

## CARACTERIZAÇÃO DO CONTEÚDO ENDÓGENO DE PROLINA EM GENÓTIPOS DE *Coffea* SUBMETIDOS À CONDIÇÃO DE RESTRIÇÃO HÍDRICA

Leonardo Darbello Torres<sup>2</sup>, Julieta Andrea Silva de Almeida<sup>3</sup>, Cássia Regina Limonta Carvalho<sup>4</sup>; M. Bernadete Silvarolla<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café

<sup>2</sup>Aluno de Graduação em Agronomia, UFGD, Dourados-MS [torrinhos@hotmail.com](mailto:torrinhos@hotmail.com)

<sup>3</sup>Pesquisador, Centro de Café 'Alcides Carvalho', IAC, Campinas-SP, [julietasa@iac.sp.gov.br](mailto:julietasa@iac.sp.gov.br)

<sup>4</sup>Pesquisador, Centro de CPD de Recursos Genéticos, IAC, Campinas-SP, [climonta@iac.sp.gov.br](mailto:climonta@iac.sp.gov.br)

<sup>5</sup>Pesquisador, Centro de Café 'Alcides Carvalho', IAC, Campinas-SP, [bernadet@iac.sp.gov.br](mailto:bernadet@iac.sp.gov.br)

**RESUMO:** Caracterizou-se o conteúdo endógeno de prolina em plantas de dezessete genótipos de *Coffea*, pertencentes ao Banco de Germoplasma de Café, do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), submetidas à condição de restrição hídrica e hidratadas. Para tanto, as plantas foram mantidas em vasos plásticos (5 L), cujo substrato constou de solo e matéria orgânica, em condição de casa de vegetação, e submetidas a dois ciclos de restrição hídrica aplicados gradualmente, sendo o primeiro de 55 dias, seguido de 81 dias de hidratação e o segundo ciclo de 70 dias de restrição hídrica. As plantas sob restrição hídrica e as hidratadas foram avaliadas quanto ao grau de murchamento e conteúdo endógeno de prolina. A maioria dos genótipos sob condição de restrição hídrica apresentou maior grau de murchamento de suas folhas assim como elevado conteúdo endógeno de prolina em relação àqueles sob hidratação constante. O elevado teor de prolina encontrado caracterizou a ocorrência do evento de ajustamento osmótico o qual é uma das estratégias fisiológicas utilizadas pelas plantas sob condição de estresse hídrico. Além disto, dentre os genótipos sob restrição hídrica verificou-se que alguns destes apresentaram simultaneamente menor grau de murchamento e ainda elevado conteúdo de prolina. Esse resultado sugere que possivelmente o conteúdo endógeno de prolina poderia vir a ser utilizado como fator de identificação de genótipos de *Coffea* com resistência à condição de estresse hídrico.

**Palavras-chave:** *Coffea*, estresse hídrico, prolina

## CHARACTERIZATION OF THE ENDOGENOUS CONTENT OF PROLINE IN COFFEE GENOTYPES UNDER WATER STRESS CONDITION

**ABSTRACT:** It was studied the endogenous content of proline in plants of 17 genotypes of *Coffea*, from the Bank of Germoplasm of the Instituto Agronomico de Campinas (IAC), which were submitted to water restriction. For this, the plants were plotted in green house using plastic pots (5L) filled up with soil and organic matter, with water restriction or not. The plants were submitted to two cycles of 55 and 70 days of water restriction, separated by 81 days of water supply. It was observed that the most plants attained elevated degree of wilt at the final of the evaluations and too elevated endogenous content of proline than those in water supply. This result too evidenced the occurrence of osmotic adjustment in the genotypes of *Coffea* under water stress. Besides, it was observed that some of the genotypes showed simultaneously low degree of wilt and elevated endogenous content of proline. This result suggests that maybe the endogenous content of proline could be used like identification factor of *Coffea* genotypes that are resistant to water restriction.

**Key words:** *Coffea*, water stress, proline

## INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café, com participação média de 24 % nas exportações mundiais (Saes & Nakazone, 2004). No entanto, a produção do café tanto nacional quanto mundial pode sofrer redução face às alterações climáticas do planeta provenientes do aquecimento global, sendo que a seca pode ser um de seus efeitos. Assim, estudos relativos às estratégias utilizadas pelas plantas de *Coffea* à condição de seca tornam-se necessários para manter a participação expressiva desta cultura no mercado econômico.

