

TEORES DE UREÍDEOS TRANSPORTADOS NO XILEMA DE GENÓTIPOS DE SOJA NODULADA SOB DEFICIÊNCIA DE OXIGÊNIO

VIEIRA, Denis Corte^{1*}; FLORES, José Henrique Nunes¹; BECKER, Rafael¹;
BORELLA, Junior²; AMARANTE, Luciano do³.

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel), graduando em Agronomia. *E-mail: smat_denis@hotmail.com ²Universidade Federal de Pelotas, Doutorando em Fisiologia Vegetal;
³Universidade Federal de Pelotas, Prof. Orientador, CCQFA, lucianoamarante@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das mais importantes culturas agrícolas, sendo prioritária ao desenvolvimento e sustentabilidade econômica de várias regiões no país. É uma espécie que possui ampla adaptação aos climas tropicais e subtropicais (BORÉM, 1999), bem como variabilidade genética à condição de hipóxia (PIRES et al., 2002).

Por esta razão, pode ser uma alternativa interessante de cultivo em áreas de várzea, que se caracterizam por apresentarem solos com deficiência na drenagem natural como característica peculiar, normalmente motivada pelo relevo predominantemente plano, associado a uma camada superficial pouco profunda e a subsuperficial praticamente impermeável (PAULETTO *et al.*, 1998), e compreendem, aproximadamente, 20% da área do Estado do Rio Grande do Sul (DUARTE, 2011).

Em soja nodulada, o transporte de nitrogênio no xilema é caracterizado pelos ureídeos (ácido alantóico e alantóina), os quais representam até 80% do N translocado (McCLURE; ISRAEL, 1979) e são considerados produtos específicos da fixação de nitrogênio, sendo o seu teor no xilema relacionado com a atividade fixadora dos nódulos. A queda da fixação de N₂ causada pela hipóxia pode induzir a uma deficiência de nitrogênio na planta, causando um decréscimo do teor de moléculas nitrogenadas biologicamente importantes (CORRÊA, 2008).

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar as concentrações de ureídeos transportados na seiva do xilema de duas cultivares de soja submetidas a diferentes períodos de inundação (condição de hipóxia) e de recuperação (condição pós-hipóxia) do sistema radicular.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] de dois cultivares, Fundacep 53 RR e BRS Macota, ambos de ciclo precoce, fornecidas pela Embrapa Clima Temperado, foram semeadas em vasos de polietileno furados de três litros, contendo vermiculita média expandida lavada como substrato inerte. Oito sementes foram semeadas por vaso e, após a germinação, no estágio V0 (FEHR et al., 1971), foi realizado o desbaste, permanecendo três plântulas por vaso, e a inoculação com *Bradyrhizobium elkanii*, estirpe Semia 587 (cedida pela FEPAGRO e multiplicada no Depto. de Microbiologia e Parasitologia - IB/UFPel). A inoculação foi realizada por pipetagem de 2,5 mL de meio líquido de NORIS e DATE (1976) ao redor de cada plântula. As plantas de soja foram nutridas duas vezes por semana com solução de

HOAGLAND e ARNON (1938) sem nitrogênio mineral, na proporção de 250 mL por vaso e irrigadas sempre que necessário. No estádio R2 (FEHR et al., 1971), o sistema radicular foi submetido à inundação, através do encaixe de um segundo vaso, de mesmo modelo e sem perfurações, nos vasos contendo as plantas. A inundação foi feita com solução nutritiva diluída a 1/3 da concentração original, de forma a se manter uma lâmina de 20 mm sobre a superfície do substrato.

O teor de O₂ na solução nutritiva dos vasos inundados foi monitorado diariamente com o auxílio de um oxímetro (Handylab OX1). Para a avaliação da recuperação das plantas, foi retirado o vaso sem perfurações do vaso contendo as plantas, de forma a permitir a rápida drenagem da solução de inundação. A seiva do xilema foi coletada para a dosagem de ureídeos totais no 2º, 4º, 6º e 8º dia após a inundação, sendo que, após as plantas terem sido submetidas a oito dias de inundação, foi restaurada a normóxia e foram realizadas coletas de seiva no 2º, 4º, 6º e 8º dia para dosagem de ureídeos no período de recuperação. Foi realizado um corte no caule da planta em forma de bisel, logo abaixo do nó cotiledonar, conforme descrito por McCLURE e ISRAEL (1979). Os exsudados foram coletados por até uma hora com auxílio de microcapilares de vidro, e transferidos para tubos *eppendorf*, em banho de gelo, até o armazenamento final, a -20°C.

