



## ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLÂNTULAS DE ALGODOEIRO HERBÁCEO IRRIGADAS COM ÁGUA SALINA

Alexson Filgueiras Dutra<sup>1</sup>; Juliara dos Santos Silva Araújo<sup>1</sup>; Fabianne Vasconcelos Dantas<sup>1</sup>; Lucimara Ferreira de Figueredo<sup>1</sup>; Maria do Socorro Rocha<sup>2</sup>; Napoleão Esberard de Macedo Beltrão<sup>3</sup>; Alberto Soares de Melo<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Mestrandos em Ciências Agrárias, Campus I da UEPB, Campina Grande - PB, CEP 58429-500, Fone: (83) 9941-6656, E-mail: alexsonbrejo@hotmail.com; <sup>2</sup> Doutora em Agronomia, UFPB, E-mail: marialirium@hotmail.com; <sup>3</sup> Pesquisador Doutor da Embrapa Algodão, Campina Grande-PB. E-mail: napoleãobeltrão@gmail.com.br; <sup>4</sup> Professor Doutor da UEPB, Campina Grande - PB. E-mail: alberto@uepb.edu.br.

**RESUMO** – Objetivou-se analisar a atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT em plântulas de algodoeiro herbáceo irrigadas com água salina. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, pertencente ao Centro nacional de pesquisa do algodão (CNPA) da Embrapa-Algodão, na cidade de Campina Grande-PB. Utilizaram-se sementes de algodão da cultivar BRS Topázio, onde foram deslindadas e tratadas com fungicidas antes da sementeira em bandejas plásticas. Os tratamentos constaram de cinco níveis de condutividade elétrica da água ( $C_1= 0,64$ ;  $C_2= 2,46$ ;  $C_3= 3,29$ ;  $C_4= 4,85$  e  $C_5= 6,02$  dS  $m^{-1}$  a 25 °C), utilizando-se delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os níveis de condutividade elétrica da água foram obtidos por meio de doses crescentes de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl) e cloreto de potássio (KCl). A irrigação foi realizada diariamente em dois turnos de rega (matutino e vespertino) adotando-se volume padrão de 500 mL de água. Aos 15 dias após a sementeira foram coletadas amostras das folhas cotiledonares para posterior análise enzimática da SOD e CAT. A atividade das enzimas foi determinada espectrofotometricamente. Elevadas concentrações de salinidade da água de irrigação provocam redução da atividade das enzimas SOD e CAT em algodoeiro na fase de plântula.

**Palavras-chave:** *Gossypium ssp.*; salinidade; superóxido dismutase.

### INTRODUÇÃO

O Brasil foi o quinto maior produtor mundial de algodão na safra 2007/2008, o que representou cerca de 6% da produção mundial, sendo a maior parte da produção brasileira concentrada no centro-oeste e no estado da Bahia (CONAB, 2009). O algodoeiro (*Gossypium spp*) é considerado uma cultura moderadamente tolerante a presença de sais no solo (TAIZ; ZEIGER, 2004), sendo que seu limite de tolerância, denominado de “Salinidade Limiar” (SL), chega a ser de 7,7 dS  $m^{-1}$  (AYERS; WESTCOT, 1999).

A alta concentração de sais é um fator de estresse para as plantas, pois reduz o potencial osmótico e proporciona a ação dos íons sobre o protoplasma, de forma que o aumento da

concentração de sais torna a água cada vez menos disponível para as plantas (RIBEIRO et al., 2001). Assim, com o aumento da salinidade ocorre diminuição do potencial osmótico do solo, dificultando a absorção de água pelas raízes (AMORIM et al., 2002; LOPES; MACEDO, 2008).

A planta de algodão pode sofrer alterações no seu metabolismo quando submetido a elevado estresse salino, prejudicando os processos fisiológicos e bioquímicos. Em resposta a essas condições, ocorrem alterações na atividade de certas enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT), que atuam em nível de membrana, evitando danos na célula.

Segundo McDonald (1999), as superóxidos dismutase catalisam a reação de dismutação de radicais superóxidos livres ( $O_2^-$ ) produzidos em diferentes locais na célula para oxigênio molecular ( $O_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), sendo este último decomposto pela atividade da catalase (CAT), onde  $H_2O_2$  é transformado em  $O_2$  e  $H_2O$ . Com a elevação de concentrações de sais no espaço do citosol a síntese de proteínas e algumas enzimas são bloqueadas inibindo o processo metabólico no vegetal. Contudo, em algumas cultivares de algodão resistente a altas concentrações de salinidade, tem sido observado aumento de enzimas antioxidantes (FERNANDES, 2005).

