

# XXXII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo

## “Influência do estado nutricional na cianogênese de clones de copa de seringueira”

LARISSA ALEXANDRA CARDOSO MORAES<sup>(1)</sup> & ADÔNIS MOREIRA<sup>(2)</sup>

**RESUMO** – A determinação do potencial cianogênico (HCNp) em folhas jovens de clones de copa de seringueira mostrou uma grande variação nos valores de amostras de indivíduos de mesmo clone plantados em áreas distintas. Para constatar a possível influência do estado nutricional na formação dos glicosídeos cianogênicos foram feitas correlações entre os teores foliares de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn e o HCNp determinado nas folhas jovens dos clones de copa CPAA C 01 e CPAA C 81. Dos nutrientes analisados, foram verificadas interações significativas apenas com os teores de nitrogênio e manganês.

**Palavras-Chave:** (*Hevea*; glicosídeos cianogênicos; nutrição mineral)

### Introdução

A seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. – Arg.) é originária de Região Amazônica, onde as condições climáticas são mais favoráveis ao seu crescimento e à produção do látex. Porém, tais condições são também propícias a surtos epidêmicos severos do mal-das-folhas, enfermidade causada pelo fungo *Microcyclus ulei* (P. Henn.) v. Arx.

A técnica da enxertia de copa com clones resistentes, obtidos através de cruzamentos de outras espécies de *Hevea* (*H. pauciflora* e *H. guianensis* var. *marginata*) vem sendo pesquisada como alternativa viável para superar esse problema e consisti na remoção da copa do clone de painel, que é capaz de produzir grande quantidade de látex, porém susceptível ao mal-das-folhas, seguida de sua substituição pela enxertia de um clone resistente, porém pouco produtivo. O principal problema apresentado por essa técnica é o efeito depressivo das copas enxertadas sobre a produção do látex que ocorre devido à perda de estabilidade do látex, que pode ser causado pela liberação de cianeto com o traumatismo da sangria, devido ao contato entre a enzima  $\beta$ -glicosidase e o glicosídeo cianogênico linamarina contido nos vacúolos [1].

A conexão entre a cianogênese e o efeito depressivo da produção por copas enxertadas, foi encontrada no estudo de incompatibilidade de copas enxertadas sobre o clone IPA 1, que se demonstrou ser devida à translocação da linamarina da copa para o caule do IPA 1 [2].

Tais observações geraram a necessidade da determinação do potencial cianogênico (HCNp) dos clones de copa disponíveis com o intuito de selecionar os clones de baixo HCNp, cujos valores apresentaram

grande variação nas amostras de indivíduos de mesmo clone plantados em áreas distintas.

Excluindo-se o fator genético, por tratar-se de clones, como causa dessa variação, uma possível explicação seria a influência do estado nutricional no acúmulo de glicosídeo cianogênico. Essa influência já foi observada por Gleadow & Woodrow (2000) [3] em plantas com seis anos de idade de *Eucalyptus cladocalyx* F. Muell cujas quantidades de glicosídeo cianogênico nas folhas jovens foram diretamente proporcionais ao teor de nitrogênio na planta. Em seringueira não há registros de estudos relacionando o potencial cianogênico e o estado nutricional das plantas.

Nesse contexto, o trabalho teve por objetivo estudar as correlações entre o HCNp e os teores dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn) nas folhas jovens dos clones de copa CPAA C 01 e CPAA C 81.

### Material e Métodos

O experimento foi realizado no Campo experimental da Embrapa Amazônia Ocidental (CPAA), localizado nas coordenadas 3°8'S e 59°52'W, no município de Manaus, Estado do Amazonas.

Foram feitas as análises foliares (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn) nos folíolos jovens da seringueira (estádios C) dos clones de copa CPAA C 01 e CPAA C 81. Os teores obtidos foram correlacionados com os valores de HCNp determinados na mesma folha analisada.

A dosagem do HCNp foi realizada, segundo método descrito por Selmar (1986) [1] e Lieberei (1986) [4], com as modificações de Moraes et al. (2002) [5], em extratos obtidos por maceração de 1,0 g de tecido fresco de folíolos no estádio C (folhas na fase final de expansão do limbo, ainda pendentes e de cor verde claro) em gral com pistilo pré-resfriados com a adição de 4 mL de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ( $0,067 \text{ mol L}^{-1}$ ) também pré-resfriado. O homogeneizado obtido foi centrifugado a 20.000 g durante 14 minutos, entre 0°C e 6°C e o sobrenadante transferido para frascos tampados.

