

ATIVIDADE DA CATALASE EM FOLHAS DE ARABIDOPSIS APÓS ESTRESSE POR LUMINOSIDADE

FERNANDO UEHARA¹; CAROLINE THIEL²; MARCOS ANTONIO BACCARIN³

¹Universidade Federal de Pelotas – fernando.uehara@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carol_thiel24@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – bacarin@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Plantas e outros organismos fotossintetizantes são especialistas em coletar energia solar, graças às moléculas de pigmentos ligados aos complexos proteína-pigmento que absorvem energia da luz em suas folhas, transformando a energia de fótons em energia de hidratos de carbono, pela redução do carbono do CO₂ utilizando elétrons originados da água.

Embora assemelhar-se a uma reação química simples, organismos fotossintéticos evoluíram uma cascata extremamente complexa de eventos de transformação de energia que realmente fazer essa reação possível (WHANG; APAYDIN, 2018).

Arabidopsis thaliana foi a primeira planta a ser completamente sequenciada, fazendo com que ela se tornasse uma das plantas mais estudadas no meio científico devido a aplicabilidade dos estudos nela desenvolvida passando a ser uma planta modelo no estudo de espécies cultivadas e de diversas pesquisas dentro das áreas da genética, bioquímica e fisiologia.

As plantas são expostas continuamente a flutuações rápidas na intensidade da luz, devendo assim apresentar mecanismos altamente plásticos, para evitar estresses e aumento na eficiência de absorção da luz. O aparelho fotossintético é muito eficiente na captação de energia da luz de excitação e a transferência de energia para o centro de reação. Porém sob alta luminosidade, quando a quantidade de energia captada pelo complexo antena coletor de luz excede a capacidade de transporte de elétrons, mecanismos de-excitação e proteção tornam-se importante (NIYOGI, 1999; ENDO et al, 2014) para evitar danos.

Com o incremento da luminosidade as plantas desenvolveram vários mecanismos de proteção, dentre eles, deve ser destacado o “nonphotochemical quenching” (NPQ), que pode representar a dissipação do excesso de energia absorvida (JOHNSON E RUBAN, 2011; GOSS E LEPETIT, 2015; WARE et al. 2015), mecanismo que pode ser monitorado pela quantificação da fluorescência da clorofila.

Com isso é de suma importância estudar o efeito do estresse por luminosidade pois leva a perda da homeostasia, levando a planta a disparar processos de adaptação. Porém a taxa fotossintética pode saturar nesta condição gerando intermediários altamente reativos como espécies de oxigênio reativas prejudiciais, e pode causar danos oxidativos ao aparato fotossintético (FOYER E HARBINSON, 1994).

O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade das enzimas antioxidante de folhas de *Arabidopsis* submetidas a diferentes intensidades luminosas coletadas após 30 minutos de iluminação (indução NPQ) e após 15 minutos escuro (recuperação NPQ).

2. METODOLOGIA

Durante esse trabalho foram usadas sementes de três diferentes genótipos de *A. thaliana*, sendo eles: WT (selvagem), npq1 e lut2. Essas sementes foram semeadas em vasos com substrato comercial e levadas a geladeira para quebra de dormência por 48 horas a 4°C no escuro. Após esse período as plantas foram transferidas para câmara de crescimento com fotoperíodo de 16h e 8 h de escuro. Decorrido prazo de 4 a 5 semanas, folhas foram coletadas e colocadas em placa de Petri com papel umedecido e colocadas no Fluorômetro de Imagem Maxi onde foram submetidas ao seguinte protocolo: inicialmente 15 minutos de escuro, seguido por 30 minutos nas diferentes intensidades luminosas (100, 400, 800 e 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (indução do NPQ) com posterior período de 15 minutos de escuro (recuperação de NPQ) (esquema apresentado na Figura 1A). As folhas foram coletadas: a) antes da colocação no aparelho; b) após o período 30 min nas diferentes intensidades luminosas; c) após o período de escuro (recuperação do NPQ) (esquema apresentado na Figura 1B). As amostras coletadas foram imediatamente armazenadas em ultra freezer até o momento do processamento. Amostras de folhas foram maceradas, os extratos centrifugados e a partir do sobrenadante utilizada para a determinação dos teores de proteína (BRADFORD, 1976), e para as atividades enzimáticas conforme descrito a seguir: a) atividade da superóxido dismutase (SOD:) foram determinada conforme descrito por GIANNOPOLITIS e RIES (1977) pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) a 560 nm; b) atividade da catalase (CAT) foram determinada pela taxa de oxidação do peróxido de hidrogênio (AZEVEDO NETO et al. 2006); c) atividade da ascorbato peroxidase (APX), foram determinada conforme descrito por Nakano e Asada (1981); d) atividade da enzima guaiacol peroxidase (GPOD) será determinada conforme descrito por Urbanek et al. (1991).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho serão apresentados apenas os dados sobre o genótipo selvagem (WT) e para a atividade da catalase, visto que as demais amostras não foram processadas devido a restrição decorrente da pandemia causada pelo COVID19.

