

NÍVEIS DE AÇÚCARES E ATIVIDADE DE INVERTASES EM  
CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum officinalis* SPP.)  
I. CULTIVARES NA 56-79 E CB41-76

Irenice M.S. Vieira<sup>1</sup>

Enio T. de Oliveira<sup>2</sup>

Luiz A. Gallo<sup>2</sup>

Telma F.C. Batista<sup>3</sup>

Rosana C. Rodrigues<sup>3</sup>

Otto J. Crocomo<sup>2</sup>

## INTRODUÇÃO

Os processos bioquímicos associados com os mecanismos reguladores do sistema fonte-reservatório estão diretamente ligados à atividade de enzimas durante o desenvolvimento da cana-de-açúcar. Essas mudanças estão estreitamente relacionadas com o metabolismo da sacarose, o que sugere que tanto as invertases como as sintetases desempenham função vital no controle daquele sistema. A integração dos processos relativos a cada um de seus compartimentos é que irá determinar o tamanho do reservatório e a quantidade do produto.

Pelo exposto e tendo em vista que as invertases interferem em todos os ciclos do desenvolvimento da cana-de-açúcar, julga-se necessária a caracterização desse parâmetro bioquímico para a manipulação dentro do ambiente, como parte de um programa para obtenção de cultivares geneticamente melhorados. Além disso, nas últimas décadas muitas informações têm sido obtidas a respeito das funções das vá-

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências Agrárias do Pará (FCAP). Caixa Postal 917, CEP 66077-530 Belém-PA.

<sup>2</sup> Centro de Biotecnologia Agrícola (CEBTEC) - Dep. de Química - ESALQ/USP. Caixa Postal 9, CEP 13418-900 Piracicaba-SP.

<sup>3</sup> Bolsista - FCAP. Belém-PA.

rias formas isoenzimáticas de invertases que funcionam nos diferentes estágios do desenvolvimento da cana-de-açúcar. Há evidências de que existe mais de uma enzima invertase e que cada uma delas requer diferentes condições para que a sua ação seja maximizada, sendo que as invertases ácidas ocorrem nas plantas superiores como enzimas solúveis e como enzimas ligadas à parede celular (GLAZIOU & GAYLER, 1972).

Os cultivares NA56-79 e CB41-76 foram utilizados neste trabalho com o objetivo de comparar as atividades das invertases e os diferentes componentes de açúcar, visando à compreensão das diferenças varietais relativas à função dessas enzimas no controle de distribuição e utilização de sacarose, além de avaliar os níveis das diferentes formas isoenzimáticas dessas enzimas (ácida solúvel, neutra e da parede celular) no decorrer do crescimento da cana-de-açúcar cultivada a campo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Características da Área Experimental

O presente trabalho foi realizado em área de Latossolo Vermelho Escuro-Orto (LE), situada no Município de Araras-SP (latitude 22°18'S; longitude 47°23'W e altitude de 617 m). O clima da região é do tipo CWA, ou seja, mesotérmico de inverno seco (que se estende de abril a setembro) e de verão chuvoso (de outubro a março), típico das zonas tropicais de baixa altitude. O regime térmico do ar acompanha de perto essas duas estações, apresentando temperaturas médias mensais elevadas no verão e mais baixas no inverno. O plantio foi feito em janeiro e as coletas realizadas entre maio e setembro do mesmo ano.

O preparo do solo e das mudas, o plantio e as adubações foram realizados do modo convencional, limitando-se o presente trabalho à coleta de amostras no campo, dentro dos talhões que estavam sob controle do raquitismo. Na escolha dos talhões foram levadas em consideração, na época

do plantio, homogeneidade do solo e população do canavial. Para cada cultivar escolheu-se um talhão, no qual foi demarcada uma sub-área útil, constituída por seis linhas de cana-de-açúcar, cada uma com 50 m de comprimento e 1,50 m de espaçamento entre as linhas. Cada grupo de 3 linhas formou uma parcela ou unidade experimental.

### Preparo das Amostras

Em cada amostragem dos cultivares NA56-79 e CB41-76 foram colhidas 10 plantas de cada unidade experimental. As plantas foram colhidas ao acaso e em zigue-zague e, conforme a finalidade, imediatamente separadas em folhas (lâminas e bainha) e internódios (colmos). As folhas (lâminas + bainhas) correspondiam às posições +3 e +4 e os internódios eram 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> contados a partir da base do colmo, conforme descrito em SUZUKI (1982).

Foram feitas 5 colheitas de folhas, mensalmente, a primeira delas aos 3 meses, em abril. Obedecendo às curvas de maturação dos cultivares (PLANALSUCAR, 1983), as amostras de folhas foram colhidas aos 3, 4, 5, 6 e 7 meses de idade. As de colmos, foram colhidas aos 5, 6 e 7 meses.

