



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

MUDANÇAS NO METABOLISMO DA MAMONEIRA, CULTIVAR BRS 149 NORDESTINA, NA SUA FASE INICIAL, EM FUNÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO

Napoleão Esberard de Macedo Beltrão¹, Liv Soares Severino¹, Gleibson Dionízio Cardoso¹, Tarcísio Marcos de Souza Gondim¹, Jose Rodrigues Pereira¹. (1) Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário, 58107720, Campina Grande, PB. e-mail: nbeltrao@cnpa.embrapa.br; liv@cnpa.embrapa.br; gleibson@cnpa.embrapa.br; tarcisio@cnpa.embrapa.br; rodrigue@cnpa.embrapa.br.

RESUMO

Com o propósito de verificar e quantificar os efeitos do estresse hídrico por deficiência e por excesso, com a conseqüente anoxia, em vários períodos de duração do agente estressor, no metabolismo e na bioquímica da mamoneira (*Ricinus communis* L.), cultivar BRS 149 Nordestina, até os 60 dias da emergência das plântulas, um experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, em Campina Grande, Paraíba, Brasil, em 2001. Foram testados sete tratamentos com cinco repetições, delineados em blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 2 + 1, sendo os fatores períodos de duração do estresse (2,4 e 6 dias) e modalidades do estresse, deficiência e excesso, mais uma testemunha sem estresse. Verificou-se que a enzima nitrato redutase, teve sua atividade bastante ampliada (215,2%) com o estresse hídrico no seu início, em especial quando o agente estressor foi o excesso de água, com anoxia, independente da duração do mesmo. Quanto ao tempo de duração do estresse, verificou-se que, com 4 dias, a atividade da nitrato redutase foi reduzida com relação ao período de dois dias.

INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) destaca-se como uma espécie que produz um óleo especial, sendo o único glicerídico, solúvel em álcool, e é base para a fabricação de inúmeros produtos industrializados, (CHIERICE & CLARO NETO, 2001) e energia (biodiesel). O Brasil, devido a sua extensão territorial e diversidade de clima e de solos, pode produzir até cerca de 60% da demanda mundial desta modalidade de energia, que devido ser pouco poluidora, com saldo positivo de carbono, devido ao seqüestro de CO₂ da atmosfera via fotossíntese, além de outros aspectos, sendo um combustível ideal (PENIDO FILHO e VILLANO, 1984, OLIVEIRA, 1998, PARENTE, 2003 e O BIODIESEL E A INCLUSÃO ...2003).

Apesar de ser uma das espécies com mais tempo de domesticação e ter ampla distribuição geográfica (AMORIM NETO, et al., 2001), a mamoneira, do ponto de vista de metabolismo e bioquímica, em especial em condições de desvio significativo das condições ótimas (LARCHER, 2000), que denomina-se de estresse, é muito pouco estudada, especialmente aqui no Brasil, que já foi o maior produtor mundial. Com o aumento do interesse por esta cultura no semi-árido Brasileiro, as necessidades de informações básicas e tecnológicas estão sendo ampliadas, e assim há necessidade



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

de incremento dos estudos com esta cultura. Objetivou-se, com este trabalho, verificar os efeitos isolados e conjuntos do tempo de duração do estresse hídrico e duas modalidades do mesmo, deficiência e excesso, em alguns passos do metabolismo e da bioquímica da mamoneira em sua fase juvenil.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, pertencente a Embrapa Algodão, localizada no município de Campina Grande, Paraíba, Brasil, no ano de 2001. Utilizou-se a cultivar BRS 149 Nordestina de mamoneira (*Ricinus communis* L.), Foram testados sete tratamentos em delineamento de blocos ao acaso, com cinco repetições, em esquema fatorial $2 \times 3 + 1$, sendo os fatores: duas condições de estresse hídrico, deficiência e excesso e três períodos de duração do estresse (2, 4 e 6 dias), mais um tratamento adicional, testemunha, (sem estresse).

