

açúcares solúveis, sacarose sintase e sacarose fosfato sintase durante o desenvolvimento do fruto de café, sob diferentes condições de luz e carga.

Clara Geromel¹ E-mail: clarageromel@bol.com.br, Paulo Mazzafera¹, Pierre R. Marraccini², Lucia P. Ferreira³, Luiz G.E. Vieira³ e Luiz F.P. Pereira⁴

¹ Unicamp/DFV – IB, Campinas SP; ² Cirad/ IAPAR, Londrina PR; ³ IAPAR, Londrina PR; ⁴ Embrapa/IAPAR, Londrina PR

Resumo:

Foram abordados nesse trabalho aspectos fisiológicos de carboidratos envolvidos na relação fonte-dreno, sendo a sacarose o principal carboidrato exportado. Sabendo-se que a sacarose não é utilizada diretamente como substrato para a maioria dos processos envolvidos no crescimento, desenvolvimento e armazenamento, tanto na fonte como no dreno, o destino metabólico da sacarose é mediado pelas enzimas invertases, sacarose sintase e sacarose fosfato sintase. Nesse estudo foram dosadas as enzimas sintase da sacarose (SUSY) e sacarose fosfato sintase (SPS), assim como os teores de açúcares solúveis totais, redutores e sacarose, durante o desenvolvimento do fruto de café em diferentes tecidos: polpa, perisperma e endosperma e em diferentes condições de tratamento: controle, onde as plantas foram expostas a pleno sol; com sombrite 50% e com carga do café reduzida à 30%. Foi mostrado que, apesar de SUSY e SPS tenderem a ter menor atividade nos tratamentos de sol e menor produção, os teores de açúcares não variaram. Foi observado que as enzimas seguem o mesmo padrão de atividade em todos os tecidos aumentando com a maturação, independente do tratamento.

Palavras –chave: café, sacarose sintase, sacarose fosfato sintase

SOLUBLE SUGARS, SUCROSE SYNTHASE AND SUCROSE PHOSPHATE SYNTHASE DURING THE DEVELOPMENT OF THE COFFEE FRUIT, UNDER DIFFERENT LIGHT CONDITIONS AND PRODUCTIVITY

Abstract:

The physiological aspects of carbohydrate metabolism and the sink-source relationship were studied. Sucrose was the main sugar transported to fruits in coffee. Sucrose is not promptly used as substrate in most of the process related with growth, development and storage in source or sink tissues. It is first metabolized by invertases, sucrose synthase (SUSY) and sucrose phosphate synthase (SPS). The activities of SUSY and SPS as well as the contents of reducing sugars, sucrose and total soluble sugars were determined in the pulp, perisperm and endosperm during the development of coffee fruits, from plants under full sunlight (control), 50% light and carrying 30% of the fruits. Fruits were manually removed from the later treatment and the 50% light intensity was provided by a plastic screen (50% light cut-off). It was shown that although SUSY and SPS have lower activity in the treatments of less light and less fruits, the contents of sugars did not vary accordingly. It was observed the same pattern for enzyme activities in the tissues in the three treatments, an increase with maturation.

Key words: coffee, sucrose synthase, sucrose phosphate synthase

Introdução

Apesar de ser conhecida a constituição de carboidratos das sementes de café, sendo isso facilmente compreendido pela sua importância no desenvolvimento da qualidade da bebida (Clifford, 1985), muito pouco se sabe como ocorre a importação e o desdobramento de açúcares pelos tecidos drenos a partir de tecidos fotossinteticamente ativos. Além da qualidade da bebida, é necessária uma produção final satisfatória, caracterizada pelo número e tamanho dos frutos. Esses aspectos fisiológicos de metabolismo de carboidratos estão envolvidos na relação fonte-dreno em café.

O descarregamento do floema e a hidrólise da sacarose são considerados os passos limitantes para o transporte e acúmulo de assimilados nos tecidos drenos (Walker et al, 1978).

A sacarose proveniente de tecidos fontes, ao chegar na regiões de utilização, será inicialmente hidrolisada em frutose e glicose, podendo ser sintetizada novamente antes de ser utilizada em algum processo metabólico.

Essa conversão de quebra da sacarose pode ser realizada com a participação de dois diferentes grupos enzimáticos; as invertases, que catalisam uma reação irreversível de quebra da sacarose em açúcares redutores e a sintase da sacarose, que catalisa a conversão reversível da sacarose em UDP-glicose e frutose. Sung et al, (1989) sugerem que esses dois caminhos para a degradação da sacarose tenha funções diferentes durante o desenvolvimento da planta e são modulados como respostas á mudanças ambientais.