No ambiente, o estresse hídrico é causado por umidade insuficiente do solo, o qual pode ser definido sob o aspecto do nível de água no limite da planta (solo, ar) ou se considera o nível da água na planta. A primeira definição considera somente variáveis ambientais, independente da regulação interna da planta, e a segunda depende do controle da planta em termos fisiológicos, a qual pode manter o nível de água da planta sob a condição de estresse hídrico (Tardei, 1996).

As células vegetais sob a condição de restrição hídrica apresentam inibição do processo de crescimento (redução da produtividade) (Sharp & Davies, 1979), mudanças metabólicas devido ao fechamento estomático, redução da fotossíntese e da transpiração e aumento da tolerância à desidratação (Mullet & Whitssett, 1996). A maioria dos

estádios de desenvolvimento das plantas é afetado pelo estresse hídrico, mas as respostas celulares específicas variam de acordo com o órgão, o tipo e o estágio de desenvolvimento celular ou da planta.

No metabolismo celular, o fenômeno da osmose é significativo para seu funcionamento e está associado à concentração de solutos no interior e no ambiente exterior à célula (Mahajan & Tuteja, 2005). Uma célula murcha em presença de água pura, cujo potencial osmótico é zero apresentará entrada de água. Plantas sob estresse hídrico utilizam algumas estratégias fisiológicas para atingir a tolerância à falta de água como o ajustamento osmótico via prolina o qual leva à diminuição do potencial osmótico das células (Sofo et, al 2004).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar o conteúdo endógeno de prolina em diferentes genótipos de *Coffea* submetidos à condição de estresse hídrico e hidratação contínua.

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se plantas do Banco de Germoplasma de Café do IAC, com cerca de dois anos idade, de diferentes genótipos de *Coffea*: Catuaí Vermelho IAC 81, Caturra Vermelho, BA10, Mundo Novo, Agaro, Bourbon Vermelho, Semperflorens, EP 131C188 B, Caturra Amarelo, Laurina, Barbuk Sudan, Geisha, Ibaaré, Villa Sarchi, EP 473 C879, EP 473 C612 e EP 131 C91. Essas plantas foram submetidas ao tratamento de restrição hídrica, em casa de vegetação. Para tanto, cada uma foi mantida em substrato composto por solo e matéria orgânica, em vaso plástico com volume de 5 L e submetidas a dois ciclos de restrição hídrica, aplicado de forma gradual. O primeiro com duração de 55 dias de restrição hídrica, seguido de 81 dias de hidratação normal e o segundo de 70 dias de restrição hídrica, perfazendo total de 206 dias.

As plantas foram avaliadas quanto ao grau de murchamento de suas folhas de acordo com critério de notas, de 1 a 5, sendo: **1**. Ausência de sintomas de murchamento e **5**. Máximo de murchamento da planta (Figura 1). Determinou-se o conteúdo endógeno de prolina de acordo com Bates et al. (1973) com modificações, sendo que 0,25 g do material seco foi homogeneizado em 25 mL de solução aquosa de ácido sulfosalicílico (3 %) em balão volumétrico, por 24 horas e filtrado. Do filtrado, uma alíquota de 2 mL foi reagida com 2 mL de solução de ninidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial, por 1 hora a 100 °C e a reação finalizada em banho de gelo. A reação proporcionou um cromóforo róseo que foi extraído com 8 mL de tolueno. A partir do cromóforo em tolueno fez-se a leitura de absorbância em 520 nm. A concentração de prolina foi determinada construindo-se uma curva padrão de prolina.

