

AVALIAÇÃO DO TEOR DE PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES EM GÊNÓTIPOS DE SOJA NÃO NODULADA SUBMETIDOS À HIPÓXIA EM ESTÁDIO VEGETATIVO

ALENCASTRO, Sidnei Silva de^{1*}; BECKER, Rafael¹; FLORES, José Henrique Nunes¹; BORELLA, Junior²; AMARANTE, Luciano do³

¹ Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – UFPel, Graduando em Agronomia. *E-mail: sidnei.agro@hotmail.com ² Universidade Federal de Pelotas, Doutorando em Fisiologia Vegetal; ³ Professor Orientador do Deptº de Bioquímica - IQG/UFPel - Campus Universitário. E-mail: lucianoamarante@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill], originária de clima temperado, com ampla adaptação aos climas tropicais e subtropicais, é considerada uma das mais importantes leguminosas cultivadas no mundo (BORÉM, 1999), sendo o Brasil um dos principais produtores. No Estado do Rio Grande do Sul, principalmente nas regiões de várzea, o arroz-irrigado constitui a principal espécie cultivada, uma vez que já está adaptado às condições dos solos desta região, os quais ocorrem em relevo predominantemente plano, associado a um perfil cuja camada superficial é pouco profunda e a subsuperficial é praticamente impermeável (PAULETTO et al., 1999) e apresenta drenagem deficiente e alagamentos temporários. Entretanto, com as constantes crises no mercado do arroz, a soja surge como uma boa opção para a sustentabilidade econômica da região pela capacidade adaptativa à condição de hipóxia. Todavia, mesmo possuindo esta adaptação, a saturação hídrica do solo pode retardar o desenvolvimento vegetativo, reduzir o número de flores das plantas, bem como o rendimento de grãos (PIRES et al., 2002). Além disso os processos mutualísticos entre a planta de soja e o bacterióide responsável pela fixação biológica de nitrogênio podem ser afetados (SCHÖFFEL et al., 2001).

As clorofilas desempenham papel importante na fotossíntese, sendo as principais responsáveis pela captação de energia luminosa e conversão desta em energia química armazenada em moléculas carbonadas. Esta energia captada e armazenada tem um papel inicial e primordial na produção qualitativa e quantitativa das sementes (TAIZ; ZEIGER, 2004). A redução do conteúdo de clorofila como consequência do estresse hídrico tem sido relatada em soja nodulada (AMARANTE et al., 2007), de forma que o teor de clorofila pode servir como indicador do potencial produtivo da cultivar e ser considerado um parâmetro promissor para comparação entre genótipos de soja submetidos ao alagamento (LUDWIG et al., 2010). Desta forma, esta caracterização pode contribuir para seleção de genótipos com maiores potenciais produtivos frente a condições desfavoráveis ao desenvolvimento da cultura.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta de dois genótipos de soja não nodulada quanto às concentrações de pigmentos fotossintéticos foliares, em condições de hipóxia no período vegetativo.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

O experimento foi conduzido com plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] cv. Embrapa 45 e BR 4, provenientes de sementes fornecidas pela Embrapa Clima

Temperado, cultivadas em casa de vegetação sob condições naturais de luz e temperatura. As sementes foram semeadas em bandejas em EPS (isopor®) de 72 células (cavidade diâmetro 4,8 x 1 cm e profundidade 11,5 cm) contendo vermiculita como substrato. As plântulas ao atingirem estágio V0 (plântulas com cotilédones abertos) (FEHR et al., 1971) foram transferidas para sistema hidropônico, constituído de vasos de três litros contendo solução nutritiva sob aeração contínua de ar atmosférico via aeradores de aquário comercial. Foram mantidas doze plantas por vaso durante todo o experimento. As plantas foram nutridas com solução nutritiva conforme Hewitt (1963). A solução nutritiva foi substituída semanalmente visando manter a estabilidade na concentração dos nutrientes assim como o pH em 6.6. O tratamento hipóxico foi aplicado nas plantas ao atingirem o estágio de desenvolvimento V1 (folhas unifolioladas completamente desenvolvidas) (FEHR et al., 1971). Nessa ocasião, as plantas foram transferidas para vasos com solução nutritiva sob fluxo contínuo de gás N₂ (99,99% N₂), até que o teor de O₂ na solução tenha reduzido sua concentração próxima a zero mg.L⁻¹. O tratamento foi aplicado nas plantas nos intervalos de tempo de 0,5h; 4h; 24h e 72h. A concentração de oxigênio na solução foi monitorada com o auxílio de um oxímetro (Handylab OX1). Plantas mantidas no sistema hidropônico sob aeração contínua de ar atmosférico foram utilizadas como controle (normóxia).

