

REMOBILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS, CLOROFILAS E AMIDO PELAS FOLHAS E FRUTOS DE CAFEIEIRO

André R. dos REIS¹, E-mail: ardreis@esalq.usp.br; Samuel N. R. ALVES¹; José L. FAVARIN¹; Paula R. SALGADO¹; Cristiana GASPARI-PEZZOPANE¹; Fabiana T. de CAMARGO¹

¹Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Resumo:

Este trabalho foi realizado com a finalidade de avaliar a remobilização de proteínas totais solúveis (PTS), nitrogênio, clorofilas e amido em folhas de cafeeiro durante o desenvolvimento dos frutos em condições de campo. O experimento foi instalado em blocos ao acaso em esquema fatorial 3x6, constituído pela combinação de três doses de N (0, 150 e 350 kg ha⁻¹) e seis épocas de avaliação (janeiro, fevereiro, março, abril, maio e junho), com sete repetições, numa lavoura de Catuaí Vermelho IAC 44 com seis anos de idade, implantada num Nitossolo Vermelho eutroférico, no município de Piracicaba-SP. Houve aumento nos teores de proteínas totais solúveis, clorofila e nitrogênio em função das doses de N, exceto para o teor de amido. No mês de janeiro em que os frutos estavam verdes verificou-se maiores teores de clorofila, N, PTS e amido. Durante o desenvolvimento dos frutos do cafeeiro, os teores de clorofila, N e PTS foliar diminuíram com a senescência das folhas, o que promoveu a remobilização do N para o enchimento de grãos.

Palavras-chave: Proteínas, amido, remobilização.

Abstract:

This work was evaluate the remobilization of total soluble protein, nitrogen, chlorophylls and starch in coffee leaves during fruits development on field. The study was carried out in ESALQ/USP (University of São Paulo), Piracicaba, São Paulo, Brazil in a Eutroferric Red Nitosol. The experimental design was a complete randomized, in a factorial outline 3 x 6, constituted by combination of 3 levels (0, 150 and 350 kg ha⁻¹) of nitrogen in six different phases (January, February, March, April, May and June) in plants (Cultivar Catuaí Vermelho IAC 44). The total soluble proteins, chlorophyll and nitrogen content in leaves were linear increased in relation of levels of N applied, except for starch content. In January, the fruits were young grains “green fruits” and this period the coffee leaves have high nitrogen, chlorophyll and total soluble protein content. The same phase took place in the same period of intense metabolism and demand of nutrients for development of the fruit, due to the formation of endosperm that is a strong drain of carbohydrates and minerals. During the coffee fruits development, the total soluble protein, nitrogen and chlorophyll content had decreased, this occur due to the process of senescence of leaves, promote it the remobilization to other plant organs, as seed filling.

Key words: Proteins, starch and remobilization

Introdução

A assimilação do nitrogênio é um processo vital que controla o crescimento e o desenvolvimento das plantas e tem efeitos marcantes sobre a fitomassa e a produtividade final das culturas. Depois que a folha do cafeeiro termina sua expansão ela passa a ser exportadora de nutrientes. De acordo com CALBO (1989), a degradação de compostos celulares resulta na migração de fotoassimilados e elementos minerais móveis, especialmente N e K para drenos tais como frutos e raízes, resultando até na queda da folha.

O desfolhamento acentuado ou depauperamento do cafeeiro se deve à excessiva mobilização de nutrientes pelos frutos, como consequência da grande carga de frutos e pequena razão folha/fruto (RENA et al., 1983). Mesmo em ano de baixa produção a demanda de nutrientes continua, sendo direcionada, principalmente, para o crescimento de ramos plagiotrópicos, formação de novos ramos, folhas e raízes que vão substituir o fruto como dreno de carboidratos e nutrientes (MALAVOLTA, 2002).

A avaliação da capacidade de absorção e de remobilização do nitrogênio em cada estágio do desenvolvimento da planta fornece dados importantes para a avaliação de sua eficiência na utilização desse nutriente e pode ser utilizada no planejamento de uma cafeicultura eficiente.

