-bioq-gen/archivos/Bradford%201976.pdf>>. Acesso em: 05 fev. 2012.
- CHANG, I. H.; CHENG, K. T.; HUANG, P.C.; LIN, Y. Y.; CHENG, L.J.; CHENG, T.S. Oxidative stress in greater duck weed (*Sperodela polyrhixa*) caused by long-term NaCl exposure. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.34, p. 1165-1176, 2012. Disponível

em:<<http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11738-011-0913-7.pdf>>.

Acesso em: 20 maio 2013.

DIAS, L. F. de T.; MELO, E. S. de; HERNANDES, L. S.; BACCHI, E. M. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, n.18, p.309-314, jan./mar. 2009. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v19n18/a22v1918.pdf>>. Acesso em: 05 fev. 2012.

DICKEL, M. L.; RATES, S. M. K.; RITTER, M.R. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n.1, p.60-71, jan. 2007. Disponível em:<http://ac.els-cdn.com/S0378874106003266/1-s2.0-S0378874106003266-main.pdf?_tid=0a1c055c-f56c-11e2-93da-00000aab0f27&acdnat=1374785695_af8b81d8462df_e959bea6235c1b24b99>. Acesso em: 05 fev. 2012.

KHOSRAVINEJAD, F.; HEYDARI, R.; FARBOODNIA, T. Antioxidant Responses of Two Barley Varieties to Saline Stress. **Research journal of biological sciences**, v.3, n.5, p.486-490, 2008. Disponível em:<<http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/rjbsci/2008/486-490.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2013.

MITTLER, R. Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. **Plant Science**, v.7, n.9, p.405-410, set. 2002. Disponível em:<http://ac.els-cdn.com/S1360138502023129/1-s2.0-S1360138502023129-main.pdf?_tid=4e915bf6-f56c-11e2-9171-00000aacb35e&acdnat=1374785810_3f726412ded30e4ec6eb66ee10b981b2>. Acesso em: 20 jan. 2005.

RASOOL, S.; AHMAD, A.; SIDDIQI, T. O.; AHMAD, P. Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.35, p.1039-1050, 2013. Disponível em:<<http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11738-012-1142-4.pdf>>. Acesso em: 28 maio 2013.

TARCHOUNE, I.; SGHERRI, C.; IZZO, R.; LACHAËL, M.; IZZO, F.N.; OUERGHI, Z. Changes in the antioxidative systems of *Ocimum basilicum* L. (cv. Fine) under different sodium salts. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.34, p.1873-1881, 2012. Disponível em:<<http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11738-012-0985-z.pdf>>. Acesso em: 14 maio 2013.

YENDO, A. C.; COSTA, F. de; GOSMANN, G.; NETO, A. G. F. Production of Plant Bioactive Triterpenoid Saponins: Elicitation Strategies and Target Genes to Improve Yields. **Molecular Biotechnology**, v.46, p.94-104, 2010. Disponível em:<<http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs12033-010-9257-6.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2012.

ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, n.167, p.527-533, 2004. Disponível em:<<http://www.dpv24.iciag.ufu.br/new/ag524/Apostilas/2004%20-%20Paper%20Leonardo.pdf>>. Acesso em: 04 mar. 2006.