

## FOTOSSÍNTESE E ACUMULAÇÃO DE ÁCIDO ABCÍSI EM *LUPINUS ALBUS* SUJEITO A STRESS HÍDRICO

Correia M.J. (P), David M.M. & Barrote I.

Universidade do Algarve, CDCTPV, Campus de Gambelas, 8000-117 Faro, Portugal.

### ABSTRACT

The objective of the present work was to assess whether the depression of photosynthetic activity in droughted *Lupinus albus* L. plants was more closely associated with carbohydrate build-up or ABA accumulation. With that purpose we have measured the concomitant drought-induced changes in photosynthetic capacity and the concentrations of Rubisco, chlorophylls, non-structural carbohydrates and ABA in young and old leaves of white lupin plants. Although Rubisco and chlorophylls contents did not decrease with water stress, the photosynthetic capacity was decreased by soil drying, the decline in photosynthesis being more tightly related with ABA accumulation than with sugar content. In contrast to droughted plants, ABA feeding to intact plants resulted in a significant decrease in Rubisco and chlorophyll content. However, no increase in shoot ABA content was detected in ABA-fed plants. Therefore this work is not conclusive as to the correlation between photosynthetic capacity and ABA accumulation in droughted white lupin plants being causal or not.

### INTRODUÇÃO

Em geral, em condições de défice hídrico a actividade fotossintética decresce concomitantemente com a acumulação de ácido abcísico (ABA) e açúcares não estruturais (Chaves 1991). Apesar de os efeitos do ABA na fotossíntese serem na maior parte dos casos exclusivamente estomáticos, há alguma evidência de que a exposição a ABA por longos períodos pode afectar negativamente a capacidade fotossintética. São disso exemplo resultados que mostram um acentuado decréscimo na transcrição dos genes da pequena subunidade da Rubisco e da proteína de ligação à clorofila (Bartholomew *et al.* 1991). Contudo, não pode ser excluída a hipótese de as alterações ao nível da actividade de enzimas fotossintéticas constituírem respostas indirectas, devido a uma acção prolongada das baixas concentrações intercelulares de CO<sub>2</sub>, resultantes do fecho estomático induzido pelo ABA. Por outro lado, o ABA também inibe o crescimento foliar (Munns & Sharp 1993). Daí poderá resultar a acumulação de açúcares nas folhas, a qual poderá estar na origem da limitação da taxa de assimilação do carbono (Sheen 1990; Stitt 1991). No sentido de avaliar se existe uma relação causal entre o ABA e/ou o aumento no teor em hidratos de carbono solúveis na folha e a limitação da fotossíntese ao nível do cloroplasto, no presente trabalho efectuou-se a determinação simultânea da capacidade fotossintética (através da taxa de evolução de O<sub>2</sub>, e da determinação da quantidade da enzima de carboxilação, Rubisco) e das concentrações endógenas de ABA e de açúcares em plantas sujeitas a défice hídrico do solo. Num 2º ensaio determinou-se o efeito de aplicações de ABA na água de rega sobre a actividade fotossintética.

### MATERIAL E MÉTODOS

O défice hídrico foi imposto a plantas envasadas, sendo o estado hídrico do solo manipulado através da variação da percentagem de água perdida por transpiração que era repostada por rega, o que foi feito de 2 em 2 dias: nas plantas controlo o nível hídrico do solo era repostado à capacidade de campo, mediante compensação total das

perdas transpiratórias; as restantes plantas foram sujeitas a níveis de défice hídrico decorrentes da reposição de sómente um terço das perdas transpiratórias durante um período de 18 dias. Foi ainda realizado um outro ensaio no qual se procedeu à aplicação de ácido abscísico (10  $\mu\text{M}$ ) na água de rega, durante 3 semanas. A capacidade fotossintética ao nível do cloroplasto foi avaliada através de determinações da taxa de libertação de oxigénio a irradiância saturante e numa atmosfera com 5% de  $\text{CO}_2$ , utilizando eléctrodos de oxigénio (Hansatech). O teor em Rubisco foi quantificado por método ELISA (Catt & Millard, 1988). As clorofilas foram quantificadas em extractos de acetona segundo Lichtenthaler (1987) e os açúcares foram quantificados segundo Stitt *et al.* (1989). O ácido abscísico foi quantificado em extractos aquosos (extração a 4°C, durante 24 horas) por ELISA do tipo competitivo utilizando anticorpos monoclonais (PGR1, Sigma). O ABA conjugado foi hidrolisado em NaOH 0.1 N, a 60°C e durante 10 minutos. No ensaio de imposição de défice hídrico as determinações foram efectuadas em folhas de 2 idades: folhas recém-expandidas (jovens) e folhas maduras mas não senescentes, as quais já tinham terminado a expansão antes da imposição do défice hídrico (velhas). Folhas de idade intermédia foram sujeitas a análise no caso do ensaio de aplicação exógena de ABA.

