

## ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RAÍZES DE PLANTAS DE FEIJÃO-MIÚDO SUBMETIDAS À APLICAÇÃO EXÓGENA DE PROLINA E CLORETO DE SÓDIO

RODRIGO FERNANDO EICHHOLZ<sup>1</sup>; CRISTINA DEUNER<sup>2</sup>; ÍTALO LUCAS DE MORAES<sup>1</sup>; GABRIELE ESPINEL ÁVILA<sup>1</sup>; ALINE RICHTER<sup>1</sup>; SIDNEI DEUNER<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas – [rodrigofeichholz@gmail.com](mailto:rodrigofeichholz@gmail.com); [italolucasmoraes@gmail.com](mailto:italolucasmoraes@gmail.com); [gabriele.esp@gmail.com](mailto:gabriele.esp@gmail.com); [liinee.r@hotmail.com](mailto:liinee.r@hotmail.com);

<sup>2</sup>Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas – [cdeuner@yahoo.com.br](mailto:cdeuner@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas – [sdeuner@yahoo.com.br](mailto:sdeuner@yahoo.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

O feijão-miúdo *Vigna unguiculata* (L.) Walp, importante leguminosa anual, é encontrado em todo território nacional. No Rio Grande do Sul (RS) a maior produção encontra-se nos municípios de São José do Norte, Tavares e Mostardas, onde há pouco mais de uma década, foram identificados genótipos com elevada produção de biomassa, altamente adaptados a solos com baixa fertilidade, conforme ocorrência na planície costeira do Estado e também no nordeste brasileiro (BEVILAQUA et al., 2007).

Há fatores ambientais, denominados estresses ou distúrbios ambientais, que limitam a produtividade agrícola (ASHRAF e HARRIS, 2004). A salinidade é um dos mais importantes fatores de estresse abiótico, afetando diversos aspectos da fisiologia e bioquímica das plantas, reduzindo significativamente seus rendimentos. Altas concentrações exógenas de sal afetam a germinação das sementes, causando déficit hídrico e desequilíbrio iônico nas células, resultando em toxicidade e estresse osmótico (KHAN e PANDA, 2008).

O acúmulo de solutos orgânicos é um processo comum em plantas submetidas a estresses ambientais (TAIZ e ZEIGER, 2002). Estes compostos compartilham a propriedade de permanecerem invariáveis em pH neutro e serem altamente solúveis em água (HASEGAWA et al., 2000). Prolina e compostos contendo nitrogênio como aminoácidos, estão entre os principais solutos que se acumulam em resposta à salinidade (PARIDA e DAS, 2005).

Entre os N-aminossolúveis que se acumulam em resposta ao estresse osmótico, a prolina é indiscutivelmente a mais relatada. No entanto, há autores que sugerem que o acúmulo de prolina é apenas uma consequência do estresse e não uma resposta adaptativa.

LIU & ZHU (1997), utilizando mutantes *sos1* de *Arabidopsis thaliana* sensíveis ao estresse salino, observaram que estes acumulavam mais prolina que os tipos selvagens (tolerantes). O fato é que, além de não se ter uma visão clara das plantas que se ajustam osmoticamente produzindo solutos orgânicos, também pouco se conhece sobre que tipo específico de soluto é acumulado por uma determinada espécie. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o efeito da aplicação exógena de prolina combinada ou de forma isolada ao NaCl sobre o crescimento inicial de plantas de feijão-miúdo.

