

## METABOLISMO ANTIOXIDATIVO DE PLANTAS DE TREVO VERMELHO SUBMETIDAS A HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

JOSIANE CARLA ARGENTA<sup>1</sup>; TARAUEL RODRIGUES LOPES<sup>1</sup>; FERNANDA REOLON TONEL<sup>2</sup>; CAROLINE LEIVAS de MORAES<sup>3</sup>; JULIANA de MAGALHÃES BANDEIRA<sup>2</sup>; DARIO MUNT de MORAES<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) -  
josiane\_argenta@yahoo.com.br; tarauel@gmail.com;

<sup>2</sup>UFPel, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV) -  
fernandareolon@yahoo.com.br<sup>3</sup>; bandeira\_jm@hotmail.com; moraesdm@ufpel.edu.br

<sup>3</sup>UFPel, FAEM, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes,  
caroline.moraes@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A crescente expansão no setor petroquímico, fez com que o petróleo se tornasse a principal fonte de energia ao longo dos últimos séculos. O aumento na demanda destes compostos químicos justifica a importância da atividade no cenário mundial. Porém, a contaminação de solos, recursos hídricos e meio atmosférico oriundos dos compostos orgânicos, gerados ao longo da cadeia petrolífera, é um dos mais graves problemas gerados pela industrialização. Nesse contexto, a busca de técnicas que possam ser utilizadas na remediação de derramamentos acidentais, em diferentes compartimentos no meio ambiente, se faz necessária (BIAZÃO, 2012).

Entre essas técnicas, está a fitorremediação, que utiliza plantas como agente de descontaminação, trazendo vantagens por possibilitar o tratamento em grandes áreas e por ser de baixo custo, podendo ser aplicada na remediação de águas, solo e subsolo contaminados. Diversos grupos de plantas, como gramíneas, leguminosas, hortaliças, arbóreas e diversas outras monocotiledôneas e eudicotiledôneas têm sido estudados por apresentarem características promissoras (AGUIAR et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos do óleo diesel no sistema antioxidante e no crescimento de plantas de *Trifolium pratense* L. (trevo vermelho), como forma de determinar sua possível capacidade fitorremediadora.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando 24 vasos de 4 L, para cada tratamento (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 % (v/v) de óleo diesel), aos quais foram adicionados substrato comercial e areia na proporção de 1:1 e semeadas cinco sementes de *Trifolium pratense* L., por vaso. As coletas para análises dos parâmetros de crescimento foram realizadas a cada 14 dias, a partir da emergência, durante 112 dias. As análises enzimáticas foram efetuadas na parte aérea e raízes de plantas coletadas aos 60, 90 e 120 dias após a emergência (DAE). A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi analisada conforme metodologia descrita por GIANNOPOLITIS; RIES (1977), em meio de reação contendo fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina (14 mM), EDTA (0,1 mM), NBT (75 µM), e riboflavina (2 mM). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 560 nm.

