

COMPOSTOS NITROGENADOS, AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS EM PLANTAS DE SORGO SUBMETIDAS AO ALAGAMENTO

Glauco André dos Santos Nogueira¹, Ellen Gleyce da Silva Lima¹, Myriam Galvão Neves², Luma Castro de Souza³, Cândido Ferreira de Oliveira Neto⁵

¹Estudante de Mestrado da Universidade Federal Rural da Amazônia
(glauand@yahoo.com.br) Belém-Brasil

¹Estudante de Mestrado da Universidade Federal Rural da Amazônia

²Estudante de Mestrado da Universidade Federal de Santa Maria

³Estudante de Doutorado em Agronomia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

⁵Professor Assistente Dr. da Universidade Federal Rural da Amazônia

Recebido em: 30/09/2014 – Aprovado em: 15/11/2014 – Publicado em: 01/12/2014

RESUMO

O cultivo do sorgo abrange várias regiões do planeta, devido à tolerância a fatores abióticos como estresse hídrico, salinidade e alagamento. O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar os teores de compostos nitrogenados, aminoácidos e proteínas em plantas de sorgo submetido ao alagamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com duas condições hídricas: controle e alagamento com 15 repetições, totalizando 30 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. O conteúdo relativo de água nos tecidos foliares das plantas controle foi maior (91%) que as encontradas nas folhas das plantas sob alagamento (78%). A atividade da enzima redutase do nitrato foi maior em folhas sob alagamento. Ocorreu redução na concentração de amônio tanto nas raízes quanto nas folhas de sorgo (raiz: 6,64 mmol/kg e folha: 9,21 mmol/kg) comparado às plantas controle (raízes: 15,71 mmol/kg e folha: 17 mmol/kg). Houve redução nas concentrações de aminoácidos nas folhas controle (116,24 $\mu\text{mol/g}$) quando comparada as folhas em alagamento (181,47 $\mu\text{mol/g}$). Porém as concentrações de proteínas foram maiores tanto nas folhas (2,88 mg g^{-1}) quanto nas raízes (2,47 mg g^{-1}) das plantas controle quando comparado com as raízes (1,44 mg g^{-1}) e folhas (1,81 mg g^{-1}) das plantas submetidas ao alagamento. O trabalho permitiu concluir que a condição de alagamento afeta o conteúdo relativo de água, a atividade da enzima redutase do nitrato, as concentrações de amônio, de proteínas e os teores de aminoácidos nas plantas de sorgo, tanto nas folhas quanto nas raízes.

PALAVRAS-CHAVE: hipoxia, Moench, estresse, *Sorghum bicolor* L.

NITROGENOUS COMPOUNDS, AMINOACIDS AND PROTEINS PLANTS IN SORGHUM SUBMITTED TO FLOODING

ABSTRACT

The cultivation of sorghum covers various regions of the planet, due to tolerance to abiotic factors such as water stress, salinity and waterlogging. The objective of this study was to assess the levels of nitrogenous compounds, amino acids and proteins in sorghum plants subjected to flooding. The experimental design was completely

randomized design (CRD) with two water conditions: control and flooding with 15 repetitions, totaling 30 experimental units, in which each experimental unit consisted of one plant / pot. The relative content of water in the leaves of control plants was higher (91%) than those found in the leaves of plants under flooding (78%). The activity of nitrate reductase was higher in leaves under waterlogging. There was a reduction in the concentration of ammonium in both roots and leaves of sorghum (root: 6.64 mmol / kg and foil: 9.21 mmol / kg) compared to control plants (roots: 15.71 mmol / kg and sheet: 17 mmol / kg). There was a reduction in amino acid concentrations in control leaves (116.24 mmol / g) compared in flooding leaves (181.47 mmol / g). However Protein concentrations were higher in both sheets (2.88 mg g⁻¹) and root rot (2.47 mg g⁻¹) of control plants compared with the roots (1.44 mg g⁻¹) and sheets (1.81 mg g⁻¹) from plants subjected to flooding. The study revealed that the condition of flooding affects the relative water content, the activity of nitrate reductase, concentrations of ammonia, protein and amino acid contents in sorghum plants, both in leaf and root rot.