Cada unidade experimental foi representada por um vaso de capacidade de 20 litros, que foi preenchido com material de um solo do tipo Argilissolo associado, rico em argila do tipo 2:1, montmorilonítica, misturado com 5% de esterco de curral bem curtido, deixando-se 3,0 cm da borda de cada vaso sem o solo, para se poder aplicar os tratamentos. Em cada vaso foram semeadas três sementes, fazendo-se o desbaste aos 20 dias da germinação das plântulas.

Foram avaliadas as variáveis relacionadas com o metabolismo e a bioquímica das plantas, aos 60 dias da emergência.

Amostras de discos com 1,2 cm de diâmetro de folhas, sempre na terceira de cima para baixo, e nas raízes, cinco dias depois de aplicado os tratamentos, de acordo com a natureza de cada um deles: amido (amilose + amilo pectina) e carboidratos solúveis, utilizando-se os métodos por Ashwel (1957) e MacCready et al. (1950), respectivamente; teor de proteínas nas folhas, utilizando-se o método de Lowry (1951); atividades das enzimas β -amilase e invertase, no macerado dos discos foliares, utilizando-se a metodologia preconizada por Bernfeld (1955) e atividade da enzima nitrato reductase nas folhas, via método preconizado por Bilal & Rains (1973).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos de variância dos dados das variáveis: atividades das enzimas β -amilase e invertase, teores de proteínas nas folhas, amido e açúcares solúveis nas raízes e nas folhas encontram-se na Tabela 1, (denotando-se as significâncias estatísticas para a natureza do agente estressor e somente para o teor de proteínas para o fator período de tempo ou duração do estresse e a ausência de significância para a interação entre os fatores estudados para todas as variáveis -



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

confuso). Na Tabela 2, tem-se as médias dos tratamentos por fator estudado. Verifica-se que não houve alterações significativas para a atividade da enzima β -amilase, que está relacionada com o metabolismo dos carboidratos em especial do amido, polissacarídeo de reserva das plantas e osmoticamente neutro (LEHNINGER, 1976 e CONN e STUMPF, 1980). Por outro lado, a atividade da enzima invertase, que ataca a sacarose, diholosídeo, composto de glicose + frutose, principal açúcar translocado pelo floema das plantas (STREET e OPIK, 1974), foi incrementada pelo estresse hídrico por deficiência, e reduzida pelo excesso de água no ambiente edáfico, (Tabela 2). No tocante à duração do estresse, foi verificado efeito linear significativo, com a equação ajustada $Y = 322,46 - 13,23x$, com coeficiente de determinação, $R^2 = 0,76$, indicando que para cada dia de estresse, independente da natureza do agente estressor, houve uma redução de 13,23 μg de glicose/ cm^2 /hora, o que é bastante significativo para o metabolismo das plantas.

Tabela 1. Resumos das análises de variância dos dados das variáveis, atividade de β -amilase na folha (μg .glucose $\text{cm}^{-2} \text{h}^{-1}$), atividade de invertase na folha (μg .glucose. $\text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$), conteúdo de proteínas na folha ($\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$), conteúdo de amido na folha (mg .glucose. $\text{g}^{-1}\text{M.S.}$), conteúdo de carboidratos na folha (mg .glucose. $\text{g}^{-1}\text{M.S.}$), conteúdo de amido na raiz, (mg .glucose. $\text{g}^{-1}\text{M.S.}$) e conteúdo de carboidratos solúveis na raiz (mg .glucose. $\text{g}^{-1}\text{M.S.}$). Mudanças bioquímicas e químicas na mamoneira, cultivar BRS-149 Nordestina, causadas pelo estresse hídrico (deficiência e excesso) no solo em função do tempo. Campina Grande, PB. 2001.

