

ATIVIDADE DE REDUTASE DO NITRATO E ACUMULAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS EM CUPUAÇUZEIRO [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] EM RESPOSTA AO ESTRESSE HÍDRICO E A REIDRATAÇÃO

FREITAS, Joze Melisa Nunes¹, **OLIVEIRA NETO**, Cândido Ferreira², **BARIANE**, Adriana³, **CARVALHO**, Cláudio José Reis⁴, **COSTA**, Roberto Cezar Lobo⁵.

RESUMO: O cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] desponta como uma das fruteiras mais importantes para o desenvolvimento da agricultura na região Amazônica do Brasil. Além de ser uma espécie nativa da região, existe um mercado com enorme potencial de expansão. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos do estresse hídrico e da reidratação sobre a atividade da redutase do nitrato das folhas e raízes e proteínas solúveis totais, açúcares solúveis totais da parte aérea. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, utilizando-se 30 plantas com 24 meses de idade e aproximadamente 1 m de altura, em vasos com 0,45 m de altura por 0,18 m de diâmetro, dispostas em um delineamento inteiramente casualizado em fatorial tipo 2 x 5 x 1 com 3 repetições. A comparação entre as médias foi feita através do desvio padrão da média ao longo do tempo. O estresse hídrico diminuiu a atividade da redutase do nitrato em folhas, mas não teve efeito sobre as raízes. O estresse não afetou o crescimento das plantas, entretanto diminuiu o teor de proteínas solúveis totais. O estresse não teve efeito sobre o teor de carboidratos solúveis totais.

PALAVRAS-CHAVE: *Theobroma grandiflorum*, Redutase do nitrato, Proteínas, Carboidratos.

ACTIVITY OF NITRATE-REDUCTASE AND ACCUMULATION OF NITROGEN COMPOUNDS IN CUPUAÇU TREE [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] IN RESPONSE TO WATER STRESS AND REWATERING.

ABSTRACT: Cupuaçu tree [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] rises as one of most important fruit trees for development of agriculture in Brazilian Amazonia. Besides being a region native species, it has a large potential on national tradings. This study aimed to evaluate effects of water stress and rewatering over nitrate-reductase activity of leaves and roots, total soluble proteins and total soluble

¹ Bolsista CNPQ / PIBIC – Acadêmica do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

² Bolsista CNPQ / PIBIC – Acadêmico do 7º semestre do curso de agronomia / UFRA.

³ Monitora de Fisiologia Vegetal – Acadêmica do 9º semestre de Engenharia Florestal / UFRA.

⁴ Pesquisador / Dr / EMBRAPA Amazônia Oriental.

⁵ Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

II Seminário de Iniciação Científica da UFRA e VIII Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental / 2005.

sugars of shoot. The experiment was conducted at greenhouse, using 30 twenty-four month old plants and approximatedly 1 meter height, in 0,45 height and 0,18 diameter vases, disposed in a completely randomized design, in 2 x 5 x 1 factorial type, with 3 repetitions. A comparison between the means was made by standard deviation of mean along time. Water stress decreased nitrate-reductase activity over leaves, but it had no effect over roots. It did not affect plant growing, however it decreased total soluble protein levels. It also had no effect over total soluble carbohydrate levels.

KEY-WORDS: *Theobroma grandiflorum*, Nitrate-reductase, Proteins, Carbohydrates.

INTRODUÇÃO

O cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Willdenow ex Sprengel) Schumann], nativo do Pará e pertence à família **Sterculiaceae**, é uma espécie frutífera arbórea pode ser encontrada em estado silvestre nas florestas tropicais de terra firme, na pré-amazônia maranhense e, espontaneamente ou cultivada, em toda a Amazônia brasileira, Venezuela, Equador, Costa Rica e Colômbia.

