

EFEITOS DE TAXAS DE IMPOSIÇÃO E SEVERIDADE DO DÉFICIT HÍDRICO SOBRE O METABOLISMO DE CARBOIDRADOS EM FOLHAS DE *Coffea canephora*

Cláudio P. RONCHI¹ E-mail: ronchiap@yahoo.com.br, Karine D. BATISTA¹; Gustavo B. K. MORAES¹; Ângela Ten CATEN¹ e Fábio M. DaMATTA¹

¹ Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 36571-000

Resumo:

Mudas de *Coffea canephora*, clone 109A, foram cultivadas em casa de vegetação e submetidas a duas taxas de imposição do déficit hídrico, utilizando-se, para isso, de vasos de diferentes volumes: 6 L, taxa rápida; e 24 L, taxa lenta. As amostragens foram feitas quando as plantas atingiram um potencial hídrico de antemã (Ψ_{am}) de aproximadamente -2,0 MPa (déficit moderado) e -4,0 MPa (déficit severo), sendo necessário, para isso, 4 e 6 dias nas plantas dos vasos de 6 L, e 12 e 17 dias naquelas dos vasos de 24 L, respectivamente, após suspender-se a irrigação. Avaliaram-se, então, em dois horários do dia, as concentrações foliares de hexoses, sacarose, amido e aminoácidos livres totais, além das atividades de enzimas-chave no metabolismo do carbono (AGPase, invertase, SuSy, SPS, FBPase) em folhas de café, em resposta às taxas de imposição e níveis do déficit. Os resultados sugerem que plantas submetidas à seca apresentaram respostas diferenciadas no metabolismo de carboidratos, em função do tamanho do vaso de cultivo utilizado e, portanto, da taxa de imposição do déficit hídrico: enquanto nas plantas dos vasos pequenos houve redução na exportação de fotoassimilados e acúmulo de hexoses, provavelmente a partir da degradação de sacarose e amido, nas plantas dos vasos grandes verificou-se manutenção da exportação de fotoassimilados e, por conseguinte, do crescimento (provavelmente de raízes), ainda que a taxas reduzidas. Essas respostas, mais evidentes sob déficit severo, revestem-se de grande importância no processo de retardamento da desidratação. Contudo, as atividades de enzimas-chave do metabolismo do carbono foram pouco afetadas pelas taxas de imposição do déficit.

Palavras-chave: metabolismo do carbono, café, tamanho de vaso, fotossíntese

EFFECTS OF RATE OF PROGRESSION AND SEVERITY OF WATER DEFICIT ON CARBOHYDRATE METABOLISM IN *Coffea canephora* LEAVES

Abstract:

Seedlings of *Coffea canephora*, clone 109A, grown under greenhouse conditions, were grown in pots containing either 6- or 24-L of substrate, which allowed, respectively, two rates of progression of water deficit after withholding irrigation. All samplings and measurements were performed when predawn leaf water potential approximately -2.0 (moderate water deficit) and -3.0 MPa (severe water deficit) was reached. This was achieved at 4 and 6 days, or at 12 and 17 days after suspending irrigation, respectively, in plants grown in small and large pots. Concentrations of hexoses, sucrose, starch and total free aminoacids, and activities of key enzymes of carbon metabolism (AGPase, acid invertase, SuSy, SPS, FBPase) in coffee leaves, as affected by rates of progression and severity of water deficit were evaluated at early morning and early moon. The results suggest that changes in carbohydrate metabolism depended on pot size, and thus on the rate of progression of water deficit: in plants grown in small pots, assimilate export was reduced paralleling an accumulation of hexoses, due likely to sucrose and starch breakdown, while in plants grown in large pots, assimilate export was maintained, which should have allowed an extra root growth, even though under low rates. These responses, observed mainly under severe water deficit, are of major importance for dehydration postponement. However, the activities of key enzymes of carbon metabolism were only slight affected by rate of progression, as well as severity of water deficit.