KEYWORDS: Sorghum bicolor L. Moench, stress, hypoxia

INTRODUÇÃO

O cultivo do sorgo abrange várias regiões do planeta, devido a tolerância a fatores abióticos como estresse hídrico, salinidade e alagamento (ANDRADE NETO et al., 2010). Plantas sujeitas ao alagamento possuem sua condutância estomática afetada e redução de fotossíntese, com conseqüente retardo no crescimento e produção. Contudo, as plantas desenvolvem certos mecanismos de adaptação metabólica, que envolve a respiração anaeróbica, o desenvolvimento de aerênquima e formação de raízes adventícias (EZIN et al., 2010).

As características de um solo hipóxico e anóxico correspondem a deficiência em oxigênio e, ausência total de oxigênio respectivamente, podendo ser explicado pela respiração dos órgãos submersos das plantas ou pelos microrganismos ali existentes. Nestes ambientes foi observada, para a maioria das plantas, uma redução do acúmulo de massa de matéria seca e da produtividade e em períodos mais prolongados, a senescência de folhas e morte da planta (KERBAUY, 2004).

Diante do exposto acima, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar os teores de compostos nitrogenados, aminoácidos e proteínas em plantas de sorgo submetidas ao alagamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA-Capitão-Poço), utilizando-se plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), variedade Br Qualimax, provenientes da safra 2010.

Os vasos foram dispostos no espaçamento de 0,60 m entre linhas e 0,40 m entre plantas. Os vasos utilizados têm 0,30 m de altura por 0,30 m de diâmetro, com capacidade de 28 Kg de substrato. O substrato foi constituído de uma mistura de 3:1 (v:v), sendo três partes de terra preta, caracterizada com Latossolo Amarelo de textura média, previamente seco ao ar e retiradas as impurezas por meio de peneiramento e catação manual, e uma de esterco de galinha.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com duas condições hídricas: controle e alagamento, com 15 repetições. Totalizando 30 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi composta de uma

planta por vaso. A aplicação do alagamento foi feita a partir do 20º dia após a germinação.

Foram feitas coletas de plantas no estágio vegetativo (30 dias), onde as plantas foram separadas em raiz, colmo e folhas. Em seguida, as partes foram pesadas separadamente para a determinação da massa de matéria fresca. Amostras de cada parte foram reservadas para a determinação da porcentagem de umidade por meio de determinação da massa de matéria seca em estufa de circulação forçada de ar a 70º C (+/- 5º C).

Foi determinado o conteúdo relativo de água segundo o método de SLAVICK (1979), atividade da redutase do nitrato pelo método in vivo preconizado por HAGEMAN & HUCKLESBY (1971), amônio livre determinada segundo WEATHERBURN (1967), aminoácidos solúveis totais foi determinado segundo método descrito por PEOPLES et al. (1989) e proteínas solúveis totais de acordo com BRADFORD (1976).

Foi aplicada a análise de variância aos dados (Teste F) ao nível de 5% de significância ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se que o conteúdo relativo de água nos tecidos foliares das plantas sem alagamento foram maiores (91%) que as encontradas nas folhas das plantas sob alagamento (78%) (Figura 1). Este fenômeno ocorre em plantas alagadas devido à diminuição da condutância causada pelo fechamento estomático, que acontecem devido às mudanças metabólicas geradas em decorrência da anoxia do sistema radicular (CARVALHO et al., 2002).

O fechamento estomático é uma das respostas mais acentuadas ao alagamento, levando à redução das trocas gasosas (NICOLAS et al., 2005). No entanto, o aumento do número de estômatos favorece a entrada de uma maior quantidade de gás carbônico, reduzindo assim as resistências estomáticas o que facilita o processo de assimilação do carbono.

GOZDE & ECE (2011) verificaram em plantas de feijão sob alagamento que ocorreu uma diminuição do conteúdo relativo de água. Esse fato foi observado na cultura do milho Saracura, pois ocorreu um aumento na quantidade de estômatos, tanto em relação à área quanto em relação ao número de células epidérmicas nos últimos ciclos de seleção, podendo assim beneficiar as trocas gasosas (MAGALHÃES et al., 2009). Todavia, outros pesquisadores não verificaram alterações na quantidade e no tamanho de estômatos em legumes de áreas alagadas (STRIKER et al., 2005).

