

ATIVIDADE DE ENZIMAS DO METABOLISMO DO CARBONO EM FUNÇÃO DA RAZÃO ÁREA FOLIAR/FRUTOS EM DIFERENTES POSIÇÕES DA COPA DO CAFEIEIRO¹

Agnaldo Rodrigues de Melo Chaves²; Fábio Murilo DaMatta³; Samuel Cordeiro Vitor Martins⁴; Elaine Facco Celin⁵

¹ Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café e pelo CNPq

² Pesquisador Embrapa Semiárido, Petrolina-PE, agnaldo.chaves@embrapa.br

³ Professor, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, fdamatta@ufv.br

⁴ Doutorando Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, samuelmartins25@yahoo.com.br

⁵ Doutoranda em Agronomia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, elainecelin@yahoo.com.br

RESUMO: Neste trabalho, em março de 2007 foram coletados tecidos foliares em ramos plagiotrópicos com três razões área foliar/fruto (RAF) de plantas de café cultivadas em renques orientados norte-sul nas posições leste inferior, leste superior, oeste inferior e oeste superior da copa das plantas, enquanto em 2008 foram coletados tecidos foliares em ramos plagiotrópicos em apenas uma RAF. Foi determinada a atividade das enzimas da sintase da sacarose-fosfato-SPS, pirofosforilase da ADP-glicose-AGPase, invertase ácida e sintase da sacarose-Susy. Adicionalmente, não foi observado um padrão claro de resposta das atividades das enzimas AGPase, invertase, SuSy e SPS em 2007. Em 2008, por outro lado, observou-se tendência de menores atividades das enzimas supracitadas nas folhas da posição leste inferior, fato que pode estar associado com menor taxa de fotossíntese ao longo do dia, provavelmente em função de uma menor disponibilidade de luz nessa face.

PALAVRAS-CHAVE: cafeeiro, enzimas, razão fonte dreno

ACTIVITY OF ENZYMES RELATED TO CARBON METABOLISM AS A FUNCTION OF LEAF-TO-FRUIT RATIO AT DIFFERENT COFFEE CANOPY POSITIONS

ABSTRACT: In this study, in march 2007 leaves were collected from reproductive branches with three LFR of coffee trees grown in rows oriented in north-south in positions Lower East, Upper East, Upper West and Lower West plant canopy. In 2008 leaves were collected from reproductive branches in only one RAF. Leaves were analyzed for the activity of the enzymes sucrose phosphate synthase-SPS, ADP-glucose pyrophosphorylase, AGPase, acid invertase and sucrose synthase-Susy. In 2007, there was no clear pattern of enzymes activities responses for AGPase, invertase, SuSy and SPS. In 2008, there was a trend of lower enzyme activities in the leaves above the lower east position, which may be associated with a lower rate of photosynthesis throughout the day, probably due to lower light availability on that plant position.

KEYWORDS: coffee trees, enzymes, source-sink ratio

INTRODUÇÃO

Restrições bioquímicas à fotossíntese (*A*), especialmente ao longo do dia, têm sido atribuídas à retroinibição associada ao acúmulo de carboidratos (Stitt, 1994). A regulação da fotossíntese por meio desse processo pode ocorrer, principalmente, via diversas rotas de síntese de produtos finais nas plantas, sendo as rotas da biossíntese da sacarose e do amido (Paul & Pellny, 2003). A influência do dreno sobre a fotossíntese e a partição do carbono tem sido relatada em diferentes espécies, como citrus (Rivas et al., 2007), manga (Urban et al., 2004), café (Franck et al., 2006). Com uma menor atividade do dreno, o acúmulo de produtos finais nas folhas-fonte é considerada como a principal causa para o decréscimo na *A* (Paul & Pellny, 2003). Em todo o caso, a baixa taxa da síntese dos produtos finais é usualmente associada à redução das atividades de enzimas-chave da fotossíntese, como a sintase da sacarose-fosfato (SPS), pirofosforilase da ADP-glicose (AGPase) e carboxilase/oxigenase da ribulose-1,5-bisfosfato (Rubisco), bem como à menor concentração de fosfato inorgânico e menor razão ATP/ADP, além do aumento do conteúdo de 3-PGA (Stitt, 1991; Stitt & Krapp, 1999).

