

CONTEÚDO DE CARBOIDRATOS EM RAÍZES DE GENÓTIPOS DE SOJA SOB CONDIÇÕES DE HIPÓXIA E PÓS-HIPÓXIA

**JUNIOR BORELLA¹; RAFAEL BECKER²; LUCIANO DO AMARANTE^{1,2};
DENISE S.C. OLIVEIRA²; BEATRIZ M. EMYGDIO³; EDUARDO BERNARDI⁴**

¹Universidade Federal de Pelotas, PPG Fisiologia Vegetal – borellaj@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, CCQFA – lucianoamarante@yahoo.com.br

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA - Clima Temperado

⁴Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Microbiologia e Parasitologia

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, dos 28 milhões de hectares de solos sujeitos à inundação, 5,4 milhões encontram-se no Rio Grande do Sul. Poucas são as culturas adaptadas a esses ambientes e que apresentam retorno econômico viável, restringindo-se basicamente na cultura de arroz irrigado (SCOTT e NORMAN, 2000). A soja é uma cultura com grande potencial para ser incorporada nas regiões de várzea, em rotação de culturas, pois além de ser originária de regiões alagadiças, apresenta variabilidade genética para tolerar o excesso de umidade no solo (THOMAS et al., 2000).

O déficit de O₂ ocasionado pelo excesso de água no solo constitui o fator limitante à incorporação de culturas em áreas com drenagem deficiente. A maioria das plantas resiste à falta de O₂ por curtos períodos antes de sofrerem danos irreversíveis, devido à inibição da via aeróbica de produção de energia, visto que o O₂ atua como aceptor final de elétrons nesse processo (Van DONGEN, et al., 2011). Em detrimento a sua falta, há grande restrição da produção de energia. As plantas ativam a via anaeróbica de produção de ATP, que é obtida exclusivamente por meio da glicólise (TADEGE et al., 1999). Sob deficiência de O₂ muitas plantas acumulam açúcares solúveis e amido (SAIRAM et al., 2009). O suprimento de carboidratos e a regulação do metabolismo de carboidratos e de energia são importantes na superação do estresse hipóxico (KUMUTHA et al., 2008). Algumas pesquisas sugerem que o acúmulo desses compostos se deve pela diminuição na taxa de crescimento. De modo geral, espécies ou genótipos que apresentam maior concentração de carboidratos nas raízes e um mecanismo metabólico eficiente associado à sua mobilização via metabolismo fermentativo, apresentam maior tolerância para enfrentar a privação de oxigênio (SAIRAM et al., 2009).

Nesse contexto o objetivo do trabalho foi caracterizar o conteúdo de carboidratos em raízes de soja de duas cultivares de ciclo precoce, submetidas a diferentes períodos de hipóxia e pós-hipóxia do sistema radicular.

2. 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 e contendo vermiculita média expandida lavada, como substrato. Inicialmente, oito sementes foram semeadas por vaso e após a germinação, no estádio V0 (FEHR et al., 1971), foi realizado o desbaste permanecendo três plântulas/vaso e a inoculação, com *Bradyrhizobium elkanii*, estirpe Semia 587

(FEPAGRO). Esta 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 (250 mL por vaso) e irrigadas com água sempre que necessário. Ao atingirem o estágio R2 (FEHR et al., 1971) as plantas foram transferidas para um sistema hidropônico contendo solução nutritiva diluída 1/3 da concentração normal, no qual o sistema radicular permaneceu sob borbulhamento de gás N₂ durante 72h (condição de hipóxia), sendo os níveis de O₂ monitorados diariamente com um oxímetro (Handylab OX1). Após esse período, um grupo de plantas foi transferido para vasos com vermiculita por mais 72h (condição pós-hipóxia). As raízes foram coletadas e armazenadas (- 80°C) nos períodos de 24 e 72h de inundação e recuperação.

Os extratos para dosagem de açúcares solúveis totais (AST) e sacarose, em raízes foram obtidos conforme metodologia de Bielecki e Turner (1966) com modificações. As amostras foram maceradas com N₂ em gral e homogeneizadas com 10 mL.g⁻¹ de MF (massa fresca) de MCW (metanol: clorofórmio: água), na proporção de 12:5:3. Após 24 h, os extratos foram centrifugados a 600g por 30 min. Recuperou-se a fração sobrenadante e para cada 4 mL, acrescentou-se 1,0 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água e centrifugou-se novamente para a separação de fases. Desprezou-se o precipitado contendo o clorofórmio e o sobrenadante contendo os metabólitos permaneceu em banho-maria a 38°C por cerca de 30 h para eliminação do resíduo de clorofórmio e concentração das amostras para as análises de açúcares e sacarose.