Para total liberação do cianeto foi acrescentado ao meio de reação, contendo 0,05 mL do sobrenadante e 0,45 mL de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ( $0,067 \text{ mol L}^{-1}$ ), 0,1 mL da enzima linamarase ( $\beta$ -glicosidase), extraída dos folíolos jovens da seringueira (estádio B e C). Para tal, os folíolos foram homogeneizados em tampão de fosfato seguido de centrifugação a 30.000 g, precipitação com sulfato de amônio, adicionado até atingir 80 % da saturação (34,4 g de sulfato de amônio para cada 100 mL de solução), nova centrifugação a 20.000 g com descarte do sobrenadante e dessalinização do precipitado por lavagem com tampão de fosfato, pH 6,5,  $10 \text{ mmol L}^{-1}$ , e filtrações sucessivas em membranas Milipore, tipo PTGC, sob pressão constante de 2,5 bárias, obtendo-se a enzima parcialmente purificada.

Após o período de incubação de 20 minutos, foram adicionadas ao meio de reação 0,6 mL de NaOH, (0,2 mol L<sup>-1</sup>) e 3,85 mL de água destilada, num total de 5 mL, e em seguida as substâncias cloramina, ácido 2,3-dimetilbarbitúrico e piridina. A absorvância foi medida cinco minutos após a adição dos reagentes no comprimento de onda de 585 nm, tempo necessário para o desenvolvimento da coloração. O cálculo da quantidade de cianeto liberado por grama de matéria fresca de casca, foi feito com base em curva padrão de cianeto, nas concentrações em mg L<sup>-1</sup> de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5.

As correlações entre as variáveis analisadas foram feitas a 5% de significância.

### Resultados e Discussão

Verificou-se que dos nutrientes analisados nas folhas jovens dos clones CPAA C 01 e CPAA C 81, apenas o N e o Mn apresentaram correlações altamente significativas (Figura 1).

A correlação positiva observada entre o nível de N na folha e o potencial cianogênico já havia sido anteriormente encontrada por Gleadow & Woodrow (2000) [3] em trabalhos realizados na Austrália com eucalipto (*Eucalyptus cladocalyx* F. Muell.).

O Mn pode estar atuando na fase inicial da biossíntese dos glicosídeos cianogênicos que é catalizada por citocromos multifuncionais, enzimas que apresentam-se ligadas à membrana e são denominadas genericamente de citocromos P-450, cujo aumento da sua concentração já foi observado *in vitro* na presença de MnCl<sub>2</sub> [6].

Estudos recentes relatam que a reação de conversão dos aminoácidos L-valina e L-isoleucina em aglicona, passo inicial da biossíntese dos dois glicosídeos cianogênicos da mandioca, linamarina e lotaustralina, é catalisada por citocromos P-450 [7] [8], sendo esses os mesmos glicosídeos que ocorrem no gênero *Hevea* [9]. Processo semelhante também ocorre em *Sorghum bicolor* L. Moench com o envolvimento dos citocromos P-450 na formação do glicosídeo cianogênico durrina a partir do aminoácido L-tirosina [10] [11].

Busk & Möller (2002) [11] estudaram o efeito da adubação na síntese da durrina bem como na atividade dos citocromos P-450 em mudas de sorgo e constataram o aumento da atividade das enzimas acompanhado pelo aumento do conteúdo de durrina na presença de KNO<sub>3</sub> a partir da dose de 10 mM.

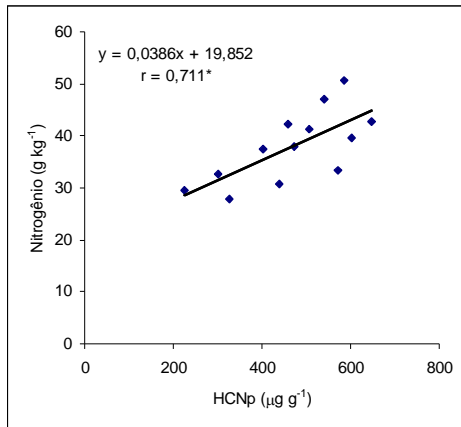
Segundo esses autores, a formação de aglicona a partir de L-tirosina catalisada pela ação dos citocromos P-450 é o fator limitante nesse processo

### Conclusões

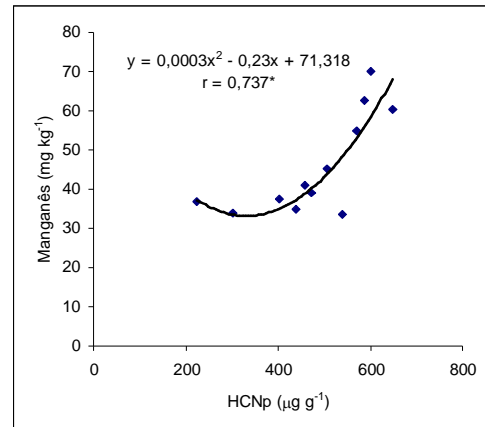
O potencial cianogênico (HCNp) das folhas dos clones de copa CPAA C 01 e CPAA C 81 sofrem influência dos níveis de nitrogênio e manganês encontrados nos seus tecidos.