Material e Métodos

O experimento foi realizado com plantas de café (*Coffea arabica* L.) cv. Catuaí Vermelho IAC-44, de seis anos de idade, com espaçamento de 1,75 m x 0,75 m, no período de outubro de 2005 à julho de 2006. A cultura foi instalada no campo experimental da Fazenda Areão da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), município de Piracicaba, Estado de São Paulo, localizado a 22°42’S, 47°38’W e altitude de 580 m. O solo

é classificado como Nitossolo Vermelho eutroférico, horizonte A moderado e textura argilosa, cujos atributos químicos e físicos nos primeiros 20 cm de profundidade estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Atributos químicos e físicos da camada 0-20 cm do Nitossolo Vermelho eutroférico da área experimental.

pH	MO	P	argila	areia	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	g kg ⁻¹		mmolc dm ⁻³						%
5,3	31	8	309	255	4,3	29	20	30	53,1	83,1	64

O experimento foi instalado em blocos ao acaso em esquema fatorial 3 x 6, constituído pela combinação de três doses de N (0, 150 e 350 kg ha⁻¹ via sulfato de amônio) e seis épocas de avaliação (janeiro, fevereiro, março, abril, maio e junho).

As análises quantitativas dos teores foliares de N determinado de acordo com (MALAVOLTA et al., 1997), clorofila (ARNON, 1949), amido (DUBOIS et al., 1956), a proteína solúvel total foi extraída com tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), 2mM de mercaptoetanol e 4% de polivinil de pirrolina (PVPP) e dosada de acordo com (BRADFORD, 1976). As determinações foram realizadas mensalmente com o objetivo de estudar a remobilização desses componentes na planta do café em diferentes fases fenológicas. Para análise dos grãos, foram coletados frutos no estágio verde, cereja e seco.

Resultados e Discussão

O conteúdo de PTS foliar, amido, N foliar e de clorofila nas folhas durante o desenvolvimento dos frutos do cafeeiro em função das doses de N estão apresentados na Tabela 2. Em todas as épocas avaliadas, as variáveis mensuradas, exceto o teor de amido, apresentaram resposta linear às doses de N como indicado na equação. O nitrogênio por participar da composição dos aminoácidos, desempenha efeito direto no conteúdo de PTS. O nitrogênio absorvido pelas plantas combina com cadeias carbônicas e formam aminoácidos, que resultam em proteínas armazenadas nos tecidos vegetais. Por ocasião da fase de enchimento de grãos essas reservas são quebradas, translocadas e armazenadas nesses órgãos na forma de proteínas e aminoácidos (MARSCHNER, 1995).

Tabela 2. Teor de PTS (mg ml⁻¹), de amido (mg g⁻¹ de MS), N foliar (g kg⁻¹) e clorofila total (µg ml⁻¹) em função de doses de nitrogênio e épocas de avaliações.

