

O ÁCIDO SALICÍLICO ALTERA O METABOLISMO ANTIOXIDANTE E OSMORREGULADOR DE FEIJÃO-CAUPI SUBMETIDO AO DÉFICIT HÍDRICO

SALICYLIC ACID ALTERS ANTIOXIDANT AND OSMOREGULATORY METABOLISM OF COWPEA SUBMITTED TO WATER DEFICIT

Andrade, WL¹; Melo, AS¹; Almeida Neto, VE¹; Cavalcante, IE¹; Melo, YL¹

¹Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, R. Baraúnas, 351 - Universitário, Campina Grande - PB, 58429-500. Brasil. welerson.rocker@hotmail.com; alberto@uepb.edu.br; netove7@gmail.com; igorencavalcante@gmail.com; yurimelo86@gmail.com

Resumo: O presente estudo objetivou avaliar o efeito da aplicação foliar de ácido salicílico sobre a atividade de enzimas antioxidante e da concentração de prolina do genótipo de feijão-caupi Rouxinol, submetido ao déficit hídrico. O feijoeiro foi cultivado sob duas lâminas de irrigação (W100 e W50, 100% e 50% da reposição hídrica da evapotranspiração, respectivamente), além da aplicação foliar de duas doses de ácido salicílico (0,0 e 1,0 mM). O esquema fatorial (2 LAM x 2 AS) foi disposto em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais. Após 40 dias da aplicação dos tratamentos, foram coletadas as partes aéreas da planta e realizadas avaliações bioquímicas, representadas pela atividade das enzimas superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, catalase, além da concentração de prolina livre. O déficit hídrico aumentou a atividade apenas da enzima ascorbato peroxidase, além de aumentar os níveis de prolina. A aplicação foliar do ácido salicílico aumentou a atividade das enzimas ascorbato peroxidase e catalase, na ausência do déficit hídrico, e a atividade da enzima superóxido dismutase e do aminoácido prolina, além de reduzir a atividade de ascorbato peroxidase e da catalase, após submissão ao déficit hídrico.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*; Déficit hídrico; Enzimas antioxidantes; Prolina.

Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) possui características de adaptação a uma ampla faixa de ambientes nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo cultivado predominantemente sob climas quentes em trópicos semiáridos e sub-tropicos, portanto é considerada uma importante leguminosa utilizada na alimentação humana, por apresentar um alto valor nutritivo com vários minerais e vitaminas (FREIRE FILHO et al., 2011).

O mundo vem sofrendo drasticamente com o aumento da temperatura global, e como consequência aumenta a escassez hídrica, principalmente nas regiões áridas e semiáridas, a exemplo do Nordeste brasileiro, o que implica, muitas vezes, na exposição vegetal a períodos sazonais de deficiência hídrica (GIROTTO et al., 2012).

A ausência de água no solo, muitas vezes, gera um estresse oxidativo nas plantas, impedindo o funcionamento normal da célula, produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs) e em nível mais avançados, causa a morte vegetal (MAIA et al., 2012). As espécies reativas de oxigênio mais comuns são: oxigênio singlete (¹O₂), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radical hidroxila (OH•) e ânion superóxido (O₂•-) (SHARMA et al., 2012). Dada essas condições, os vegetais tentam sustentar o seu potencial hídrico por meio da acumulação de osmoprotetores e/ou solutos compatíveis no interior da célula, a exemplo da prolina, (MUNNÉ-BOSCH et al., 2013), além da adoção de recursos estruturais para melhorar o funcionamento celular sob déficit hídrico, como a ativação do mecanismo antioxidante de sinalização e defesa, mediada por enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, a ascorbato peroxidase e a catalase (BARBOSA et al., 2014).