## 2. METODOLOGIA

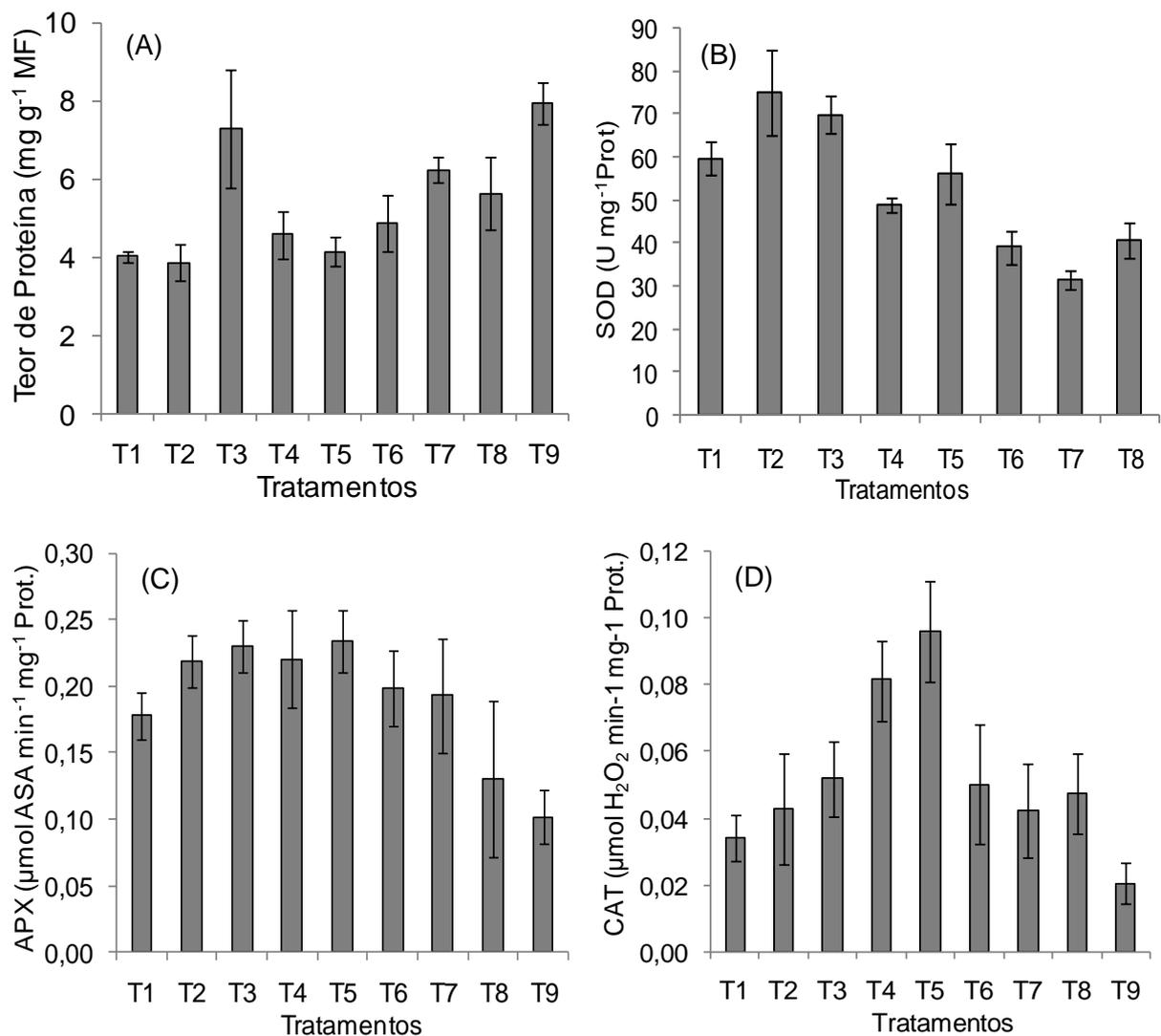
O experimento foi conduzido em sala de crescimento, no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão de Leão. Sementes de feijão-miúdo, genótipo Amendoim, foram inicialmente embebidas em 100 mL de solução, conforme cada tratamento descrito a seguir, durante 45 minutos e, posteriormente, semeadas, quatro por vaso, em vasos com capacidade para 0,5 litros, sendo utilizado como substrato areia lavada. Os tratamentos estabelecidos foram: T1 – Controle (irrigadas continuamente); T2 e T3 – dois níveis de sal (75 e 150 mM de NaCl, respectivamente, que corresponde a uma condutividade elétrica da solução de 3,5 e 6,2 mS cm<sup>-1</sup>), aplicados ao substrato após a semeadura em intervalos de 3 dias em volume de 50 mL por vaso por período aplicado; T4 e T5 – duas doses de prolina (10 e 20 mM, respectivamente), aplicada via pulverização foliar nos mesmo períodos da aplicação do sal; T6 – aplicação de 75 mM de sal via substrato acrescido de 10 mM de prolina via foliar; T7 – aplicação de 150 mM de sal via substrato acrescido de 10 mM de prolina via foliar; T8 - aplicação de 75 mM de sal via substrato acrescido de 20 mM de prolina via foliar e, T9 - aplicação de 150 mM de sal via substrato acrescido de 20 mM de prolina via foliar. Entre os períodos da aplicação dos tratamentos com sal, foi fornecido as plantas água para mantê-las bem irrigadas e assim evitar que houvesse um aumento da concentração de sal devido ao seu acúmulo no substrato, além de solução nutritiva (HOAGLAND & ARNON, 1950) a meia força aos sete e 14 dias da semeadura