F.V.	GL	Quadrado médio						
		β -amilase	Invertase	Proteínas	Amido/ Folha	Carb./ folha	Amido/ raiz	Carboidrato s/raiz
Períodos (P)	2	362,97 ^{ns}	322,76 ^{ns}	3247,60 ^{**}	115,54 ^{ns}	32,31 ^{ns}	65,57 ^{ns}	103,04 ^{ns}
Estresse (E)	1	18,97 ^{ns}	44310,32 ^{**}	70,04 ^{ns}	577,50 [*]	536,09 [*]	857,88 [*]	428,80 ^{ns}
P x E	1	182,27 ^{ns}	222,90 ^{ns}	41,18 ^{ns}	51,61 ^{ns}	26,95 ^{ns}	2,52 ^{ns}	122,18 ^{ns}
Fatorial vs test.	1	227,43 ^{ns}	6,58 ^{ns}	2390,75 ^{**}	126,77 ^{ns}	518,94 [*]	11,12 ^{ns}	87,79 ^{ns}
Blocos	4	785,70 ^{ns}	1241,56 ^{ns}	1127,11 [*]	78,23 ^{ns}	166,89 ^{ns}	400,78 ^{ns}	674,97 ^{ns}
Erro	24	257,51	561,92	152,83	59,92	79,01	190,51	225,73
C.V. (%)	-	27,61	9,59	5,24	20,15	8,60	33,46	19,19

ns: Não significativo pelo teste F a nível de 5% de probabilidade

*: Significativo pelo teste F a nível de 5% de probabilidade

** : Significativo pelo teste F a nível de 1% de probabilidade.

Tabela 2. Médias dos tratamentos das variáveis, atividade de β -amilase na folha (μg .glucose. $\text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) atividade de invertase na folha (μg .glucose $\text{cm}^{-2} \text{h}^{-1}$), conteúdo de proteínas na folha ($\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$), conteúdo de amido na folha (mg .glucose. $\text{g}^{-1}\text{M.S.}$), conteúdo de carboidratos na folha (mg .glucose. $\text{g}^{-1}\text{M.S.}$), conteúdo de amido na raiz, (mg .glucose. $\text{g}^{-1}\text{M.S.}$) e conteúdo de carboidratos solúveis na raiz (mg .glucose. $\text{g}^{-1}\text{M.S.}$), em função do tipo de estresse hídrico no solo (deficiência e excesso) e duração do estresse, na mamoneira, BRS 149-Nordestina. Campina Grande, PB. 2001.

Fatores	Variáveis						
	β -amilase	Invertase	Proteínas	Amido/ folha	Carboidratos/ folha	Amido/ Raiz	Carboidratos/ raiz
Período (Dias)							
2	59,59	251,61	222,95	40,22	103,11	42,09	79,64
4	52,91	249,04	236,19	41,93	106,70	42,85	79,32



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

6	64,94	240,74	258,60	35,38	104,91	38,09	73,93
Estresse							
Deficiência	59,94 a	285,56 a	240,77 a	34,79 ab	100,67 ab	46,48 a	81,41 a
Excesso	58,35 a	208,69 ab	237,72 a	43,56 a	109,13 a	35,55 ab	73,85 a
Testemunha	51,86 a	245,89 a	215,63 ab	33,74 a	93,90 ab	42,62 a	82,16 a
Fatorial	59,15 a	247,13 a	239,25 a	39,18 a	104,91 a	41,01 a	77,63 a

Em cada coluna para o fator tipo de estresse e a testemunha vs. fatorial, médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade. Para o fator período do estresse, dados quantitativos, análise regressional.