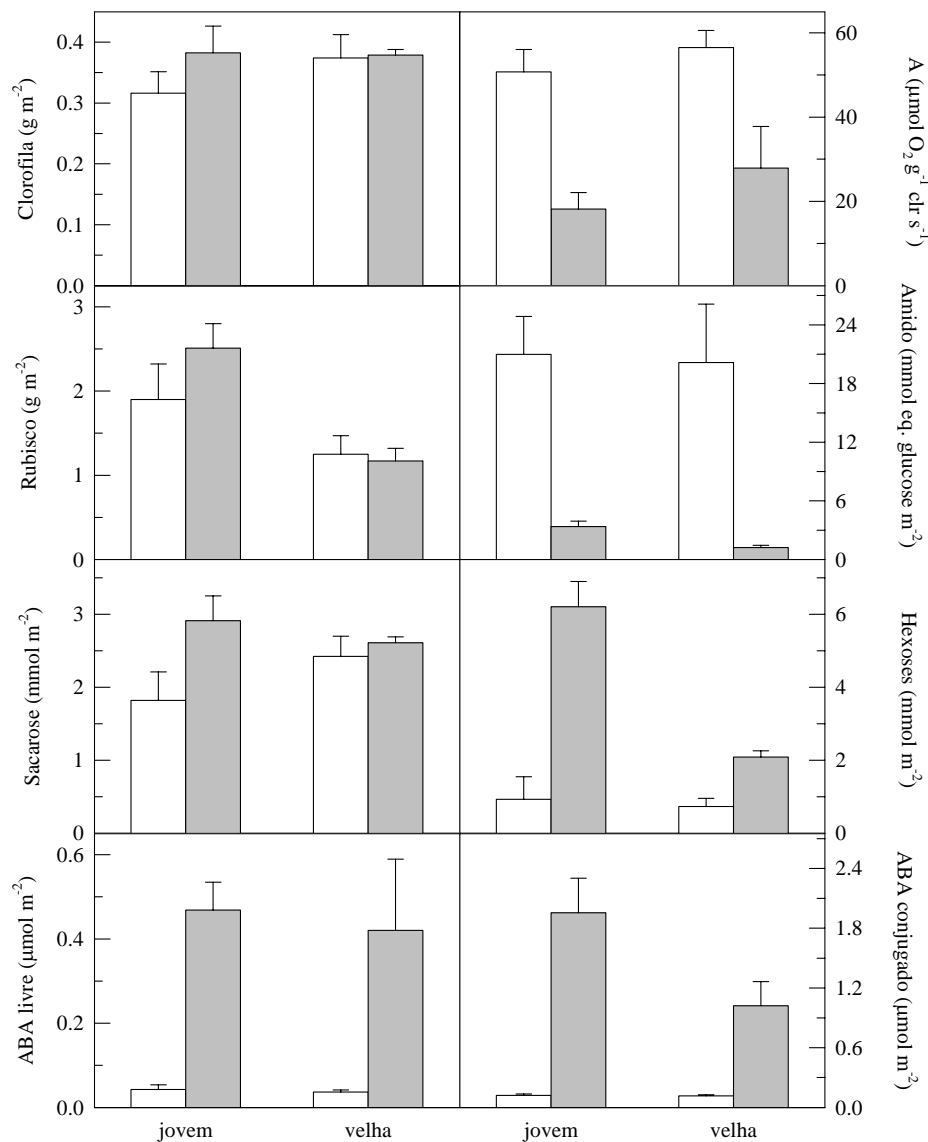


Fig. 1 - Capacidade fotossintética e concentrações de clorofila, Rubisco, hidratos de carbono não estruturais e ácido abscísico em folhas de plantas controlo (barras brancas) e sujeitas a stress hídrico (barras cinzentas)

## RESULTADOS

Ao fim de 18 dias de rega deficitária, o teor relativo em água no solo decresceu para 40% da capacidade de campo. Independentemente da idade foliar, em resultado da secura do solo o potencial hídrico foliar decresceu de  $-0.4$  MPa (nas folhas das plantas controlo) para  $-1.2$  MPa, enquanto que o teor relativo em água das folhas sujeitas a stress atingiu um valor médio de 73%, em comparação com mais de 90% nas folhas do controlo. Como se pode verificar na Fig. 1, quer nas folhas jovens como maduras, os défices hídricos não afectaram negativamente as concentrações de clorofila e de Rubisco. Apesar disso a capacidade fotossintética decresceu significativamente nas folhas das plantas sujeitas a défice hídrico, sendo este decréscimo ligeiramente mais acentuado nas folhas jovens do que nas folhas velhas. A concentração de amido decresceu acentuadamente com os défices hídricos. Em contrapartida, a concentração de açúcares solúveis (em particular hexoses) aumentou significativamente, principalmente no caso das folhas mais jovens. As folhas mais jovens foram também aquelas em que se registou um mais acentuado aumento na concentração de ácido abcísico conjugado. Quando se consideram os valores individuais, a capacidade fotossintética encontrava-se negativamente correlacionada não só com o teor em hexoses ( $F=11.9$ ,  $P=0.004$ ) como com a razão hexoses/sacarose ( $F=12.2$ ,  $P=0.004$ ). Contudo, a relação era ainda mais estreita no caso da relação entre a actividade fotossintética e o teor em ácido abcísico quer livre ( $F=15.1$ ,  $P=0.002$ ), como conjugado ( $F=16.2$ ,  $P=0.001$ ).