Em trabalho no qual houve manipulação para alterar a razão fonte:dreno, através de desbaste de frutos e/ou de folhas, evidenciaram que o aumento em *A* com redução da razão fonte:dreno, comparação de ramos sem frutos com ramos frutificados, mas com redução da área foliar à metade, foi largamente dissociado de retroinibição da fotossíntese, uma vez que não houve acúmulo de carboidratos e tampouco alterações nas atividades de enzimas-chave associadas ao

metabolismo do carbono; por outro lado, as flutuações em A foram grandemente explicadas pelas variações em g_s (DaMatta et al. (2008)). Esses mesmos autores propuseram que o mecanismo pelo qual uma alta carga de frutos induziria aumentos em g_s deveria estar relacionado com algum sinal, até o presente não identificado, associado com a força do dreno *per se*. Resta demonstrar se o mesmo padrão de resposta seria observado entre ramos de diferentes posições da copa, com diferentes razões área foliar:fruto, em plantas em condições naturais, i.e., sem manipulação da área foliar ou da carga de frutos. Neste trabalho, procurou-se, pois, avaliar a atividade de enzimas do metabolismo do carbono em diferentes razões área foliar/frutos sem manipulação sobre em diferentes posições da copa do cafeeiro em dois anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de café (*Coffea arabica* L. cv. Catuai Vermelho – IAC 99), com sete anos de idade, sob espaçamento 2x1 m, vêm sendo cultivadas em renques orientados no sentido norte-sul, sob condições de campo, no município de Coimbra (altitude de 720 metros, 20°51'24" S, 42°48'10" W), no estado de Minas Gerais. Assim, com base na uniformidade e no vigor, foram selecionadas 30 plantas, identificando-se 24 ramos nos terços mediano superior e mediano inferior nas faces leste e oeste das plantas. Esses ramos localizavam-se nas posições leste superior (LS), leste inferior (LI), oeste superior (OS) e oeste inferior (OI) do dossel, perfazendo, seis ramos em cada posição por planta, sendo avaliados o número de frutos e a área foliar em todos os ramos selecionados. Para determinação da área foliar, foram medidas a largura máxima e o comprimento de cada folha e utilizadas as equações descritas em Antunes et al. (2008). Com essas informações, foram identificados ramos que apresentavam três diferentes classes de razão área foliar/número de frutos (RAF) [0 a 6 (R1); 6,1 a 14 (R2); >14 cm² fruto⁻¹ (R3)], nas quatro posições avaliadas. Dos ramos selecionados foram utilizados, efetivamente 72 para a realização das avaliações fisiológicas (atividades das enzimas), em março de 2007 (fase de granação dos frutos). Essas avaliações foram realizadas em folhas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos. O material foliar foi coletado por volta de 14:30 h, transportado do campo para o laboratório em nitrogênio líquido e, então, armazenado a -80°C.

Nas mesmas 30 plantas selecionadas em 2006-2007, foram selecionados mais 720 ramos para o período 2007-2008, medindo-se a área foliar e o número de frutos em cada um dos ramos, como descrito acima. Contudo, não foi possível classificar ramos com as três RAF's, como no período anterior, devido à baixa carga de frutos. Com isso, apenas pôde-se comparar os ramos com alta RAF (>20 cm² fruto⁻¹) nas duas faces (leste e oeste) e nos dois estratos (superior e inferior) das plantas. Dos 720 ramos selecionados, apenas 24 ramos foram utilizados nas avaliações fisiológicas (carboidratos e atividades das enzimas) em março de 2008 (fase de granação dos frutos), sendo todas as avaliações realizadas conforme descrito para o período 2006-2007.