Key words: carbon metabolism, coffee, pot size, photosynthesis

Introdução

A maioria dos experimentos em fisiologia vegetal, como em muitas outras áreas afins, geralmente requer controle das condições ambientais. Por essa razão, freqüentemente, os experimentos são realizados com plantas cultivadas em pequenos vasos, mantidos dentro de câmaras de crescimento e, ou, casa de vegetação. Apesar das vantagens, o cultivo em vasos pode levar à formação de plantas com volume radicular reduzido, quando comparado àquele formado no campo ou mesmo em plantas cultivadas em vasos grandes (Townend e Dickinson, 1995), alterando-se, assim, a relação fonte:dreno; principalmente em plantas submetidas ao estresse hídrico.

O déficit hídrico, por sua vez, além de afetar a fotossíntese direta ou indiretamente, por mecanismos estomáticos e não-estomáticos ainda não elucidados completamente, reduz drasticamente o crescimento das plantas. Consequentemente, a produção e o consumo de fotoassimilados são restringidos, levando a alterações na partição do carbono na folha e na planta como um todo (Chaves, 1991; Cornic, 2000; Lawlor e Cornic, 2002). Tais alterações caracterizam-se, predominantemente, por modificações nos níveis foliares de açúcares solúveis (hexoses e sacarose) e de amido (DaMatta et al., 1997; Vu et al., 1998; Praxedes et al., 2005), e nas atividades das enzimas-chave na síntese (bisfosfatase da frutose 1,6-bisfosfato – FBPase e sintase da sacarose-fosfato – SPS) (Basu et al., 1999; Pelleschi et al., 1997; Foyer et al., 1998; Praxedes et al., 2005) e degradação (invertase ácida e sintase da sacarose – SuSy) (Pelleschi et al., 1997; Lawlor e Cornic,

2002, Praxedes et al., 2005) da sacarose e, também, na síntese (pirofosforilase da ADP-glicose - AGPase) e degradação (fosforilase do amido - PPIase) do amido (Zeeman et al., 2004).

Poucos trabalhos consideram a possibilidade do tamanho do vaso influenciar a sensibilidade das plantas à taxa de imposição do déficit hídrico. O tamanho do vaso tem grande influência na quantidade de água disponível às plantas nele cultivadas. Obviamente, vasos menores se traduzem em menor disponibilidade global de água, acarretando, portanto, imposição mais rápida do déficit hídrico (Will e Teskey, 1997; Ray e Sinclair, 1998). Segundo Jones e Rawson (1979), a imposição de níveis realísticos de déficit hídrico é difícil, particularmente nos pequenos vasos, com observações largamente dependentes da taxa de desenvolvimento do déficit.

No Brasil, a maior parte das lavouras de café Canéfora vem sendo formada, nos últimos anos, a partir de mudas clonais, selecionadas de matrizes normalmente cultivadas sob irrigação. Os clones assim obtidos, uma vez conduzidos com restrição hídrica, exibem grande variabilidade quanto a tolerância à seca (DaMatta et al., 2003). Resultados contrastantes de Lima et al. (2002) e Pinheiro (2004), obtidos em clones de café Canéfora submetidos a seca, sugerem respostas diferenciais de aclimatação da maquinaria fotossintética ao tamanho do vaso de cultivo e, portanto, à taxa de imposição do déficit hídrico. Ademais, um estudo recente (Praxedes et al., 2005) realizado com quatro clones de café Canéfora evidenciou que o metabolismo de carboidratos exibe variações clonais em resposta ao déficit hídrico, imposto lentamente. Contudo, a importância da taxa de imposição do déficit sobre o metabolismo de carboidratos em café é desconhecida. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi investigar as alterações no metabolismo do carbono em café Canéfora, em função de taxas diferenciais de imposição do déficit hídrico.