E considerada como cultura potencialmente promissora para o desenvolvimento sócio econômico, sendo indicada para compor os sistemas agrícolas, principalmente os agroflorestais ou consórcios com outras culturas de expressão econômica na região amazônica (Calzavara *et al.*, 1984; Mota, 1990; Nogueira *et al.*, 1991; Gasparotto *et al.*, 1997; Ribeiro, 1997; Cavalcante & Costa, 1997). Entretanto, o cultivo do cupuaçuzeiro no Estado do Pará, vem sendo feito em plantios solteiros, ocupando áreas com menores índices pluviométricos que o costumeiro. O direcionamento do cultivo para essas áreas, se por um lado, ajuda no combate a principal doença dessa espécie, a **Vassoura de bruxa** (*Crynipelis perniciosus*), por outro lado, ainda não se tem conhecimento do comportamento dessa cultura nesses ambientes. Assim, o requerimento do cupuaçuzeiro como componente das paisagens produtivas racionais que se formam na Amazônia, ensejam um grande número de questionamentos de ordens científica e tecnológica. Desse modo, o conhecimento do comportamento biofísico e bioquímico de plantas dessa espécie precisa ser explorado de forma experimental, com vistas a entender o funcionamento desse sistema fundamental ao desenvolvimento, ao manejo e a produtividade dessa espécie. Alguns conhecimentos estão disponíveis e vem sendo utilizados como fontes de informações para o estabelecimento de cultivos racionais ou para a condução de novas experiências. Entretanto, estudos precisam ser feitos para que a cultura do cupuaçuzeiro possa ser levada oportunamente à condição de cultura plenamente domesticada. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito do estresse hídrico e da reidratação sobre a atividade da redutase do nitrato de folhas e raízes, como também sobre concentração de proteínas solúveis totais e carboidratos solúveis totais.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de cupuaçuzeiro [*Treobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] de 24 meses de idade com aproximadamente 1,20 m de altura, foram cultivadas em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), sem controle do ambiente, em vasos com 0,45 m de altura por 0,18 m de diâmetro, com substrato composto de três partes de terra e uma parte de areia lavada, sobre uma camada de 0,02 m de pedras britadas. Antes do início dos tratamentos todas as plantas foram irrigadas diariamente, recebendo macro e micronutrientes, na forma de solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1950) modificada no laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRA com tratamentos fitossanitários, mantendo-as sadias e sem deficiências nutricionais. Os vasos foram dispostos no espaçamento de 1,8 m entre linhas e 0,65 m entre plantas, em distribuição ao acaso.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em fatorial 2 x 5 x 1 com 3 repetições, totalizando 30 tratamentos. A comparação entre as médias foi feita através do desvio padrão da média ao longo do tempo. Foram feitas 5 coletas destrutivas (tempos: 0, 1, 2, 3, 4), sempre às 9:00 h da manhã, onde as plantas foram separadas em raiz, caule e folhas. Em seguida, as partes foram pesadas separadamente para a determinação da massa fresca. Imediatamente após a coleta, as partes foram congeladas em freezer (- 20 ° C) até a liofilização ou secagem para preparo da farinha das partes.

Foi determinado a massa fresca da raiz, do caule e da folha, utilizando-se uma balança e os dados foram expressos em KgMF. 10⁻³ /planta. Na determinação da atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes, foi empregado o método “*in vivo*” de HAGEMAN & HUCKLESBY (1971), modificado, conforme descrito por COSTA (1999). A Determinação da concentração de proteínas solúveis totais em folhas foi feita pelo método colorimétrico de BRADFORD (1976), descrito por COSTA (1999). Enquanto que a concentração de carboidratos solúveis totais foi determinada pelo método de DUBOIS *et al* (1956).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que a redutase do nitrato em folhas de cupuaçuzeiro diminui nas plantas estressadas após o terceiro dia de falta de água, sendo que apresentou uma pequena recuperação após a reidratação (Figura 1). Estes resultados sugerem que o estresse hídrico diminui a atividade dessa enzima em virtude da diminuição do fluxo de água pela corrente transpiratória e com isso também o fluxo de nitrato para as folhas, uma vez que essa enzima é altamente dependente de seu substrato (SHARNER & BOYER 1976 a e b; COSTA 1999).