As folhas e os internódios, estes triturados em desintegradores manuais, foram colocados, separadamente, em sacos plásticos, acondicionados em caixas de isopor com gelo seco e transportados para o laboratório.

As amostras (lâminas foliares, bainhas e colmos) foram preparados em duplicata, ou seja, das folhas destacaram-se apenas os 20 cm centrais da lâmina foliar sem a nervura principal e o terço médio da bainha, desprezando-se os 2 cm laterais. Em seguida, essas amostras foram lavadas com água destilada, enxugadas com papel absorvente, grosseiramente picadas e acondicionadas em sacos de alumínio perfurados, os quais foram liofilizadas. Depois disto, todas as amostras foram imediatamente pesadas e moídas. O pó resultante foi acondicionado em frascos de vidro hermeticamente fechados e mantidos em dessecadores sob vácuo, à temperatura  $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### Preparo dos Extratos e Determinação da Atividade Específica das Enzimas

O preparo dos extratos de enzimas solúveis (ácida e neutra) e da invertase ligada à parede celular dos tecidos da lâmina foliar, bainha e colmo, baseou-se em adaptação feita às metodologias descritas por HATCH *et alii* (1963), RICARDO & AP REES (1970) e VATTUONE *et alii* (1981), utilizando um meio de homogeneização específico para cada tecido (PRADO *et alii*, 1978). Amostras de 500 mg de lâminas e bainhas foliares liofilizadas e moídas foram suspensas e homogeneizadas em meio constituído pelo tampão fosfato de sódio 50mM (pH 7,5), com 2-mercaptoetanol 1 mM,  $MnSO_4$  5  $\mu M$  750 mg de  $Na_2SO_3$  (FLEISCHMACHER *et alii*, 1980; SAMPIETRO *et alii*, 1980; VIEIRA, 1983). O meio de homogeneização utilizado foi o descrito por QUIROGA (1977): água destilada, tampão fosfato de sódio 20 mM (pH 7,5), com ácido etileno-diaminotetracético (EDTA) 1 mM; tampão de fosfato de sódio 20 mM (pH 7,5) com 2-mercaptoetanol 1 mM; tampão fosfato de sódio 20 mM (pH 7,5) com 2-mercaptoetanol 1 mM +  $MnSO_4$  5  $\mu M$ . Para a incubação das diferentes formas enzimáticas de invertases utilizou-se uma mistura padrão baseada em VATTUONE *et alii* (1981) e VIEIRA (1983) com modificações. Para o acompanhamento do efeito do pH sobre a atividade de invertases, as misturas de reação foram preparadas com: tampão KCl - HCl 0,2 M, pH 1,5 - 2,2; tampão glicina - HCl 0,2 M (pH 2,0 - 3,0); tampão acetato de sódio 0,2M (pH 3,65 - 5,95) e tampão fosfato de sódio 0,2 M (pH 6,5 - 9,0) (VATTUONE *et alii*, 1981). A melhor condição de incubação foi de  $37 \pm 1^\circ C$ . Aliquotas de 200  $\mu L$  foram utilizadas para a determinação da atividade enzimática em meio de reação padrão (volume final de 1000  $\mu L$ ) contendo também 100  $\mu L$  de sacarose e 750  $\mu L$  dos seguintes tampões: a) invertase ácida solúvel: acetato de sódio 0,2 M, pH 5,5; b) invertase neutra: acetato de sódio 2,0 M, pH 7,0; c) invertase da parede da lâmina foliar: acetato de sódio 0,2 M, pH 3,8; d) invertase da bainha foliar: acetato de sódio 0,2 M pH 3,5; e) invertase da parede celular do colmo: acetato de sódio 0,2 M, pH 2,2. O meio de reação foi incubado a  $37^\circ C$  e a

reação interrompida aos 60 min pela adição de 1 ml do reagente de Somogyi. Os açúcares redutores produzidos pela hidrólise da sacarose foram determinados pelo método arsenomolibdico (NELSON, 1944).

### **Preparo dos Extratos e Determinação dos Teores de Açúcares Redutores e Açúcares Solúveis Totais**

Para a determinação de açúcares redutores e solúveis totais, o extrato foi preparado a partir do material vegetal liofilizado e moído, utilizando metanol a 80% a 85°C, sendo os açúcares redutores dosados espectrofotometricamente segundo NELSON (1944), detalhado em OCHOA-ALEJO (1980) e VIEIRA (1983), lendo-se a absorbância a 530 nm. Os teores de açúcares solúveis totais foram dosados pelo método do fenol sulfúrico descrito por DUBOIS et alii (1956), lendo-se a absorbância a 420 nm no espectrofotômetro.