Quanto ao teor de proteínas nas folhas, verifica-se que a duração do estresse, independente da natureza do agente estressor (deficiência e excesso) de água no ambiente edáfico, aumentou linearmente tal variável, representado pela equação $Y=234,31+5,99 x$, com um coeficiente de determinação de $R^2=0,96$, evidenciando que a planta procura se ajustar ao estresse, promovendo o aumento das proteínas solúveis da folha, órgão sede da fotossíntese, cuja rubisco é a enzima responsável pela carboxilação das plantas, como a mamona que tem metabolismo fotossintético C_3 , ineficiente (CONN e STUMPF, 1980 e LARCHER, 2000). Os carboidratos solúveis e não, caso do amido (folha e raiz), foram alterados nos seus conteúdos pelo tipo do estresse hídrico, como pode ser visto na Tabela 2, porém não houve influência da duração do estresse hídrico, independente da natureza do agente agressor. Na Tabela 3, tem-se o resumo da análise de variância dos dados para a variável atividade da enzima nitrato redutase, que localiza-se no hialoplasma celular, tendo meia-vida muito pequena, menos de cinco horas (MENGEL e KIRKBY, 1979), e que reduz o nitrogênio na forma nítrica para a forma NO_2 (nitrito), primeiro passo para a redução a NH_3 , para ser incorporado aos ácidos orgânicos e formar os aminoácidos, blocos construtivos das proteínas (LEHNINGER, 1976, CONN e STUMPF, 1980 e MENGEL e KIRKBY, 1979), observando-se que para o período de tempo do estresse somente houve um grau de liberdade, pois no período de seis horas a atividade desta enzima foi próximo de zero, ficando somente duas repetições diferentes de zero, indicando que, no estresse, o aumento do conteúdo das proteínas solúveis, foi devido possivelmente a mobilização de reservas e não somente da síntese de novas proteínas, pois a atividade da nitrato redutase caiu muito com o estresse, em especial na deficiência hídrica. Na tabela 4, pode-se verificar os valores médios obtidos para a atividade da enzima reductase do nitrato na mamoneira, BRS 149-Nordestina, considerando os fatores estudos ausência de interação significativa entre eles, indicando que com o aumento da duração do estresse hídrico de dois para quatro dias a atividade desta importante proteína funcional foi reduzida em 30,89%, e como foi explicado anteriormente, com seis dias de estresse, em algumas repetições, a atividade desta enzima foi zero.

Tabela 3. Análise de variância dos dados da variável atividade conteúdo da reductase do nitrato na folha (μmol de $NO_2^- \cdot g^{-1} \cdot \text{PF}$), na mamoneira, BRS 149 – Nordestina em função dos fatores períodos de estresse e



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

tipo de estresse hídrico (deficiência e excesso). Campina Grande, PB. 2001.

Fontes de Variação	GL	SQ	QM	F
Períodos (P)	1	0,738	0,738	43,41**
Estresse (E)	1	2,6035	2,6035	153,11**
P x E	1	0,0538	0,0538	3,16 ^{ns}
Fatorial vs T ₅ T ₆	1	0,000135	0,000135	0,0081 ^{ns}
Entre testemunhas T ₅ T ₆	1	3,698	3,698	217,5**
Blocos	4	0,072	0,018	1,08 ^{ns}
Erro	20	0,332	0,017	

ns: Não significativo pelo teste F a nível de 5% de probabilidade

** : Significativo pelo teste F a nível de 1% de probabilidade.

C.V. % 12,23%

Tabela 4. Médias dos tratamentos dos dados da variável conteúdo da reductase do nitrato na folha ($\mu\text{mol de NO}_2\text{-g}^{-1}\text{.PF}$), na mamoneira, BRS 149 – Nordestina em função dos fatores períodos de estresse e tipo de estresse hídrico (deficiência e excesso). Campina Grande, PB. 2001

Fatores	Médias
<u>Períodos (dias)</u>	
2	1,243 a
4	0,859 ab
<u>Estresse hídrico no solo</u>	
Deficiência	0,690 ab
Excesso	1,412 a
Média do fatorial	1,051 a
Média testemunhas T ₅ T ₆	1,055 a
Testemunhas T ₅	0,448 ab
Testemunha T ₆	1,664 a

Para cada fator e médias do fatorial e testemunhas e entre as testemunhas, médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

- A mamoneira, representada pela cultivar BRS 149 Nordestina, na sua fase juvenil, até os 60 dias da emergência das plântulas, teve seu metabolismo alterado em vários passos bioquímicos, devido ao estresse hídrico, por deficiência e por excesso de água no ambiente edáfico, com a conseqüente anoxia ou falta de oxigênio;
- A enzima nitrato redutase, chave no metabolismo do nitrogênio nas plantas superiores, teve sua atividade reduzida com o aumento de duração do estresse, independente da natureza do agente estressor, deficiência ou excesso de água no meio edáfico, sendo que a deficiência hídrica foi mais prejudicial do que o excesso;
- O teor de proteínas nas folhas foi aumentado linearmente com o incremento da duração do estresse hídrico, independente da natureza do agente agressor;
- A deficiência hídrica, independente da duração do estresse, entre 2 a 6 dias, aumentou a atividade da enzima invertase, chave nas transformações e deslocamentos de açúcares solúveis nas plantas superiores;



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

- A enzima β -amilase não teve sua atividade alterada pelos tratamentos testados, duração do estresse (2 a 6 dia) e do tipo do estresse hídrico, por deficiência e por excesso, com paralela anoxia;
- Independente da duração do estresse (2 a 6 dias), o excesso de água no meio edáfico, aumentou o teor de amido nas folhas e reduziu o mesmo nas raízes com relação a deficiência e ao tratamento sem estresse hídrico.