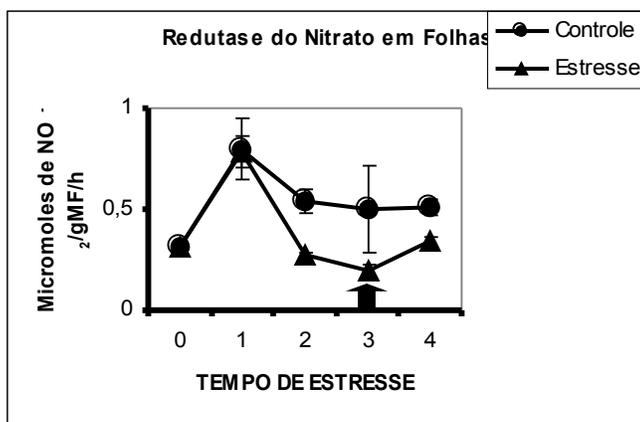


Figura 1. Atividade *in vivo* de redutase do nitrato em discos de folhas de plantas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) submetidas à desidratação progressiva (seca) durante 9 dias e reidratação após o 9º dia. A seta indica o dia de reidratação e as barras o desvio padrão.

A interação nitrogênio versus condição hídrica do solo é importante porque esse nutriente frequentemente limita o crescimento das plantas cultivadas em ambientes de pouca pluviosidade e em solos de baixa fertilidade. Além disso, existem evidências na literatura que o N e a disponibilidade de água no solo limitam o crescimento, dentre outros fatores, pela limitação na aquisição e assimilação desse nutriente (COSTA, 1999; SILVEIRA *et al*, 2003).

A Figura 2 mostra que a redutase do nitrato em raízes não teve diferença entre os tratamentos, mostrando que a influencia desse estresse ambiental sobre a atividade dessa enzima é maior nas folhas que nas raízes dessas plantas, independentemente da condição hídrica (SILVEIRA *et al*, 2003).

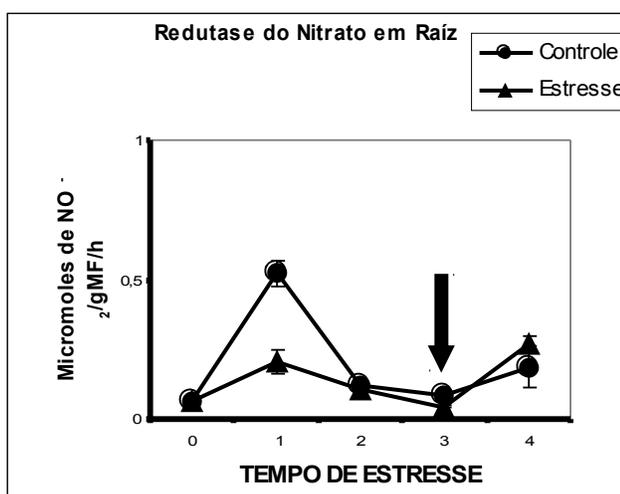


Figura 2. Atividade *in vivo* de redutase do nitrato em pedaços de raiz em plantas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) submetidas à desidratação progressiva (seca) durante 9 dias e reidratação após o 9º dia. A seta indica o dia da reidratação e as barras o desvio padrão.

As figuras 3, 4, 5 e 6, mostram que o estresse hídrico não afetou o crescimento da planta toda e nem de suas partes, devido o cupuaçuzeiro ser uma planta perene e o período de estresse hídrico ter sido insuficiente para afetar o crescimento da planta.

