

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PEROXIDÁSICA NA PLANTA VICIA FABA CULTIVADA EM SOLOS COM DIFERENTES PROPORÇÕES DE ARGILA E MATÉRIA ORGÂNICA E CONTAMINADOS POR ARSENIO OU ZINCO

Modalidade: () Ensino (X) Pesquisa () Extensão

Nível: () Médio () Superior (X) Pós-graduação

Área: () Química () Informática () Ciências Agrárias () Educação (X) Multidisciplinar

Autores : Valéria C. SILVA^a, Fernanda ENGEL^b, Gabriel POYER-RADETSKI^a, Renan C. TESTOLIN^b, Claudemir M. RADETSKI^b.

Identificação autores: ^a IFSC-Florianópolis SC; ^b UNIVALI, Itajaí, SC

Introdução

A peroxidase (POD) é uma enzima do grupo das oxidoredutases e é capaz de catalisar um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido de hidrogênio como seu principal substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um aceptor de hidrogênio (Halliwell, 1985; Pelmont, 1995). As peroxidases (PODs) encontram-se extensivamente distribuídas no reino animal e vegetal, estão ligadas aos processos de crescimento e diferenciação celular, mudanças morfogênicas em resposta aos estresses físico, químico e biológico, constituindo em proteção anti-oxidativa (Gaspar et al., 1982; Pelmont, 1995). Isto significa que o aumento da atividade da enzima em plantas submetidas a condição de estresse pode ser um fator da capacidade de adaptação dessas plantas, podendo essa atividade ser identificada como um marcador bioquímico de estresse (Endress et al., 1980; Gaspar et al., 1982). Os efeitos da peroxidase na germinação das sementes, tanto tem sua ação benéfica, pela oxidação dos componentes fenólicos, como sua ação nociva, como a possível inibição ou retardo da germinação natural, na competição pelo oxigênio disponível. A POD proporciona respostas estáveis por longos períodos, em temperatura ambiente, em uma ampla faixa de pH e por este motivo é usada em química analítica e como base para outras enzimas, pois quando está inativa, a maioria das outras enzimas também estão (Lemos *et al.*, 2000; Quaglia *et al.*, 1996). A enzima peroxidase é extremamente sensível às condições fisiológicas das plantas (Endress *et al.*, 1980) e responde a uma grande variedade de fatores externos ou tóxicos (Gaspar *et al.*, 1982). No mercado, são vários os usos da peroxidase, tais como: em componentes de diagnósticos clínicos, a nível alimentar, em sistemas de biossensores, em indústrias de laticínios para a detecção de antibióticos presentes no leite e no tratamento de efluentes industriais perigosos (uma molécula remove cerca de 10^3 moléculas de fenol) e na descontaminação de solos (Pelmont, 1995; Veitch, 2004; Dalal and Gupta, 2007). Neste estudo, a POD foi usada para avaliar como a planta *Vicia faba* altera a atividade desta enzima quando o vegetal é exposto à dife-

rentes concentrações dos metais Arsênio ou Zinco em solos com diferentes capacidades de imobilização dos metais.

Material e Métodos

As plantas, *Vicia faba*, foram expostas a 2 contaminantes, Arsênio (As) e Zinco (Zn). As quantidades de arsênio adicionadas para os plantios em solos foram 0,055; 1 e 10 mg As Kg⁻¹ de solo seco. Para o zinco usou-se as concentrações 0,55; 10 e 100 mg Zn Kg⁻¹ de solo seco. O solo usado para nos experimentos foi constituído de 9 diferentes proporções de areia, argila e MO. O solo controle (branco) foi um solo normal da região de Itajaí. O teste com a planta *Vicia faba* seguiu o protocolo ISO 29200/2010. A peroxidase foi analisada pelo método proposto por Byl et al. (1994) e as proteínas foram determinadas pelo método de Bradford (1976).

Resultados e discussão

A Figura 1 mostra os resultados obtidos em termos de quantidade de proteínas nas raízes das plantas expostas às 3 concentrações de cada metal nos testes fitogenotóxicos realizados com o solo constituído com diferentes proporções de areia, argila e matéria orgânica (MO). Os resultados mostraram que existe uma relação clara entre o aumento da quantidade de proteínas nas raízes de *Vicia faba* com a diminuição da biodisponibilidade dos metais (apesar do aumento das concentrações dos contaminantes), pois as combinações nas constituições dos solos com maiores valores de argila e MO foram aquelas que apresentaram as maiores quantidades de proteínas. Um aumento na produção de proteínas pode denotar um aumento na produção de enzimas, o que pode facilitar o combate ao estresse químico provocado pela presença de contaminantes.