### **Proteína Solúvel Total**

A dosagem de proteína solúvel total foi realizada pelo método de LOWRY et alii (1951), a partir do extrato enzimático previamente diluído, tendo soro albumina bovina como padrão, lendo-se ao espectrofotômetro a 660 nm.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Atividade Específica das Invertases Ácida Solúvel (IAS) e Neutra (IN) e Invertase Ligada à Parede Celular (IP) em Lâminas Foliares dos Cultivares NA56-79 e CB41-76**

As atividades específicas das invertases medidas em condições ácidas e neutras variaram muito com a idade da planta, com o tipo de tecido e com o cultivar de cana-de-açúcar estudado. A atividade das diferentes invertases nos tecidos de lâmina foliar dos dois cultivares (Figuras 1a e 1b) mostrou, nos períodos iniciais de cultivo, padrão quase constante, com tendência de decréscimo. Para o cultivar

CB41-76, os ligeiros decrêscimos de atividade das invertases IAS e IN ocorreram imediatamente entre o terceiro e o quarto mês, voltando, a seguir, a sofrer acrêscimos até o sexto mês de cultivo, quando a IAS decresceu acentuadamente e a IN continuou a crescer. Durante todo o período de cultivo a IN permaneceu com valores de atividade praticamente constantes. Em relação ao cultivar NA56-79, os decrêscimos de atividade das diferentes invertases foram ligeiros e contínuos até o sexto mês de cultivo, quando a IN sofreu acentuado acrêscimo nos seus valores.

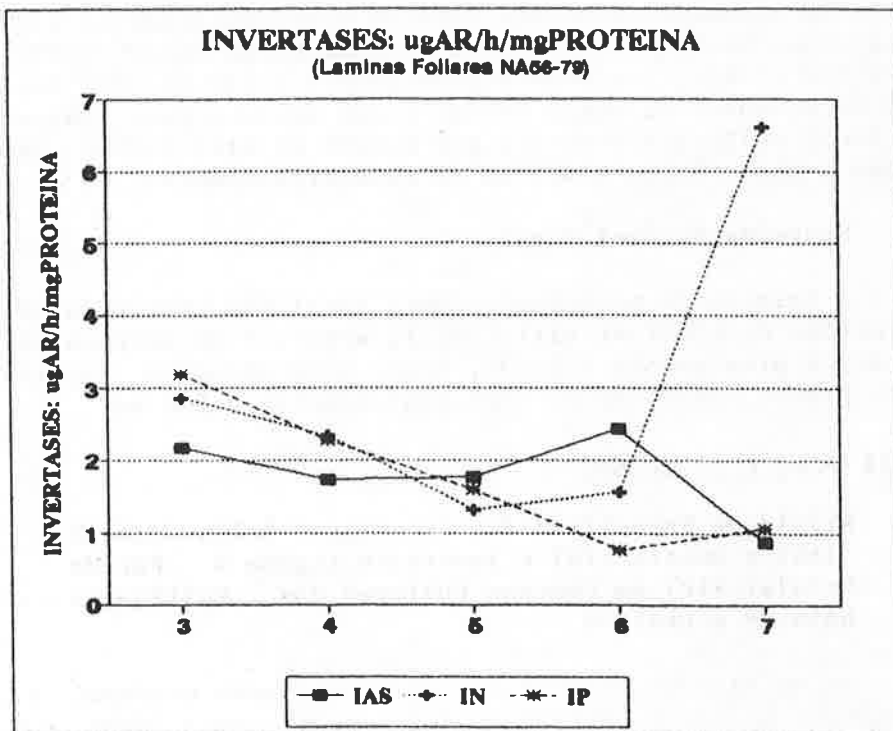
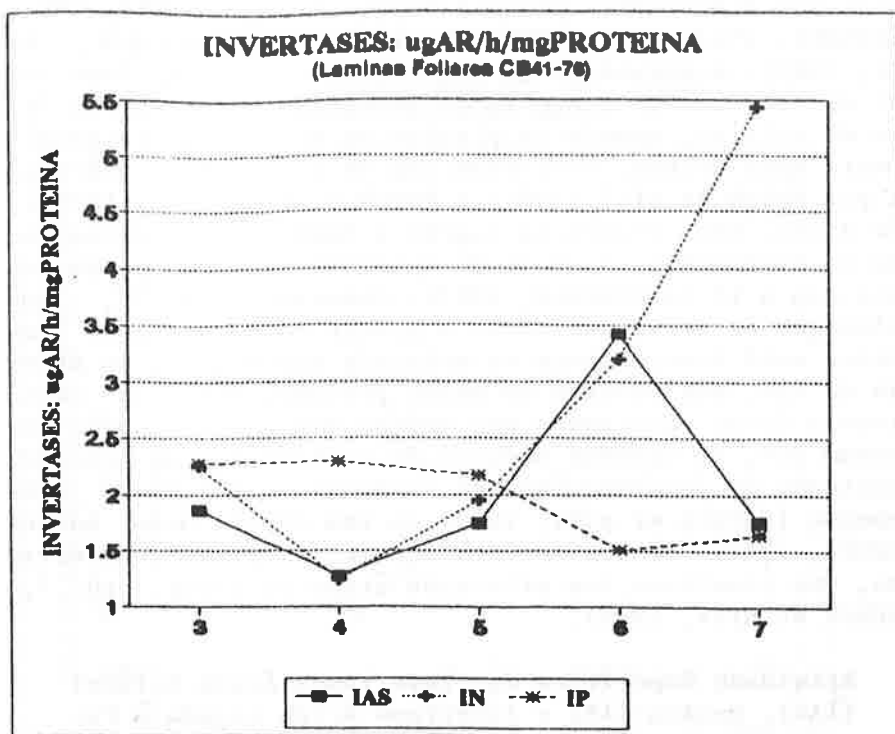