Material e Métodos

Mudas de *Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*, clone 109A, com cinco pares de folhas, obtidos no Instituto Capixaba de Assistência Técnica e Extensão Rural – Incaper, foram plantadas e cultivadas em vasos de volumes diferentes (6 e 24 L), em Viçosa, MG (20°45'S, altitude de 650 m), sob fluxo de fôtons fotossintéticos médio de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ao meio-dia. O substrato utilizado para enchimento dos vasos consistiu de uma mistura de solo, areia e esterco bovino (3:1:1, v/v/v), fertilizada (para cada 1 m^3) com 0,437 kg de P, 0,143 kg de K e 1,0 kg de calcário dolomítico. As mudas foram mantidas em casa de vegetação, cujas laterais permitiam que a troca de ar entre o exterior e o interior da casa de vegetação ocorresse livremente. Após 11 meses de cultivo (Setembro de 2004), as plantas foram separadas em dois grupos, sendo cada grupo constituído por 10 plantas; cinco para cada tamanho de vaso. Um grupo foi mantido sob irrigação periódica (controle) e outro, sob déficit hídrico, imposto pela suspensão da irrigação, até que as plantas atingissem um potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{am}) de, aproximadamente, -2,0 e -4,0 MPa (medidos com uma bomba de pressão tipo Scholander), caracterizando-se, portanto, dois níveis de déficit, moderado e severo, respectivamente. Os dois níveis de déficit foram atingidos aos 4 e 6 dias nas plantas dos vasos de 6 L, e aos 12 e 17 dias naquelas dos vasos de 24 L, respectivamente, após suspender-se a irrigação. Obteve-se, então, duas taxas de imposição do déficit hídrico: rápida, nos vasos pequenos, e lenta, nos vasos grandes.

Utilizou-se do delineamento inteiramente casualizado, com tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 2 x 2 (dois tamanhos de vasos ou duas taxas de imposição do déficit hídrico, dois níveis de déficit e dois regimes hídricos), com cinco repetições. Cada unidade experimental consistiu de uma planta por vaso. Uma vez atingido o nível de déficit desejado, procederam-se às coletas de material vegetal, em folhas completamente expandidas de ramos plagiotrópicos do terço superior das plantas, em dois horários do dia: entre 07:00 e 08:00 h; entre 13:00 e 14:00 h. As amostras foram congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e mantidas a -80°C até as análises. Determinaram-se, então, as concentrações foliares de hexoses, sacarose, amido e aminoácidos solúveis totais e as atividades das enzimas-chave no metabolismo de carboidratos: desidrogenase do NADP:gliceraldeído-3-P (NADP:GAPDH, EC 1.2.1.12), AGPase (EC 2.2.7.27), PPIase (2.4.1.1), FBPase (EC 3.1.3.11), SPS (velocidade máxima - SPS_m e velocidade seletiva - SPS_s, EC 2.4.1.14), invertase ácida (EC 3.2.1.26), SuSy (EC 2.4.1.13), fosfofrutocinase dependente de PPI (PFK-PPI, EC 2.7.1.90), fosfofrutocinase dependente de ATP (PFK-ATP, EC 2.7.1.11) e desidrogenase do gliceraldeído-3-P (GAPDH, EC 1.2.1.12), segundo métodos descritos em Praxedes et al. (2005). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, segundo delineamento acima descrito; as médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Mudas de café Canéfora (clone 109A) foram submetidas ao estresse hídrico progressivo até que o Ψ_{am} atingisse -4,0 MPa. Em função dos diferentes tamanhos de vaso utilizados, foi possível obter-se duas taxas de imposição do déficit hídrico: nos vasos pequenos (6 L), o declínio em Ψ_{am} , após suspensão da irrigação, ocorreu rapidamente (667 kPa d^{-1}), e mais lentamente, nos vasos grandes (235 kPa d^{-1}).

Sob déficit hídrico moderado (-2,0 MPa) imposto lentamente (vasos de 6 L), as concentrações foliares de hexoses, sacarose e amido não se alteraram nas plantas estressadas, em relação às das plantas-controle, em ambos os horários de avaliação (Figura 1: a-f). Entretanto, sob déficit severo (-4,0 MPa), os níveis de hexoses aumentaram em 113 e 142% ($P < 0,05$), às 08:00 e 13:00 h, respectivamente (Figura 1: a e b), e os de sacarose e amido reduziram-se em 59 e 43 %, respectivamente, às 13:00 h, em relação àqueles observados nas plantas-controle (Figura 1: c-f). Nas plantas dos vasos de 24 L, nas quais o déficit progrediu lentamente, os níveis de hexoses não se alteraram (Figura 1: a e b); os de sacarose reduziram-se em 69% sob déficit severo, às 08:00 h (Figura 1: c) e 36%, sob déficit moderado, às 13:00 h (Figura 1: d); e os de amido reduziram-se em 61% sob déficit severo, às 08:00 h (Figura 1: e) e, em aproximadamente, 64%, às 13:00 h, independente do nível de déficit imposto (Figura 1: f).

