

Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas

Plant generation and enzymatic detoxification of reactive oxygen species

Marta Ribeiro Barbosa^I Marina Medeiros de Araújo Silva^{II} Lilia Willadino^{III*}
Claudia Ulisses^{III} Terezinha Rangel Camara^I

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

As condições de estresse biótico e abiótico impostas às plantas induzem a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS), podendo causar danos às estruturas celulares e mesmo acarretar a morte da planta. As respostas bioquímicas e fisiológicas de plantas superiores ao estresse oxidativo incluem um eficiente sistema de defesa antioxidante, que envolve a atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase, peroxirredoxinas, dentre outras, além de metabólitos não enzimáticos, que, de forma conjunta, atuam na eliminação das ROS e na redução do dano oxidativo. Nesta revisão, serão abordados os principais sítios de produção de ROS e a ação de algumas enzimas do sistema de defesa antioxidante em plantas.

Palavras-chave: ROS, peróxido de hidrogênio, radical superóxido, enzimas antioxidantes.

ABSTRACT

The biotic and abiotic stress conditions imposed on plants induces overproduction of reactive oxygen species (ROS), which can cause damage to cellular structures and even lead to the death of the plant. The biochemical and physiological responses of higher plants to oxidative stress includes an efficient antioxidant defense system, which involves the activity of the enzymes superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, peroxiredoxines, among others, in addition to non-enzymatic metabolites, which, together, work on eliminating the ROS and in reducing oxidative damage. This review will address the main production sites of ROS and the action of some enzymes of antioxidant defense system in plants.

Key words: ROS, hydrogen peroxide, superoxide radical, antioxidant enzymes.

INTRODUÇÃO

O oxigênio molecular (O₂) surgiu na atmosfera terrestre há bilhões de anos e sua presença permite que os organismos aeróbios o utilizem comoceptor de elétron terminal durante a respiração celular, que proporciona um rendimento de energia superior ao da fermentação. Embora necessário para o desempenho das funções celulares, o O₂ leva, inevitavelmente, à formação de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*) em eventos metabólicos que ocorrem, principalmente, nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (BHATTACHARJEE, 2010; KARUPPANAPANDIAN et al., 2011).

As plantas desenvolveram mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos capazes de neutralizar a citotoxicidade das ROS. O sistema celular de defesa antioxidante começa com uma cascata enzimática, mas envolve também componentes não enzimáticos, dentre os quais se destacam o ascorbato (AsA), a glutatona (GSH), o β-caroteno e o α-tocoferol. Tais antioxidantes podem evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células das plantas (SERKEDJIEVA, 2011). Contudo, o equilíbrio entre a produção e a neutralização pode ser alterado, aumentando significativamente os níveis intracelulares de ROS, ocasionando o estresse

^IDepartamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil.

^{II}Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

^{III}Departamento de Biologia, UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: willadino.lilia@gmail.com.

*Autor para correspondência.

oxidativo (APEL & HIRT, 2004). A regulação da expressão de genes codificantes de enzimas antioxidantes, cuja atividade evita ou reduz os danos potenciais causados pelas ROS, faz parte da resposta a esse estresse (CYRNE et al., 2003).

Formação de ROS a partir do oxigênio molecular

ROS são normalmente referidas como subprodutos de reações redox (KOVALCHUK, 2010) que se apresentam tanto como radicais livres, como na forma molecular de um não radical. Essas moléculas podem ser geradas como resultado de excitação, formando oxigênio singleto (1O_2), ou de sucessivas adições de elétrons ao O_2 , reduzindo-o ao radical aniônico superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroperoxila (HO_2^{\cdot}) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^{\cdot}) (D'AUTRÉAUX & TOLEDANO, 2007; BHATTACHARJEE, 2010). No estado fundamental, o oxigênio é um tripleto (3O_2) com dois elétrons não pareados, de mesmo spin, em diferentes orbitais. A ativação e rotação de um dos elétrons desemparelhados pode ser revertida por excitação e formar 1O_2 (LIMA & ABDALLA, 2001; KOVALCHUK, 2010).

Ao contrário da maioria das moléculas, o estado singleto do O_2 tem maior energia do que o tripleto. Os dois elétrons com spins opostos no mesmo orbital conferem ao 1O_2 uma energia de 22,5kcal acima daquela do estado fundamental e um tempo de meia-vida em solvente aquoso de aproximadamente 10^{-6} s, muito curto. Apesar de ser menos reativo do que o radical OH^{\cdot} , o 1O_2 é mais reativo do que o $O_2^{\cdot-}$ e o H_2O_2 , e foi considerado durante muitos anos como uma molécula altamente tóxica com difusão muito limitada. Trabalhos recentes têm demonstrado que o 1O_2 pode se difundir a distâncias significativas a partir do seu sítio de produção e que a peroxidação lipídica nos cloroplastos é, quase exclusivamente, decorrente da ação do 1O_2 (TRANTAPHYLIDES & HAVAUX, 2009). O 1O_2 pode ser extinto de duas formas: transferindo sua energia de excitação para outras moléculas, e retornando ao estado fundamental (*quenching* físico) ou por reações de oxidação (*quenching* químico) com outras moléculas, como lipídios, proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos e carboidratos, causando danos às células (RONSEIN et al., 2006; TRIANTAPHYLIDÈS & HAVAUX, 2009).

O radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) é moderadamente reativo e considerado instável por possuir número ímpar de elétrons (13) na última camada eletrônica. Em pH fisiológico tem meia-vida de 2-4 μ s. O $O_2^{\cdot-}$ se forma a partir da redução do O_2 por um único elétron. Reduções univalentes subsequentes

convertem o O_2 em H_2O_2 e H_2O , em um processo chamado de redução tetravalente do oxigênio. Uma vez protonado, o $O_2^{\cdot-}$ forma o radical peroxila (HO_2^{\cdot}), uma ROS mais reativa que o próprio $O_2^{\cdot-}$, mas presente em pequenas proporções a pH fisiológico (pH 4,8, prevalece a presença de $O_2^{\cdot-}$). A dismutação do $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 é muito rápida e pode ocorrer tanto de forma espontânea como catalizada pela enzima superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) (BHATTACHARJEE, 2010). O $O_2^{\cdot-}$ pode doar elétrons ao Fe^{3+} formando Fe^{2+} que, por sua vez, reduz o H_2O_2 e forma OH^{\cdot} e OH^- . O conjunto de reações através das quais o $O_2^{\cdot-}$, o H_2O_2 e o Fe^{2+} rapidamente geram OH^{\cdot} é conhecido como "reação de Haber-Weiss", enquanto que a reação final, a oxidação do H_2O_2 pelo Fe^{2+} , é denominada reação de Fenton (GIL & TUTEJA, 2010). Essas reações podem ocorrer na presença dos íons ferro ou cobre (BARTOSZ, 1997; BHATTACHARJEE, 2010). O $O_2^{\cdot-}$ pode reduzir quinonas e metais de transição como cobre e ferro, afetando a atividade de enzimas que contêm metal (LOCATO et al., 2010). Devido a sua limitada capacidade de difusão e à rápida dismutação não enzimática em solução aquosa, o aumento na concentração de $O_2^{\cdot-}$ provavelmente é comunicado ao núcleo por meio de segundos mensageiros (MYLONA & POLIDOROS, 2010).

O H_2O_2 é uma ROS moderadamente reativa com uma meia-vida relativamente longa (1 ms) e cujo pequeno tamanho permite-lhe atravessar membranas celulares e migrar em compartimentos diferentes. Dessa forma, difunde os danos e também atua como um mensageiro da condição de estresse. O H_2O_2 tem uma ação deletéria, porque participa da reação formadora de OH^{\cdot} , o oxidante mais reativo na família das ROS. Além disso, o H_2O_2 é capaz de inativar enzimas por oxidação de seus grupos tiol (GADJEV et al., 2008; KARUPPANAPANDIAN et al., 2011).

O radical OH^{\cdot} é considerado a mais oxidante dentre as ROS e sua alta reatividade resulta em reações rápidas e inespecíficas com distintos substratos, podendo potencialmente reagir com todos os tipos de moléculas biológicas (AGUIAR & FERRAZ, 2007; MYLONA & POLIDOROS, 2010). Em sistemas biológicos, pode ocasionar modificações nas bases nitrogenadas, levando à inativação ou mutação do DNA; desnaturar proteínas pela oxidação de grupos sulfidrila (-SH) e pontes dissulfeto (-SS), além de causar danos a moléculas de carboidratos e retirar átomos de hidrogênio de grupos metileno de ácidos graxos poli-insaturados, dando início à peroxidação lipídica (BLOKHINA et al., 2003; BARREIROS, 2006). Devido à alta reatividade e curta meia-vida, não há registro de sistema gênicos ativados pelo OH^{\cdot} . Existem, porém, evidências de

seu papel regulatório no crescimento radicular e alongação foliar, bem como no afrouxamento da parede celular, possivelmente decorrente da degradação de polissacarídeos, induzida pelo OH^\cdot (MYLONA & POLIDOROS, 2010; FAURE et al., 2012).