Figura 1a. Atividade específica das invertases ácida solúvel (IAS), neutra (IN) e invertase ligada à parede celular (IP) em lâminas foliares do cultivar NA56-79.



**Figura 1b.** Atividade específica das invertases ácida solúvel (IAS), neutra (IN) e invertase ligada à parede celular (IP) em lâminas foliares do cultivar CB41-76.

Pelos resultados, observa-se que a atividade IAS nas lâminas foliares, ao contrário da IP, foi maior entre o quinto e o sexto mês, nos dois cultivares, com posterior decréscimo, indicando o início da fase de maturidade semelhante ao observado por SUZIKI (1982). Esses resultados concordam com os obtidos por MADAN *et alii* (1980), os quais, trabalhando com quatro cultivares classificados como de alto açúcar, neles constatarem menor atividade do que nos de baixo açúcar. De um modo geral, tendências semelhantes têm sido observadas em diferentes cultivares de cana-de-

açúcar por diferentes pesquisadores (HATCH et alii, 1963; ALEXANDER, 1967; RIZK & NORMAND, 1968; FLEISCHMACHER et alii, 1980). A atividade da IN, com decréscimo na fase inicial de crescimento e acentuado acréscimo nos períodos finais de cultivo, quando as plantas se encontram fisiologicamente mais velhas, concordam com os resultados observados por MADAN et alii (1981) e HATCH & GLASZIOU (1963). Além disso, essa tendência sugere o envolvimento desta enzima no controle do acúmulo de sacarose no vacúolo, em conjunto com a IP (ALEXANDER, 1973). Observa-se, ainda, que a elevação da atividade da IN a partir do quinto mês de cultivo está inversamente relacionada com a queda de atividade da IAS, que ocorreu no mesmo período. Mudanças dessa natureza foram observadas por muitos autores, os quais relataram que, em tecidos maduros de cultivares com elevada capacidade de armazenamento de sacarose, a IAS não está presente (SACHER et alii, 1963) ou tem níveis mais baixos (SUZUKI, 1982). Nesses tecidos ocorre, em altas concentrações, uma invertase com atividade ótima em valor pH 7,0 (SACHER et alii, 1963).

**Atividade Específica das Invertases Ácida Solúvel (IAS), Neutra (IN) e Invertase Ácida Ligada à Parede Celular (IP) na Bainha Foliar dos Cultivares NA56-79 e CB41-76**

As invertases dos tecidos da bainha (**Figuras 2a e 2b**) mostraram, de maneira geral, decréscimo na atividade específica, relacionado com a idade da planta. No final do período, ambas as enzimas IP e IN tenderam a permanecer em níveis baixos, enquanto que a IAS tendeu invariavelmente a desaparecer. Comparativamente, observa-se que nos meses iniciais havia predominância da isoenzima ácida da parede celular sobre a IAS e IN. Entretanto, à medida que os tecidos tornaram-se fisiologicamente mais diferenciados, as enzimas intracelulares mostraram tendência de aumentar e logo decrescer em níveis bem próximos até o final do período de cultivo.