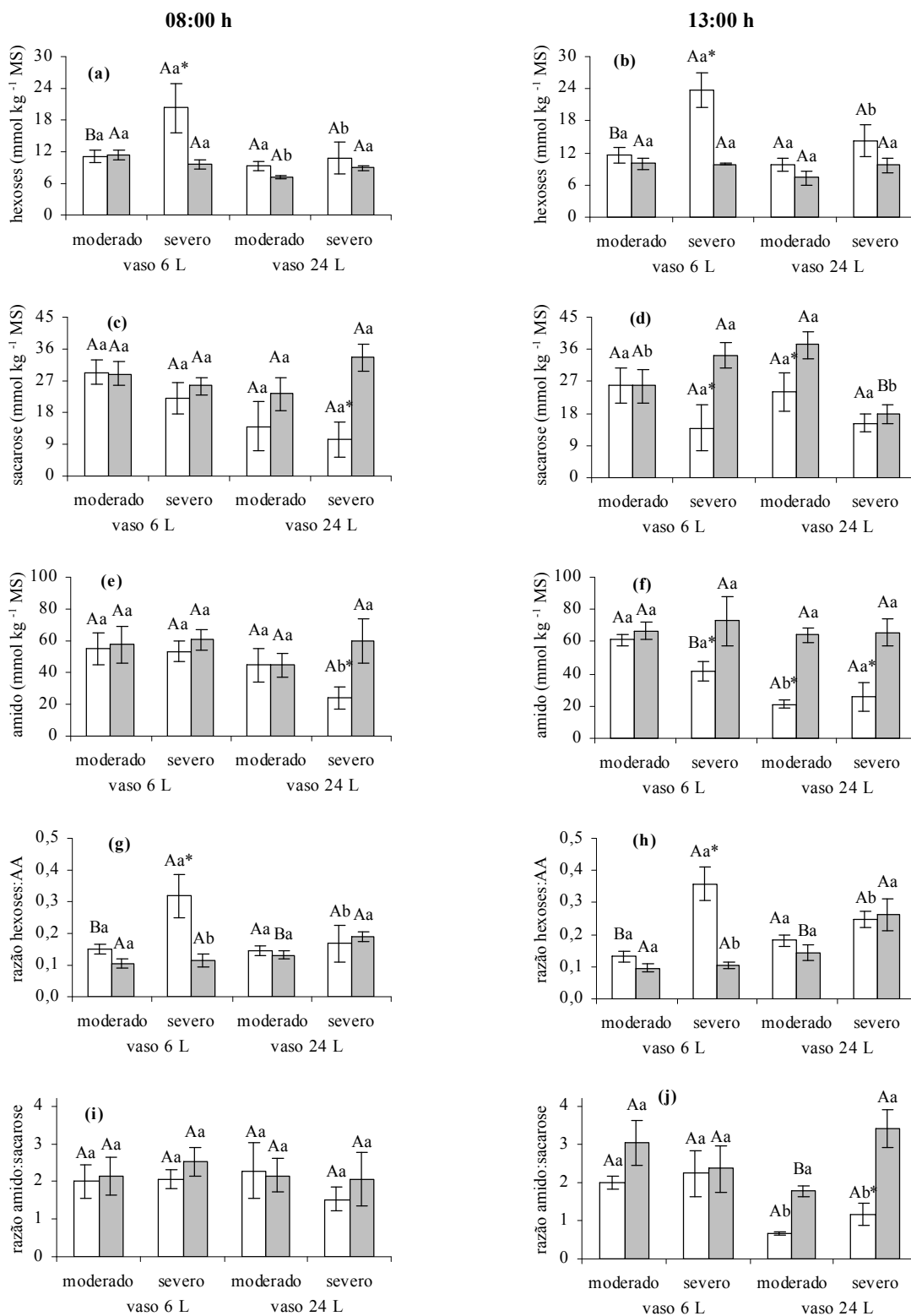


Figura 1. Efeitos de taxas de imposição (tamanho de vasos) e níveis de déficit hídrico sobre as concentrações foliares de hexoses (a e b), sacarose (c e d) e amido (e e f), e sobre as razões hexoses:aminoácidos (g e h) e amido:sacarose (i e j) em plantas de café, em dois horários no dia. Tanto para plantas estressadas (colunas brancas) ou plantas-controle (colunas cinzas), letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas entre as médias dos níveis de déficit (moderado e severo) dentro de cada tamanho de vaso, enquanto letras minúsculas diferentes denotam diferenças significativas entre médias dos tamanhos de vasos (6 e 24 L) dentro de cada nível de déficit, pelo teste de Newman-Keuls ($P < 0.05$). As médias de plantas estressadas (colunas brancas) marcadas com um asterisco diferem daquelas controle pelo teste de Newman-Keuls, para $P < 0.05$. Os valores representam a média \pm erro padrão de cinco repetições