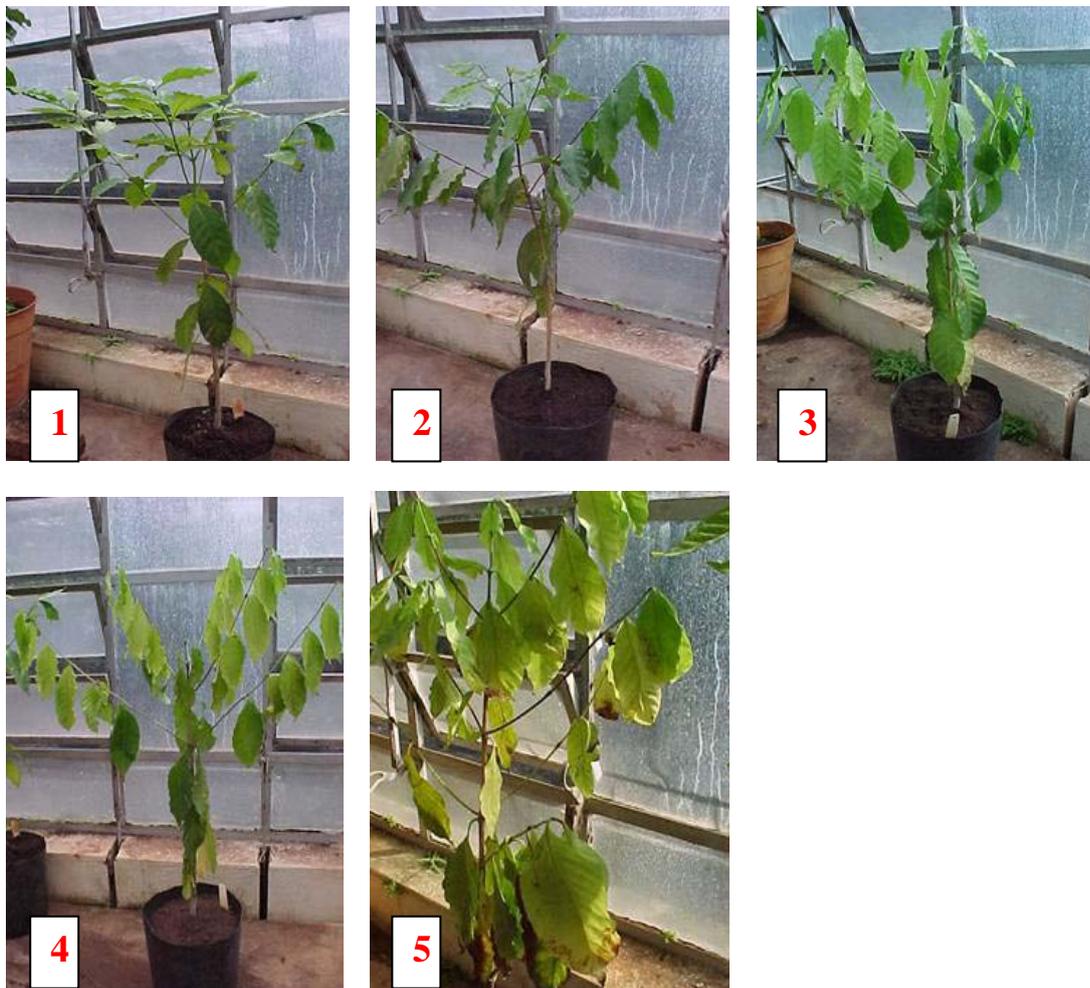


Figura 1 - Grau de murchamento atingido pelas plantas de *Coffea* submetidas ao tratamento de restrição hídrica.

1. Planta sem sintomas.....5. Planta com máximo grau de murchamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas dos diferentes genótipos de *Coffea*, submetidas ao tratamento de restrição hídrica, foram avaliadas diariamente quanto à morfologia de sua parte aérea e verificou-se que a maioria destas apresentou elevado grau de murchamento quando comparadas com aquelas hidratadas (Almeida et al., 2007). Estas plantas também foram classificadas quanto à sua resposta de tolerância ao tratamento, como tolerantes, intermediárias e sensíveis, de acordo com as notas atribuídas (Tabela 1).

Tabela 1 – Classificação dos genótipos de *Coffea* quanto a sua resposta morfológica (grau de murchamento) ao tratamento de restrição hídrica.

Sensível	Intermediário	Tolerante
Bourbon Vermelho	EP 473 C879	Laurina
	Caturra Amarelo	Semperflorens
	Caturra Vermelho	EP 131 C188B
	Catuaí Vermelho IAC 81	EP 131 C91
	Vila Sarchi	
	Barbuk Sudan	
	Ibaaré	
	Geisha	
	Agaro	
	BA10	
	Mundo Novo	

Para a avaliação do conteúdo endógeno de prolina utilizaram-se folhas coletadas das plantas no último dia do 2º ciclo de restrição hídrica. A partir dos dados obtidos da determinação da prolina, nota-se que a sua concentração variou entre os genótipos (Figuras 2, 3, 4) e levando-se em conta estas diferenças classificou-se o teor de prolina em três faixas: 0 – 50 µg; 51 – 100 µg e acima de 101 µg. Na Figura 2B verifica-se que os genótipos Barbuk Sudan, EP131C188B e BV apresentaram cerca de 50 µg de prolina. Por outro lado, na Figura 3B são apresentados os genótipos cuja concentração de prolina esteve entre 51 a 100 µg de prolina. Observa-se ainda nesta figura que a maioria dos genótipos apresentou elevado grau de murchamento. Na Figura 4B verificam-se as respostas dos genótipos cuja concentração de prolina foi superior a 101 µg. O elevado teor de prolina encontrado nestes genótipos caracterizou a ocorrência do evento de ajustamento osmótico o qual é uma das estratégias fisiológicas utilizadas pelas plantas sob condição de estresse hídrico.