A dosagem de ureídeos foi realizada a partir dos exsudados do xilema pelo método VOGELS e van der DRIFT (1970). Uma alíquota de 250 µL de amostras de seiva ou dos padrões de alantoína (0-150 nmol), devidamente diluídos e um branco (água), foram transferidos para tubos de ensaio, sendo posteriormente acrescentado 0,5mL de água destilada e 0,25mL de NaOH 0,5N. Em seguida, os tubos foram tampados com bolas de vidro e incubados em banho-maria a 100 °C por 8min e resfriados em água corrente. Posteriormente foi acrescentado 0,25mL de HCl 0,65N. Os tubos foram então aquecidos a 100°C por 4 min e novamente resfriados. Após o resfriamento foi acrescentado 0,25mL de tampão fosfato (Na₂HPO₄-KH₂PO₄ 0,4M pH 7,0), mais 0,25mL de fenilhidrazina 0,33%. Após repouso por 5 min, os tubos foram submetidos a banho de gelo seguido de adição de 1,25mL de HCl concentrado a 0 °C, 0,25mL K₃Fe(CN)₆ 1,65% e agitados em vórtex. Após 15 min, as amostras foram lidas em densidade óptica de 535nm.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4 x 2 (regime hídrico x período de inundação x genótipos), com quatro repetições. A unidade experimental consistiu de um vaso com três 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, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de O₂ na solução sob hipóxia foram monitorados ao longo de oito dias, sendo seus valores mantidos próximos a zero mg L⁻¹.

As concentrações de ureídeos encontrados na seiva do xilema variaram ao longo do período de inundação (Figura 1). O teor de ureídeos totais decresceu significativamente em relação ao controle em todos os períodos de inundação, demonstrando o efeito inibitório do alagamento sobre a fixação do N₂, tanto para a cultivar Fundacep 53 quanto para BRS Macota. Com o avanço do período do estresse hipóxico para além de dois dias de alagamento, o efeito inibitório sobre a fixação biológica do N₂ foi intensificado e permanente ao longo do experimento. O

decréscimo no teor de ureídeos está relacionado à diminuição da disponibilidade de N às plantas, causada pela inibição que a hipóxia causa sobre a fixação de N₂. A atividade fixadora dos nódulos é altamente influenciada pela disponibilidade de O₂, visto que existe nestas estruturas uma barreira natural à difusão dos gases, como forma de proteção à nitrogenase ao excesso de O₂. Considerando que a difusão do O₂ na água é cerca de 1000 vezes menor do que no ar, a condição de hipóxia do nódulo é facilmente atingida, resultando em decréscimo rápido da fixação de N₂, mesmo que os teores de O₂ na solução não tenham sido depletados (ARMSTRONG et al., 1994).

Durante a recuperação, o período de quatro dias foi suficiente para ambos os genótipos restabelecerem a atividade de fixação de N₂ nos nódulos em níveis equivalentes aos seus respectivos controles, demonstrando que o período de oito dias de inundação não foi suficiente para perda da funcionalidade dos nódulos tanto em Fundacep 53 quanto em BRS Macota.