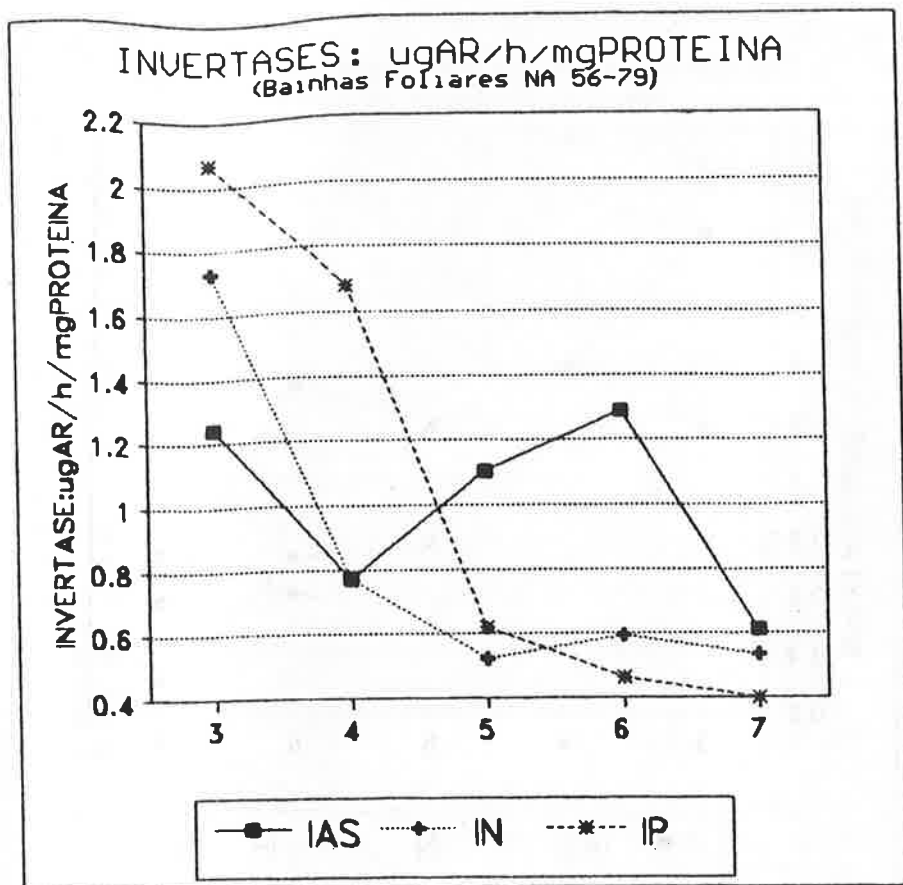
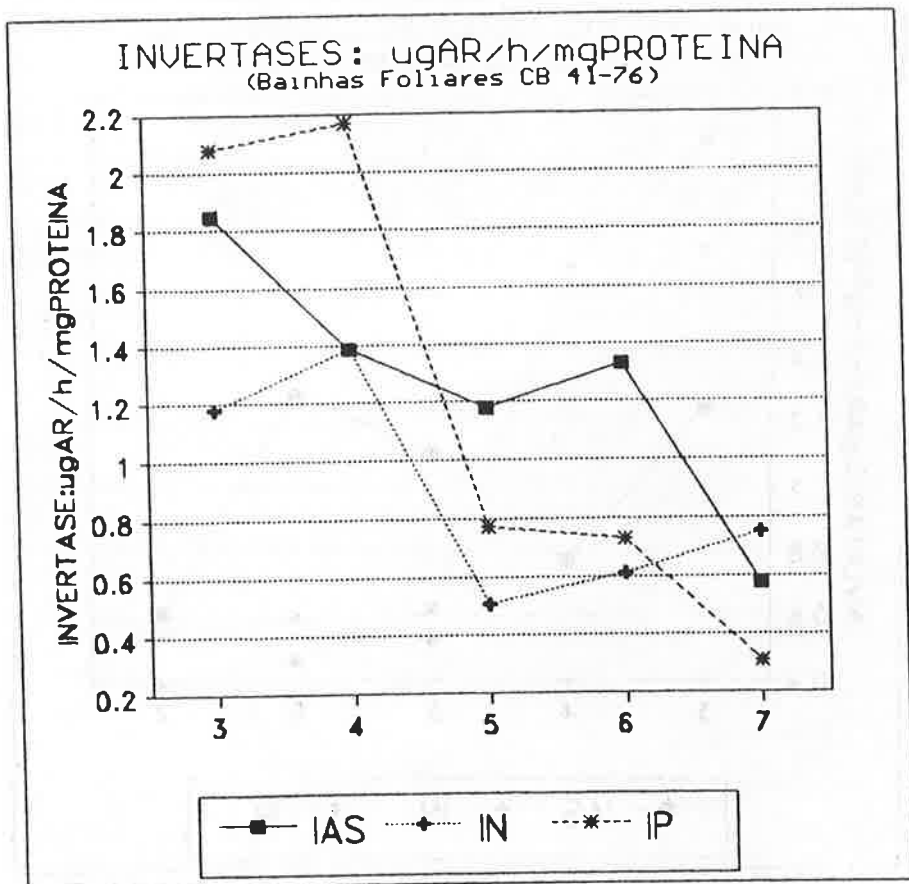


Figura 2a. Atividade específica das invertases ácida solúvel (IAS), neutra (IN) e invertase ligada à parede celular (IP) em bainhas foliares do cultivar NA56-79.