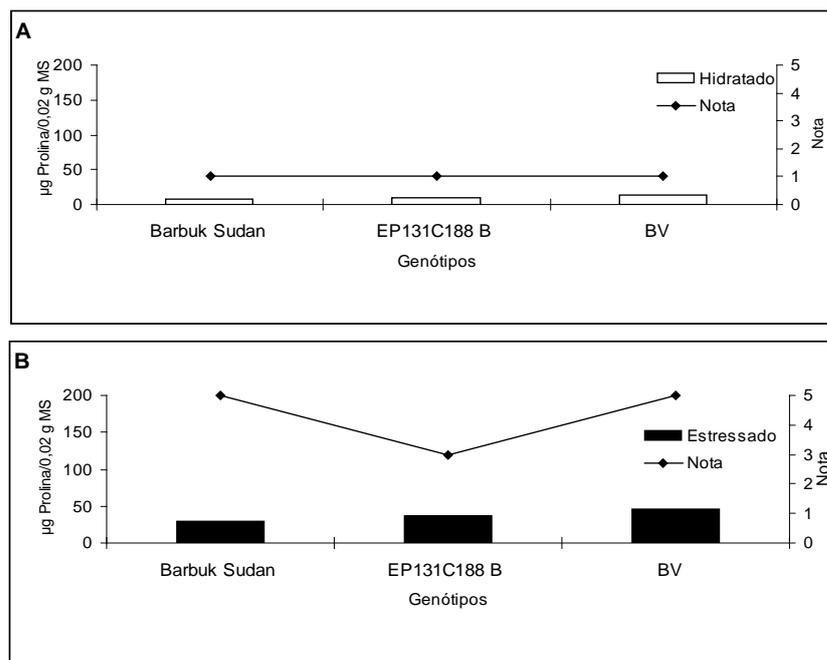


Figura 2 – Efeito da aplicação de restrição hídrica no conteúdo endógeno de prolina, entre 0 – 50 µg, em plantas de *Coffea* mantidas em vaso

plástico (5L) com solo e matéria orgânica, em condição de casa de vegetação.

**A:** Plantas hidratadas; **B:** Plantas sob restrição hídrica.

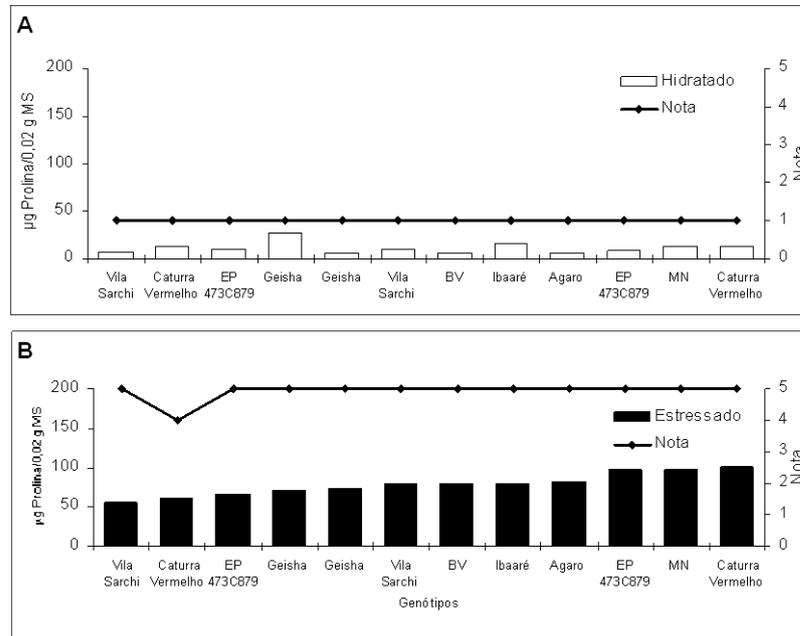


Figura 3 – Efeito da aplicação de restrição hídrica no conteúdo endógeno de prolina, entre **51 – 100 µg**, em plantas de *Coffea* mantidas em vaso plástico (5 L) com solo e matéria orgânica, em condição de casa de vegetação.