Ainda, para auxiliar as plantas na mitigação dos estresses abióticos, as aplicações de eliciadores endógenos ou exógenos medeiam reações de defesa. Dentre os principais eliciadores destacam-se os ácidos orgânicos (salicílico, ascórbico e cítrico). Presente na maioria das plantas, o ácido salicílico (AS) possui inúmeras funções reguladoras no metabolismo vegetal (KANG et al., 2014). Além disso, o ácido salicílico desempenha papel importante na regulação de vários processos fisiológicos na planta (KANG et al., 2014), contudo o acúmulo de AS é um formidável componente nos sinais de tradução das vias principais para a resistência sistêmica adquirida (AGOSTINI et al., 2013). No entanto, o mecanismo exato de ação do AS não é bem compreendido, principalmente, porque o mesmo pode diferir de espécie para espécie, bem como pode variar de acordo com as condições ambientais (PÁL et al., 2014).

Diante deste cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de ácido salicílico via foliar em plantas de feijão-caupi, submetidas à restrição hídrica, através da atividade de enzimas antioxidantes e da concentração de prolina.

Metodologia

O referido trabalho foi realizado no Viveiro Florestal, situado a 07° 12' 42,99" de latitude Sul, 35° 54' 36,27" longitude Oeste a uma altitude de 521 metros, pertencente à Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, Campina Grande – PB, com clima Aw tropical segundo Köppen-Geiger.

Plantas de feijoeiro do genótipo Rouxinol foram cultivadas em vasos de polietileno com capacidade volumétrica de 20 litros, preenchidos com material de solo de textura franco-arenosa. Após se elevar a umidade do solo ao nível próximo ao da capacidade de campo, foram alocadas seis sementes por vaso a uma profundidade média de 2 cm. Irrigações foram realizadas normalmente durante 25 dias após a emergência das plantas. Após esse período, foram aplicadas duas doses de ácido salicílico, sem (AS-) e com (AS+) ácido salicílico, na concentração de 1,0 mM. No dia seguinte à aplicação do AS, as plantas de feijoeiro foram submetidas a duas lâminas de irrigação: W100 (sem estresse) e W50 (com estresse), com 100% e 50% da reposição hídrica da evapotranspiração, respectivamente, monitoradas com auxílio de um evaporímetro instalado na área experimental.

A combinação dos fatores resultou em esquema fatorial de 2 (lâminas de irrigação) X 2 (aplicações de AS), correspondendo a 4 tratamentos, distribuídos no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais. Após 40 dias da aplicação dos tratamentos, folhas de plantas de feijoeiro foram coletadas e acondicionadas em freezer -20 °C para posterior análises bioquímicas, correspondendo a determinação da concentração de Prolina Livre (PRO) e às enzimas antioxidantes: Superóxido Dismutase (SOD), Ascorbato Peroxidase (APX) e Catalase (CAT).

A concentração de PRO foi determinada segundo metodologia descrita por Bates (1973), expressa $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa fresca, com leitura realizada em espectrofotômetro a 520 nm. A avaliação da atividade da SOD foi quantificada de acordo com Gianopolitis e Ries (1977), onde os resultados obtidos foram expressos em unidade de atividade por grama de massa fresca por minuto ($\text{UA} \cdot \text{gMF}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). A atividade da APX foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), onde foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $2,8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ e expressa em μmol de ácido ascórbico. $\text{gMF}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. A atividade da CAT foi determinada através do consumo de H_2O_2 monitorado por espectrofotometria a 240 nm (BEER JÚNIOR E SIZER, 1952), onde a atividade foi estimada pelo decréscimo na absorbância a cada 10 segundos, durante 1 min (μmol de $\text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{gMF}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F a 5% de probabilidade). O teste de pares independentes (t de Student) foi utilizado para comparação



das doses de ácido salicílico e das lâminas de irrigação, utilizando-se do software SISVAR

Resultados e discussão

O genótipo de feijoeiro avaliado neste trabalho, submetido ao déficit hídrico, apresentou aumento na concentração de prolina tanto no grupo tratado com AS como sem AS (Figura 1 A). Em condições de déficit hídrico, este aumento foi de aproximadamente 65% para o tratamento com AS e 15% para o tratamento sem aplicação de AS, comparados aos seus grupos controles irrigados.