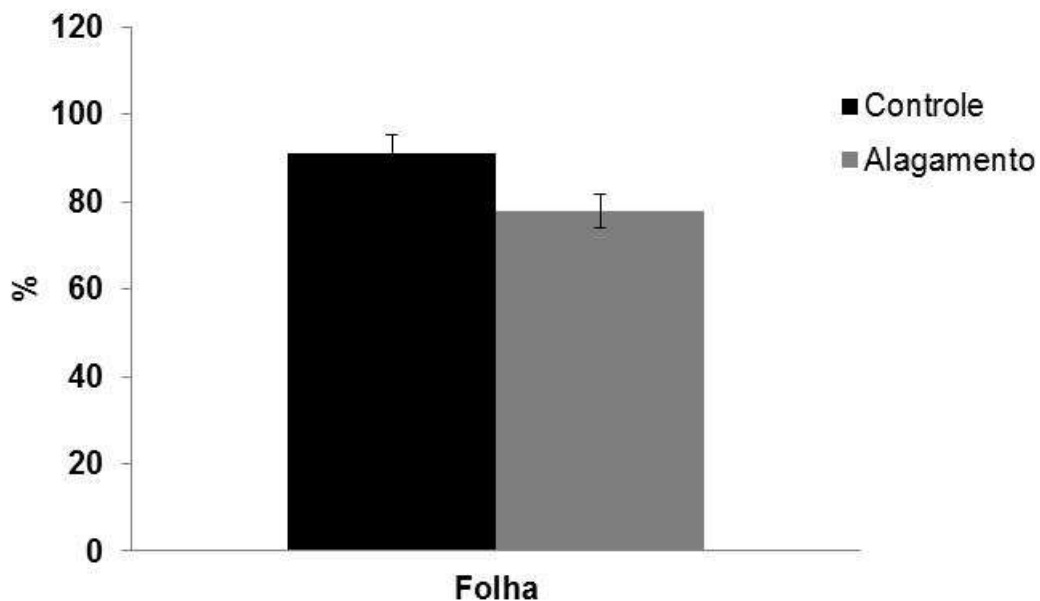


FIGURA 1. Conteúdo Relativo de Água nas folhas de plantas de (*Sorghum bicolor* [L.] Moench), submetidas durante 10 dias sob controle e alagamento. O valor de F é 1,0. As barras representam os desvios padrões das médias.

Nas plantas de sorgo a atividade da enzima redutase do nitrato foi maior em folhas sob alagamento, ao contrário do que ocorreu nas raízes. O alagamento agrava ainda mais o déficit de O₂ nas raízes, reduzindo a atividade respiratória que consequentemente contribuiu com a menor atividade da ARN das raízes pela carência de energia. Foi demonstrado que em raízes sob hipoxia o metabolismo anaeróbio predomina, ocorrendo principalmente fermentação alcoólica em detrimento da fermentação láctica, o que torna a ARN menos ativa. Em contraste, a fermentação láctica que acidifica o citoplasma, tornando a ARN mais ativa, visto que a mesma tem alta atividade em citoplasma ácido (PIMENTA, 1998). Resultados semelhantes foram encontrados por OLIVEIRA NETO (2010) trabalhando com plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento CARVALHO (2012). Trabalhando com mudas de (*Hevea spp*) a atividade da enzima redutase do nitrato apresentou superioridade no tratamento com alagamento desde o início da indução do alagamento, aumentando gradativamente com o prolongamento do estresse.