### Tabela 1

Efeito da aplicação exógena de ácido abcísico na água de rega, durante 3 semanas, sobre a capacidade fotossintética (A) e concentrações de clorofila, Rubisco e ácido abcísico em folhas maduras de *L. albus*. Os valores apresentados representam médias  $\pm$  erro padrão de 4 réplicas.

	A ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	Clorofila ( $\text{g m}^{-2}$ )	Rubisco ( $\text{g m}^{-2}$ )	ABA livre ( $\text{nmol m}^{-2}$ )	ABA conjugado ( $\text{nmol m}^{-2}$ )
testemunha	$56.5 \pm 4.1$	$0.32 \pm 0.04$	$1.49 \pm 0.29$	$36.6 \pm 5.2$	$116 \pm 13$
ácido abcísico	$49.2 \pm 4.4$	$0.19 \pm 0.02$	$1.11 \pm 0.19$	$28.9 \pm 6.8$	$131 \pm 14$

Como se pode verificar na Tabela 1, contrariamente ao verificado nas plantas sujeitas a défice hídrico, a aplicação exógena de ABA afectou a concentração de clorofila de uma forma negativa, tendo-se também registado um decréscimo menos acentuado no teor em Rubisco. Contudo, não foi detectado qualquer incremento na concentração de ABA livre ou conjugado, quer ao nível das folhas (Tabela 1) como do xilema.

## DISCUSSÃO

No decurso do ensaio de imposição de défice hídrico no solo, as variações na taxa fotossintética encontravam-se mais estreitamente relacionadas com a concentração de ABA do que com a concentração de açúcares. A forte correlação, observada no ensaio de imposição de défice hídrico, entre o teor foliar em ácido abcísico e a capacidade fotossintética poderá sugerir a existência de uma relação causal entre aquelas variáveis. Contudo, a demonstração dessa causalidade requer a verificação de que a aplicação exógena de ABA é capaz de reproduzir a limitação na actividade fotossintética observada nas plantas sujeitas a défices hídrico. No ensaio de aplicação exógena de ácido abcísico, verificou-se um decréscimo no teor em clorofila e Rubisco (Tabela 1), o que está de acordo com evidências experimentais existentes de que a exposição ao ABA por períodos

prolongados pode provocar um decréscimo da expressão de genes fotossintéticos (Bartholomew *et al.* 1991). Contudo, a análise do teor foliar em ABA revelou que a aplicação exógena desta fitohormona na água de rega não se traduziu num aumento da sua concentração foliar. Também ao nível do xilema não se registaram diferenças entre plantas, tal como Mulholland *et al.* (1996) verificaram após 2 semanas de rega com ABA. A manutenção de baixos níveis de ABA na parte aérea quando plantas bem hidratadas são regadas com soluções daquela fitohormona poderá ser atribuída à elevada capacidade que as células hidratadas têm de degradar o ácido abscísico. Quanto ao decréscimo do teor em clorofila e Rubisco verificado nas plantas regadas com ABA, este poderá ter sido provocado pela eventual produção de etileno nas folhas em resultado de o ácido abscísico estimular a síntese nas raízes do precursor imediato do etileno (Gómez-Cardenas *et al.* 1996). Independentemente de esta hipótese se vir ou não a confirmar, este ensaio não permite tirar qualquer conclusão quanto ao papel da acumulação foliar de ácido abscísico poder ou não explicar o decréscimo da actividade fotossintética observado nos ensaios de imposição de défices hídricos.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Bartholomew D.M., Bartley G.E. & Scolnik P.A. 1991. *Plant Physiol.* **96**, 291-296.
- Chaves M.M. 1991. *J. Exp. Bot.* **42**, 1-16.
- Gómez-Cadenas A., Tadeo F.R., Talon M. & Primo-Millo E. 1996. *Plant Physiol.* **112**, 401-408.
- Lichtenthaler H.K. 1987. *Meth. Enzymol.* **148**, 349-382.
- Mulholland B.J., Taylor I.B., Black C.R. & Roberts J.A. 1996. *J. Exp. Bot.* **47**, 551-556.
- Munns R. & Sharp R.E. 1993. *Aust. J. Plant Physiol.* **20**, 425-437.
- Sheen J. 1990. *Plant Cell* **2**, 1027-1038.
- Stitt M. 1991. *Plant, Cell Environ.* **14**, 741-762.
- Stitt M., McC Lilley R., Gerhardt R. & Heldt H.W. 1989. *Meth. Enzymol.* **174**, 518-636.