Com o surgimento de cultivares de algodão colorido, torna-se necessária a condução de pesquisas visando a se conhecer a potencialidade de produção de novos genótipos, em condições diferentes de manejo de água e solo, viabilizando a sua exploração em locais onde haja problemas de salinidade da água (AUDRY; SUASSUNA, 1995). Devido à escassez de trabalhos com novas cultivares, considerando as condições hídricas do semiárido e a pouca disponibilidade de água de boa qualidade, objetivou-se com este trabalho analisar a atividade de enzimas antioxidantes em plântulas de algodão colorido BRS Topázio irrigadas com diferentes níveis de salinidade.

## METODOLOGIA

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação pertencente ao Centro nacional de pesquisa do algodão (CNPA) da Embrapa-Algodão, na cidade de Campina Grande - PB no mês de dezembro de 2010. A cidade esta situada a  $7^{\circ}15'18''$  de latitude Sul,  $35^{\circ}52'28''$  de longitude Oeste do meridiano de Greenwich e altitude de 547,56m. Utilizaram-se bandejas plásticas com dimensões de 23cm x 38cm x 6cm de largura, comprimento e profundidade, respectivamente. As sementes de algodão utilizadas foram da cultivar BRS Topázio obtidas no banco de sementes da Embrapa-Algodão, onde foram deslindadas e tratadas com fungicidas antes de semeadas.

Os tratamentos utilizados constaram de cinco níveis de condutividade elétrica da água ( $C_1= 0,64$ ;  $C_2= 2,46$ ;  $C_3= 3,29$ ;  $C_4= 4,85$  e  $C_5= 6,02$  dS  $m^{-1}$  a  $25^{\circ}C$ ), utilizando-se delineamento experimental

inteiramente casualizado com quatro repetições. Os níveis de condutividade elétrica da água foram obtidos por meio de doses crescentes de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl) e cloreto de potássio (KCl), onde determinou-se sua massa por meio de balança de precisão. A irrigação com os determinados níveis de salinidade foram realizados diariamente em dois turnos de rega (matutino e vespertino) adotando-se volume padrão de 500 mL de água. Aos 15 dias após a semeadura foram coletadas amostras das folhas cotiledonares para posterior análise enzimática da SOD e CAT.

Para obtenção do extrato enzimático, as amostras do tecido cotiledonar foram maceradas com nitrogênio líquido e mantidas em 2 mL de solução tampão fosfato 0,1 mol.L<sup>-1</sup> (pH 6,5). Posteriormente foram centrifugadas a 1800 rpm por 20 minutos e após armazenadas a -80°C para serem utilizadas como fonte enzimática.

Determinou-se a atividade da superóxido dismutase (SOD), pela adição de 100 µL de extrato enzimático bruto, a 3 mL de uma solução com L-metionina 13 mM, riboflavina 2 µM, cloreto azul de p-nitro-tetrazólio (NBT) 75 µM, e EDTA 100 nM, em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8. A reação aconteceu em uma câmara, sob a iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W, mantida dentro de uma caixa coberta com papel alumínio, a 25°C. A reação, iniciada ao ligar a lâmpada, foi interrompida um minuto depois pelo desligamento da mesma. A atividade da SOD foi medida pela diferença no aumento da absorbância das amostras a 560 nm, subtraído de um “branco” ao qual o extrato enzimático bruto não foi adicionado. Para determinar a atividade da CAT, adicionou, em uma cubeta de quartzo, 100 µL de extrato bruto em 900 µL de solução tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), suplementando com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12 mM. As leituras das enzimas foram determinadas espectrofotometricamente.

Os dados das variáveis foram submetidos à análise de variância pelo teste F até 5% de probabilidade e os respectivos modelos de regressão ajustados de acordo com o coeficiente de determinação a 5% de probabilidade (STORCK et al., 2000) utilizando-se os programas SISVAR 5.0 e Excel 2007.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando-se os resultados do resumo da análise de variância apresentada na Tabela 1, verifica-se que os tratamentos com diferentes níveis de salinidade da água influenciaram significativamente ( $p < 0,01$ ) a atividade da enzima SOD em plântulas de algodoeiro aos 15 dias após semeadura, porém não influenciou ( $p > 0,05$ ) na atividade da enzima catalase.