Para a determinação da atividade enzimática em discos foliares (~ 120 mg de massa fresca), o extrato vegetal foi obtido de acordo com DaMatta et al. (2008). As atividades das enzimas da sintase da sacarose-fosfato (SPS; EC 2.4.1.14), pirofosforilase da ADP-glicose (AGPase; EC 2.2.7.27), invertase ácida (EC 3.2.1.26) e sintase da sacarose (Susy; EC 2.4.1.13) foram determinadas de acordo com Praxedes *et al.* (2006) e Ronchi *et al.* (2006).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo analisado em esquema de parcelas subdivididas, no período 2006-2007. As parcelas foram constituídas pelas quatro posições da planta (leste - inferior e superior, e oeste - inferior e superior), e as subparcelas, pelas classes de RAF, com seis repetições. No período 2007-2008, o experimento foi avaliado em esquema fatorial 2x2 (duas faces de exposição - leste e oeste; e dois estratos - inferior e superior, em cada planta), com seis repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de significância, utilizando-se do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas da UFV (Saeg-UFV 9.1, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observado um padrão claro na atividade catalítica máxima da SPS (V_{max} SPS) e da atividade catalítica seletiva da SPS (V_{sel} SPS) em março de 2007, sob as três RAF's avaliadas, em todas as posições (Fig. 1A e 1B). O estado de ativação da SPS (EA) foi similar entre as três RAF's analisadas em LI, LS e OS, enquanto em OI o EA, em R3 foi menor do que em R1 e R2 (Fig. 1C). As atividades da pirofosforilase da ADP-glicose (AGPase), da invertase e da sintase da sacarose (Susy), em 2007, não apresentaram um padrão claro e consistente entre as RAF's nas posições avaliadas (Fig. 2A, 2B e 2C).

Não foi observado um padrão claro de resposta das atividades das enzimas AGPase, invertase, SuSy e SPS em 2007. Registre-se que, no caso da SPS, tanto a atividade potencial (V_{max} , que indica alterações nas propriedades cinéticas da enzima) como a seletiva (V_{sel} , indicativo da quantidade de proteína), bem como o seu estado de ativação, pouco responderam aos tratamentos, em 2007. Portanto, a similaridade entre os tratamentos foi também traduzida por alterações apenas marginais no metabolismo do carbono, o que pode ter sido em função da perda da autonomia dos ramos e uma possível redistribuição entre os ramos com diferentes RAF's, com ramos com maior RAF fornecendo carboidrato para os ramos com maior RAF.

Em março de 2008, a atividade das enzimas analisadas e o EA da SPS (a atividade da AGPase não foi determinada) foram maiores em LS em comparação a LI, mas sem variar estatisticamente entre OS e OI (Tab. 1). A atividade das enzimas supramencionadas e EA da SPS foram menores em LI em comparação a OI (Tab. 1). No estrato superior, apenas V_{\max} SPS e V_{sel} SPS foram maiores em LS em relação a OS, enquanto a atividade das outras enzimas e EA da SPS foram similares entre LS e OS (Tab. 1).

Em 2008, por outro lado, observou-se tendência de menores atividades das enzimas supracitadas nas folhas da posição leste inferior, fato que pode estar associado com menor taxa de fotossíntese ao longo do dia, provavelmente em função de uma menor disponibilidade de luz nessa face, conforme discutido por Araújo et al. (2008). À luz dos dados apresentados, não fica claro, contudo, o porquê de as folhas daquela posição mostrarem, em comparação com as da posição leste superior, maiores concentrações de hexoses e sacarose e menor concentração de amido.