As folhas jovens completamente expandidas, foram coletadas e acondicionadas em banho de gelo, em caixa de isopor e discos foram retirados dos folíolos com furador de metal, desprezando-se a nervura central. Os teores de pigmentos fotossintéticos foram determinados segundo metodologia de Wellburn (1994) utilizando-se dimetilsulfóxido como solvente extrator. Para cada extração, um disco foliar foi transferido para tubo de ensaio, contendo 7mL de dimetilsulfóxido (DMSO) neutralizado com carbonato de cálcio 5% (m/v). Os tubos foram incubados em banho-maria a 65°C por 1h e, após, resfriados no escuro até atingirem temperatura ambiente. Foram realizadas, em seguida, as leituras de absorbâncias dos extratos em espectrofotômetro, a 665nm, 649nm e 480nm. A partir das leituras espectrofotométricas foram calculados os teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenóides totais, segundo equações específicas para cada pigmento (WELLBURN, 1994), e os resultados foram expressos em mg g⁻¹ MF. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4 x 2 [genótipos de soja (Embrapa 45 e BR 4) x períodos de tratamento (0,5h; 4h; 24h e 72h) x concentração de O₂ (normóxia e hipóxia), com quatro repetições. A unidade experimental foi constituída por seis plantas. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As análises foram realizadas com o auxílio do programa SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de clorofilas *a*, *b* clorofila total e carotenoides totais nas plantas do genótipo BR 4 mantiveram-se em níveis equivalentes ao controle (normóxia) durante o tratamento hipóxico mesmo nos períodos mais prolongados de estresse (Fig. 1). Entretanto no genótipo Embrapa 45, os teores de clorofila *b* decresceram com 72h de hipóxia em relação ao controle e teores de carotenoides totais aumentaram. Os demais pigmentos, clorofila *a* e total, mantiveram-se aos níveis do controle (Fig. 1).

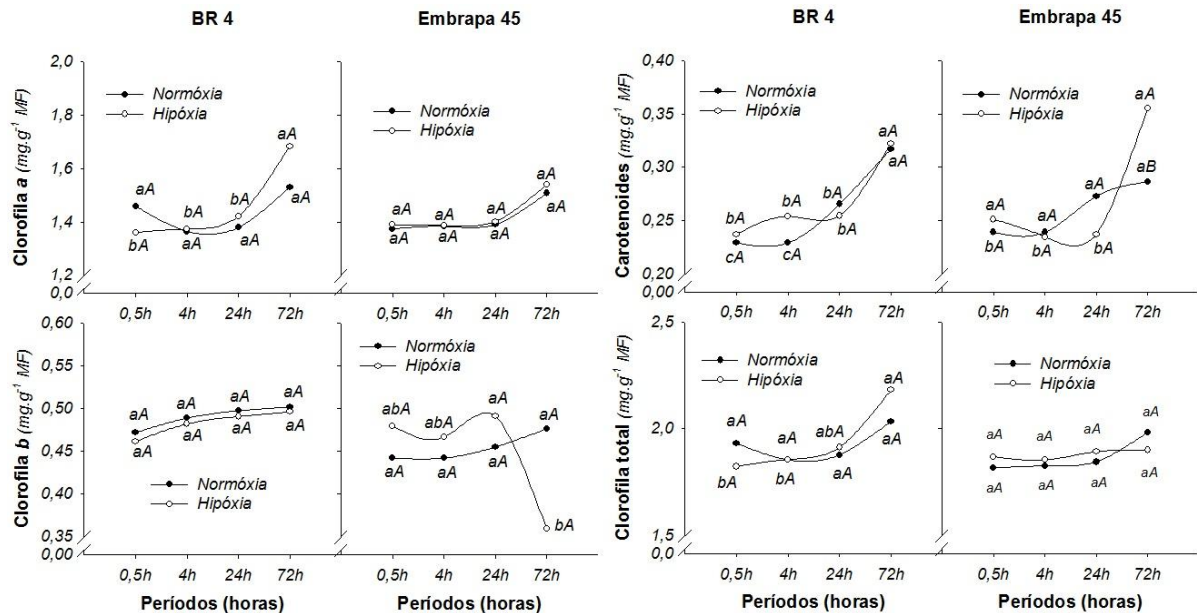


Figura 1 - Teores de pigmentos fotossintéticos foliares de genótipos de soja BR4 e Embrapa 45 não nodulados, submetidos a diferentes períodos de hipóxia. Letras minúsculas comparam os períodos de tratamento entre si, para cada condição de normóxia e hipóxia separadamente e letras maiúsculas comparam os tratamentos de hipóxia e normóxia para cada período. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.