Observa-se na Figura 1A, que a atividade da superóxido dismutase (SOD) teve comportamento linear decrescente com o aumento dos níveis de salinidade da água, obtendo-se no maior nível de salinidade (6,02 dS m<sup>-1</sup>) uma atividade de 16,3 U g MF<sup>-1</sup> e no menor nível (0,64 dS m<sup>-1</sup>) 24,5 U g MF<sup>-1</sup>, verificando-se no maior nível um decréscimo de 50% em relação ao menor nível. A fase de plântula é muito sensível a estresses e quando elevados provocam danos irreversíveis à planta. A SOD é a primeira enzima a atuar no sistema antioxidante, sendo que a sua diminuição pode estar relacionada com a fase em que a planta recebe o estresse submetido, afetando o seu metabolismo e suas funções bioquímicas.

Na Figura 1B, nota-se que a atividade da catalase (CAT) ajustou-se ao modelo quadrático, verificando-se uma atividade máxima estimada de 22,89  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$  obtida com nível de salinidade máximo estimada de 3,54 dS m<sup>-1</sup>. Vê-se ainda que o aumento da atividade enzimática da catalase foi inversamente proporcional ao aumento da condutividade elétrica da água de irrigação. Neste caso, infere-se que o efeito estressante dos sais tenha causado alterações na estrutura protéica da enzima, diminuindo sua atividade. Ressalta-se que essas alterações podem ocorrer em função da salinidade, altas temperaturas, altas intensidades luminosas e outros estresses, com diminuição de sua atividade (KALIR; POLJAKOFF-MAYBER, 1981; BROETTO et al., 2002). Feierabend e Engel (1986) evidenciaram, com experimentos *in vitro*, que pode ocorrer alterações da estrutura da enzima ou hidrólise protéica, pela ação osmótica da salinidade nos tecidos vegetais.

A redução da atividade da catalase pode indicar que, em algumas plantas mantidas sob condições de estresse, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produzido pode ser mais consumido em processos oxidativos, como na peroxidação de lipídeos, do que eliminado do metabolismo pela ação da enzima catalase (CAKMAK; HORST, 1991). Benitez et al. (2010) analisando enzimas antioxidantes em plantas de arroz sob estresse salino, constataram redução da atividade da SOD e CAT com o aumento da concentração de salinidade na água de irrigação.

## CONCLUSÃO

Elevadas concentrações de salinidade na água provocam redução da atividade de enzimas antioxidantes (SOD e CAT) em plântulas de algodão da cultivar BRS Topázio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, J. R. A.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; AZEVEDO, N. C. Efeito da salinidade e modo de aplicação da água de irrigação no crescimento e produção de alho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 2, p.167-176, 2002.

AUDRY, P.; SUASSUNA, J. **A salinidade das águas disponíveis para pequena irrigação no sertão do Nordeste: caracterização, variação sazonal, limitação de uso**. Recife: CNPq, 1995. 128 p.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. Campina Grande: UFPB, 1999, 218 p. (Estudos FAO Irrigação e Drenagem, 29 revisado).

BENITEZ, L. C.; RIBEIRO, M. V.; ARGE, L. W. P.; DEUNER, S.; EINHARDT, A. M.; BRAGA, E. J. B. Enzimas do sistema antioxidante e peroxidação lipídica em plantas de arroz sob estresse salino. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA, 19.; ENPOS, 12.; MOSTRA CIENTIFICA, 2., 2010. Pelotas. [Resumos...] Pelotas: UFPel - Universidade Federal de Pelotas, 2010.

BROETTO, F.; LUTTGE, U.; RATAJCZAK, R. Influence of light intensity and salt treatment on mode of photosynthesis and enzymes of the antioxidatives response system of *mesembryanthemum crystallium*, functional. **Plant Biology**, Victoria, v. 29, p. 13-23, 2002.

CARMAK, I.; HORST, W. J. Effect of Al lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glicine max* L.). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 834, p. 463-468, 1991.

CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo segundo levantamento, setembro 2009**. Brasília, D.F., 2009. 39 p.

FEIERABEND, J.; ENGEL S. Photoinactivation of catalase *in vitro* and in leaves. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 251, p. 630-638, 1986.