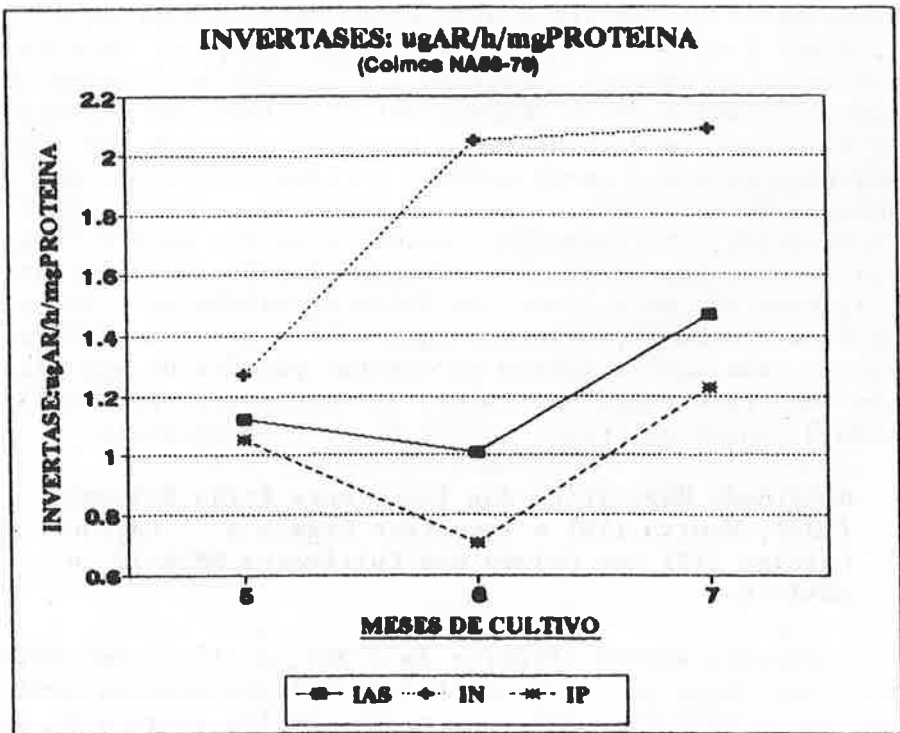
**Figura 2b.** Atividade específica das invertases ácida solúvel (IAS), neutra (IN) e invertase ligada à parede celular (IP) em bainhas foliares do cultivar CB41-76.

A atividade da IP da bainha repetiu a mesma tendência da IP das lâminas foliares, ou seja, declinou à medida que a planta se desenvolvia. Esta tendência pode estar relacionada com a proposição de PRADO et alii (1978), de que existe alguma analogia entre a bainha foliar e as invertases de tecidos maduros e em crescimento. Essa analogia depende provavelmente da compartimentalização extracelular de enzimas, o que é comprovado pelas diferenças de pH de invertases ligadas às paredes celulares dos tecidos analisados. O conjunto dessas ações é responsável pela inversão da sacarose no espaço intercelular e a provável absorção das hexoses para atingir, entre outros, o objetivo último, que é o acúmulo de sacarose no vacúolo. A IAS no cultivar CB41-76 apresentou, inicialmente, tendência de diminuir e finalmente de aumentar e cair bruscamente. Tendência semelhante foi apresentada pela invertase ácida da bainha de folhas do cultivar NA56-79, sugerindo que cultivares com características semelhantes possam apresentar padrões de atividade de invertase ácida similares. Tal observação pode estar ligada à função da enzima no metabolismo da sacarose.

#### **Atividade Específica das Invertases Ácida Solúvel (IAS), Neutra (IN) e Invertase Ligada à Parede Celular (IP) nos Colmos dos Cultivares NA56-79 e CB41-76**

Comparativamente (Figuras 3a e 3b), a atividade enzimática em colmos do cultivar CB41-76 diferiu consideravelmente da do NA56-79 quanto aos níveis de IAS sobre a IN, no primeiro caso com tendência a declinar com a idade da planta. No colmo do NA56-79 observou-se tendência oposta, pois o nível de atividade da isoenzima neutra predominou sobre a da ácida. Ocorreu elevada atividade de IAS nos meses de maior desenvolvimento do colmo do cultivar CB41-76, que pode estar associada à função dessa enzima na regulação do crescimento de tecidos imaturos após o término do alongamento celular. Isto está de acordo com HAWKER (1985), o qual demonstrou que variedades de cana-de-açúcar que retêm esta forma de invertase não armazenam altos níveis de sacarose.