O aumento de prolina, nas condições de déficit hídrico, pode estar relacionado a uma tentativa de regulação osmótica, aumentando a capacidade da planta de extrair água do solo, de proteger a integridade celular, ou ainda, a sua participação na constituição de estoque de nitrogênio e carbono, utilizados no período de estresse (ULLAH et al., 2017). A aplicação exógena de AS aumenta a atividade antioxidante, bem como o teor de prolina em algumas espécies, revelando o possível papel regulador do referido ácido em níveis transcricionais e/ou traducionais (GHASEMZADEH e JAAFAR, 2013).

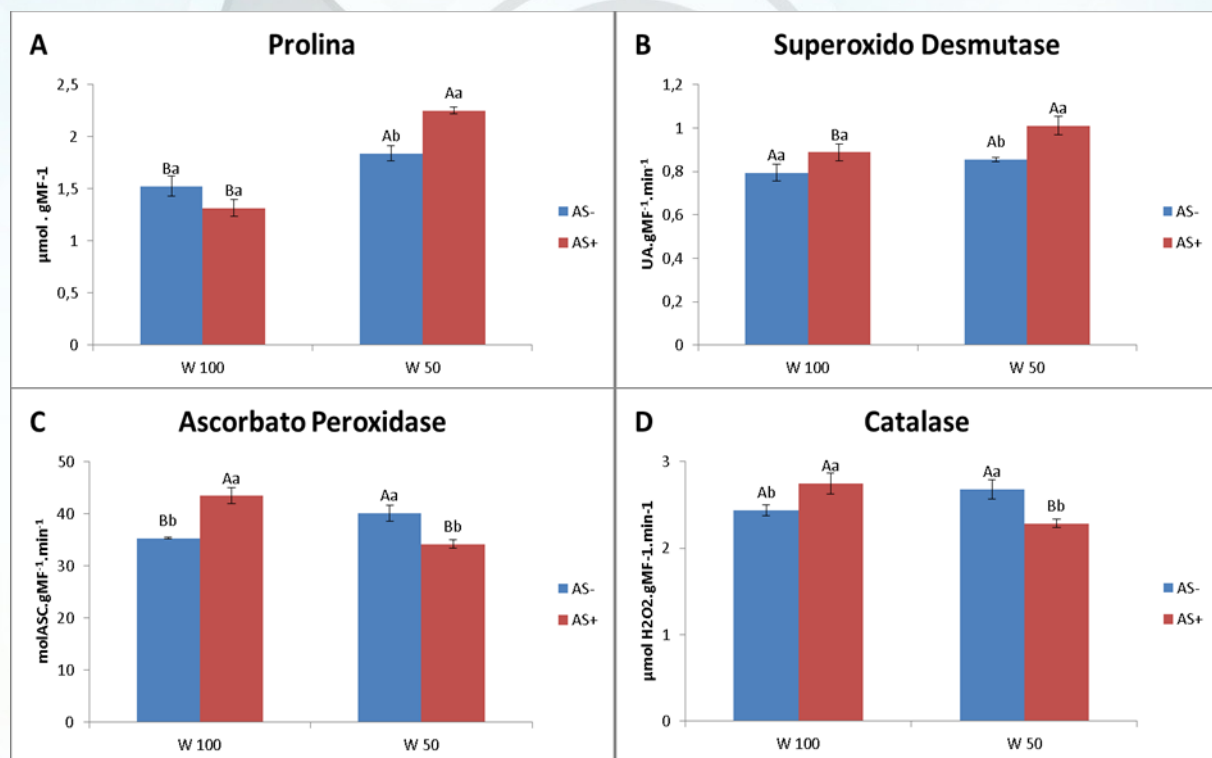


Figura 1. Concentrações de Prolina (PRO) (A); atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD) (B), Ascorbato Peroxidase (APX) (C) e Catalase (CAT) (D) no genótipo de feijão-caupi Rouxinol submetido ao déficit hídrico, após a aplicação do AS. AS-: sem aplicação do ácido salicílico; AS+: com aplicação de ácido salicílico; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam as aplicações de AS e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.