REFERÊNCIAS

AMORIM NETO, M. da S.; ARAÚJO, A.E. de; BELTRÃO, N.E. de M. Clima e Solo. In: AZEVEDO, D.M.P. de; LIMA, E.F. (Eds. Tec.) **O agronegócio da mamona no Brasil**. Embrapa Algodão (Campina Grande, PB). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.63-76.

ASHWEL, G. Colorimetric analyses of sugar. In: COLOWICK, A.; KAPLAN, B. (Eds.) **Methods of enzymology**. New York: Academic Press. 1957. p.85-86, v.3.

BERNFELD, P. Amylases α and β . In: COLOWICK, A.; KAPLAN, B. (Eds.). **Methods of enzymology**. New York: Academic Press, 1955. p.149-158, v.1.

BILAL, I.M.; RAINS, D.W. **In vitro characterization of nitrate reductase activity in cotton**. Physiologic Plantarum, Copenhagen, Dinamarca, n.28, p.237-243, 1973.

CHIERICE, G.O.; CLARO NETO, S. Aplicação industrial do óleo. In: AZEVEDO, D.M.P. de; LIMA, E.F. (Eds. Tec.) **O agronegócio da mamona no Brasil**. Embrapa Algodão (Campina Grande, PB). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.89-120.

CONN, E.E.; STUMPF, P.K. **Introdução a bioquímica**. Tradução de José Reinaldo Magalhães. São Paulo, SP. Edgard Blucher. 1980. 525p.

EMBRAPA ALGODÃO. **BRS 149 Nordestina**. Campina Grande, Paraíba: Embrapa Algodão, 2002. (Folder).

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. tradução de Carlos Henrique B. A. Prado. São Paulo, SP. RiMa. 2000. 531p.

LEHNINGER, A.L. **Bioquímica**. tradução de José Reinaldo Magalhães. v.1, São Paulo, SP. 1976. 262p.

LOWRY, O.H.; ROSEMBERG, M.J.; FARR, A.L.; With the Folin-phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, p.265-275, 1951.

McCREADY, R.M.; GUGGOLZ, A.; SILVEIRA, V.; OWENS, H.S. **Determination of starch and amylase in vegetables; applications to peas**. Analytical Chemistry. v.22, p.1156-1158, 1950.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. Worblanfen-Bern/Switzerland. International Potash Institute. 1979. 593p.

O BIODIESEL E A INCLUSÃO SOCIAL. Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações, 2003. 24p. (Série Estudos Científicos e Tecnológicos, 1).

OLIVEIRA, L.B. Biodiesel. Combustível limpo para o transporte sustentável. In: CABRAL, S.D.; OLIVEIRA, L.B.; MATTOS, L.B. de; SAMPAIO, M.R. (Eds.). **Transporte sustentável. Alternativas para ônibus urbanos**. Rio de Janeiro, RJ: COPPE, UFRJ. 1998. p.79-113.



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

PARENTE, E.J. de S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica em um país engraçado**. Fortaleza, CE: Tecbio, 2003. 68p.

PENIDO FILHO, P.; VILLANO, F. O emprego do éster da mamona nos motores dos veículos Fiat. In: **ANAI DO CONGRESSO BRASILEIRO DE ENERGIA, 3**. Rio de Janeiro, RJ: 1984. p.903-912.

STREET, H.E.; OPIK, H. **Fisiologia das angiospermas. Crescimento e desenvolvimento**. São Paulo, SP: Polígono, Ed. Da Universidade de São Paulo, 1974, 315p.