		T ₀	T ₁	T ₂	R ²	Equação
Janeiro	PTS (mg mL ⁻¹)	0,62	5,66	6,52	0,86	y = 1,3157 + 0,0197x
	Amido (mg g ⁻¹ de MS)	14,1	16,2	15,8	ns	ns
	N (g kg ⁻¹)	15,66	31,4	33,3	0,83	y = 17,967 + 0,0588x
	Clorofila total (µg ml ⁻¹)	17,68	61,14	72,77	0,90	y = 22,991 + 0,1836x
Fevereiro	PTS (mg mL ⁻¹)	0,53	4,92	5,92	0,88	y = 1,0921 + 0,018x
	Amido % (mg g ⁻¹ de MS)	13,7	15,8	15,2	ns	ns
	N (g kg ⁻¹)	14,7	30,03	32,71	0,86	y = 16,81 + 0,06x
	Clorofila total (µg ml ⁻¹)	17,18	57,79	71,74	0,92	y = 21,658 + 0,1812x
Março	PTS (mg mL ⁻¹)	0,42	4,11	5,55	0,94	y = 0,7944 + 0,0171x
	Amido (mg g ⁻¹ de MS)	16,9	13,2	11,7	ns	ns
	N (g kg ⁻¹)	15,80	25,48	30,59	0,97	y = 16,562 + 0,0493x
	Clorofila total (µg ml ⁻¹)	16,37	53,01	60,11	0,87	y = 21,295 + 0,1458x
Abril	PTS (mg mL ⁻¹)	0,33	3,22	3,95	0,89	y = 0,6927 + 0,0121x
	Amido (mg g ⁻¹ de MS)	18,0	12,5	14,6	ns	ns
	N (g kg ⁻¹)	14,86	25,01	31,27	0,98	y = 15,508 + 0,0547x
	Clorofila total (µg ml ⁻¹)	14,98	48,80	55,34	0,87	y = 19,528 + 0,1345x
Maió	PTS (mg mL ⁻¹)	0,30	2,33	2,86	0,89	y = 0,549 + 0,0086x
	Amido (mg g ⁻¹ de MS)	14,9	14,4	14,5	ns	ns
	N (g kg ⁻¹)	18,83	28,00	31,20	0,93	y = 19,825 + 0,0412x
	Clorofila total (µg ml ⁻¹)	13,52	45,69	53,75	0,89	y = 17,541 + 0,1341x
Junho	PTS (mg mL ⁻¹)	0,27	2,21	2,43	0,82	y = 0,555 + 0,0072x
	Amido (mg g ⁻¹ de MS)	14,2	12,7	13,5	ns	ns
	N (g kg ⁻¹)	14,68	24,90	27,09	0,88	y = 16,018 + 0,0414x
	Clorofila total (µg ml ⁻¹)	13,14	44,08	51,85	0,89	y = 17,009 + 0,129x