Geração de ROS em processos metabólicos celulares

Os processos metabólicos dependentes do oxigênio, como a respiração aeróbica, fotossíntese e fotorrespiração, levam à produção de ROS em mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos, respectivamente. Cloroplastos e mitocôndrias são verdadeiras “casas-de-força” das células fotossintéticas. Nessas organelas, as cadeias transportadoras de elétrons (CTE) não são apenas a força motriz do metabolismo celular, mas geradoras de sinais redox, que participam e regulam processos biológicos das plantas, mediante a formação de ROS (FOYER & NOCTOR, 2003). A fotorrespiração é, sem dúvida, a principal fonte de H_2O_2 em células fotossintéticas. A geração peroxissomal de H_2O_2 pode servir como um mecanismo de transferência de um sinal proveniente da fotossíntese para o resto da célula (FOYER et al., 2009). Mesmo sob condições normais, a formação de H_2O_2 pela cadeia de transporte de elétrons (CTE) fotossintética de plantas C3 é da ordem de $4\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e, nos peroxissomos, na via fotorrespiratória, é de $10\text{ }\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (FOYER & SHIGEOKA, 2011). Nas mitocôndrias, cloroplastos

e citosol, o H_2O_2 é gerado a partir da dismutação do O_2^\cdot pela SOD. A β -oxidação de ácidos graxos nos glioxissomos também gera H_2O_2 . Na membrana plasmática, o H_2O_2 é formado pela ação da NADPH-oxidase (rboh) (EC 1.6.3.1) e, na matriz extracelular, várias enzimas também são fonte de H_2O_2 (MYLONA & POLIDOROS, 2010). O sistema fotossintético absorve grande quantidade de energia luminosa nos tilacoides para convertê-la em energia química. No Fotossistema II (PS-II), a formação de $^1\text{O}_2$ ocorre quando a energia armazenada na clorofila em seu estado tripleto não é dissipada, sendo então transferida para o O_2 (BHATTACHARJEE, 2010). Uma característica chave do PS-II é sua vulnerabilidade a danos induzidos pela luz, que é considerada uma consequência da produção de $^1\text{O}_2$ no centro de reação, que leva à oxidação irreversível da proteína D1 (VASS & CSER, 2009). Essa sensibilidade exige que o centro de reação do PS-II seja reconstruído, aproximadamente, a cada 30min, mesmo sob irradiâncias relativamente baixas. O processo de reparação de danos, entretanto, ocorre em todas as intensidades de luz (FOYER & SHIGEOKA, 2011; FOYER et al., 2012).

A formação do O_2^\cdot durante a fotossíntese acontece na CTE, no lado aceptor de PS-I (Figura 1). A fotorredução do O_2 em O_2^\cdot foi descoberta há pouco mais de meio século, 1951, por Mehler, e é conhecida como “Reação de Mehler” ou fluxo pseudocíclico

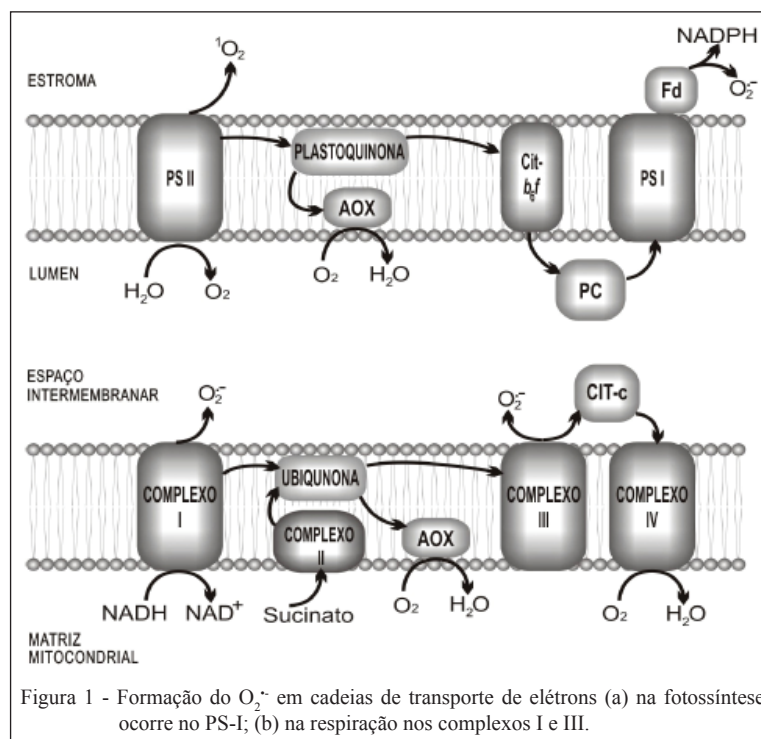


Figura 1 - Formação do O_2^\cdot em cadeias de transporte de elétrons (a) na fotossíntese ocorre no PS-I; (b) na respiração nos complexos I e III.

de elétrons. Apesar de geração de uma ROS, esse fluxo de elétrons evita que moléculas da CTE da fotossíntese mantenham-se em estado reduzido e produz sinais oxidativos que regulam a expressão gênica (FOYER & NOCTOR, 2009; FOYER et al., 2012). A geração do $O_2^{\cdot-}$ nos cloroplastos também pode ser induzida pela baixa concentração de CO_2 , em função do fechamento dos estômatos, resultante de condições de estresse como déficit hídrico, salinidade ou temperatura elevada (DABROWSKA et al., 2007). A limitação da fixação de CO_2 no ciclo de Calvin em plantas sob tais condições diminui a oxidação do NADPH. Quando isso ocorre, o elétron da ferredoxina reduzida que seria transferido para o NADP vai para o O_2 e forma $O_2^{\cdot-}$ (AHMAD et al., 2008). O $O_2^{\cdot-}$ também é produzido em peroxissomos, citosol e no espaço apoplástico (MYLONA & POLIDOROS, 2010).

