

ACÚMULO DE PROLINA E AMINOÁCIDOS EM CULTIVARES DE FEIJÃO CAUPI COM TOLERÂNCIA DIFERENCIAL À SALINIDADE

Sidney Carlos Praxedes

Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará E-mail sidneypraxedes@gmail.com

Thalita Montoril Ferreira

Centro de Ciências, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará E-mail: thalita@gmail.com

Enéas Gomes Filho

Centro de Ciências, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará E-mail: eneias@gmail.com

RESUMO – Este trabalho teve por objetivo o estudo do acúmulo de prolina e aminoácidos em dois cultivares de feijão caupi, previamente identificados como tolerante (Pitiúba) e sensível à salinidade (TVu 2331), ao longo do tempo de exposição ao estresse. Plantas de ambos os cultivares foram expostas 75 mM de NaCl (estresse salino), adicionados a taxa de 25 mM dia⁻¹ em solução nutritiva e seu comportamento foi comparado com o de plantas controle, mantidas nas mesmas condições ambientais. De forma geral, o estresse salino inibiu mais o crescimento no cultivar TVu 2331. As plantas estressadas deste cultivar apresentaram um maior acúmulo de prolina em suas folhas, sugerindo a existência de um mecanismo de proteção. O cultivar TVu 2331 também apresentou tendência de acúmulo de aminoácidos nas folhas e raízes, que pode ter ocorrido em função da maior inibição no seu crescimento.

Palavras chaves: Salinidade,, feijão

INCREASE OF PROLINE AND AMINOACIDS IN COWPEA CULTIVARS WITH DIFFERENTIAL SALT STRESS TOLERANCE

ABSTRACT – The aim of this work was the study of proline and aminoacids accumulation in two cowpea cultivars, previously identified as tolerant (Pitiúba) and sensitive to salinity (TVu 2331), along the stress exposition time. Plants of both cultivars were exposed to NaCl 75 mM (salt stress), added at rate of 25 mM day⁻¹ in nutritious solution and its behavior was compared with control ones, kept at the same environmental conditions. In general, salt stress inhibited more the growth in TVu 2331 cultivar. The stressed plants of this cultivar also presented larger proline accumulation in their leaves, suggesting the existence of a protection mechanism. TVu 2331 cultivar also presented tendency of more accumulation of aminoacids in the leaves and roots, which could have occurred due its higher growth inhibition.

Key Words: Salinity, cowpea, solutes.

INTRODUÇÃO

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).

Em trabalho preliminar, dois cultivares foram selecionados devido sua resposta contrastante à salinidade (COSTA *et al.*, 2003). Este trabalho é parte de um estudo que visa caracterizar vários aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados à tolerância ao estresse salino no feijão caupi. Seu objetivo específico foi o estudo do acúmulo de solutos prolina e aminoácidos ao longo do tempo de exposição ao estresse, para verificar se existe relação com o crescimento das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois cultivares representando um tolerante (Pitiúba) e outro sensível (TVu 2331) à salinidade foram utilizados como material vegetal. Após semeadura e aclimatação, as plântulas mais uniformes foram transferidas para vasos individuais contendo 3 L da solução nutritiva de Hoagland diluída 1:2 (controle) ou da solução nutritiva a qual 75 mM de NaCl foi adicionado à taxa de 25 mM dia⁻¹ (estresse salino). As amostras foram coletadas da terceira folha completamente expandida e do terço final das raízes, sendo congeladas rapidamente e liofilizadas, conforme descrito em Azevedo Neto *et al.* (2006). Para a determinação de prolina (BATES *et al.*, 1973) e aminoácidos (YEMM e COCKING, 1955), as amostras foram homogeneizadas por 10 min em almofariz e pistilo resfriados, com tampão de extração composto de KH₂PO₄ a 100 mM (pH 7,0), ascorbato a 1 mM e ácido etilenodiaminotetraacético (sal dissódico) a 0,1 mM. O

homogenato resultante foi filtrado em tecido de musselina e centrifugado a 20.000 xg durante 15 min e o sobrenadante coletado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De forma geral, o estresse salino inibiu mais a produção de biomassa total e área foliar no cultivar TVu 2331 (dados não apresentados), confirmando observações prévias (COSTA *et al.*, 2003).