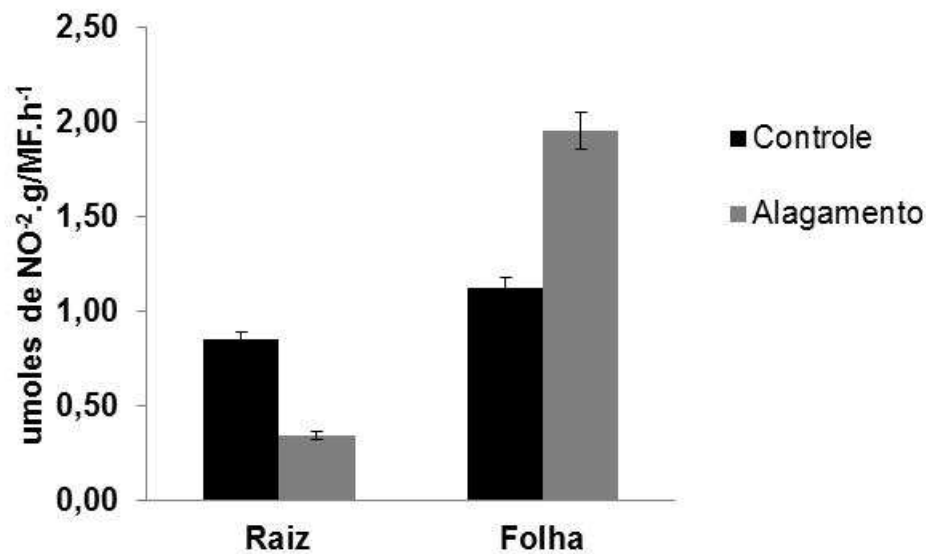


FIGURA 2. Atividade da redutase do nitrato nas raízes e nas folhas de plantas de (*Sorghum bicolor* [L.] Moench), submetidas durante 10 dias sob controle e alagamento. O valor de F é 0,37. As barras representam os desvios padrões das médias.

As concentrações de amônio livre nas raízes ($15,71 \text{ mmol kg}^{-1}$) e nas folhas (17 mmol kg^{-1}) de plantas controle foram maiores quando comparadas com as plantas submetidas ao alagamento (raiz: $6,64 \text{ mmol kg}^{-1}$ e folha: $9,21 \text{ mmol kg}^{-1}$), Isto é, em condições de alagamento ocorre redução na concentração de amônio tanto nas raízes quanto nas folhas de sorgo (Figura 3).

A redução nas concentrações de amônio livre no sistema radicular das plantas submetidas ao alagamento ocorre devido a redução da rota GS-GOGAT, no qual não há a formação de glutamato. Assim, a rota mediada pela glutamato desidrogenase é minimizada e o nitrogênio não é assimilado nem com nitrato (NO_3^-) nem como amônio (NH_4^+) (ARAÚJO et al., 2011). Isso proporciona a morte das raízes devido à falta de tolerância a hipóxia. Para os mesmos autores, em solos alagados a nitrificação é afetada aumentando os níveis de NH_4^+ no solo e reduz os níveis de NO_3^- disponíveis no solo em função da baixa disponibilidade de oxigênio.

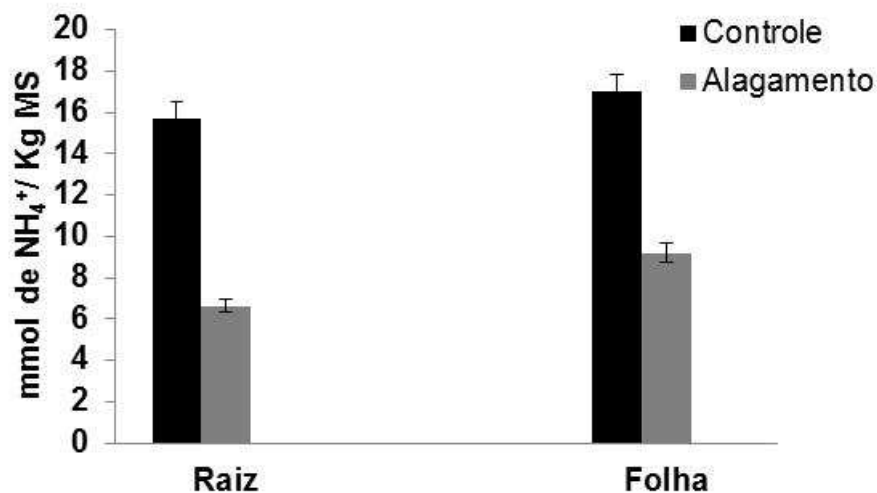


FIGURA 3. Concentrações de Amônio Livre nas raízes e nas folhas de plantas de (*Sorghum bicolor* [L.] Moench), submetidas durante 10 dias sob controle e alagamento. O valor de F é 1,36. As barras representam os desvios padrões das médias.

Observou-se que houve redução nas concentrações de aminoácidos solúveis totais nas folhas ($116,24 \mu\text{mol g}^{-1}$) e nas raízes ($90,77 \mu\text{mol g}^{-1}$) das plantas controle quando comparada as folhas ($181,47 \mu\text{mol g}^{-1}$) e raízes ($205,64 \mu\text{mol g}^{-1}$) de plantas submetidas ao alagamento (Figura 4). O estresse causado pela baixa disponibilidade de oxigênio em ambientes alagados tem como consequência, a alteração do metabolismo e anatomia vegetal. Plantas submetidas à hipoxia tendem a apresentar rotas metabólicas alternativas, como a via fermentativa, a produção de aminoácidos a partir do piruvato acumulado e um metabolismo antioxidante, responsável por eliminar os radicais livres de dentro das células (SOUZA, 2010). Resultados semelhantes foram encontrados por FREITAS (2014), que relata um aumento significativo na concentração de aminoácidos solúveis totais nas folhas durante 30 dias sob suspensão hídrica.