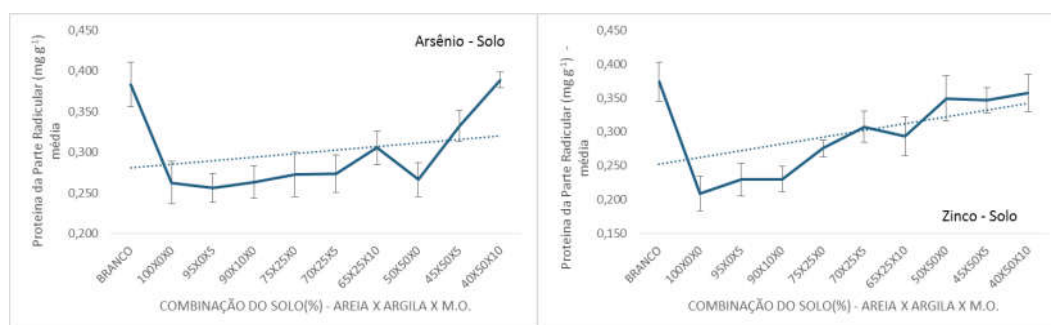


Figura 1. Valor médio da quantidade de proteínas (mg g⁻¹) da parte radicular das plantas *Vicia faba* no negativo e nas combinações de solos contaminados com as 3 concentrações de As ou Zn.

A atividade peroxidásica na parte radicular da *Vicia faba* expostas ao As ou Zn nas combinações de solo para as 3 concentrações de contaminantes usadas neste estudo é mostrada na Figura 2.

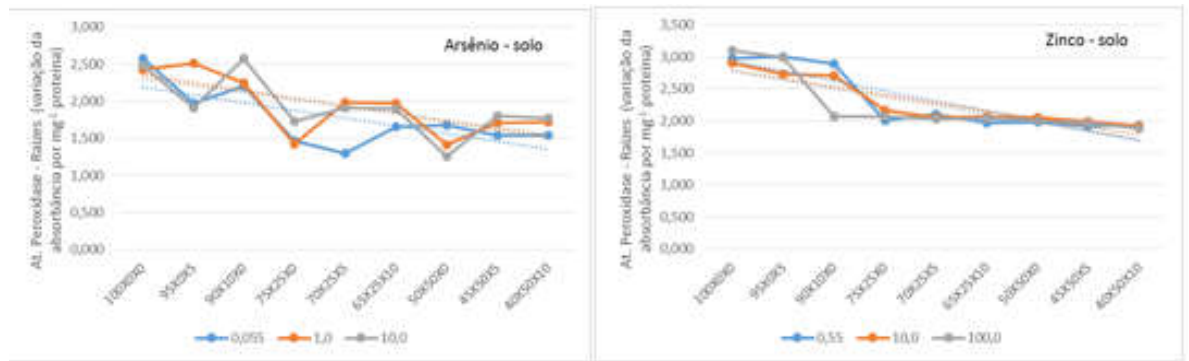


Figura 2. Valor da atividade da peroxidase (variação da absorvância por mg^{-1} proteína) da parte radicular das plantas *Vicia faba* no controle negativo e nas combinações de solos contaminados com as 3 concentrações de As ou Zn.