A produção de ROS em mitocôndrias de plantas recebeu pouca atenção no passado (BREUSEGEM et al., 2001), mas dados recentes sugerem que tais organelas podem ser fontes de ROS sob condições de estresse específicos. Nas células heterotróficas, as mitocôndrias são as principais geradoras de ROS, mas, nas células fotossintezantes, é provável que respondam por uma pequena parte da produção de ROS em geral (NOCTOR, 2008). As oxidases alternativas (AOX, EC 1.10.3.11) catalisam a redução tetravalente do oxigênio à água, mas a redução univalente a $O_2^{\cdot-}$ ocorre em vários outros locais da CTE. Segundo MITTLER (2002), uma pequena parcela dos elétrons escapa da CTE respiratória nos complexos I e III, levando à produção de $O_2^{\cdot-}$ (Figura 1). Outras ROS são formadas pela mesma via nas mitocôndrias, incluindo H_2O_2 e OH^{\cdot} . Estudos revelam que a ubiquinona é uma das principais geradoras de H_2O_2 na CTE mitocondrial. Uma potencial sequência de super-redução da ubiquinona pode levar à produção do $O_2^{\cdot-}$ e do OH^{\cdot} na CTE mitocondrial, caso o nível de ADP esteja muito baixo e a rota principal de elétrons esteja saturada (HELDT & HELDT, 2005a; BHATTACHARJEE, 2010). A extensão da produção fisiológica de 1O_2 por mitocôndrias não é clara, embora a fonte potencial seja a foto-sensibilização de precursores heme ou produtos de degradação (NOCTOR, 2008).

Os peroxissomos são organelas que realizam reações de oxidação de substratos orgânicos, resultando na produção de H_2O_2 e são considerados os principais sítios intracelulares de geração dessa ROS (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; SHARMA et al., 2012). A geração fotorrespiratória de H_2O_2 ocorre como subproduto da oxidação do grupo alcoólico do glicolato

(FOYER et al., 2009). Em folhas, a produção de H_2O_2 nos peroxissomos e cloroplastos pode ser de 30 a 100 vezes mais rápida do que nas mitocôndrias (FOYER & NOCTOR, 2003; BHATTACHARJEE, 2010).

Estudos sobre a participação dos peroxissomos na formação de ROS durante a fotorrespiração e a senescência têm demonstrado a existência de dois sítios geradores de ROS nessas organelas: a matriz e a membrana peroxissomal. Na matriz, atua a xantina oxidase (XOD, EC 1.1.3.22), que catalisa a oxidação da xantina a ácido úrico e superóxido e é considerada uma via de formação de $O_2^{\cdot-}$. Já na membrana peroxissomal, uma pequena CTE parece estar envolvida na produção de $O_2^{\cdot-}$ (DEL RÍO et al., 2009).

Mecanismo de defesa por antioxidantes enzimáticos

Os processos metabólicos envolvem um sistema de óxido-redução em todos os organismos vivos. Os processos anabólicos, redutores, são utilizados para síntese orgânica e armazenamento de energia, enquanto o catabolismo reúne processos oxidativos para liberação de energia metabólica (FOYER & NOCTOR, 2003). Como visto anteriormente, tanto nas vias de síntese como de oxidação de moléculas biológicas, ocorre a formação de ROS nas estruturas subcelulares. Quando sob estresse ambiental e o equilíbrio entre a produção de ROS e a atividade antioxidante é rompido a favor dos compostos oxidantes, ocorrem danos oxidativos nas estruturas celulares (KIM & KWAK, 2010).

A capacidade de acionar mecanismos de defesa antioxidantes pode prevenir o acúmulo de ROS e o estresse oxidativo extremo (BHATTACHARJEE, 2010). Os sistemas de defesa antioxidantes das plantas envolvem agentes enzimáticos e não enzimáticos (MITTLER, 2002; KIM & KWAK, 2010). Enzimas são proteínas que catalisam reações químicas e mediam praticamente toda a enorme variedade de reações bioquímicas que constituem a vida, portanto, são essenciais para a manutenção adequada de qualquer organismo. As enzimas antioxidantes estão presentes em diferentes compartimentos celulares e contribuem para o controle das ROS em plantas, o que confere um estágio de homeostase redox no sistema. Destacam-se entre as enzimas antioxidantes a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1), glutatona redutase (GR, EC 1.6.4.2), peroxidases (POD, EC 1.11.1.7), catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e polifenoloxidase (PPO, EC 1.14.18.1). Entre os principais metabólitos antioxidantes, encontram-se o ácido ascórbico (AsA), a glutatona (GSH), o α -tocoferol e os carotenoides.