No genótipo estudado, houve um aumento na atividade da enzima SOD, em aproximadamente 15% nas plantas tratadas com ácido salicílico (AS), quando submetidas à restrição hídrica. Já as plantas sem aplicação de AS não tiveram diferença significativa entre as lâminas (Figura 1B). Em relação à APX, observou-se em situação de estresse, redução na atividade desta enzima para os tratamentos com aplicação de AS, enquanto que no tratamento sem ácido salicílico observou-se aumento na atividade desta enzima (Figura 1C). Neste genótipo, a atividade da enzima Catalase foi reduzida para os tratamentos com aplicação do AS nas plantas



sob restrição hídrica, não havendo diferença significativa entre a atividade da Catalase nos tratamentos sem a aplicação de AS, para as diferentes lâminas de irrigação (Figura 1D).

O ácido salicílico exerce um papel importante na modulação das respostas contra o estresse hídrico, como o aumento da atividade antioxidante (KANG et al., 2014). A regulação positiva da SOD está relacionada com o combate do estresse oxidativo causado pelo déficit hídrico, tendo um papel crítico na sobrevivência das plantas em ambientes com maiores limitações de água. O aumento da atividade da SOD, observado nas lâminas sob restrição hídrica, foi responsável pela minimização dos efeitos deletérios do radical superóxido sobre as estruturas celulares, o que pode permitir uma maior tolerância das cultivares à deficiência hídrica (DUTRA et al., 2015).

Dutra et al. (2015), avaliando a aplicação do AS como indutor de tolerância ao déficit hídrico nas fases de germinação e crescimento inicial de feijão-caupi, observaram que a atividade antioxidante foi incrementada no feijoeiro após embebição das sementes em AS, entretanto neste trabalho, a aplicação foliar do AS na fase reprodutiva não promoveu efeito significativo para a atividade de APX e CAT, como também pode ser observado por Pál et al. (2014) avaliando a atividade das enzimas antioxidantes em arroz submetido à estresse abiótico e aplicação foliar de AS.

A baixa atividade das enzimas, observadas no presente estudo, pode estar relacionada ao aumento do teor de prolina, pois o referido aminoácido pode atuar na mitigação do déficit hídrico e reduzir a produção de EROs, o que justificaria a redução na atividade das enzimas antioxidantes (SHARMA et al., 2012). O aumento da concentração de prolina em feijoeiro auxilia nos processos fotossintéticos das plantas, reduzindo de maneira indireta o estresse oxidativo pela redução da produção de EROs, reduzindo a atividade de enzimas antioxidantes sob condições de estresse (COSTA et al., 2011)

A ação benéfica do AS depende de vários fatores, dentre os quais, a fase da planta, a receptividade das proteínas receptoras e os fatores ambientais (PÁL et al., 2014). Logo, verifica-se que o modo de ação do AS ainda é consideravelmente mal compreendido, podendo variar de acordo com a fase fenológica em que é aplicado, idade dos tecidos, receptividade das proteínas receptoras, bem como, de acordo com os fatores ambientais.

Conclusões

O déficit hídrico aumentou a atividade apenas da enzima ascorbato peroxidase, além de aumentar os níveis de prolina. A aplicação foliar do ácido salicílico aumentou a atividade das enzimas ascorbato peroxidase e catalase, na ausência do déficit hídrico, e a atividade da enzima superóxido dismutase e do aminoácido prolina, além de reduzir a atividade de ascorbato peroxidase e da catalase, após submissão ao déficit hídrico.