Observa-se, ainda, que as invertases neutras detectadas no colmo apresentam padrões semelhantes de comportamento, embora geralmente não pareçam relacionados com as características varietais.



**Figura 3a.** Atividade específica das invertases ácida solúvel (IAS), neutra (IN) e invertase ligada à parede celular (IP) em colmos do cultivar NA56-79.

Quanto à invertase da parede celular (IP), nos meses de maior crescimento, sua atividade apresentou tendência de aumentar à medida que o tecido do colmo tornou-se fisiologicamente mais maduro. Esta tendência contraria afirmações de SAMPIETRO *et alii* (1980) de que existe uma analo-

gia entre as invertases do colmo e as das bainhas foliares, embora esses autores não se tenham referido às invertases ligadas às paredes celulares. Concordam, entretanto, com os resultados em internódios de avei em desenvolvimento obtidos por JONES & KAUFMAN (1975), os quais observaram que a atividade da IP aumentou rapidamente durante a fase de crescimento de tecidos imaturos. Aumentos semelhantes não foram observados em tecidos de colmo maduros. Infere-se desses fatos que a hidrólise da sacarose na superfície da célula por uma invertase ácida ligada à parede celular é um pré-requisito para a sua absorção, o que está de acordo com as pesquisas de SACHER et alii (1963).

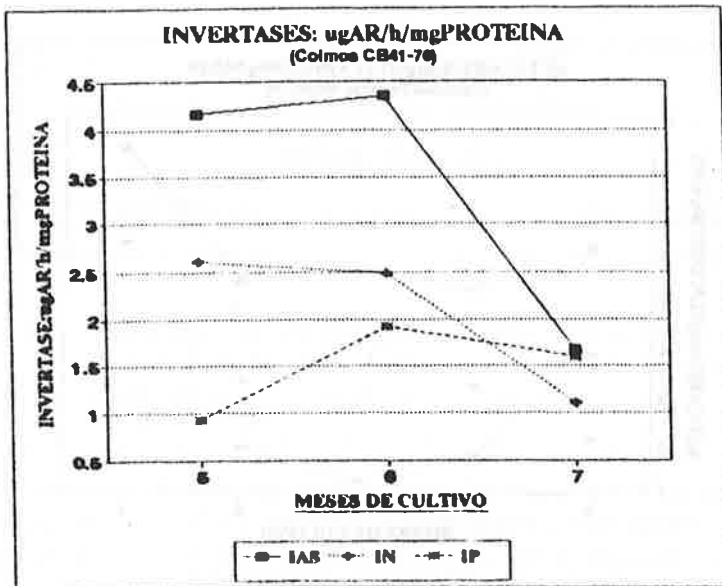


Figura 3b. Atividade específica das invertases ácida solúvel (IAS), neutra (IN) e invertase ligada à parede celular (IP) em colmos do cultivar CB41-76.

### Armazenamento de Açúcares em Relação à Atividade de Invertases em Lâminas Foliaves dos Cultivares NA56-79 e CB41-76

Nas lâminas foliaves de plantas do cultivar CB41-76 a tendência do teor dos açúcares, com exceção da sacarose, foi aumentar com a idade. Em relação à sacarose, observa-se nas Figuras 4a e 4b que, no período inicial do crescimento das folhas, os cultivares NA56-79 e CB41-76 apresentaram teores relativamente semelhantes. Entretanto, com o passar do tempo, o teor de sacarose nas folhas do NA56-79 apresentou tendência de aumentar, enquanto que o da lâmina do CB41-76 foi de se manter constante em níveis relativamente altos.