Todos eles ocorrem em cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (MITTLER, 2002; KIM & KWAK, 2010; DINAKAR et al., 2012).

O AsA é um dos mais importantes antioxidantes não enzimáticos e pode inativar várias ROS. Juntamente com a GSH, participa do Ciclo do Ascorbato-Glutationa, no qual o H_2O_2 é eliminado pela APX mediante a peroxidação do AsA. A recuperação do AsA ocorre por meio da oxidação da GSH que torna a ser reduzida pela glutathiona redutase (GR, EC 1.6.4.2)(DINAKAR et al 2012). A GSH é o principal composto tiol na maioria das plantas e também atua como antioxidante (DELAPLACE et al., 2011). O α -tocoferol e os carotenoides sequestram o 1O_2 produzido nas membranas tilacoides pelo PS II. Os carotenoides agem como um filtro da luz visível e UV e reduzem os danos celulares causados pela luz. O α -tocoferol já teve os genes de sua rota biossintética em plantas identificados. São moléculas lipossolúveis sintetizadas apenas por organismos fotossintetizantes. Vários fatores de estresse abiótico promovem o aumento do teor de α -tocoferol e as pesquisas têm demonstrado que ele atua na proteção dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFAS) contra a peroxidação dos lipídios de membrana pelas ROS (MAEDA & DELLAPENNA, 2007).

As SODs são metalo-enzimas consideradas a primeira linha de defesa contra as ROS e que catalisam a dismutação de dois radicais $O_2^{\cdot-}$, gerando H_2O_2 e O_2 . Essas enzimas participam da modulação do nível de H_2O_2 em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos (MITTLER, 2002; BHATTACHARJEE, 2010). Uma vez que dismutam o $O_2^{\cdot-}$, agem indiretamente na redução do risco de formação do OH^{\cdot} a partir do $O_2^{\cdot-}$ (DUBEY, 2011; DINAKAR et al., 2012). São classificadas de acordo com seus cofatores metálicos: cobre e zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD) (GILL & TUJETA, 2010). Em geral, as plantas contêm uma Mn-SOD localizada na matriz mitocondrial e uma Cu/Zn-SOD citosólica, com Fe-SOD e/ou Cu/Zn-SOD, presentes no estroma do cloroplasto. O número de isoenzimas de cada tipo de SOD varia muito de planta para planta, assim como a abundância relativa de cada enzima (BOWLER et al., 1992).

A CAT é uma das principais enzimas na eliminação do H_2O_2 gerado durante a fotorrespiração e a β -oxidação dos ácidos graxos. Atua nos peroxissomos e glioxissomos e pode ser encontrada também em mitocôndrias. Ela converte duas moléculas de H_2O_2 a H_2O e oxigênio molecular (HELDT & HELDT, 2005c; DUBEY, 2011). As plantas possuem várias isoformas de CAT, as quais podem dismutar

diretamente o H_2O_2 ou oxidar substratos, tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico (BREUSEGEM et al., 2001). A catalase e o ciclo do ascorbato-glutationa são importantes na eliminação do H_2O_2 e, apesar de suas propriedades e requisitos serem diferentes, podem funcionar efetivamente em paralelo. Como a CAT opera sem agente redutor, ela fornece às plantas uma forma energeticamente eficiente para remoção do H_2O_2 (SHARMA et al., 2012). A atividade da CAT é efetiva, principalmente, em concentrações relativamente altas de H_2O_2 (mM), por isso são consideradas indispensáveis para a desintoxicação de ROS, especialmente em condições de estresse severo, quando os níveis de H_2O_2 estão maiores (DUBEY, 2011).

A APX e a CAT são as duas enzimas mais importantes dentre os componentes de desintoxicação do H_2O_2 (BHATT & TRIPATHI, 2011). A ação da CAT e das peroxidases destaca a diferença básica entre as duas principais rotas metabólicas do H_2O_2 nas células. A remoção de H_2O_2 por peroxidases requer uma pequena molécula redutora (ou proteínas como o citocromo c ou tioredoxina) para agir como um co-fator de regeneração e não leva à evolução de O_2 , porque a água é o produto da reação (MHAMDI et al., 2012).