Na Figura 2 observa-se o comportamento distinto do NPQ em resposta a densidade de fluxo de fótons incidente, de forma que há uma relação direta na curva de indução do NPQ e a quantidade de luz aplicada.

A atividade específica da catalase determinada ao final do período de indução (Figura 3A) aumenta em relação do tempo inicial quando as folhas foram submetidas as diferentes intensidades luminosas. Contudo, quando as folhas foram mantidas no escuro (recuperação do NPQ) após o período luminoso, observou-se que as submetidas à alta luminosidade (400 e 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a atividade específica da catalase aumentou (Figura 3B) em relação ao tempo inicial e ao final do período de indução do NPQ.

4. CONCLUSÕES

Há uma resposta diferencial da atividade específica da catalase em folhas de *Arabidopsis* quando submetidas a diferentes intensidades luminosas, sendo as maiores atividades obtidas quando as folhas foram submetidas nas intensidades mais elevadas.

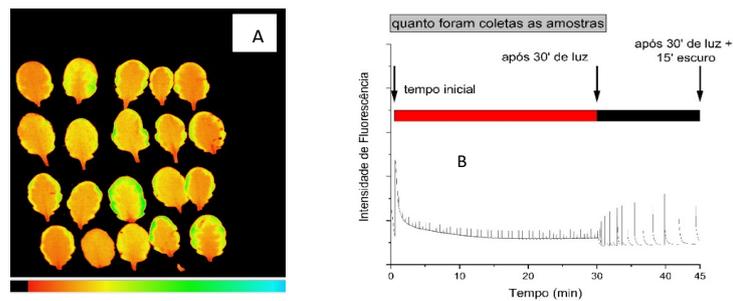


Figura 1: Imagem demonstrando a disposição das folhas no equipamento Imagim Maxi, onde as folhas foram submetidas a diferentes intensidades luminosas (A); esquema representando o momento que as amostras foram coletadas para quantificação da atividade enzimática (B)