A síntese de sacarose pode ser mediada pelas enzimas Sacarose Sintase (UDP glicose + frutose ↔ Sacarose + UDP) ou Sacarose Fosfato Sintase (UDPglicose + frutose 6-P + glicose 6-P ↔ Sacarose 6-P + UDP).

O objetivo deste estudo foi verificar a partição de carbono em frutos de cafeeiro durante o seu desenvolvimento, relacionando as enzimas Sacarose Sintase e Sacarose Fosfato Sintase, com os teores de açúcares encontrados, em três condições diferentes: Em pleno sol, com sombrite 50% e com carga do cafeeiro reduzida à 30%.

Material e Métodos

Material Vegetal: Foram utilizados frutos de cafeeiro cultivar Catuai Vermelho da espécie *C. arabica*, cultivados no IAPAR, Londrina-PR. Os frutos foram coletados em sete estádios diferentes de desenvolvimento e separados em polpa, perisperma e endosperma.

Extração das enzimas: As proteínas foram extraídas com tampão Hepes 100mM, pH: 7, contendo 2mM MgCl₂, 10mM 2-mercaptoetanol e 2% de ácido ascórbico. Após centrifugação, o sobrenadante foi recuperado e passado em colunas PD10 – Sephadex G25. Proteínas totais foram quantificadas pelo método de Bradford (1976).

Ensaio enzimático: A reação da Sintase da sacarose foi realizada no sentido de síntese de sacarose. A composição do meio de reação foi 60ug de proteína, 25mM de UDPG e 25mM de frutose e tampão Mês 50mM, pH 6. Os meios de reações foram incubados por 1 hora a 30°C e a reação foi paralisada com a adição de KOH 30% e fervidos por 10 minutos. A sacarose formada foi dosada pelo método de Van Handel (1968). O meio de reação da Sacarose Fosfato Sintase foi composto de 60ug de proteína, 25 mM de UDPG, 25mM de frutose 6-fosfato, 30mM de glicose 6- fosfato e 20 mM de phenyl β glicoside e tampão fosfato 50mM pH 7,5. Os meios de reações foram incubados por 1 hora a 37°C e a reação paralisada com a adição de KOH 30% e fervidos por 10 minutos. A sacarose formada foi dosada pelo mesmo método citado acima.

Extração e dosagens dos açúcares: Após serem liofilizadas, as amostras foram moídas em microtritador (Politron) com etanol 80%, na proporção de 1g de material vegetal para 3 mL de etanol 80% e levadas em banho maria a 75°C por 30 minutos em tubos fechados e centrifugados a 10.000 rpm por 20 minutos. Foram feitas três extrações sequenciais. Os extratos das três extrações foram combinados e neles dosados açúcares solúveis totais (Yemm e Cocking, 1954), açúcares redutores (Somogy, 1952) e sacarose (Van Handel, 1968).

Resultados e Discussão

Para o endosperma de café a Susy possui sua maior atividade na direção da síntese de sacarose durante a fase intermediária, quando o perisperma começa a desaparecer e formar a película prateada, decrescendo no final da maturação do fruto. Na casca ocorre um aumento da atividade, podendo talvez estar relacionado à maior presença de substratos (açúcares redutores), provenientes de hidrólise de açúcar de parede, uma vez que existe o aumento de atividade de pectina esterase na polpa, durante a maturação do fruto. Os dados não permitem explicar o aumento no perisperma. Os controles indicados nas figuras 1 e 2 mostram estes resultados.

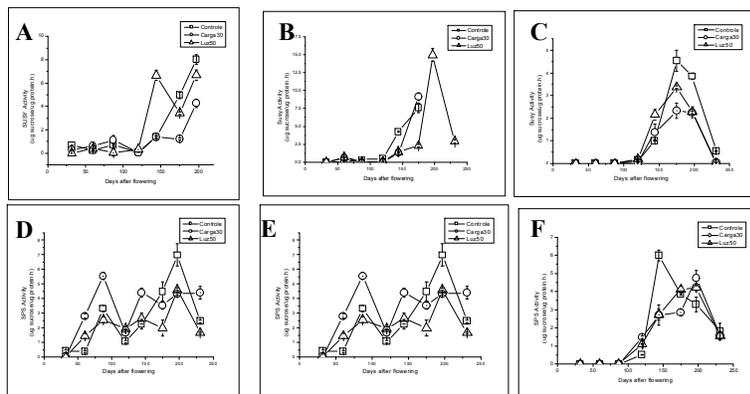


Figura 1: Atividades enzimáticas da Susy na polpa (A), perisperma (B) e endosperma (C) e SPS Susy na polpa (D), perisperma (E) e endosperma (F) em frutos de cafeeiros cultivados a pleno sol (controle), com 30% da carga reduzida ou sob sombrite 50%.