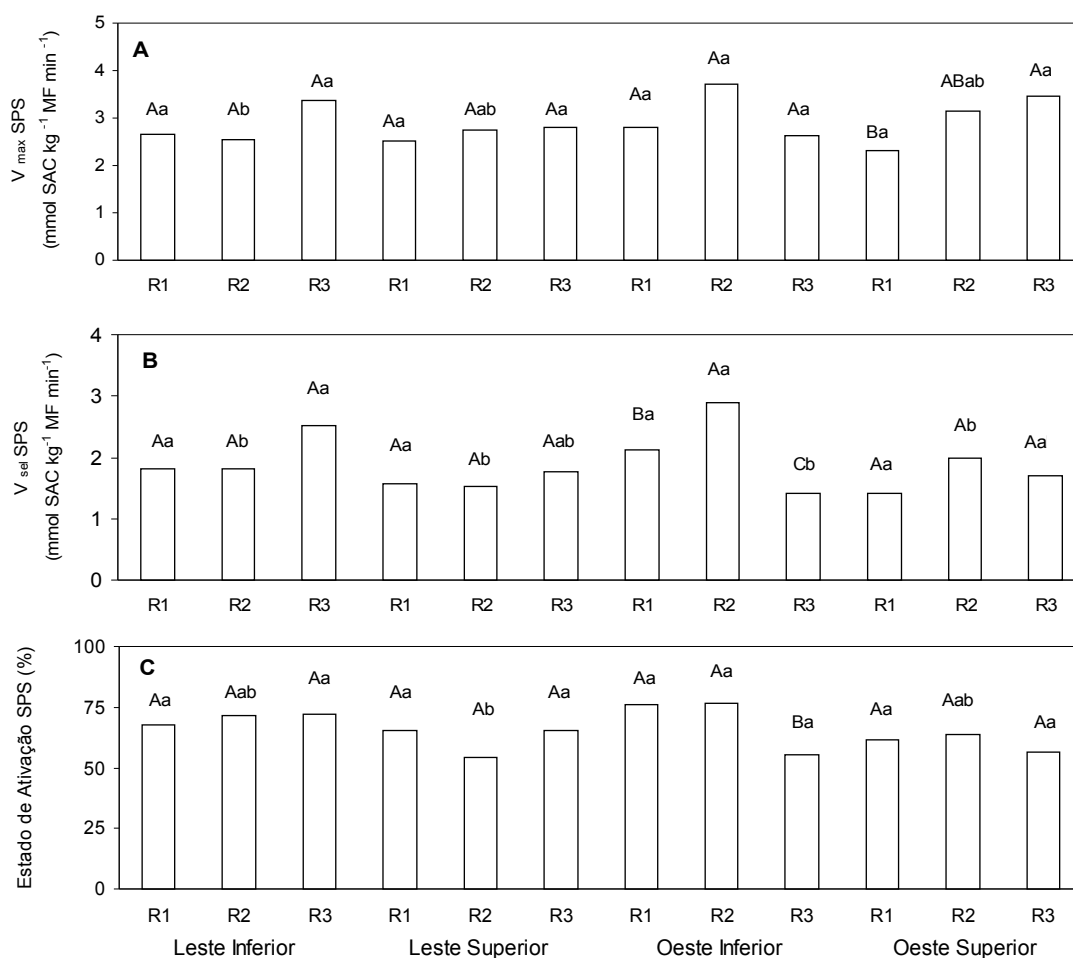


Figura 1. Atividade catalítica máxima da SPS (V_{\max} SPS) (A), atividade catalítica seletiva da SPS (V_{sel} SPS) (B) e estado de ativação da SPS (C) em folhas de café, de plantas cultivadas em campo, obtida em março de 2007. Foram avaliados ramos com razão área foliar/número de frutos (RAF) de 0 a 6 cm² fruto⁻¹ (R1), de 6,1 a 14 cm² fruto⁻¹ (R2) e >14 cm² fruto⁻¹ (R3). Os ramos foram provenientes das posições leste inferior, leste superior, oeste inferior e oeste superior na planta. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as médias das três RAF's dentro de cada posição da copa, e as letras minúsculas, entre as médias de cada RAF, nas quatro posições da copa (Newman-Keuls, $P \leq 0,05$; $n=6$).