### Referências

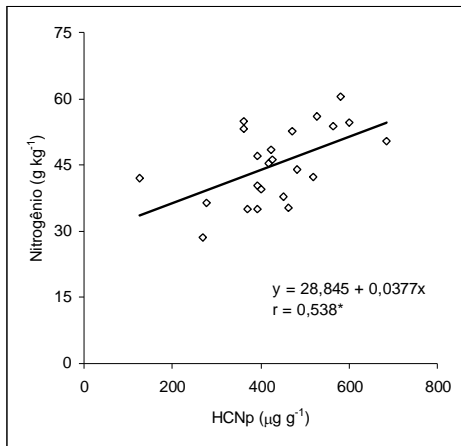
- [1] SELMAR, D. 1989 Cyanogenesis in *Hevea*. Zwei Wege zur metabolisierung cyanogener glucoside. Technische Universität Carolus Wilhelmina zur Braunschweig. Tese de Doutorado. 171p., 1986
- [2] MORAES, L.A.C.; MORAES, V.H.F.; CASTRO, P.R.C. Aplicação de KCN e linamarina e a incompatibilidade de enxertia por translocação no clone de seringueira IPA 1. *Scientia Agricola*, v.58, p.717-729, 2001.
- [3] GLEADOW, R.M.; WOODROW, I.E. Temporal and spatial variation in cyanogenic glycosides in *Eucalyptus cladocalyx*. *Tree Physiology*, v.20, p.591-598, 2000.
- [4] LIEBEREI, R. Cyanogenesis of *Hevea brasiliensis* during infection with *Mycrocyclops ulei*. *Journal of Phytopathology*, v.115, p.134-146, 1986.
- [5] MORAES, L.A.C.; MORAES, V.H.F.; MOREIRA, A. Efeito da cianogênese na incompatibilidade entre clones de copa de seringueira e o clone de painel IPA 1. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 37, p.925-932, 2002.
- [6] REICHHART, D.; SALAÚN, J.P.; BENVENISTE, I.; DURST, F. Time course of induction of cytochrome P-450, NADPH-Cytochrome *c* reductase, and cinnamic acid hydroxylase by Phenobarbital, ethanol, herbicides, and manganese in higher plant microsomes. *Plant Physiology*, v.66, p.600-604, 1980.
- [7] NIELSEN, J.S.; MÖLLER, B.L. Biosynthesis of cyanogenic glucosides in *Triglochin maritime* and the involvement of cytochrome P450 enzymes. *Archive of Biochemistry and Biophysical*, v.368, n.1, p.121-130, 1999.
- [8] ANDERSEN M.D.; BUSK, P.K.; SVEBDSSEN, I.; MOLLER, B.L. Cytochromes P-450 from cassava (*Manihot sculenta* Crantz) catalyzing the first steps in the biosynthesis of the cyanogenic glucosides linamarin and lotaustralin. *The Journal of Biology Chemistry*, v.275, p.19966-1975, 2000.
- [9] LIEBEREI, R. South American Leaf Blight of the Rubber Tree (*Hevea* spp.): New Steps in Plant Domestication using Physiological Features and Molecular Markers *Annals of Botany*. v.100, p.1125-1142, 2007.
- [10] SIBBESEN, O.; KOCH, B.; HALKIER, B.A.; MOLLER, B.L. Cytochrome P-450TYR is a multifunctional heme-thiolate enzyme catalyzing the conversion of L-tyrosine to p-hydroxyphenylacetaldehyde oxime in the biosynthesis of the cyanogenic glucoside dhurriin in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *The Journal of Biology Chemistry*, v.270, p.3506-3511, 1995.
- [11] BUSK, P.K.; MÖLLER, B.L. Dhurriin synthesis in sorghum is regulated at the transcriptional level and induced by nitrogen fertilization in older plants. *Plant Physiology*, v.129, p.1222-1231, 2002.



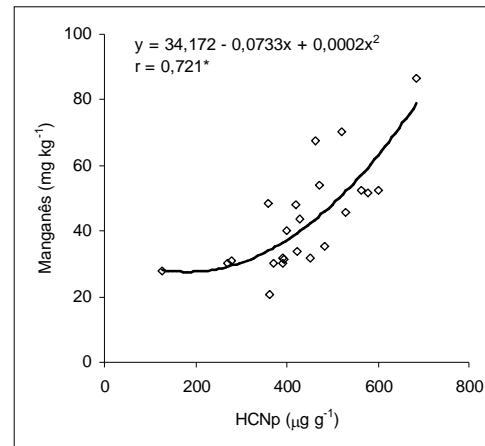
a



a



b



b

**Figura 1.** Correlações significativas entre o potencial cianogênico com o nitrogênio e o manganês nas folhas novas (estádio C) dos clones de copa: a) CPAA C 01 e b) CPAA C 81.