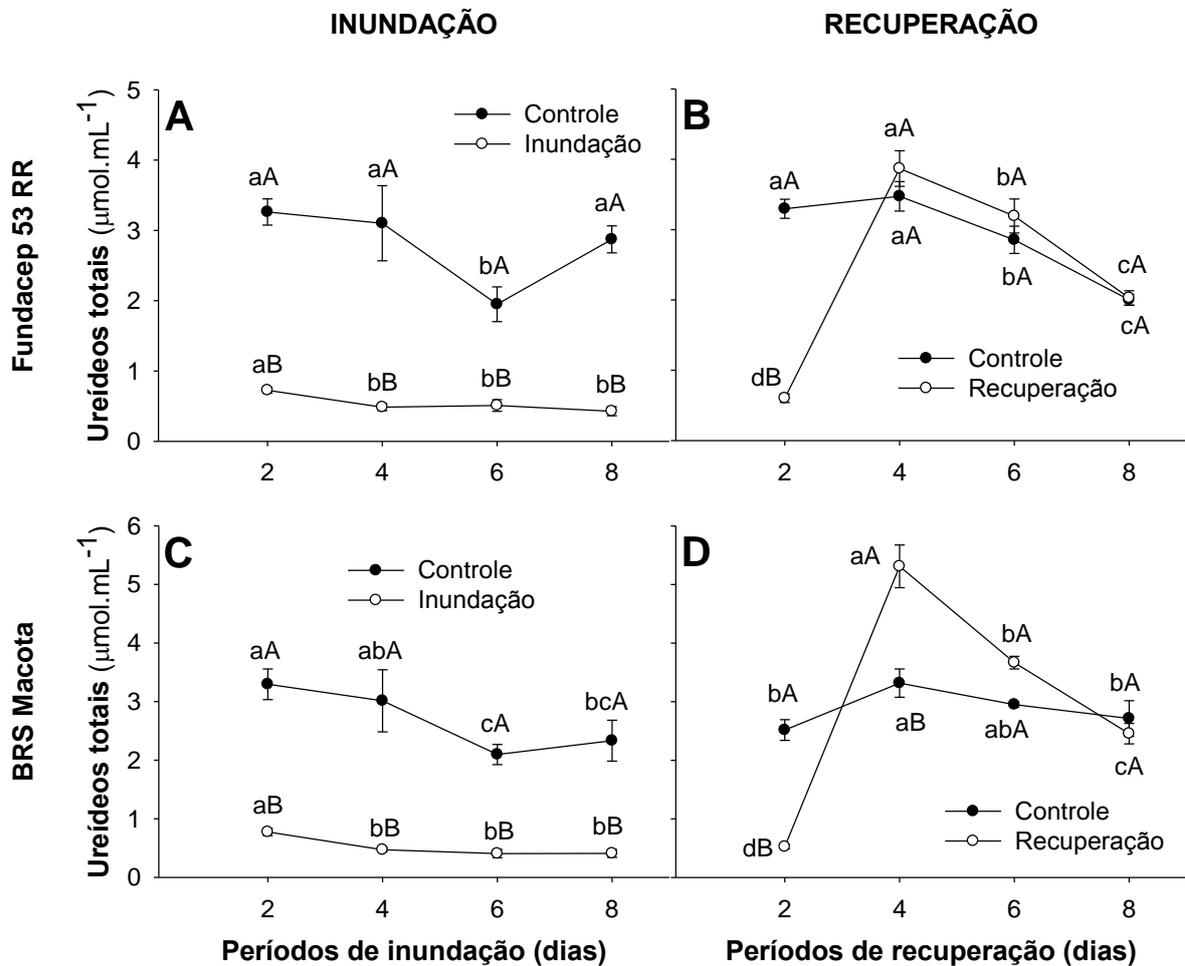


Figura 1. Concentração de ureídeos em seiva de xilema de soja das cultivares Fundacep 53 RR e BRS Macota, submetidas a diferentes períodos de inundação e recuperação do sistema radicular. Letras maiúsculas comparam 2, 4, 6 e 8 dias para controle e inundado separadamente e letras minúsculas comparam controle e inundado para cada período de avaliação. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4 CONCLUSÃO

A hipóxia durante oito dias, nas condições em que o experimento foi desenvolvido, leva a uma diminuição considerável nas concentrações de ureídeos durante o período de inundação para os genótipos de soja Fundacep 53 e BRS Macota, efeito não revertido durante a condição de alagamento. No retorno à normóxia, os nódulos retomam a fixação, levando ao restabelecimento das concentrações de ureídeos aos níveis das plantas não alagadas, em ambas as cultivares.

5 AGRADECIMENTOS

À Embrapa Clima Temperado e à Monsanto pelo auxílio financeiro e à Fepagro pela concessão das estirpes de *Bradyrhizobium*.

6 REFERÊNCIAS

- ARMSTRONG, W.; STRANGE, M.E.; CRINGLE, S.; BECKETT, P.M. Microelectrode and modeling study of oxygen distribution in roots. **Annals of Botany**, v. 74, p. 287-299, 1994.
- BORÉM, A; **Melhoramento de Espécies Cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999.
- CORRÊA, M. F.; BADINELLI, P. G.; VERNETTI JÚNIOR, F. J.; AMARANTE, L.; **Transporte de Ureídeos e Teor de Pigmentos Fotossintéticos em soja nodulada sob Condições de Alagamento e Drenagem**; XVII Congresso de Iniciação Científica – UFPel; Pelotas, 2008.
- DUARTE, D. P.; DURIGON, M. A.; BORELLA, J.; AMARANTE, L.; EMYGDIO, B. M.; **Teores de Aminoácidos Solúveis Totais Transportados no Xilema de Genótipos de Soja Nodulada sob Condições de Hipoxia e Pós-Hipoxia**; XX Congresso de Iniciação Científica – UFPel; Pelotas, 2011.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E.; BURMOOD, D. T.; PENNINGTON, J. S.; Stage of Development Descriptions for Soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill; **Crop Science**, v.11, p. 929-931, 1971.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I.; The Water Culture Method of Growing Plants Without Soil. **California Agricultural Experimental Station**; n.347, p. 1- 39, 1938.
- McCLURE, P. R. & ISRAEL, D. W.; Transport of Nitrogen in the Xilem of Soybean Plants; **Plant Physiology**; 64:411-416, 1979.
- NORRIS, D.O.; DATE, R.A.; Legume Bacteriology; In: Tropical Pastures Research; Principles and Methods; SHAW, N.H. e BRYAN, W.W. (Eds); **Commonwealth Bureau of Pastures and Field Crops, Bull.**; p. 134-174, 1976.
- PAULETTO, E. A.; SOUSA, R. O.; GOMES, A. S.; Caracterização e Manejo de Solos de Várzea Cultivados com Arroz Irrigado; In: **Produção de Arroz Irrigado**, 1998.
- PIRES, J.L.; SOPRANO, E.; CASSOL, B.; Adaptações Morfo-fisiológicas da Soja em Solo Inundado; **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 37, p.41-50, 2002.
- THOMAS, A. L.; SODEK, L.; Amino Acid and Ureide Transport in The Xylem of Symbiotic Soybean Plants During Short-term Flooding of the Root System in The Presence of Different Sources of Nitrogen; **Braz. J. Plant Physiology**; 18(2):333-339, 2006.
- VOGELS, G.D.; VAN DER DRIFT, C.; Differential Analysis of Glyoxylate Derivatives; **Anal. Biochem.**; 33: 143-57, 1970.