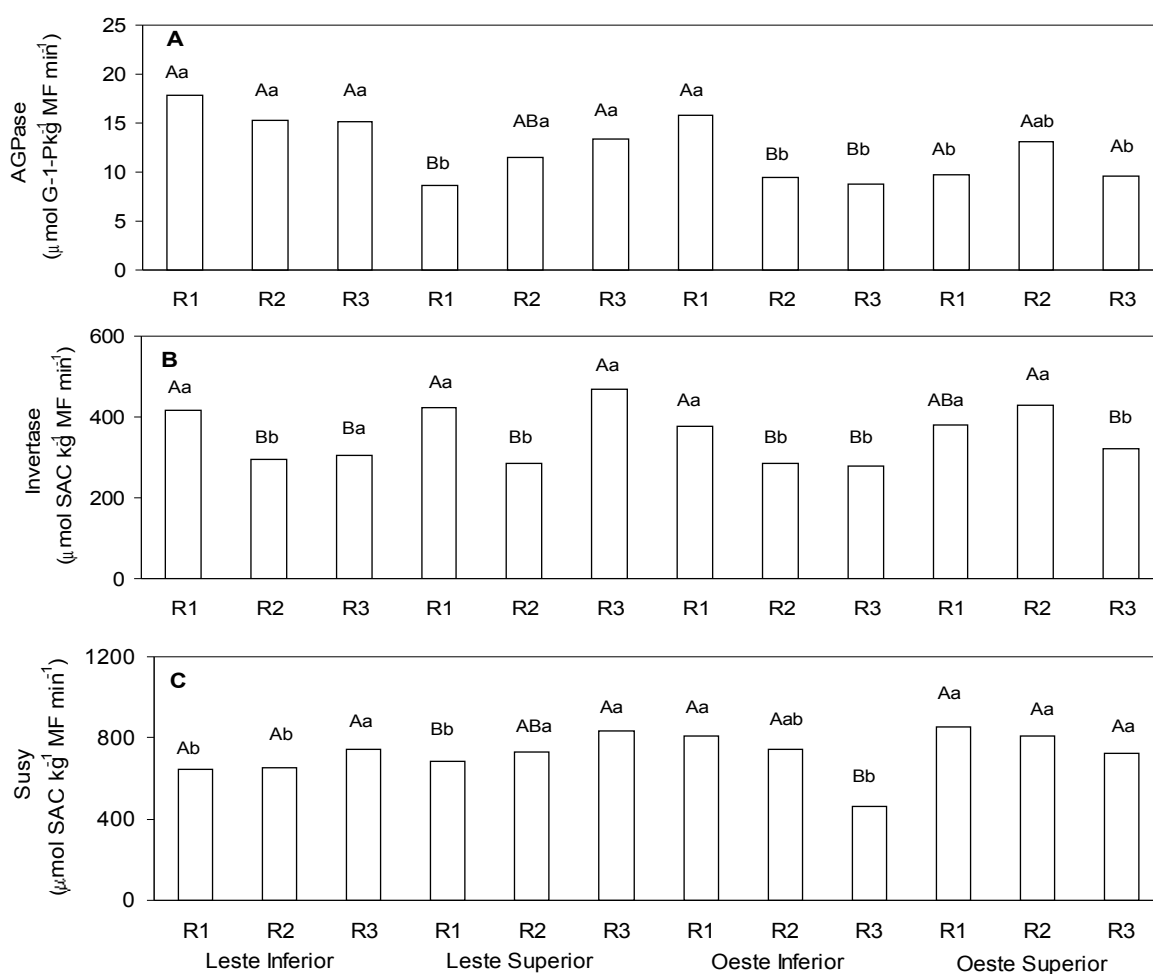


Figura 2. Atividade foliar das enzimas pirofosforilase da ADP-glicose (AGPase) [A], invertase ácida [B] e sintase da sacarose (Susy) [C] em folhas de café, de plantas cultivadas em campo, obtida em março de 2007. Foram avaliados ramos com razão área foliar/número de frutos (RAF) de 0 a 6 cm² fruto⁻¹ (R1), de 6,1 a 14 cm² fruto⁻¹ (R2) e >14 cm² fruto⁻¹ (R3). Estatística como na Figura 1.