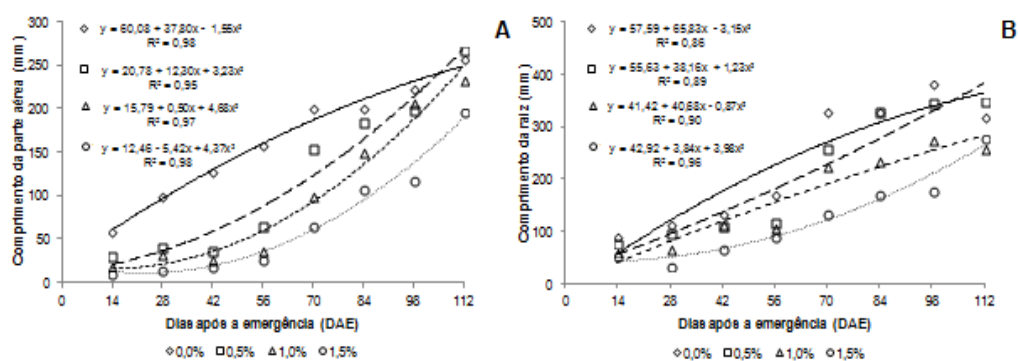
A atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada segundo Azevedo et al., (1998), com modificações, em meio de reação contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12,5 mM) e tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,0). Os resultados expressos em μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> g de proteína.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), com modificações, utilizando meio de reação composto de tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,0), ácido ascórbico (0,5 mM) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,1 mM). Os resultados foram expressos em μmol ASA min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com posterior regressão polinomial. Para as análises enzimáticas foi realizado análise de contraste de polinômios ortogonais.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação do óleo diesel não comprometeu o crescimento das plantas ao longo dos 112 DAE, dentro de cada tratamento. No entanto, houve redução das variáveis, comprimento da parte aérea e raiz, em função do aumento das concentrações de óleo diesel utilizadas, quando comparadas ao controle (Fig. 1). Ao final do período experimental foi observada uma retomada de crescimento obtendo-se para estas variáveis, valores próximos aos encontrados no controle. Este resultado indica uma manutenção de um padrão de crescimento das plantas, mesmo sob tais condições. A redução no crescimento tanto da parte aérea como das raízes pode ser desencadeada pela formação de uma película de óleo ao redor das raízes, levando a alterações na absorção de nutrientes e água (HERNANDEZ-VALENCIA; MAGER, 2003). Efeitos negativos são observados em sementes de *Lolium multiflorum* L. crescidas em solo contaminado com óleo diesel onde, após 90 dias, ocorre uma redução de 37%, 36,5% e 36,4% no comprimento da parte aérea, raiz e peso seco, respectivamente. (AFZAL et al., 2013).

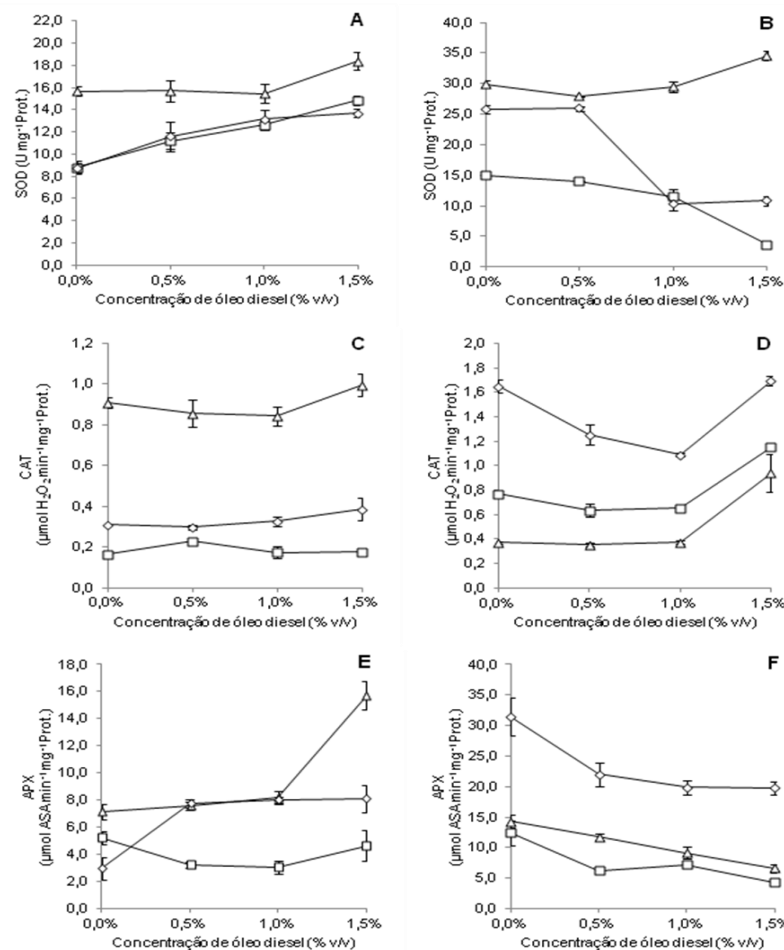


**Figura 1** – Comprimento da parte aérea (A) e raiz (B) de plantas de trevo vermelho submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel (v/v) no período de 112 DAE.