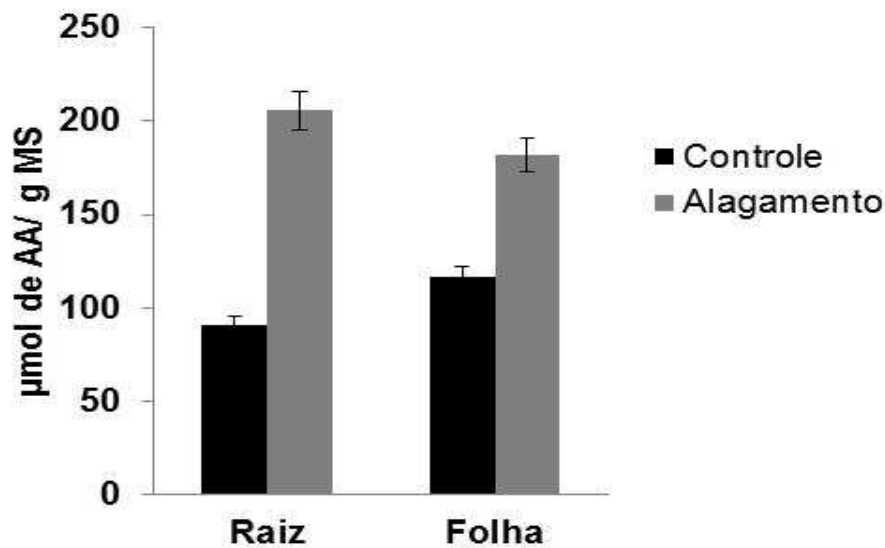


FIGURA 4. Concentrações de Aminoácidos Solúveis Totais nas raízes e nas folhas de plantas de (*Sorghum bicolor* [L.] Moench), submetidas durante 10 dias sob controle e inundação. O valor de F é 1,0. As barras representam os desvios padrões das médias.

As concentrações de proteínas solúveis totais foram maiores tanto nas folhas (2,88 mg g⁻¹) quanto nas raízes (2,47 mg g⁻¹) das plantas controle quando comparado com as raízes (1,44 mg g⁻¹) e folhas (1,81 mg g⁻¹) das plantas submetidas ao alagamento (Figura 5). KOMATSU et al., (2012) observaram menor expressão de proteínas relacionadas à lignificação da parede celular em raízes de soja alagada, em decorrência da regulação negativa por espécies reativas de oxigênio.

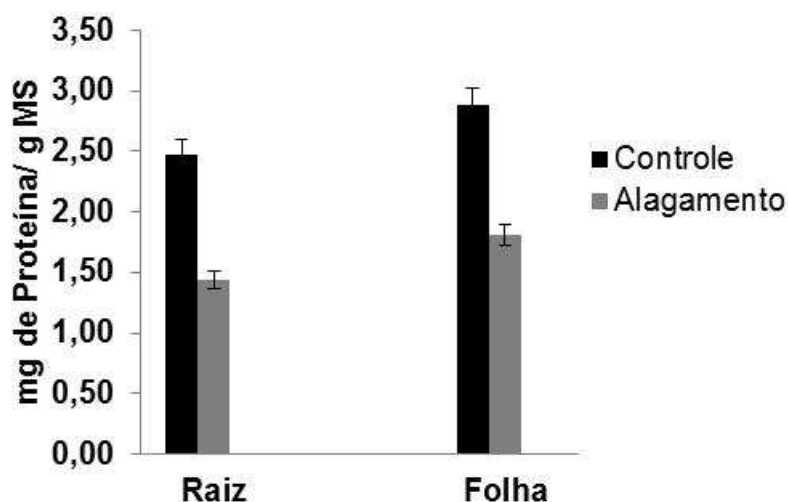


FIGURA 5. Concentrações de Proteínas Solúveis Totais nas raízes e nas folhas de plantas de (*Sorghum bicolor* [L.] Moench), submetidas durante 10 dias sob controle e inundação. O valor de F é 0,93. As barras representam os desvios padrões das médias.