Os metais As e Zn, além de desempenharem função nutritiva e constitutiva dos vegetais, estão implicados no estresse oxidativo, o qual pode ser definido como o desequilíbrio entre a formação e remoção de agentes oxidantes no organismo, decorrente da geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) e/ou diminuição de antioxidantes endógenos (Foyer, 1993; Kabata Pendias and Pendias, 2001). Em situações de estresse, a produção de EROs é aumentada, podendo causar a morte celular. Para manter uma concentração ideal de EROs dentro da célula, as plantas desenvolveram um complexo sistema antioxidante para proteção das membranas celulares e organelas contra os efeitos danosos causados pela ação dessas EROs sobre os tecidos vegetais (Halliwell, 1985; Foyer, 1993). A Peroxidase é uma das principais enzimas do sistema de detoxificação de EROs nas plantas, catalisando a conversão do peróxido de hidrogênio em água, usando o ascorbato como doador de elétrons (Caverzam *et al.*, 2012). A diminuição da atividade da enzima, apesar do aumento na produção de proteínas e do aumento na concentração dos contaminantes demonstra o papel preponderante da quelação como método de imobilização de metais presentes em quantidades excessivas nos solos. Assim, toda mensuração de contaminantes no solo deve ser acompanhada pela mensuração do poder quelante deste solo, o que pode ser feito pela mensuração da Capacidade de Troca Catiônica (CTC). Estas medidas podem ajudar a melhor interpretar os resultados de impacto ambiental nos ecossistemas terrestres. O uso de atividade enzimática serviria como um sistema de alerta para mostrar se as plantas estão sofrendo

algum tipo de impacto, independentemente da concentração de metais ou do poder quelante do solo.

Conclusão

A diminuição da atividade da peroxidase com o aumento do poder quelante da combinação de solo nos informa que os metais estão menos biodisponíveis quando o solo apresenta maiores valores de argila e MO, o que diminui a produção de EROS, e consequentemente, diminui a atividade enzimática. Esta situação também nos informa que o impacto dos contaminantes do solo não depende exclusivamente das concentrações dos contaminantes, pois o poder de quelação provocado pelas argilas e matéria orgânica pode atenuar consideravelmente a ação dos contaminantes, tornando-os indisponíveis em termos biológicos.

Referências

- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, n. 1, p. 248-254, 1976.
- BUTT, V. S.; LAMB, C. J. Oxygenase and the metabolism of plant products. In: CONN, E. E. (Ed.). *The Biochemistry of plants: secondary products*. New York: Academic Press, 1981. p. 627-665, v. 7.
- BYL, T.D.; SUTTON, H.D.; KLAINE, S.J. Evaluation of peroxidase as a biochemical indicator of toxic chemical exposure in the aquatic plant *Hydrilla verticillata*, Royle. *Environ Toxicol Chem* 1994; 13:509– 15.
- [CAVERZAN A](#), [PASSAIA G](#), ROSA SB, [RIBEIRO CW](#), [LAZZAROTTO F](#), MARGIS-PINHEIRO M. . Plant responses to stresses: Role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genet Mol Biol*. 2012 35:1011-1019
- DALAL, S.; GUPTA, M. N. Treatment of phenolic wastewater by horseradish peroxidase immobilized by bioaffinity layering. *Chemosphere*, v. 67, n. 4, p. 741-747, 2007.
- ENDRESS, A. G.; SUAREZ, S. J.; TAYLOR, O. C. Peroxidase activity in plant leaves exposed to gaseous HCl or ozone. *Environ. Pollut.*, v. 22, n. 1, p. 47-58, 1980.
- FOYER, C.H. La résistance des plantes à l'oxygène. *La Recherche*, n. 24, p. 270-276, 1993.
- GASPAR, T.H.; PENEL, C.L.; THORPE, T.; GREPPIN, H. Peroxidases: a survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Genève: Université de Genève, 1982. 324p.
- HALLIWELL, B. The toxic effects of oxygen on plant tissues. In: OBERLEY, L. W. *Superoxide Dismutase*. CRC Press, Boca Raton, v.1, p. 89-123, 1985.
- ISO - International Standardization Organization. ISO 29.200 - Soil quality - Assessment of genotoxic effects on higher plants - *Vicia faba* micronucleus test, Geneva, Switzerland, 2010.
- KABATA PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soil and plants. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001.

- LEMOS, M. A.; OLIVEIRA, J. C.; SARAIVA, J. A. Influence of pH on the thermal inactivation kinetics of horseradish peroxidase in aqueous solution. *Food Science and Technology International*, n. 33, p. 362-368, 2000
- PELMONT, J. *Enzymes: catalyseurs du monde vivant*. Presses Universitaires de Grenoble. Grenoble, France, 1995.
- QUAGLIA, G. B.; GRAVINA, R.; PAPERI, R.; PAOLETTI, F. Effect of high pressure treatments on peroxidase activity, ascorbic acid content and texture in green peas. *Food Science and Technology*, v. 29, n. 5, p. 552–555, 1996
- VEITCH, N. C. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry*, v. 65, n. 3, p. 249-259, 2004.