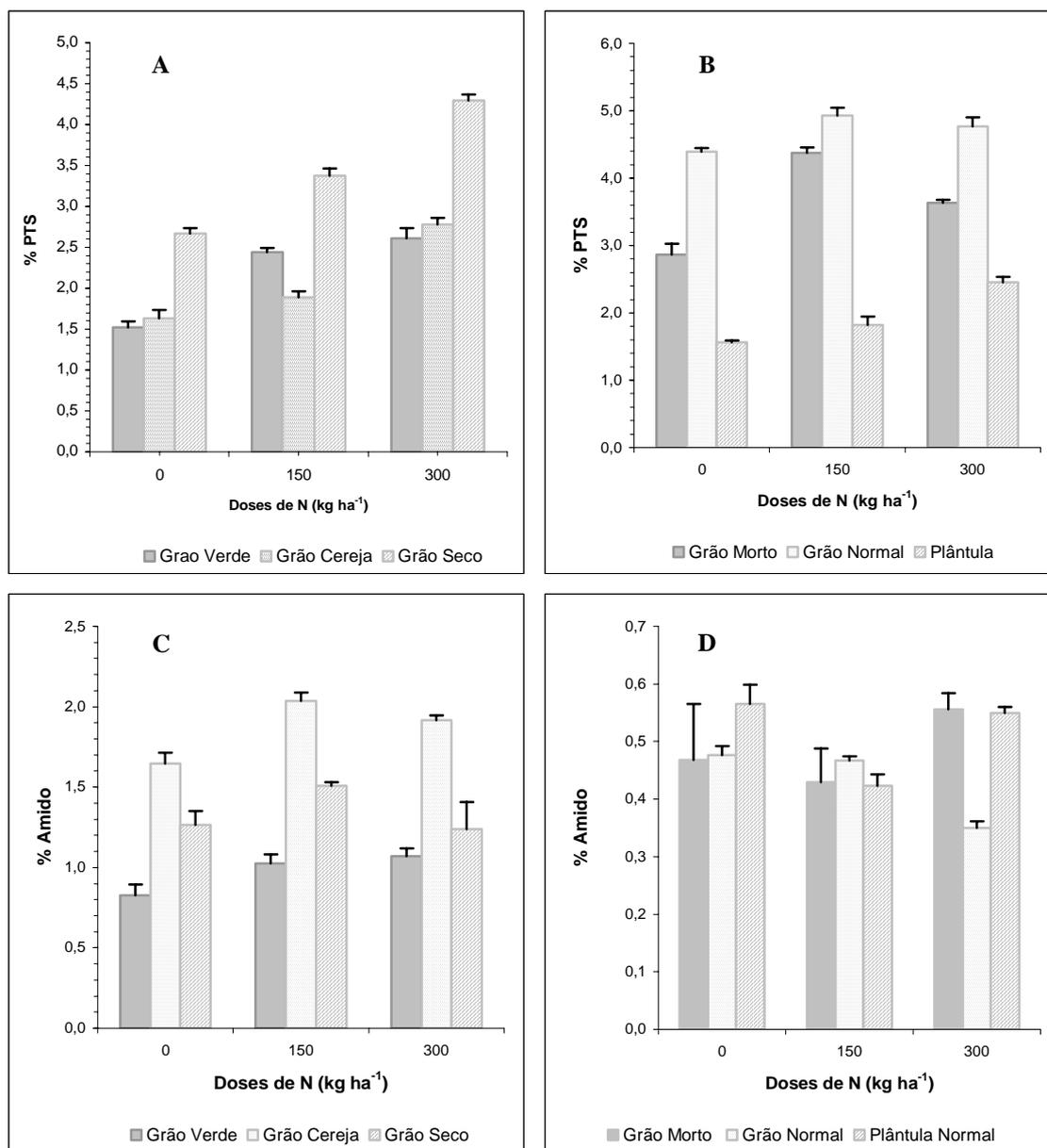


Figura 1. Conteúdo de PTS e amido em diferentes fases fenológicas de desenvolvimento dos frutos do cafeeiro.

Em todos os tratamentos, a quantidade de PTS foliar diminuiu drasticamente durante o período avaliado. A medida que os frutos desenvolviam, as folhas entraram em senescência, o que provavelmente explicaria a diminuição do conteúdo de PTS, N foliar e clorofila, pois as mesmas são dependentes de N em suas estruturas. Nessa fase, as folhas ainda permaneceram túrgidas, indicando que as membranas e as organelas estavam intactas, porém começa a degradação da clorofila, como observaram FELLER e KEIST (1986). Com o início da senescência, o fluxo de nitrogênio decresce em consequência da diminuição da taxa de transpiração da cultura e inicia a remobilização. O aminoácido derivado da degradação de proteína solúvel das folhas próximas da senescência é reutilizado em outros órgãos da planta, como por exemplo, grãos (MATILE, 1992).

A proteólise e a remobilização de nitrogênio são constantemente associadas com a resposta da planta a estresse e ao processo de senescência, que está associado à maturação ou enchimentos dos frutos. Este evento é prejudicial para a biologia vegetal, mas importante para a produtividade (LEA, 2001). As duas principais hipóteses sobre a indução de senescência entre a floração e a frutificação são as baixas sínteses de hormônios ou a grande remobilização de nutrientes das folhas, sendo comum à função da senescência na translocação de recursos protéicos para a fase reprodutiva e desenvolvimento (FELLER e FISCHER, 1994). Essa visão sugere uma possível ligação entre a função da proteólise na vida celular, incluindo a resposta a estresse por falta de nitrogênio, com a PTS sendo remobilizada durante a senescência.

As principais substâncias cloroplásticas que contribuem para a perda de proteínas foliares durante a senescência são a Rubisco e o complexo coletor de luz do fotossistema II (MATILE, 1997). Este complexo faz parte das membranas do tilacóide, constituído por proteínas e pigmentos, principalmente as clorofilas. Por outro lado, a proteína nitrogenada dos cloroplastos é facilmente convertida em aminoácidos transportadores, embora nem todo aminoácido seja transportado pelo floema.