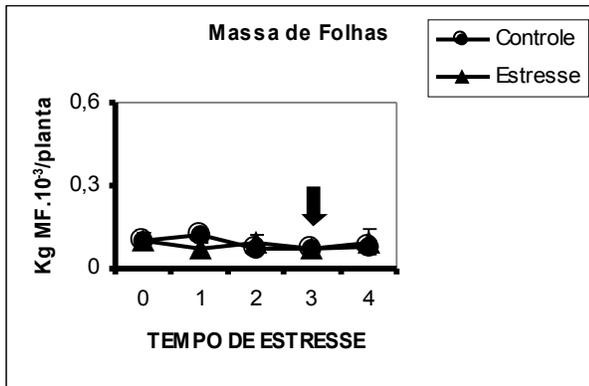


Figura 3.

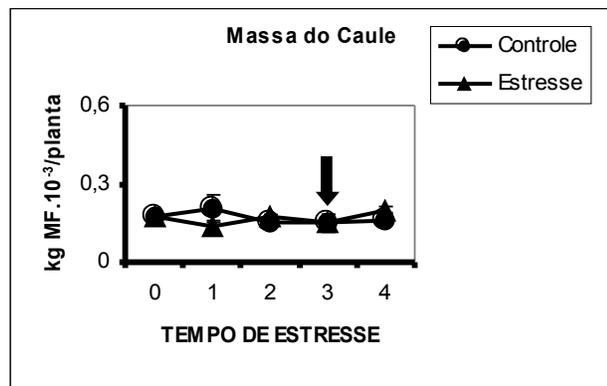


Figura 4.

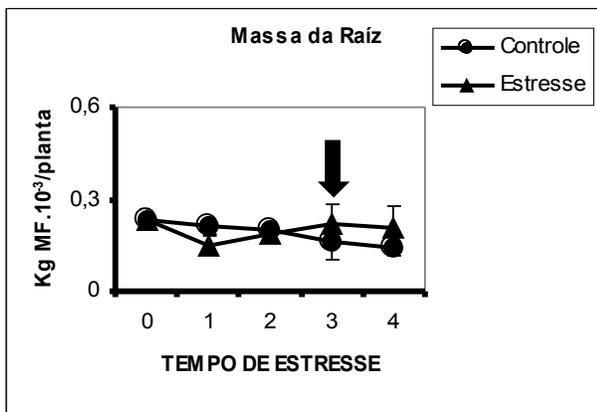


Figura 5.

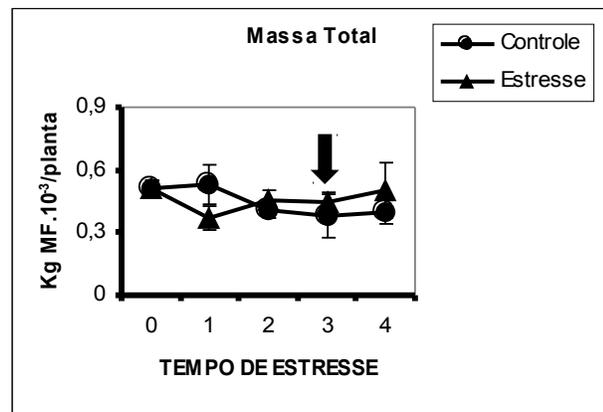


Figura 6.

Figuras 3, 4, 5 e 6. Matéria fresca de folhas, caules, raízes e matéria fresca total de plantas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) respectivamente, submetidas à desidratação progressiva (seca) durante 9 dias e reidratação após o 9º dia. A seta indica o dia de reidratação das plantas e as barras representam o desvio padrão.

Houve uma diminuição significativa da concentração de proteínas nas plantas submetidas ao estresse hídrico (Figura 7), provavelmente, devido o aumento da atividade da enzima protease (COSTA, 1999).