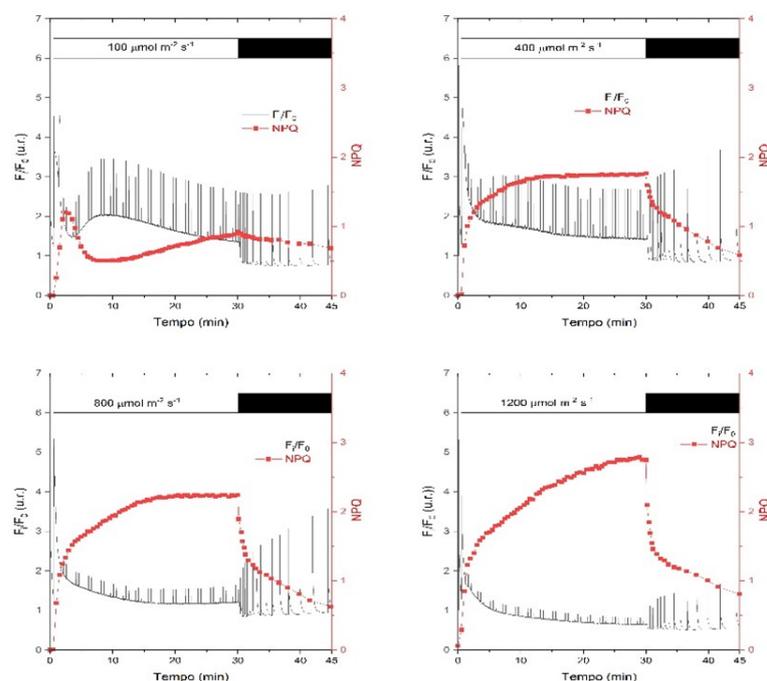


Figura 2: Dados de fluorescência modulada de folhas de Arabidopsis submetidas a diferentes intensidades luminosas por 30 minutos (período de indução de NPQ) seguidas por 15 minutos de escuro (período de recuperação de NPQ)

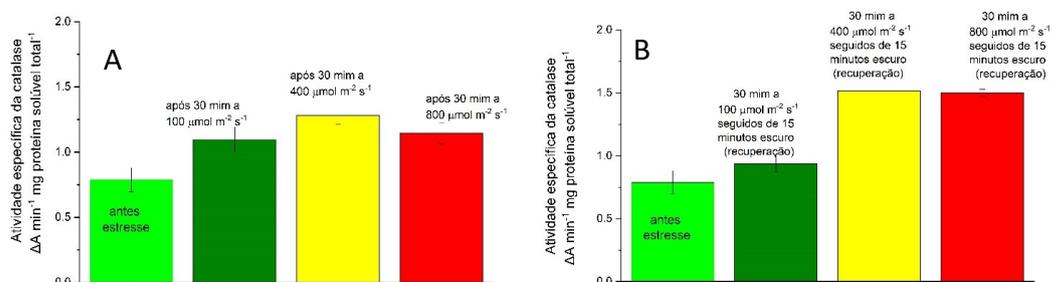


Figura 3: Atividade específica da catalase determinada em folhas de Arabidopsis antes do estresse, submetidas a diferentes intensidades luminosas por 30 minutos (período de indução de NPQ - A) e coletas após por 15 minutos de escuro (período de recuperação de NPQ - B)

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENEAS FILHO, J.; de ABREU, C. E. B.; GOMES FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, p.87-94, 2006.

BRADFORD, M. M. (1976) Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254.

ENDO, T.; UEBAYASHI, N.; ISHIDA, S.; IKEUCHI, M.; SATO, F. (2014) Light energy allocation at PSII under field light conditions: How much energy is lost in NPQ-associated dissipation? **Plant Physiology and Biochemistry**, v.81, p. 115–120.

FOYER, C.N., HARBINSON, J. (1994) Oxygen metabolism and the regulation of photosynthetic electron transport. In Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants, **CRC Press** ed. CH Foyer, PM Mullineaux, p. 1-42

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S. K. (1977) Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314.

JOHNSON, M.P.; RUBAN. A.V. (2011) Restoration of Rapidly Reversible Photoprotective Energy Dissipation in the Absence of PsbS Protein by Enhanced ΔpH. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 286, p.19973–19981.

MEINKE, D.W. et al. (1998) - Arabidopsis thaliana: A Model Plant for Genome Analysis. **Science**, v. 282, n. 5389, p.662-682.

NIYOGI, K.K. (1999) Photoprotection Revisited: Genetic and Molecular Approaches. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v. 50, p. 333–359.

QUAAS, T.; BERTEOTTI, S.; BALLOTTARI, M.; FLIEGER, K.; BASSI, R.; WILHELMA, C.; GOSS. R. Non-photochemical quenching and xanthophyll cycle activities in six green algal species suggest mechanistic differences in the process of excess energy dissipation. **Journal of Plant Physiology** v.172, p. 92–103. 2015.

WARE, M.A.; BELGIO, E.; RUBAN, A.V. (2015) Comparison of the protective effectiveness of NPQ in Arabidopsis plants deficient in PsbS protein and zeaxanthin. **Journal of Experimental Botany**, v.66, p. 1259–1270.

WHANG, D.R.; APAYDIN, D.H. (2018) - Artificial Photosynthesis: Learning from Nature. **ChemPhotoChem**, v. 2, p.148 – 160,