A dosagem de AST foi baseada em Graham e Smydzuk (1965). Em 1 mL de cada amostra, branco (água) e dos padrões (10-150 µg de glicose mL⁻¹), em tubos de ensaio, adicionou-se 3 mL de solução de antrona (0,15% em ácido sulfúrico concentrado), após 15 min em banho de gelo, agitaram-se os tubos e incubou-se em banho-maria a 90°C por 20 min. Em seguida, mantiveram-se os tubos no escuro até a atingir temperatura ambiente e mediu-se a densidade óptica (D.O.) dos padrões e amostras a 620 nm contra o branco. A dosagem de sacarose foi determinada de acordo com Handel (1968). Pipetou-se alíquotas de 100 µL do branco (água), amostras e padrões (20 -100 µg de sacarose) para tubos de ensaio e adicionou-se 100 µL de KOH 30%. Os tubos foram cobertos com bolinhas de vidro e incubados em banho-maria por 10 min a 100°C. Após atingir em temperatura ambiente, adicionou-se 3 mL de antrona (0,15% em ácido sulfúrico 70%) e novamente foram incubados em banho-maria a 40°C por 15 min. Após, mediu-se a D.O. a 620 nm dos padrões e amostras contra o branco.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. A unidade experimental consistiu em um vaso com três plantas. Os dados foram submetidos à ANOVA e nos casos significativos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade com o auxílio do programa SAS 8.0 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os valores de O₂ monitorados ao longo da inundação foram próximos a zero mg.L⁻¹ caracterizando a hipóxia no sistema hidropônico. O conteúdo de carboidratos nas raízes de soja variaram ao longo da inundação e recuperação, sendo observada resposta diferenciada ao déficit de O₂ no sistema radicular entre os dois genótipos.

Os teores de açúcares solúveis totais (AST) em raízes de Fundacep 53 RR não se alteraram significativamente nos tratamentos de hipóxia e de recuperação. Em BRS Macota, embora os teores tenham diminuído com 24h de hipóxia e aumentado com o retorno à normóxia, as médias não diferiram do controle (Fig 1A). Os teores de sacarose em raízes de Fundacep RR aumentaram com 72 h de hipóxia e diminuíram com a recuperação aos níveis do controle com 24h, para BRS Macota, os teores de sacarose diminuíram nas primeiras 24 h de hipóxia, restabelecendo os níveis semelhantes ao controle para os demais tratamentos (Fig. 1B).