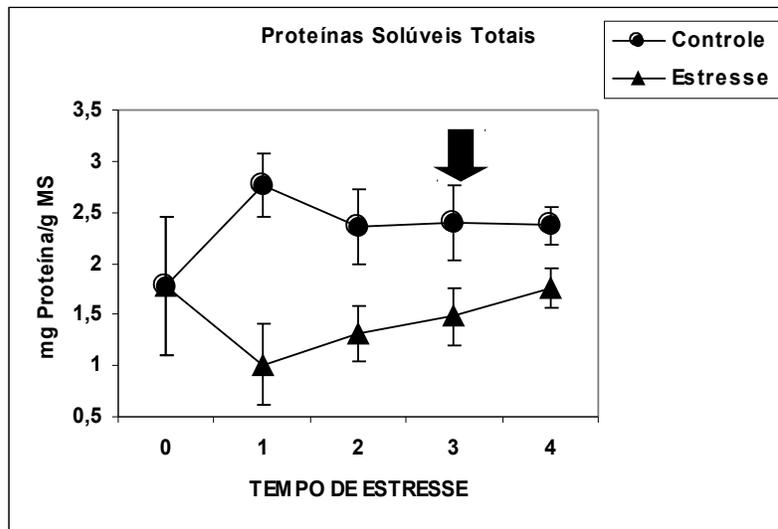


Figura 7. Proteínas solúveis totais em plantas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) submetidas a desidratação progressiva (seca) durante 9 dias e reidratação após o 9º dia. A seta indica o dia de reidratação das plantas e as barras representam o desvio padrão.

Não houve diferença nos teores de carboidratos solúveis totais (Figura 8), pois o tempo de estresse não foi suficiente pra aumentar consideravelmente a concentração de açúcares nas plantas estressadas, já que a concentração de carboidratos teria que ser maior em plantas estressadas para poder manter o equilíbrio osmótico da célula (KERBAUY, 2004; SILVEIRA *et al*, 2004).

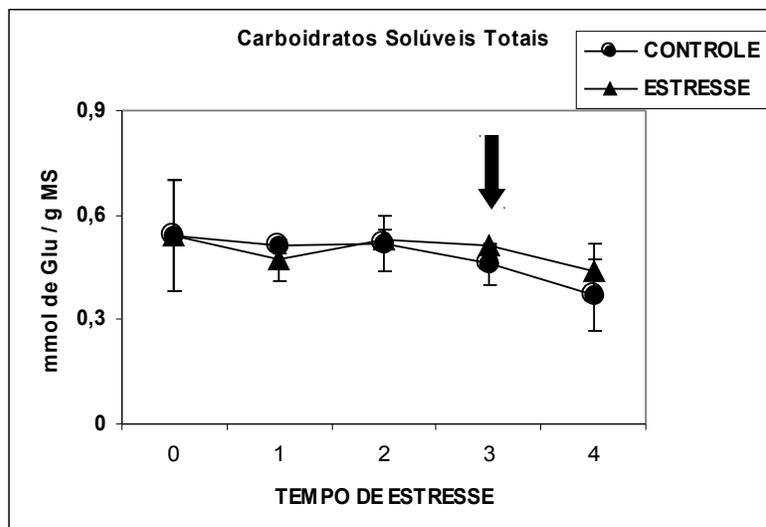


Figura 8. Açúcares solúveis totais em plantas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) submetidas a desidratação progressiva (seca) durante 9 dias e reidratação após o 9º dia. A seta indica o dia de reidratação das plantas e as barras representam o desvio padrão.