CONCLUSÃO

As plantas submetidas ao alagamento apresentam menor conteúdo relativo de água nos tecidos foliares, atividade da enzima redutase do nitrato, concentrações de amônio e proteínas. Porém, o alagamento aumenta os teores de aminoácidos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE NETO, R. C.; MIRANDA, N. O.; DUDA, G. P.; GÓES, G. B.; LIMA, A. S. Crescimento e produtividade do sorgo forrageiro BR 601 sob adubação verde. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n.2, p. 124-130, 2010.

ARAÚJO, M. S. B.; COSTA, D. V.; NASCIMENTO, R. F.; PEREIRA, T. S.; ALVES, G. A.R.; LOBATO, A. K. S. Concentrações de nitrato e amônio livre em plantas de ipê-amarelo (*Tabebuia Serratifolia*(vahl) nicholson) em condição de alagamento. **Anais...63ª Reunião Anual da SBPC**, Goiânia, 2011.

BRADFORD, M. M. A rapid and 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.

CARVALHO, C.J. R.; ISHIDA, F. Y. Respostas de pupunheiras (*Bactris gasipaeskunth*) jovens ao alagamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n.9, p.1231-1297, 2002.

CARVALHO, P. A. de. Metabolismos do nitrogênio e antioxidante em plantas jovens de seringueira (*Hevea spp*) submetidas à baixa disponibilidade de oxigênio na presença de nitrato e/ou amônio. 76 p.: il. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, lavras, 2012.

EZIN, V.; PENA, R.L.; A, A. Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 22, n.1, p. 131-142, 2010.

FREITAS, J. M. Nunes de; Comportamento ecofisiológico e bioquímico de plantas jovens de acapú (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas à deficiência hídrica. 100 f. il. **Tese** (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Embrapa Amazônia Oriental, 2014. Belém, 2014.

GOZDE, C.; ECE, T. 2011. **Genotypic variation in growth and physiological responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to flooding**. Eskisehir: Eskisehir Osmangazi University. Faculty of Agriculture. Department of Horticulture, 2011.

HAGEMAN, R. H. G.; HUCKLESBY, D. P. Nitrate reductase from higher plants. In: **Methods in enzymology**, p. 491 – 503, 1971.

KERBAUY, G. **Fisiologia Vegetal**. Guanabara Koogan, RJ, 2004, 452p.

KOMATSU, S.; HIRAGA, S.; YANAGAWA, Y. Proteomics techniques for the development of flood tolerant crops. **Journal of Proteome Research**, Washington, v. 11, n.1, p. 68-78, 2012.

MAGALHÃES, P. CR.; SOUZA, T. C.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M.; PARENTONI, S. N. Anatomia foliar nos sucessivos ciclos de seleção do milho Saracura sob alagamento intermitente do solo. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Sete Lagoas, 2009, 27 p.

NICOLAS, E.; TORRECILLAS, A.; DELL'AMICO, J. The effect of short-term flooding on the sap flow, gas exchange and hydraulic conductivity of young apricot trees. **Trees**, New York , v. 19, p.51-57, 2005.

OLIVEIRA NETO, C. F. de; Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas a deficiência hídrica e ao alagamento. **Tese** (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém-Pará, 2010, 93 f.

PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B. E.; HERRIDGE, D. F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. **Australian Centre for International Agricultural Research Canberra**. 1989, p. 76.

PIMENTA, J.A. **Estudo populacional de Campomanesia xanthocarpa O. Berg (Myrtaceae) no Parque Estadual Mata dos Godoy, PR**. 1998. 158 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

SLAVICK, B. 1979. **Methods of studying plant water relations**. New York, Springer Verlag. 1979, p. 449.

STRIKER, G. G.; INSAUSTI, P.; GRIMOLDI, A. A.; PLOCHUK, E. E.; VASELLATI, V. Physiological and anatomical basis of differential tolerance to soil flooding of *Lotus corniculatus* L. and *Lotus glaber* Mill. **Plant and Soil**, The Hague, v. 276, p. 301-311, 2005.

SOUZA, K. R. D. **Desenvolvimento de aerênquima e atividade enzimática em raízes de milho sob encharcamento**. 2010. 68 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

WEATHERBURN, M. W. Phenol hipochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**. v. 39, p. 971-974, 1967.