Nos vasos pequenos, ainda pela manhã, os níveis de hexoses apresentaram-se elevados (113%) nas plantas submetidas ao déficit hídrico severo, comparados aos das plantas-controle (Figura 1: a), sugerindo uma baixa demanda dos drenos para o consumo de carboidratos durante o período noturno. Ademais, no decorrer do fotoperíodo, o nível de hexoses aumentou ainda mais nessas plantas (142%, Figura 1: b). Considerando-se que as plantas dos vasos pequenos sob déficit severo tiveram suas taxas de assimilação líquida de CO₂ suprimidas (dados não mostrados), o aumento no nível de hexoses às 13:00 h ocorreu provavelmente em função da degradação de sacarose e amido (Figuras 1: d e f). Portanto, sob elevadas taxas de imposição de déficit hídrico, o aumento no nível de hexoses pode representar mecanismo de ajustamento osmótico, na tentativa de retardar a desidratação (Daie, 1996; Lawlor e Cornic, 2002). Ademais, é pouco provável que o decréscimo de sacarose observado nas plantas dos vasos pequenos submetidas ao déficit hídrico severo esteja relacionado à exportação de fotoassimilados, uma vez que a razão hexoses:aminoácidos aumentou fortemente (161 e 260% às 08:00 e 13:00 h, respectivamente) (Figura 1: g e h), e que a razão amido:sacarose permaneceu inalterada nessas plantas (Figura 1: i e j). Tomados em conjunto, essas respostas indicam acentuado processo de retroinibição da fotossíntese pela redução da força-dreno (Paul e Driscoll, 1997; Isopp et al., 2000; Paul e Foyer, 2001; Paul e Pellny, 2003;), provavelmente em função tanto do elevado grau de restrição ao volume radicular bem como da severidade do déficit hídrico.

Diferentemente do que ocorreu nos vasos pequenos, as concentrações de hexoses foram semelhantes pela manhã e à tarde nas plantas dos vasos de 24 L (Figura 1: a e b); as concentrações de sacarose e amido, de modo geral, reduziram-se significativamente tanto às 08:00 h como às 13:00h nas plantas estressadas, em comparação às plantas-controle, independente do nível de déficit (Figura 1: c-f). Ainda, a constância da razão hexose:aminoácidos (Figura 1: g e h), associada a reduções mais pronunciadas nos níveis de amido em detrimento dos de sacarose (portanto, gerando redução na razão amido:sacarose nas plantas estressadas, principalmente às 13:00 h; Figura 1: j), sugerem que a exportação de fotoassimilados foi mantida, ainda que a taxas reduzidas nas plantas em que o déficit foi imposto lentamente. Logo, a manutenção do crescimento, provavelmente de raízes (drenos ativos), pode representar importante mecanismo para retardar a desidratação (Lawlor e Cornic, 2002; Pinheiro, 2004; Praxedes et al., 2005). Vale ressaltar, portanto, que, em virtude da lenta progressão do déficit hídrico, é possível que as plantas de café apresentem respostas de aclimatação tanto morfológicas como fisiológicas, para enfrentar o período de seca (DaMatta, 2003).

Apesar das alterações verificadas no nível de carboidratos, nenhuma ou pequenas modificações ocorreram nas atividades das enzimas-chave no metabolismo do carbono (dados não mostrados).