A APX é uma heme-proteína, da Classe I da superfamília das peroxidases, com distintas formas isoenzimáticas, diversamente reguladas. Suas isoformas podem ser encontradas em citosol, mitocôndrias, peroxissomos, cloroplastos (estroma e ligadas às membranas dos tilacoides) e parede celular (DABROWSKA et al., 2007; De GARA, 2004). A APX exige o ácido ascórbico como redutor. Tem alta afinidade com o H_2O_2 , com uma constante de Michaelis-Menten (K_M) na ordem de μM , permitindo a eliminação do H_2O_2 mesmo em baixas concentrações (LOCATO et al., 2010; SHARMA et al., 2012). Nos cloroplastos e mitocôndrias a APX atua no ciclo ascorbato-glutationa, no qual o H_2O_2 formado pela ação da SOD é reduzido pelo ascorbato (MITTLER, 2002; LOCATO et al., 2010). Nos cloroplastos a fotorredução do oxigênio à água pode gerar $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 , que são eliminados pela ação da SOD e da APX, respectivamente (ASADA, 2006).

Nas plantas, as PODs existem em muitas isoformas e estão envolvidas em uma série de processos celulares. Algumas PODs são constitutivamente expressas, enquanto outras são induzidas por estresses ambientais, como constatado em estudos em que baixas atividades mostram sintomas de estresse menos graves e as altas, sintomas mais graves. As PODs utilizam o H_2O_2 como oxidante e compostos de natureza fenólica como doadores de elétrons. Dessa

forma, o H_2O_2 formado pela ação da SOD também pode ser eliminado pelas PODs, além da CAT e APX (LOCATO et al., 2010). As PODs localizam-se principalmente na parede celular e no vacúolo. Sua atividade pode ser utilizada como marcador bioquímico do estresse resultante de fatores bióticos e abióticos, bem como na identificação precoce de processos morfogênicos durante a diferenciação celular, crescimento e multiplicação de plantas (LIMA et al., 2002; PIZA et al., 2003; LOCATO, 2010; KIM & KWAN, 2010).

APXs e PODs não são as únicas peroxidases das células vegetais. As peroxirredoxinas (Prx) e a peroxidase da glutathiona (GPx) têm recebido atenção especial recentemente. As Prx são tiol-peroxidases que catalisam a desintoxicação do H_2O_2 e outros peróxidos. As Prx, diferentemente das PODs e APXs, não têm cofatores redox como grupos prostético com um íon metálico, normalmente necessário para a reação catalítica ocorrer. Dessa forma, durante a redução do H_2O_2 , sofrem oxidação que as torna inativas. Como lhes faltam cofatores redox, dependem de redutores ou doadores de elétrons externos para sua regeneração subsequente no ciclo catalítico. De acordo com as diferentes subclasses de Prx, uma ampla gama de doadores de elétrons ou redutores são responsáveis por sua regeneração, incluindo-se NADPH ou NADH e diferentes proteínas, como a tioredoxina (Trx), a glutaredoxina (Grx) (BHATT & TRIPATHI, 2011).

O OH^\bullet é uma molécula altamente nociva em sistemas vivos. Por isso a sua formação pela redução de íons metálicos na presença do O_2^\bullet deve ser evitada. As enzimas do sistema antioxidante não eliminam o OH^\bullet diretamente, de modo que a regulação de seus precursores, O_2^\bullet e H_2O_2 , é o passo fundamental na prevenção dos riscos do OH^\bullet , reunindo a ação das enzimas SOD, APX e CAT (BHATTACHARJEE, 2010; MYLONA & POLIDOROS, 2010).

CONCLUSÃO

As ROS são formadas como subproduto do metabolismo aeróbico e participam de uma sofisticada rede de vias de sinalização em plantas, em resposta a situações de estresse. Essas espécies químicas têm influência na expressão de vários genes envolvidos no metabolismo e em vias de transdução de sinais, agindo, portanto, como “moléculas sinalizadoras” ou “mensageiros secundários”. Por outro lado, as ROS, quando acumuladas, podem reagir com moléculas biológicas e causar danos irreversíveis que podem levar à morte celular. Inúmeros trabalhos têm associado o

nível de ROS e a atividade de enzimas antioxidantes a processos de sinalização e defesa contra o estresse, incluindo respostas ao déficit hídrico, salinidade, temperaturas extremas, metais pesados, ataque de patógenos, além da indução de vias morfogênicas *in vitro*. Contudo, apesar do crescente interesse nessa área de pesquisa, ainda existem diversos aspectos a serem explorados. Estudos futuros em genômica, proteômica e metabolômica poderão ajudar na compreensão das redes bioquímicas envolvidas nas respostas celulares ao estresse oxidativo, permitindo uma visão mais ampla do papel das ROS em todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A.; FERRAZ, A. Mecanismo e aplicações da reação de Fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro. **Química Nova**, v.30, p.623-628, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422007000300023&script=sci_arttext>. Acesso em: 21 out. 2011. doi: 10.1590/S0100-40422007000300023.
- AHMAD, P. et al. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. **Journal of Plant Biology**, v.51, n.3, p.167-173, 2008. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/15861x3n519x657r/fulltext.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2011. doi: 10.1007/BF03030694.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373-399, 2004. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>>. Acesso em: 26 out. 2011. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, v.141, p.391-396, 2006. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/141/2/391.full.pdf+html>>. Acesso em: 19 jul. 2012. doi: 10.1104/pp.106.082040.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000100021>. Acesso em: 26 out. 2011. doi: 10.1590/S0100-40422006000100021.
- BARTOSZ, G. Oxidative stress in plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.19, p.47-64, 1997. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/k080k75u25w646/fulltext.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2011. doi: 10.1007/s11738-997-0022-9.
- BHATT, I.; TRIPATHI, B.N. Plant peroxidases: catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. **Biotechnology Advances**, v.29, p.850-859, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975011000991>>. Acesso em: 25 out. 2012. doi: 10.1016/j.bbr.2011.03.031.

- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. p.1-30.
- BLOKHINA, O. et al. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v.91, p.179-194, 2003. Disponível em: <<http://aob.oxfordjournals.org/content/91/2/179.full.pdf+html>>. Acesso em: 21 set. 2012. doi: 10.1093/aob/mcf118.
- BOWLER, C. et al. Superoxide dismutase and Stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.43, p.83-11, 1992. Disponível em: <<http://hortsci.ashspublishers.org/content/39/5/983.full.pdf>>. Acesso em: 21 set. 2012. doi: 10.1146/annurev.pp.43.060192.000503.
- BREUSEGEM, F.V. et al. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v.161, p.405-414, 2001. Disponível em: <http://www.ufv.br/dbv/pgfv/BVE684/htmls/pdfs_revisao/estresse/active%20oxygen%20species%20in%20plant%20signal%20transduction.pdf>. Acesso em: 21 set. 2012.
- CYRNE, L. et al. Regulation of antioxidant enzymes gene expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* during stationary phase. **Free Radical Biology & Medicine**, v.34, p.385-393, 2003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/S089158490201300X>>. Acesso em: 21 set. 2009. doi: 10.1016/S0891-5849(02)01300-X.
- D'AUTRÉAUX, B.; TOLEDANO, M.B. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.8, p.813-824, 2007. Disponível: <<http://www.uvm.edu/~vgn/outreach/documents/nrm2256.pdf>>. Acesso em: 27 jun. 2012. doi: 10.1038/nrm2256.
- DABROWSKA, G. et al. Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. **Acta Biologica Cracoviensia**, v.49, n.1, p.7-17, 2007. Disponível em: <http://www.ib.uj.edu.pl/abc/pdf/49_1/01dabrow.pdf>. Acesso em: 21 jun. 2012.
- De GARA, L. Class III peroxidases and ascorbate metabolism in plants. **Phytochemistry Reviews**, v.3, n.1-2, p.195-205, 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1023%2FB%3APHYT.0000047795.82713.99?LI=true>>. Acesso em: 18 ago. 2012. doi: 10.1023/B:PHYT.0000047795.82713.99.
- DELAPLACE, P. et al. Antioxidants involvement in the ageing of non-green organs: the potato tuber as a model. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. New Hampshire, Science Publishers, 2011. Chap.8, p.151-176.
- DEL RIO, L.A. et al. Peroxisomes as a cellular source of ROS signal molecules. In: DEL RÍO, A.L.; PUPPO, A. **Reactive oxygen species in plant signaling**. Heidelberg: Springer, 2009. p.95-111.
- DEL RIO, L.A. et al. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisome. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.1255-1272, 2002. Disponível em: <<http://jxb.oxfordjournals.org/content/53/372/1255.full.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2012. doi: 10.1104/pp.106.078204.
- DINAKAR, C. et al. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v.182, p.29-41, 2012. Disponível em: <<http://ac.els-cdn.com/S0168945211000379/1-s2.0-S0168945211000379>>. Acesso em: 14 ago. 2012. doi: 10.1016/j.plantsci.2011.01.018.
- DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Chap.9, p.178-203.
- FAURE, A.M. et al. Ascorbic acid induced degradation of beta-glucan: Hydroxyl radicals as intermediates studied by spin trapping and electron spin resonance spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v.87, p.2160-2168, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861711009519>>. Acesso em: 15 nov. 2012. doi:10.1016/j.carbpol.2011.10.045.
- FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v.119, p.355-364, 2003. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1399-3054.2003.00223.x/pdf>>. Acesso em: 21 set. 2011. doi: 10.1034/j.1399-3054.2003.00223.x.
- FOYER, C.H. et al. Photorespiratory metabolism: genes, mutants, energetics, and redox signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v.60, p.455-84, 2009. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.arplant.043008.091948>>. Acesso em: 21 set. 2011. doi: 10.1146/annurev.arplant.043008.091948.
- FOYER, C.H. et al. Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression. **Journal of Experimental Botany**, v.63, p.1637-1661, 2012. Disponível em: <http://jxb.oxfordjournals.org/content/63/4/1637>. Acesso em: 3 ago. 2012. doi:10.1093/jxb/ers013.
- FOYER, C.H.; SHIGEOKA, S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. **Plant Physiology**, v.155, p.93-100, 2011. Disponível em: <http://www.plantphysiol.org/content/155/1/93.full.pdf>. Acesso em: 25 out. 2012. doi:10.1104/pp.110.166181.
- GADJEV, I. et al. Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v.270, p.87-144, 2008. Disponível em: <http://www.niab.com/uploads/files/06-IRCMB_270_Ch_03.pdf>. Acesso em: 12 set. 2012.
- GIL, 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. Disponível: <http://www.plantsstress.com/articles/up_oxidative_files/Antioxidants%20and%20stress%20tolerance%202010.pdf>. Acesso em: 15 maio 2011. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
- HELDT, H.W.; HELDT, F. Mitochondria are the power station of the cell. In: HELDT, H.W. **Plant biochemistry**. San Diego: Academic, 2005a. p.135-164.
- HELDT, H.W.; HELDT, F. The use of energy from sunlight by photosynthesis is the basis of life. In: HELDT, H.W. **Plant biochemistry**. San Diego: Academic, 2005b. p.45-66.
- HELDT, H.W.; HELDT, F. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. In: HELDT, H.W. **Plant biochemistry**. San Diego: Academic, 2005c. p.435-454.