**A:** Plantas hidratadas; **B:** Plantas sob restrição hídrica

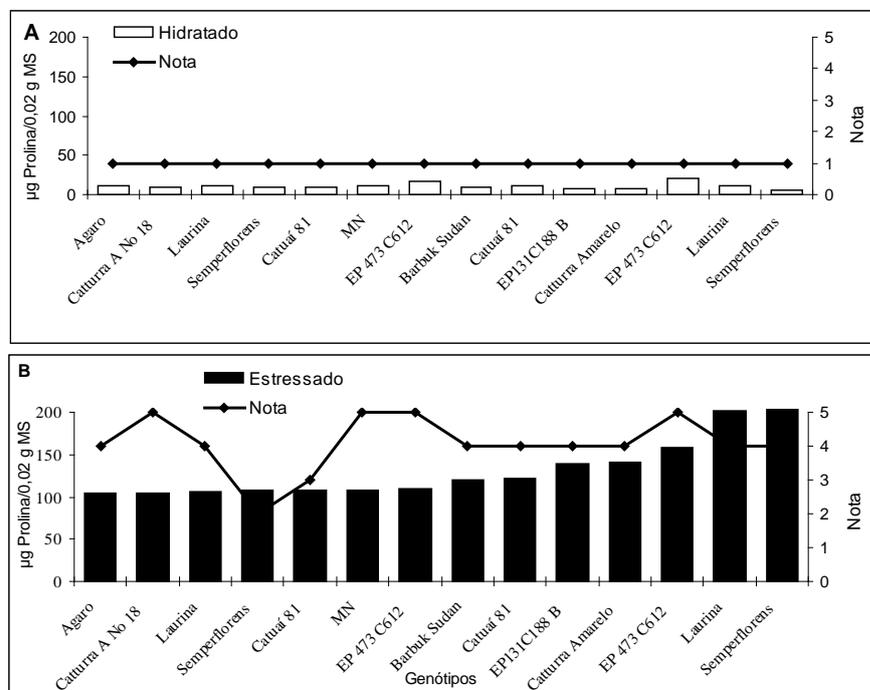


Figura 4 – Efeito da aplicação de restrição hídrica no conteúdo endógeno de prolina, **acima de 100 µg**, em plantas de *Coffea* mantidas em vaso plástico (5L) com solo e matéria orgânica, em condição de casa de vegetação.

**A:** Plantas hidratadas; **B:** Plantas sob restrição hídrica

Quando se observam os resultados das Figuras 2, 3 e 4 nota-se que a maioria dos genótipos com elevado conteúdo endógeno de prolina (na faixa acima de 100 µg) tenderam a apresentar menor grau de murchamento.

## CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo sugerem que possivelmente o conteúdo endógeno de prolina poderia vir a ser utilizado como fator de identificação de genótipos de *Coffea* com resistência à condição de estresse hídrico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, J.A.S.; CARVALHO, C.R.L.; SILVAROLLA, M.B.; ARRUDA, F.; BRAGHINI, M.T.; LIMA, V.B.; FAZUOLI, L.C. 2007. Caracterização de respostas morfológicas e fisiológicas de diferentes genótipos de *Coffea* submetidos a estresse hídrico. In: 5º Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 2007.
- BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39:205-207.
- MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. 2005. Cold, salinity and drought stress: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444:139-158.
- MULLET, J.E.; WHITSSET, M.S. 1996. Plant Cellular responses to water deficit. *Plant Growth Regulation*, 20:119-124.
- SAES, M.S.M.; NAKAZONE, D. 2004. O agronegócio do café do Brasil no mercado internacional. *Revista FAE Business* 9:40-42.
- SHARP, R.E.; DAVIES, W.P. 1979. Solute regulation and growth by roots and shoots of water-stressed maize plants. *Planta*, 147:43-49.
- SOFO, A.; DICHIO, B.; XILOYANNIS, C.; MASIA, A. 2004. Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiologia Plantarum*. 121:58-65.
- TARDIEU, F. 1996. Drought perception by plants do cells of droughted plants experience water stress? *Plant Growth Regulation*, 20:93-104.