O excesso de sais teve efeito significativo ($p \leq 0,01$) no aumento da concentração foliar de prolina no cultivar Pitiúba ao final do experimento ($p \leq 0,05$; Figura 1A), porém este efeito não foi tão marcante quanto no cultivar TVu 2331, que apresentou aumento desde 10 dias após o início da imposição do estresse salino (DIE; Figura 1B). Este efeito já foi verificado no feijão caupi (COSTA *et al.*,

2003), apesar de que dependendo do cultivar e do nível de estresse, pode não ocorrer (SILVA *et al.*, 2003). O acúmulo de prolina ter vários efeitos na aclimação aos estresses ambientais, tais como a redução na acidificação celular, substrato para a respiração (HARE e CRESS, 1997) e proteção de macromoléculas contra desnaturação (SCHOBERT e TSCHESCHE, 1978). Neste trabalho, apenas no cultivar mais sensível à salinidade houve acúmulo mais expressivo de prolina, confirmando a hipótese de que seu aumento ocorre em função do nível de estresse sofrido pela planta (HARE e CRESS, 1997). Diferentemente das folhas, nas raízes de ambos os cultivares o estresse salino não promoveu alteração significativa ($p \leq 0,05$) na concentração de prolina (Figura 1C e D).

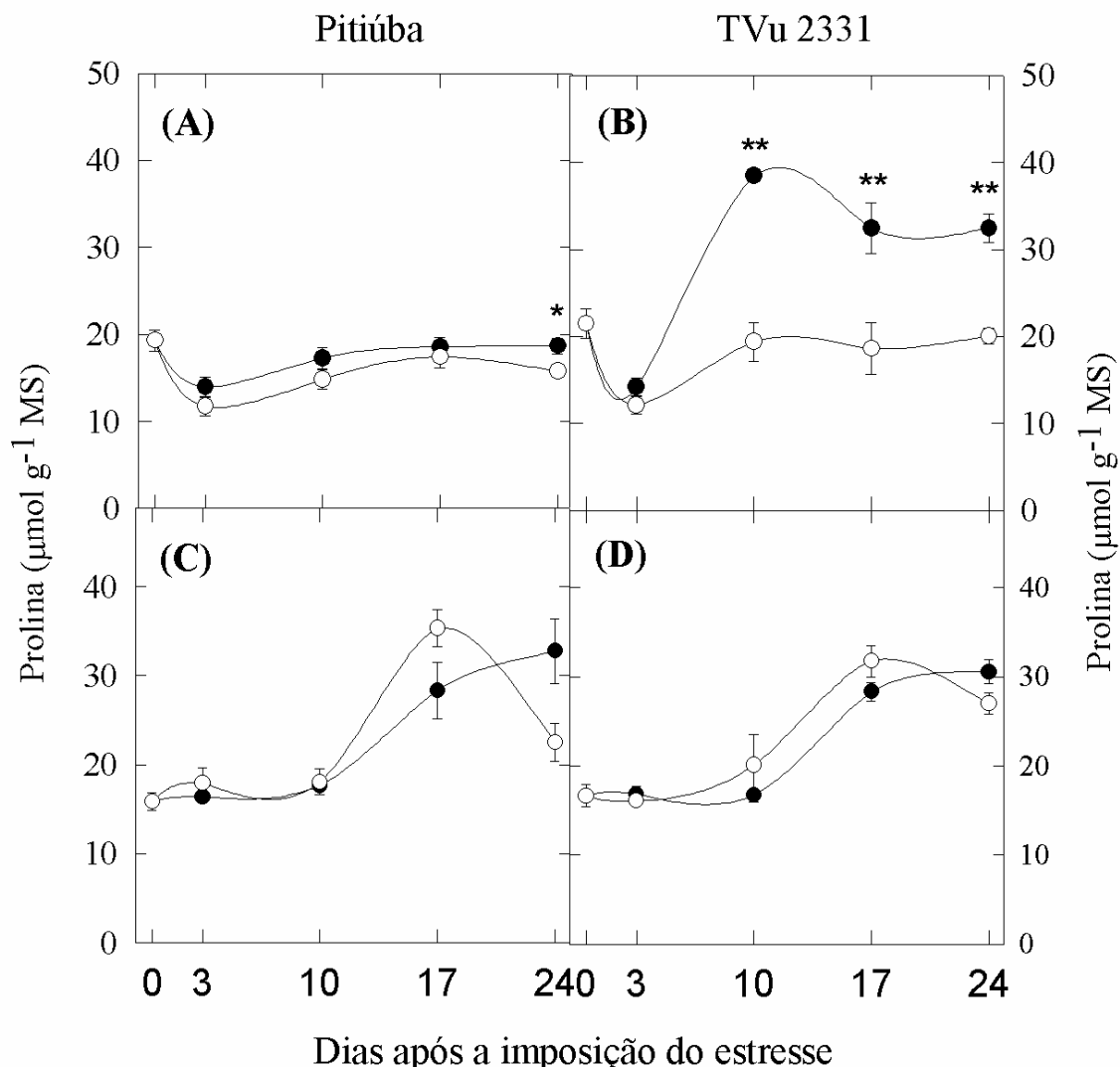


Figura 1 – Concentração de prolina em folhas e raízes dos cultivares de feijão caupi Pitiúba (tolerante a salinidade) e TVu 2331 (sensível a salinidade), cultivados em solução nutritiva de Hoagland 1:2 (controle; círculos abertos) e solução nutritiva adicionada de 75 mM de NaCl (estresse salino; círculos fechados). Diferenças estatísticas entre tratamentos de um mesmo cultivar em determinada época são representadas por (*) e (**), de acordo com o teste *t* de Student a ($p \leq 0,05$) e ($p \leq 0,01$), respectivamente, com $n = 5$. As barras indicam o erro padrão da média.

Com relação ao efeito do estresse salino na concentração foliar de aminoácidos, no cultivar Pitiúba a única diferença ($p \leq 0,01$) foi o aumento aos 24 DIE (Figura 2A). No cultivar TVu 2331 houve aumento ($p \leq 0,05$) aos 17 e 24 DIE (Figura 2B). Tal aumento ocorreu provavelmente devido a redução na concentração foliar de aminoácidos das plantas controle a partir de 10 DIE (Figura 2B), que devem ter sofrido influência das exigências nutricionais para o florescimento neste cultivar, que ocorreu por volta dos 16 DIE, uma vez que o nitrogênio é translocado principalmente na forma de aminoácidos (TAIZ e ZEIGER, 2002). O acúmulo de

aminoácidos em resposta à salinidade pode funcionar como um dreno para o excesso de nitrogênio, acumulado devido à redução no crescimento (GILBERT *et al.*, 1998), o que pode ter ocorrido no cultivar TVu 2331, que apresentou maior inibição do crescimento. Alterações significativas ($p \leq 0,01$) na concentração radicular de aminoácidos também só ocorreram neste cultivar (Figura 2C e D), sendo o efeito mais marcante o aumento nas plantas estressadas aos 24 DIE (Figura 2D), sugerindo que nesta época houve restrição em seu transporte para outros órgãos.