- KARUPPANAPANDIAN, T. et al. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.6, p.709-725, 2011. Disponível em: <http://www.cropj.com/kim_5_6_2011_709_725.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2012.
- KIM, Y.H.; KWAK, S.S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. p.129-150.
- KOVALCHUK, I. Multiple roles of radicals in plants. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. p.31-44.
- LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.37, n.3, p.293-303, 2001. Disponível em: <<http://www.rbcbf.usp.br/edicoes/Volumes/V37N3/PDF/v37n3p293-303.pdf>>. Acesso em: 21 set. 2012.
- LIMA, G.P.P. et al. Efeito do BAP e ANA e atividade da peroxidase em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz CV 'MCO22') cultivada *in vitro*. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.2, p.107-110, 2002. Disponível em: <<http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/v8n2/artigo04.pdf>>. Acesso em: 19 maio 2012.
- LOCATO, V. et al. Reactive oxygen species and ascorbate-glutathione interplay in signaling and stress responses. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. p.45-64.
- MAEDA H.; DELLAPENNA, D. Tocopherol functions in photosynthetic organisms. **Current Opinion in Plant Biology**, v.10, p.260-265, 2007. Disponível em: <www.sciencedirect.com>. Acesso em: 29 mar. 2013. doi: 10.1016/j.pbi.2007.04.006.
- MEHLER, A.H. Studies on the reactions of illuminated chloroplasts. II. Stimulation and inhibition of the reaction with molecular oxygen. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.34, p.339-351, 1951. Disponível em: <http://ac.els-00000aacb35e&acdnat=1346877425_840a1694fa8d0eb720add38c8c76d016>. Acesso em: 21 jul. 2011. doi: 10.1016/0003-9861(51)90012-4.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.9, p.405-410, 2002. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S1360138502023129/1-s2.0-S1360138502023129-main.pdf?_tid=18fce1ee-f799-11e1-9e23-00000aacb35f&acdnat=1346877451_8e3e01c159c2ce299d9a230bd1cd09e8>. Acesso em: 25 ago. 2012. doi: 10.1016/S1360-1385(02)02312-9.
- MYLONA, P.V.; POLIDOROS, A.N. ROS regulation of antioxidant genes. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Cap.6, p.101-128.
- PIZA, I.M.T. et al. Atividade de peroxidase e níveis de proteínas em plantas de abacaxizeiro micropropagadas em meio salino. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n.4, p.361-366, 2003. Disponível em: <<http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/v9n4/artigo09.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2012.
- RONSEIN, G.E. et al. Oxidação de proteínas por oxigênio singleto: mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas. **Química Nova**, v.29, n.3, p.563-568, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000300027>. Acesso em: 11 jul. 2012. doi: 10.1590/S0100-40422006000300027.
- SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Chap.13, p.275-293.
- SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v.2012, p.1-26, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/217037>. Acesso em: 04 out. 2012. doi: 10.1155/2012/217037.
- TRIANTAPHYLIDES C.; HAVAUX, M. Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling. **Trends in Plant Science**, v.14, n.4, p.219-229, 2009. Disponível em: <<http://www.cell.com/trend/retrieve/pii/S1360138509000727>>. Acesso em: 23 jul. 2012. doi:10.1016/j.tplants.2009.01.00.
- VASS I.; CSER, K. Janus-faced charge recombinations in photosystem II photoinhibition. **Trends Plant Science**, v.14, p.200-205, 2009. Disponível em: <<http://www.cell.com/trends/plant-science/retrieve/pii/S1360138509000715>>. Acesso em: 21 jul. 2012. doi:10.1016/j.tplants.2009.01.009.