O aumento de pigmentos nas plantas controle (normóxia) se deve ao fato de estarem em estágio vegetativo inicial apresentando crescimento rápido e intensa síntese de biomoléculas, incluindo os pigmentos essenciais para atender a atividade fotossintética compatível com o crescimento da planta. A deficiência de oxigênio causa diminuição expressiva da produção de ATP e reduz substancialmente a absorção de nutrientes, incluindo o nitrogênio mineral. O aumento da síntese de pigmentos, especialmente de clorofilas mesmo aos três dias de estresse hipóxico indica que este período de estresse não foi suficiente para induzir uma deficiência mineral de forma a comprometer a síntese dessas moléculas. A quantidade de nitrogênio absorvida pelas raízes, mesmo que limitada somado àquela possivelmente armazenada em vacúolos, podem ter suprido a quantidade requerida para permitir a contínua síntese de clorofilas durante o período de estresse a que as plantas foram submetidas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Além disso, é possível que o nitrato possa ter atuado comoceptor final de elétrons na cadeia respiratória no lugar do O_2 como rota alternativa, não desequilibrando o metabolismo da planta (HORCHANI et al., 2011). Como o período de hipóxia foi relativamente curto, totalizando 72 horas, é possível que o estresse a que foram submetidas as plantas, não tenha sido suficiente para esgotar as reservas de nitrato ou mesmo inibir a absorção do nitrogênio pelas raízes a níveis que causassem um decréscimo de pigmentos fotossintéticos foliares. Também a absorção de amônio pela raiz é um processo passivo e não requer gasto de energia e já a absorção de nitrato é um processo ativo e requer gasto de energia (TAIZ; ZEIGER, 2004). Desta forma, mesmo com deficiência de O_2 que causa redução da produção de ATP e redução da absorção do nitrato, a absorção do íon amônio, embora seja tóxico quando não é assimilado, pode ter contribuído para a síntese de aminoácidos e consequentemente a síntese de clorofila.

4 CONCLUSÃO

O período de 72h de estresse hipóxico não foi suficiente para inibir a síntese de pigmentos fotossintetizantes nos dois genótipos de soja nutridos com os íons nitrato e amônio, resultando em aumento de clorofila a no genótipo BR4 e aumento de carotenoides no genótipo Embrapa 45. O íon nitrato pode ter contribuído significativamente para o efeito positivo observado nesse experimento.

5 AGRADECIMENTOS

À Embrapa Clima Temperado e à Monsanto pelo auxílio financeiro.

6 REFERÊNCIAS

- AMARANTE, L.; COLARES, D.S.; OLIVEIRA, M. L.; ZENZEN, I. L.; BADINELLI, P. G.; BERNARDI, E.. Teores de clorofilas em soja associada simbioticamente com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* sob alagamento **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 906-908, 2007.
- BORÉM, A.; **Melhoramento de Espécies Cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E.; BURMOOD, D. T.; PENNINGTON, J. S. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merril. **Crop Science**, v.11, p. 929-931, 1971.
- HEWITT, E.J., 1963. Mineral nutrition of plants in culture media. In: **Stewart FC (ed) Plant Physiology**. Academic Press, New York, 97-134.
- HORCHANI, F.; PRÉVOT, M.; BOSCARI, A.; EVANGELISTI, E.; MEILHOC, E.; BRUAND, C.; RAYMOND, P.; BONCONPAGNI, E.; ASCHI-SMITI, S.; PUPPO, A.; BROUQUISSE, R. Both plant and bacterial nitrate reductases contribute to nitric oxide production in *Medicago trunculata* nitrogen-fixing nodules. **Plant Physiology**, v. 155, p.1023-1036, 2011.
- LUDWIG, M.P.; VERNETTI JUNIOR, F.J.; SCHUCH, L.O.B.; SEUS, R.; CRIZEL, R.L.; CORRÊA, M.F.; NUNES, T.L.; OLIVEIRA, E.S. Parâmetros para avaliação de genótipos de soja submetidos ao alagamento do solo no estágio vegetativo. In: **XXXVIII REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL**, Cruz Alta, 2010, 48-51.
- PAULETTO, E.A.; GOMES, A.S.; SOUSA, R.O.; et al. Manejo de solos de várzea. IN: GOMES, A.S.; PAULETTO, E.A. **Manejo do solo e da água em áreas de várzea**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p.61-87.
- PIRES, J.L.F.; SOPRANO, E. & CASSOL, B. Adaptações morfofisiológicas da soja em solo inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37 n.1, p.41-50, 2002.
- SCHÖFFEL, E.R.; SACCOL, A.V.; MANFRON, P.A. & MEDEIROS, S.L.P. Excesso hídrico sobre os componentes do rendimento da cultura da soja. **Ciência Rural**, v.31 p.7-12, 2001.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- WELLBURN, Alan. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, Lancaster, v.144, n.3, p.307-313, 1994.