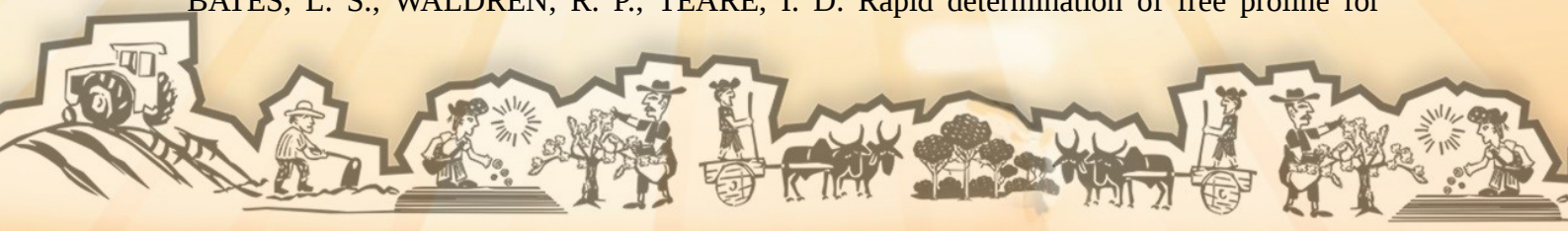
Agradecimentos: CAPES, UEPB, Embrapa Algodão, ECOLAB.

Referências

AGOSTINI, E. A. T.; MACHADO-NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Induction of water deficit tolerance by cold shock and salicylic acid during germination in the common bean. *Acta Scientiarum*, v. 35, n. 2, p. 209-219, 2013.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciências Agrárias*, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for





water-stress studies. Short communication. **Plant and soil**, v.39, p.205-207, 1973.

BEERS JUNIOR, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 1, p. 133-140, 1952.

COSTA, R. C. L.; LOBATO, A. K. S.; SILVEIRA, J. A. G.; LAUGHINGHOUSE, H. D. ABA mediated proline synthesis in cowpea leaves exposed to water deficiency and rehydration. **Turkish Journal of Agriculture & Forestry**, v.35, p.309-317, 2011.

DUTRA, A.F.; MELO, A.S.; FILGUEIRAS, L.M.B.; SILVA, A.R.F.; OLIVEIRA, I.M.; BRITO, M.R.B. Parâmetros fisiológicos e componentes de produção de feijão-caupi cultivado sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.10, n.2, p.189-197, 2015.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S.R.; RODRIGUES, E. V. **Feijão-caupi no Brasil: Produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Terezina: Embrapa Meio-Norte, 84p. 2011

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E. Interactive effect of salicylic acid on some physiological features and antioxidant enzymes activity in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Molecules**, v.18, n.5, 2013.

GIROTTO, L.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; ALBUQUERQUE, A. C. S.; TOMAZONI, A. P. Tolerância seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, v.59, n.2, p.192-199, 2012.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p.309-14, 1977.

KANG, G.; LI, G.; GUO, T. Molecular mechanism of salicylic acid-induced abiotic stress tolerance in higher plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 9, p. 2287-2297, 2014.

MUNNÉ-BOSCH, S.; QUEVAL, G.; FOYER, C. H. The Impact of Global Change Factors on Redox Signaling Underpinning Stress Tolerance. **Plant Physiology**, v. 161, n. 1, p. 5-19, 2013.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplast. **Plant Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

PÁL, M.; KOVÁCS, V.; SZALAI, G.; SOÓS, V.; MA, X.; LIU, H.; MEI, H.; JANDA, T. Salicylic acid and abiotic stress responses in rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 200, n. 1, p. 1-11, 2014.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v.2012, n.1, p.1-26, 2012.

ULLAH, A.; SUN, H.; YANG, X.; ZHANG, X. Drought coping strategies in cotton: increased crop per drop. **Plant Biotechnology Journal**, v.15, p.271-284, 2017.