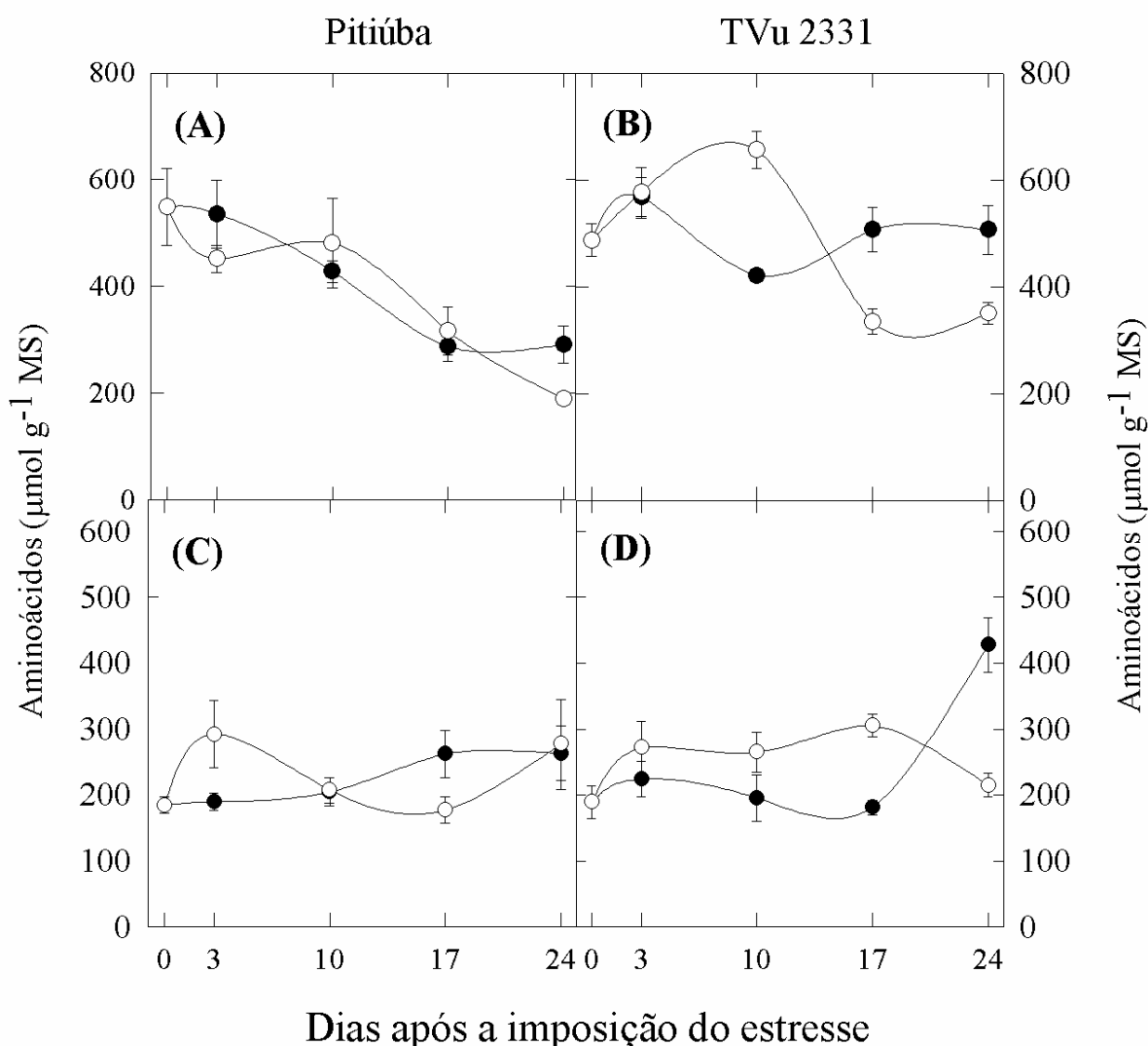


Figura 2 – Concentração de aminoácidos em folhas e raízes dos cultivares de feijão caupi Pitiúba (tolerante a salinidade) e TVu 2331 (sensível a salinidade), cultivados em solução nutritiva de Hoagland 1:2 (controle; círculos abertos) e solução nutritiva adicionada de 75 mM de NaCl (estresse salino; círculos fechados). Detalhes da legenda na Figura 1.

CONCLUSÕES

O cultivar mais sensível (TVu 2331) apresentou maior acúmulo de prolina em função do estresse salino,

indicando que esta pode ser um mecanismo de proteção do feijão caupi contra o excesso de sais. Aumentos nas concentrações de aminoácidos devem estar relacionados à inibição do crescimento das plantas, uma vez que o cultivar que apresentou maior inibição do crescimento (TVu 2331), também apresentou tendência de acúmulo de aminoácidos.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao apoio financeiro da CAPES e CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS FILHO, J.; 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.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P. & TEARE, J. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39. p. 205 – 207. 1973.

COSTA, P. H. A.; SILVA, J. V.; BEZERRA, M. A.; ENÉAS FILHO, J.; PRISCO, J. T. & GOMES FILHO, E. Crescimento e níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de *Vigna unguiculata* submetidos à salinidade. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26. p. 289 – 297. 2003.

GILBERT, G. A.; GADUSH, M. V.; WILSON, C. & MADORE, M. A. Amino acid accumulation in sink and source tissues of *Coleus blumei* Benth. during salinity stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 49. p. 107 – 114. 1998.

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.

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.

SCHOBERT, B. & TSCHESCHE, H. Unusual solution properties of proline and its interaction with proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 541. p. 270 – 277. 1978.

SILVA, J. V.; LACERDA, C. F.; COSTA, P. H. A.; ENÉAS FILHO, J.; GOMES FILHO, E.; PRISCO, J. T. Physiological responses of NaCl stressed cowpea plants grown in nutrient solution supplemented with CaCl₂. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15. p. 99 – 105. 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Sunderland, Sinauer Associates Inc., 2002. 690p.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of aminoacids with ninhidrin. **Analyst** v. 80. p. 209 – 213. 1955.