Aos 21 DAS, as plântulas, em cada tratamento, foram coletas e suas raízes analisadas quanto a atividade das enzimas antioxidantes Superóxido dismutase (Giannopolitis e Ries, 1977), Catalase (Azevedo et al., 1998) e Ascorbato peroxidase (Nakano e Asada, 1981). O extrato para a quantificação das enzimas foi obtido a partir da maceração dos tecidos radiculares em tampão de extração a partir do qual foi quantificado o teor de proteínas totais pelo método de Bradford (1976). Cada tratamento foi constituído de quatro vasos com quatro plantas por vaso e as análises enzimáticas realizadas em uma planta de cada vaso, sendo a unidade experimental formada por uma planta totalizando quatro repetições.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os teores de proteínas totais, os maiores valores foram observados nos tratamentos com 150 mM de NaCl e com 150 mM de NaCl acrescido de 20 mM de prolina (Figura 1A). Nos demais tratamentos a diferença em relação à testemunha foi pouco expressiva. Quanto à atividade das enzimas antioxidantes, para a SOD (Figura 1B), aumento expressivo foi observado nos tratamentos onde as plantas foram submetidas ao estresse salino, sem a presença de prolina, uma vez que, para os tratamentos na presença deste aminoácido, a atividade da SOD expressou valores inferiores aos observados no tratamento controle.

Em relação à APX (Figura 1C), houve um aumento em sua atividade nos tratamentos onde as plantas foram submetidas ao NaCl e prolina de forma isolada e quando combinado em ambas as doses salinas e 10 mM de prolina. De forma contrária, para a CAT (Figura 1D), somente nos tratamentos com aplicação exógena de prolina foi observado aumento expressivo em sua atividade.



**Figura 1** – Teores de proteína (A) e atividade específica das enzimas antioxidantes SOD (B), APX (C) e CAT (D) em raízes de plantas de feijão-miúdo cultivadas sob efeito de estresse salino.

Segundo HARE e CRESS (1997), o acúmulo de prolina tem vários efeitos nas plantas, como a aclimação aos estresses ambientais, redução na acidificação celular, substrato para a respiração e proteção de macromoléculas contra desnaturação.

#### 4. CONCLUSÕES

A aplicação via foliar de prolina, sem a presença de sal, causa danos as plantas de feijão-miúdo, os quais refletem no aumento na atividade das enzimas APX e CAT nas raízes. Entretanto, seu efeito é positivo quando combinado com o NaCl.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, v.166, n.1, p.3-16, 2004.
- 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. *Physiologia Plantarum*, v.104, p.280-292, 1998.
- BEVIVILAQUA, G.A.P.; GALHOHO, A.M.; ANTUNES, I.F.; MARQUES, R.L.L.; MAIA, M.S. Manejo de sistemas de produção de sementes e forragem de feijão-miúdo para a agricultura familiar. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 60p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 204).
- BRADFORD, M. M.; *Anal. Biochem.* 1976, 72, 248
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, v.59, p.309-314, 1977.
- HARE, P. D. & CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, v. 21. p. 79 – 102. 1997.
- HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K. & BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 51. p. 463 – 499. 2000.
- HOAGLAND, D.R & ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley, Cal. Agric. Exp. Station, 1950. 347p. (Cal. Agric. Exp. Station, Cir.)
- KHAN, M.H.; PANDA, S.K. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.30, n.1, p.81-89, 2008.
- LIU, J. & ZHU, J.-K. 1997. Proline accumulation and saltstress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 114:591-596.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, v.22, n.5, p.867-880, 1981.
- PARIDA, A. K. & DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 60. p. 324 – 349. 2005.
- TAIZ, L; ZEIGER, E. *Plant Physiology*. Sunderland, Sinauer Associates Inc., 2002. 690p.