A atividade da SOD, na parte aérea das plantas de trevo vermelho, aumentou linearmente ( $P < 0,0001$ ), com o incremento das concentrações de óleo diesel, em comparação ao controle (Fig. 2A). No entanto, nas raízes, houve decréscimo linear de 58% ao final do experimento ( $P < 0,0001$ ) quando expostas à concentração mais elevada do composto (Fig. 2B).

Para a atividade da CAT, na parte aérea das plantas em estudo, não foi verificado efeito de tratamento ( $P=0,09$ ), apresentando um leve aumento na sua atividade de 19% na concentração mais elevada (1,5% (v/v)), aos 120 DAE (Fig. 2C). Enquanto que nas raízes houve acréscimo significativo de 150% quando expostas a 1,5% (v/v) de óleo diesel, com tendência quadrática ( $P=0,0004$ ) (Fig. 2D).

Em relação ao controle, as diferentes concentrações do derivado de petróleo elevaram significativamente a atividade da enzima APX, nos tecidos foliares, ( $P<0,0001$ ), chegando a 170% na maior concentração, aos 120 DAE (Fig. 2E). Já nas raízes, foi observado decréscimo contínuo ( $P<0,0001$ ) na sua atividade, sendo que a maior redução foi evidenciada na concentração mais elevada do óleo diesel, aos 90 DAE (66%) (Fig. 2F).



**Figura 2** – Atividade das enzimas CAT, APX e SOD da parte aérea (A; C; E) e raiz (B; D; F) aos 60 (— $\triangle$ —), 90 (— $\square$ —) e 120 (— $\diamond$ —) DAE de plantas de trevo vermelho, em função das diferentes concentrações de óleo diesel.

A habilidade das enzimas antioxidantes, SOD, APX e CAT, para remover espécies reativas de oxigênio, é dependente da cooperação entre elas sendo, desta forma, considerada fator fundamental para determinar a resistência das plantas ao estresse ambiental (SHI-SENG, 2007).

A redução na atividade da SOD e APX, nas raízes, ao longo do experimento, pode estar relacionada à inibição da expressão destas enzimas, quando expostas a elevadas concentrações do composto (POSZYK et al., 2009). No entanto, o acréscimo na atividade da enzima CAT, mais evidente a partir da

concentração de 1% (v/v), parece ocorrer como um mecanismo de proteção contra danos oxidativos causados pelo óleo diesel.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que o sistema antioxidante atua de maneira diferenciada nas diferentes partes das plantas de trevo vermelho, sendo mais eficaz nos tecidos foliares, o que permite a manutenção do seu crescimento.

Os autores agradecem a FAPERGS, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFZAL, M.; KHAN, S.; IQBAL, S.; MIRZA, M.S.; KHAN, Q.M. Inoculation method affects colonization and activity of *Burkholderia phytofirmans*. PsJN during phytoremediation of diesel-contaminated soil, International. **Biodeterioration & Biodegradation**, v. 85, p. 331-336, 2013.

AGUIAR, C.R.C.; LOPES, B.C.; BARBOSA, M.V.D.; BALIEIRO, F.C.; GOMES, M. M. Fitorremediação de Solos Contaminados por Petróleo. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n.1, p. 6, 2012.

AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. 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. **Physiology Plantarum**, v. 104, n.2, p. 280-292, 1998.

BLAZÃO, C.T. **Utilização de *Echinochloa polystachia* (Kunth) Hitchc. (POACEAE) na fitorremediação de solo contaminado com petróleo.** 2012. 61p. Dissertação (mestrado em Meio Ambiente e Urbano e Industrial) - Universidade Federal do Paraná.

GIANNOPOLITIS, I.; REIS, S.K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

HERNANDEZ-VALENCIA, I.; MAGER, D. Uso de *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de Petróleo liviano. **Bioagro**, v.15, n.3, p.149-156, 2003.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

POSMYK, M. M.; KONTEK, R.; JANAS, K. M. Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 596–602, 2009.

SHI-SHENG, K. Effects of Copper on the Photosynthesis and Oxidative Metabolism of *Amaranthus tricolor* Seedlings. **Agricultural Sciences in China**, v. 6, n. 10, p. 1182-1192, 2007.