A porcentagem de PTS e amido em diferentes fases fenológicas dos frutos do cafeeiro podem ser visualizados na Figura 1. Na Figura 1A, verifica-se que os frutos secos acumularam significativamente PTS em relação aos estádios verde e cereja. Isso ocorreu, provavelmente, pela remobilização do N e a degradação de clorofilas provenientes das folhas senescentes como indica os valores apresentados na Tabela 2. Além disso, estudou-se a mudança da composição protéica em frutos cereja pelo teste de germinação, em que se verifica uma maior porcentagem de PTS contida nos grãos considerados normais e uma pequena porcentagem nas plântulas germinadas. Nos estudos realizados por REIS 2005, o N promove mudanças bioquímicas no processo germinativo das sementes do cafeeiro, diminuindo a germinação de sementes de frutos cereja em função de doses de N. Devido a essas observações, 30 dias após a germinação das sementes destes frutos (cereja) determinou-se a porcentagem de fração protéica em sementes mortas, normais e plântulas germinadas e verificou uma grande porcentagem de PTS nas sementes mortas (Figura 1B).

O mesmo estudo foi realizado para a porcentagem de amidos nas diferentes fases fenológicas dos frutos, e constatou-se que houve maior acúmulo nos frutos no estádio cereja, independente do estado nutricional da planta em relação ao N, ou seja, tanto plantas deficientes quanto plantas bem nutrida em N apresentaram maior acúmulo de amido nos frutos cereja (Figura 1C). Frutos na fase cereja sob deficiência de N, as plântulas acumularam maior porcentagem de amido em relação às sementes normais e mortas (Figura 1D).

Conclusões

Os teores de N foliar, clorofila e proteínas totais solúveis aumentam linearmente em função de doses de nitrogênio.

As doses de N promovem alterações bioquímicas na germinação de sementes provenientes de frutos no estádio cereja.

Há remobilização de nutrientes e compostos das folhas e frutos, independentemente do estado nutricional em relação ao nitrogênio.

As sementes de frutos cereja acumulam maiores teores de amido.

Referências Bibliográficas

- ARNON, D.I. Cooper enzymes in insolated chloroplasts. Polyphenol oxydase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, Rockville, v.24, p.1-15, 1949.
- BRADFORD, M.M. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- CALBO, A.G. Senescência em folhas e migração de solutos. In: SODEK, L.; CASTRO, P.R.C.; NEVES, M. C. P. **REUNIÃO BRASILEIRA DE FISILOGIA VEGETAL**, 2. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 1989. p.123-134.
- DUBOIS, M., GIBBS, K.A., HAMILTON, J.K, REBENS, P.A., SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.28, p.350-356, 1956.
- FELLER, U. e FISCHER, A. Nitrogen metabolism in senescing leaves. **Critical Review of Plant Science**, v.13, p.241-273, 1994.
- LEA, P.L. e MOROT-GAUDRY, J.F. **Plant Nitrogen**, 2001, 407p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.
- MALAVOLTA, E.; FAVARIN, J. L.; MALAVOLTA, M.; CABRAL, C.P.; HEINRICHS, R.; SILVEIRA, J.S.M. Repartição de nutrientes nos ramos, folhas e flores do cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n. 7, p.1017-1022, 2002.
- MARSCHNER H. **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press, San Diego. 1995.
- MATILE, P. **Chloroplast senescence, in crop photosynthesis: spatial and temporal determinants**, Bakers, N.R. and Thomas, H., Eds., Elsevier, Amsterdam, p.413-440, 1992.
- MATILE, P.; SCHELLENBERG, M.; VICENTINI, F. Locatization of chlorophyllase in the chloroplast envelope. **Planta**, v.201, p.96-99, 1997.
- REIS, A.R. **Diagnóstico da exigência do cafeeiro em nitrogênio pela utilização do medidor portátil de clorofila SPAD-502, atividade da enzima redutase do nitrato e qualidade fisiológica de sementes**. Trabalho de graduação apresentado à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (UNESP), 2005, 51p.
- RENA, A.B.; PEREIRA, A. A.; BARTHOLO, G.F.; Teor foliar de minerais, conteúdo caulinar de amido e o depauperamento de algumas progênies de cafés resistentes à ferrugem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRA, 10, 1983, Poços de Caldas. **Anais...**Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1983. p.169-170.