CONCLUSÃO

A atividade da redutase do nitrato diminuiu drasticamente a partir do 3º dia de estresse nas folhas. O estresse hídrico não afetou a atividade da redutase do nitrato nas raízes. O crescimento da planta toda e de suas partes não foi afetado pelo déficit hídrico utilizado. Este estresse afetou o teor de proteínas solúveis totais nas folhas, porém não teve efeito sobre os teores de carboidratos solúveis totais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analitic Biochemistry**. 72: 248-254. 1976.
- CALZAVARA, B. B. G., MÜLLER, C. H. & KAHWAGE, O. de N. da C. **Fruticultura tropical: o cupuaçuzeiro; cultivo, beneficiamento e utilização do fruto**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1984. 101p. (EMBRAPA-CPATU, Documentos, 32).
- CAVALCANTE, A. da S. L. & COSTA, J. G. da. Situação atual e perspectivas da cultura do cupuaçuzeiro no estado do Acre, Amazônia Ocidental Brasileira. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA-DO-REINO E CUPUAÇU, 1, 1996. Belém, PA. **Anais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/JAICA, 1997, p.119-124.
- COSTA, R.C.L.da **Assimilação de Nitrogênio e Ajustamento Osmótico em Plantas Noduladas de Feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] Submetidas ao Estresse Hídrico**. Tese de doutorado. UFC/DBBM, março. 1999.
- DEUS, C. E. de., WEIGAND JUNIOR, R., KAGEYAMA, P. Y., VIANA, V. M., FERRAZ, P. de A., BORGES, H. B. N., ALMEIDA, M. C., SILVEIRA, M., VICENTE, C. A. R. & ANDRADE, P. H. C. Comportamento de 28 espécies arbóreas tropicais sob diferentes regimes de luz em Rio Branco, Acre. Rio Branco: Universidade Federal do Acre, 1993. 170p.
- DUBOIS, M. , GILLES, K. A. , HAMILTON, J. K. , REBERS, P. A. , SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analitical Chemistry**. V. 28, n.3, p. 350-356. 1956.
- GASPAROTTO, L., ARAÚJO. R. da C. & SILVA, S. E. L. da. Cupuaçuzeiro em sistemas agroflorestais – programa SHIFT. In: Seminário Internacional sobre Pimenta-do-reino e Cupuaçu, 1, 1996. Belém, PA. **Anais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/JICA, 1997. P.103-108. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).
- HAGEMAN, R. H. & HUCKLESBY, D. P. Nitrate reductase from higher plants. **In: Methods in Enzymology**, 17 A: 491-503. 1971.

- HOAGLAND, D. R. & ARNO, D. I. The water culture method for growing plants without soil. **Calif. Agric. Exp. Stn. Univ. Calif. Berkeley Circ.** 347: 139. 1950.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Editora Guanabara Koogan S.A. 452 p.il., 2004.
- MOTA, P. P. C. da. Cultura do cupuaçuzeiro: informações básicas. Belém, CEPLAC/CORAM/COREX, **Cadernos de Extensão Rural da Amazônia**, 6, 18p., 1990.
- NOGUEIRA, O. L., CONTO, A. J. do., CALZAVARA, B. B. G., TEIXEIRA, L. B., KATO, O. R., OLIVEIRA, R. F. de. **Recomendações para o cultivo de espécies perenes em sistemas consorciados**. Belém, PA: EMBRAPA-CPATU, 1991. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 56).
- RIBEIRO, G. D. Situação atual e perspectivas da cultura do cupuaçuzeiro (*Theobroma gradiflorum*, Schum.) no estado de Rondônia, Brasil. In: Seminário Internacional sobre Pimenta-do-reino e Cupuaçu, 1, 1996. Belém, PA. **Anais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/JICA, 1997. P.109-118. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).
- SHARNER, DL & BOYER, J.S (1976a). Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays L.*) leaves. I. Regulation by nitrate flux. **Plant Physiol.** **58**: 499-504
- SHARNER, DL & BOYER, J.S (1976b). Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays L.*) leaves. II. Regulation by nitrate flux at low leaf water potential. **Plant Physiol.** **58**: 505-509
- SILVEIRA, J. A. G. ; COSTA, R. C. L. ; VIEGAS, R. A. ; OLIVEIRA, J. T. A. ; FIGUEIREDO, M. V. B. ; N- compound accumulation and carbohydrate shortage on N₂ fixation in drought-stressed and rewatered cowpea plants. **Spanish Journal of Agricultural Research**. V 3. n 1. pag. 65-75. 2003.