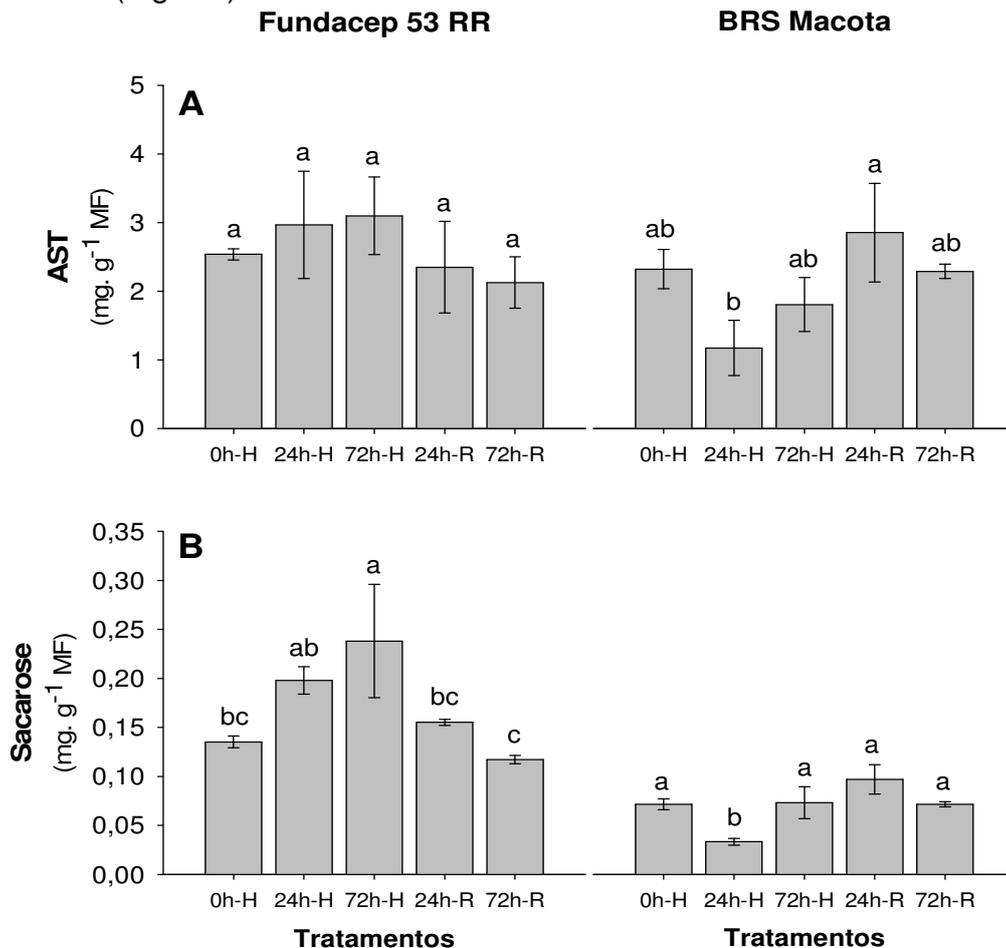


Figura 1. Teores de açúcares solúveis totais – AST (A) e sacarose (B) em raízes dos genótipos de soja Fundacep 53 RR e BRS Macota, sob condições de hipóxia e pós-hipóxia. Letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Hipóxia (0h-H, 24h-H e 72h-H) e recuperação (24h-R e 72h-R). Os valores representam a média \pm desvio padrão.

Estudos demonstram que em espécies susceptíveis à hipóxia ocorre diminuição dos teores de carboidratos, como açúcares e sacarose devido ao maior consumo de ATP pelas células para a manutenção do metabolismo, enquanto que espécies mais tolerantes ocorre aumento dos teores de carboidratos, especialmente açúcares e sacarose, também relacionados ao aumento da atividade das enzimas do metabolismo de carboidratos, como a sacarose sintase (Susy) (KENNEDY et al., 1992). A Susy é uma enzima chave responsável pela hidrólise reversível da sacarose em frutose e glicose, que são substrato para a via glicolítica, principal rota metabólica responsável pela produção de energia sob hipóxia, concomitante ao aumento da atividade da Susy, ocorre diminuição da atividade da invertase em espécies tolerantes à hipóxia (KUMUTHA et al., 2008).

Assim o aumento dos teores de açúcares e sacarose em raízes de Fundacep 53 RR pode ter conferido maior tolerância aos efeitos da hipóxia e consequentemente suprido a planta com esses carboidratos após o retorno à normóxia.

4. CONCLUSÕES

A hipóxia altera o metabolismo de carboidratos, levando a um acúmulo de açúcares e sacarose e restabelecendo os níveis sob normóxia em Fundacep 53 RR, em relação à BRS Macota, demonstrando apresentar maior tolerância aos efeitos da deficiência de O₂.

6. AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor, ao Convênio Embrapa/Monsanto pelos recursos financeiros e à Fepagro pela cedência da estirpe de *Bradyrhizobium*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, v.17, p. 278- 293, 1966.
- 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.
- GRAHAM, D.; SMYDZUC, J. Use of anthrone in the quantitative determination of hexose phosphates. **Analytical Biochemistry**, v. 11, p. 246-255, 1965.
- HANDEL, E.V. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22, p. 280-283, 1968.
- 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.
- KENNEDY, R.A.; RUMPHO, M.E.; FOX, T.C. Anaerobic metabolism in plants. **Plant Physiology**, v.100, p. 1-6, 1992.
- KUMUTHA, D.; SAIRAM, R.K.; EZHILMATHI, K.; CHINNUSAMY, V.; MEENA, R.C. Effect of waterlogging on carbohydrate metabolism in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.): Upregulation of sucrose synthase and alcohol dehydrogenase. **Plant Science**, v. 175, p. 706-716, 2008.
- 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.
- SAIRAM, R. K.; KUMUTHA, D.; VISWANATHAN, C.; RAMESH, C.M. Waterlogging-induced increase in sugar mobilization, fermentation, and related gene expression in the roots of mung bean (*Vigna radiata*). **Journal of Plant Physiology**, v. 166, p. 602-616, 2009.
- SCOTT, H.D.; NORMAN, R.J. Rice cropping systems of the southern Mississippi Delta Region of the United States. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23, 1999, Pelotas. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000, p. 149-154.
- TADEGE, M.; DUPUIS, I.; KUHLEMEIER, C. Ethanol fermentation: new functions for an old pathway. **Trends in Plant Sciences**, v. 4, p. 320-325, 1999.
- THOMAS, A.L.; PIRES, J.L.F.; MENEZES, V.G. Rendimento de grãos de cultivares de soja na várzea. **Pesquisa Agropecuária gaúcha**, v.6, p. 1294-1301, 2000.
- VAN DONGEN, J.T.; GUPTA, K.J.; RAMÍREZ-AGUILAR, S.J.; ARAÚJO, W.L.; NUNES-NESI, A.; FERNIE, A.R. Regulation of respiration in plants: A role for alternative metabolic pathways. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 1434-1443, 2011.