Tabela 1. Atividade foliar catalítica máxima da SPS (V_{max} SPS), atividade catalítica seletiva da SPS (V_{sel} SPS), estado de ativação da SPS (EA), invertase ácida e sintase da sacarose (Susy) em folhas de café, de plantas cultivadas em campo, obtida em março de 2008. Foram avaliados ramos com razão área foliar/número de frutos (RAF) >20 cm² fruto⁻¹ nas faces leste e oeste e nos estratos superior e inferior do dossel. Letras maiúsculas indicam diferença entre as médias dos dois estratos em cada face, e as letras minúsculas, entre as médias de cada estrato, entre as duas faces copa (Newman-Keuls, $P \leq 0,05$ $n=6$). SAC = sacarose

Variáveis	Estrato	Face	
		Leste	Oeste
V_{max} SPS (mmol SAC kg ⁻¹ MF min ⁻¹)	Inferior	2,463 Bb	3,076 Ba
	Superior	4,589 Aa	3,905 Ab
V_{sel} SPS (mmol SAC kg ⁻¹ MF min ⁻¹)	Inferior	0,759 Bb	1,272 Ba
	Superior	2,318 Aa	1,753 Ab
Estado de ativação da SPS (%)	Inferior	31,223 Bb	41,477 Aa
	Superior	50,388 Aa	45,267 Aa
Invertase Ácida (µmol SAC kg ⁻¹ MF min ⁻¹)	Inferior	257,292 Bb	364,796 Aa
	Superior	349,471 Aa	378,671 Aa
Susy (µmol SAC kg ⁻¹ MF min ⁻¹)	Inferior	629,017 Bb	794,349 Aa
	Superior	1050,159 Aa	934,121 Aa

CONCLUSÕES

De modo geral, em função da provável perda de autonomia dos ramos, em situações de alta demanda por assimilados pelos frutos, não se verificaram alterações na magnitude das atividades de algumas enzimas-chave do metabolismo do carbono em resposta às diferentes RAF's, o que pode estar relacionado com a perda de autonomia dos ramos, promovendo redistribuição de assimilados dos ramos com maior RAF para os com menor RAF.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, W. C.; POMPELLI, M. F. CARRETERO, D.M.; DAMATTA, F.M. Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *Annals of Applied Biology* 153: 33-40. (2008)
- ARAÚJO, W. L., DIAS, P. C.; MORAES, G. A. B. K.; CELIN, E. F.; CUNHA, R. L.; BARROS R. S., DAMATTA, F. M. Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. *Plant Physiology and Biochemistry* 46, 884-890. (2008)
- DAMATTA F. M.; CUNHA, R. L.; ANTUNES, W. C.; MARTINS S. C. V.; ARAÚJO, W. L.; FERNIE A.; MORAES, G. A. B. K. In field-grown coffee trees source-sink manipulation alters photosynthetic rates, independently of carbon metabolism, via alterations in stomatal function. *New Phytologist* 178, 348-357. (2008)
- PAUL, M. J.; PELLNY, T. K. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany* 54, 539-547. (2003)
- PRAXEDES, S. C., DAMATTA, F. M.; LOUREIRO, M. E.; FERRÃO, M. A. G.; CORDEIRO, A. T. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var *kouillou*) leaves. *Environmental and Experimental Botany* 56, 263-273. (2006)
- RONCHI, C. P.; DAMATTA, F. M.; BATISTA, K. D.; MORAES, G. A. B. K.; LOUREIRO, M. E.; DUCATTI, C. Growth and photosynthetic down-regulation in *Coffea arabica* in response to restricted root volume. *Functional Plant Biology* 33, 1013-1023. (2006)
- SAEG- *Sistema para Análises Estatísticas*. 2007. *Version 9.1*. Viçosa, Brasil: Fundação Arthur Bernardes.
- STITT, M. Manipulation of carbohydrate partitioning. *Current Opinion in Biotechnology* 5, 137-143. (1994)
- STITT, M.; KRAPP, A. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant, Cell & Environment* 22, 583-621. (1999)
- URBAN, L.; LÉCHAUDE, M., L, P. Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. *Journal of Experimental Botany* 55, 2075-2085. (2004)