FERNANDES, P. D. Metabolismo do algodoeiro em ambientes adversos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 5., 2005, Salvador. **Algodão, uma fibra natural**: anais. [S.l.]: Abapa: Embrapa: Abrapa: Governo da Bahia, 2005. 1 CD-ROM

KALIR, A.; POLJAKOFF-MAYBER, A.; Changes in activity of malate dehydrogenase, catalase, peroxidase and superoxido dismutase in leaves of *Halimione portulacoides* L. aellen exposed to high sodium chloride concentrations. **Annals of Botany**. v. 47, p.75-85, 1981.

LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 3, p. 79-85, 2008.

McDONALD, M. B. Seed deterioratio: physiology, repair and assesment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

RIBEIRO, M. C. C.; MARQUES, B. M.; AMARRO FILHO, J. Efeito da salinidade na germinação de sementes de quatro cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 281-284, 2001.

STORCK, L.; GARCIA, D. C.; LOPES, S. J.; ESTEFANEL, V. **Experimentação agrícola**. Santa Maria: Editora da UFSM, 2000. 198 p.

TAIZ L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

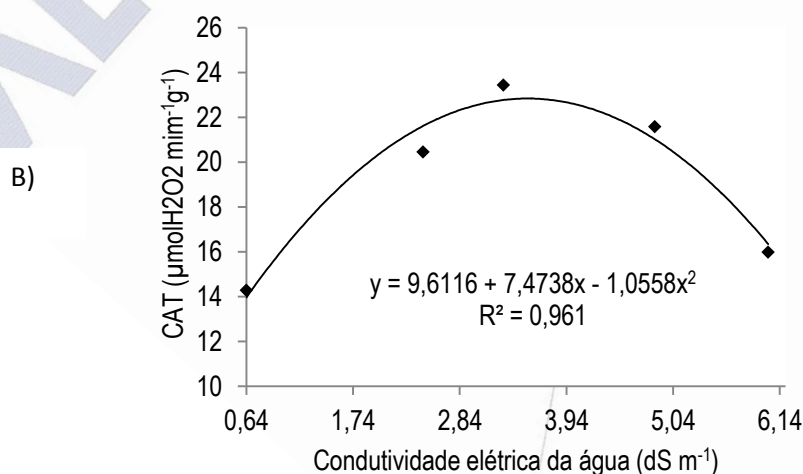
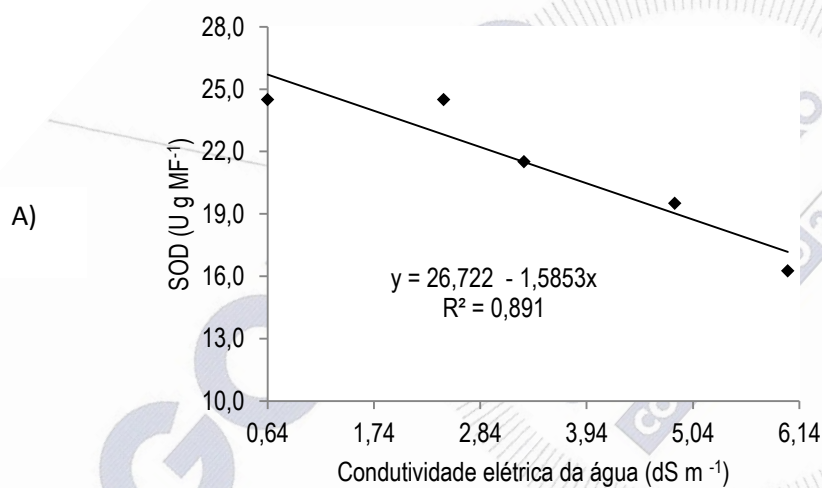
**Tabela 1** – Resumos das análises de variância da atividade das enzimas SOD e CAT em plântulas de algodoeiro herbáceo sob diferentes níveis de condutividade elétrica da água. Campina Grande (PB), Embrapa Algodão, 2011.

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios	
		SOD	CAT <sup>a</sup>
Tratamento	4	197**	59,7801 <sup>ns</sup>
Resíduo	15	22,75	26,7318
CV (%)		5,79	27,01

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ );

ns não significativo ( $p > 0,05$ );

a Dados transformados em  $\sqrt{x}$



**Figura 1-** Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) (Figura 1A) e catalase (CAT) (Figura 1B) em plântulas de algodoeiro herbáceo sob diferentes níveis de condutividade elétrica da água. Campina Grande (PB), Embrapa Algodão, 2011.