Conclusões

Os resultados sugerem que plantas de café *Canéfora* submetidas à seca apresentaram respostas diferenciadas no metabolismo de carboidratos, em função do tamanho do vaso de cultivo utilizado e, portanto, da taxa de imposição do déficit hídrico: enquanto nas plantas dos vasos pequenos houve redução na exportação de fotoassimilados e acúmulo de hexoses, provavelmente a partir da degradação de sacarose e amido, nas plantas dos vasos grandes verificou-se manutenção da exportação de fotoassimilados e, portanto, do crescimento (provavelmente de raízes), mesmo que a taxas reduzidas. Estas respostas, mais evidentes sob déficit severo, revestem-se de grande importância no processo de retardamento da desidratação. Contudo, as atividades das enzimas-chave do metabolismo do carbono foram pouco afetadas pelas taxas de imposição do déficit.

Referências Bibliográficas

- Basu P.S., Sharma A., Garg I.D., Sukumaran N.P. (1999) Tuber sink modifies photosynthetic response in potato tuber under water stress. *Environmental and Experimental Botany* 42, 25-39.
- Chaves M.M. (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* 42, 1-16.
- Cornic G. (2000) Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture – not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science* 5, 187-188.
- Daie J. (1996) Metabolic adjustments, assimilate partitioning, and alterations in source-sink relations in drought-stressed plants. In: Zamski E., Schaffer A.A. (Eds.), *Photoassimilate Distribution in Plants and Crops*. Marcel Dekker, New York, pp. 407-420.
- DaMatta F.M., Chaves A.R.M., Pinheiro H.A., Ducatti C., Loureiro M.E. (2003) Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. *Plant Science*, 164, 111-117.
- DaMatta F.M., Maestri M., Barros R.S. (1997) Photosynthetic performance of two coffee species under drought. *Photosynthetica* 34, 257-264.

- Foyer C.H., Valadier M.-H., Migge A., Becker T.W. (1998) Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. *Plant Physiology* 117, 283-292.
- Isopp H., Frehner M., Long, S.P., Nösberger J. (2000) Sucrose-phosphate synthase responds differently to source-sink relations and to photosynthetic rates: *Lolium perenne* L. growing at elevated p_{CO_2} in the field. *Plant, Cell and Environment* 23, 597-607.
- Jones H.G., Rawson H.M. (1979) Influence of rate of development of leaf water deficits upon photosynthesis, leaf conductance, water use efficiency and osmotic potential of sorghum. *Physiologia Plantarum* 45, 103-111.
- Lawlor D.H., Cornic G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment* 25, 275-294.
- Lima A.L.S., DaMatta F.M., Pinheiro H.A., Totola M.R., Loureiro M.E. (2002). Photochemical responses and oxidative stress in two clone of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany* 47, 239-247.
- Paul M.J., Driscoll S.P. (1997) Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signaling nitrogen deficiency through source sink-imbalance. *Plant, Cell and Environment* 20, 110-116.
- Paul M.J., Foyer C.H. (2001) Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52, 1383-1400.
- Paul M.J., Pellny T.K. (2003) Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany* 54, 539-547.
- Pelleschi S., Rocher J.-P., Prioul J.-L. (1997) Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. *Plant, Cell and Environment* 20, 493-503.
- Pinheiro, H.A. (2004) Physiological and morphological adaptations as associated with drought tolerance in robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, PhD Thesis.
- Praxedes S.C., DaMatta F.M., Loureiro M.E., Ferrão M.A.G., Cordeiro A.T. (2005) Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. *Environmental and Experimental Botany*, no prelo.
- Ray J.D., Sinclair T.R. (1998) The effect of pot size on growth and transpiration of maize and soybean during water deficit stress. *Journal of Experimental Botany* 49, 1381-1386.
- Townend J., Dickinson A.L. (1995) A comparison of rooting environments in containers of different sizes. *Plant and Soil* 175, 139-146.
- Vu J.C.V., Baker J.T., Pennanen A.H., Allen Jr. H., Bowes G., Boote K.J. (1998) Elevated CO_2 and water deficit effects on photosynthesis, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, and carbohydrate metabolism in rice. *Physiologia Plantarum* 103, 327-339.
- Will R.E., Teskey R.O. (1997) Effects of elevated carbon dioxide concentration and root restriction on net photosynthesis, water relations and foliar carbohydrate status of loblolly pine seedlings. *Tree Physiology* 17, 655-661.
- Zeeman S.C., Smith S.M., Smith A.M. (2004) The breakdown of starch in leaves. *New Phytologist* 163, 247-261.