Os resultados de açúcares das plantas com carga de 30% e de sombrite 50% se assemelham aos controles, com pequenas variações. Para o perisperma o padrão foi o mesmo, com exceção ao fato de que para sombrite 50% pode-se coletar este tecido ainda em estágios onde nos outros tratamentos ele já tinha quase desaparecido, tornando-se a película prateada. Provavelmente isto ocorre por que existe certo atraso na maturação. Porém, mesmo com isto, não houve alterações marcantes para as duas enzimas. A Susy no endosperma tem maior atividade no controle do que carga 30% e sombrite 50%. A princípio estes dados demonstram que existe maior síntese de sacarose no endosperma, e de certa forma isto é confirmado pelas análise de sacarose, pois o controle acumula acima de 20 mg/g de sacarose, enquanto os outros tratamentos ficam com valores menores, notadamente 50% sombrite. Quanto a SPS, uma enzima envolvida na síntese de sacarose, mas de atividade irreversível, que tem sua atividade com pico semelhante a Susy, mas no tratamento controle isto ocorre anterior ao pico de atividade de sombrite 50% e carga 30%.

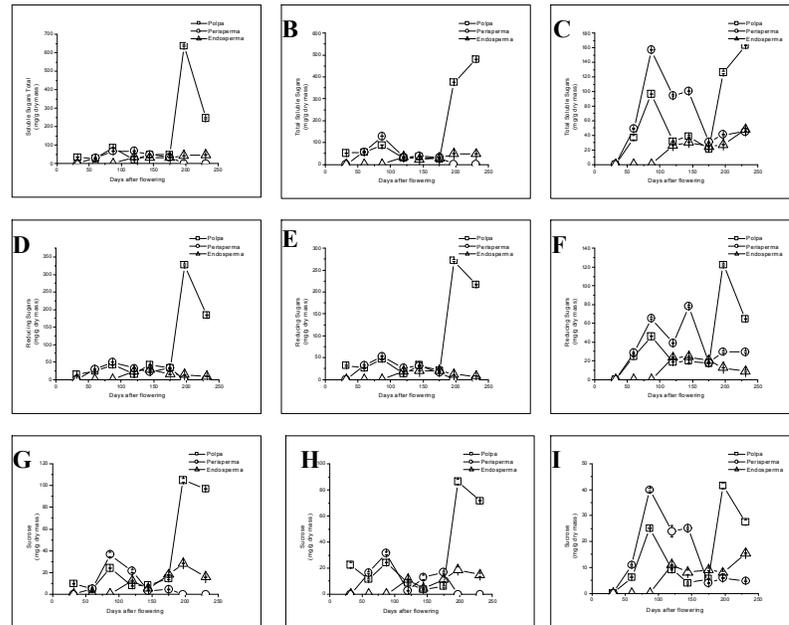


Figura 2: Teores de açúcares solúveis totais em pleno sol (A), com 30% de carga reduzida (B) e em sombrite 50% (C). Açúcares redutores totais em pleno sol (D), com 30% de carga reduzida (E) e em sombrite 50% (F). Sacarose totais em pleno sol (G), com 30% de carga reduzida (H) e em sombrite 50% (I), na polpa, perisperma e endosperma de frutos de cafeeiros.

Referências bibliográficas

- Bradford, MN., 1976. A rapid and sensitive method for the quan titation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Cliford, M.N., 1985. Chemical and physical aspects of coffee and coffee products. In: *Coffee: Botany, biochemistry and Production of Beans and Beverage* (M.N. Clifford and K.C. Willson, eds), 1st edition, American Edition, Westport, Connecticut, London, pp. 305-374.
- Somogy, N., 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.* 195: 19-23.
- Sung, S.S.; Xu, D.P. & Black, C.C., 1989. Identification of actively filling sucrose sinks. *Plant Physiol.* 89: 1117-1121.
- Van Handel, E., 1968. Direct microdetermination of sucrose. *Anal. Biochem.* 22: 280-283.
- Walker, A .J.; HO, L.C.; Baker, D.A 1978 .Carbon translocation in tomato: pathway to carbon metabolism and the rate of translocation. *Ann. Bot.* 42:901-909.
- Yemm. E.W.; Coccking, E.C.; 1954. The stimulation of carbohydrates in plant extracts by antrone. *Biochem. J.* 508-514.