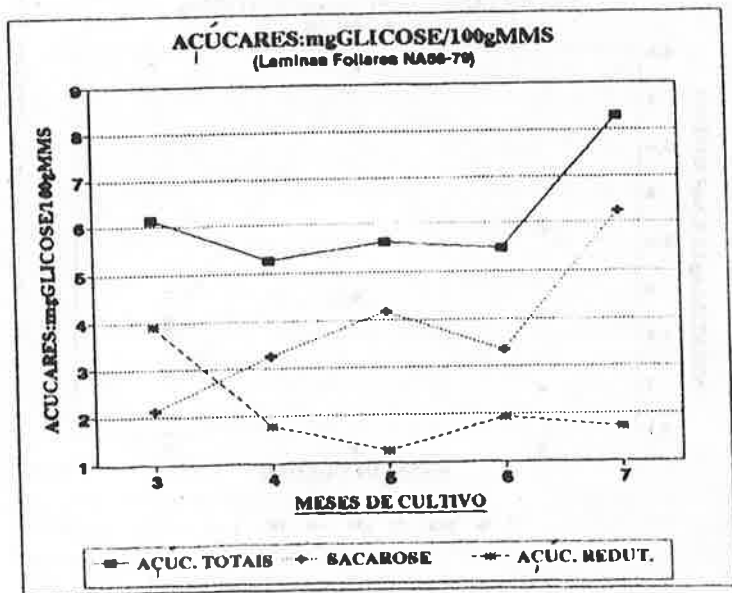


Figura 4a. Conteúdo de açúcares totais, sacarose e açúcares redutores em lâminas foliaves do cultivar NA56-79.

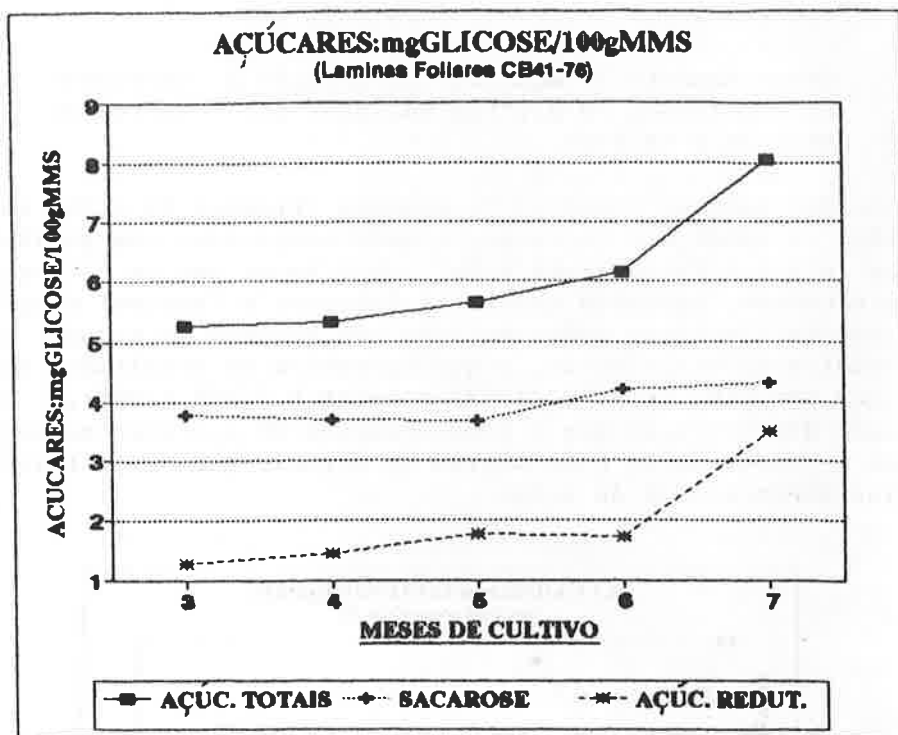


Figura 4b. Conteúdo de açúcares totais, sacarose e açúcares redutores em lâminas foliares do cultivar CB41-76.

Houve tendência na atividade de invertase ácida de aumentar ou diminuir em níveis acentuados, enquanto que a atividade de invertase neutra elevou-se à medida que a planta se desenvolvia. Dessa observação pode-se inferir que a atividade da invertase ácida seja a responsável pelas variações nos teores de açúcar durante o crescimento, pois parece estar estreita e inversamente relacionada com o conteúdo de sacarose e de açúcares totais, o que, aliás, corrobora as observações de GLASZIOU (1960) e GAYLER &

GLASZIOU (1972).

### Armazenamento de Açúcares em Relação à Atividade de Invertases em Bainhas Foliaves dos Cultivares NA56-79 e CB41-76

Nas bainhas foliaves de plantas (Figuras 5a e 5b) mantidas em condições de campo, quando comparadas com as lâminas foliaves (Figuras 4a e 4b), observa-se que os teores de sacarose, açúcares redutores (glucose e frutose) e açúcares totais foram muito maiores nas bainhas em todos os estádios do crescimento, o que corrobora os resultados obtidos por HART et alii (1963) e BATA & SINGH (1986), os quais demonstraram que o armazenamento de açúcares na bainha é transitório, pois migram em seguida para os internódios amadurecidos do colmo.

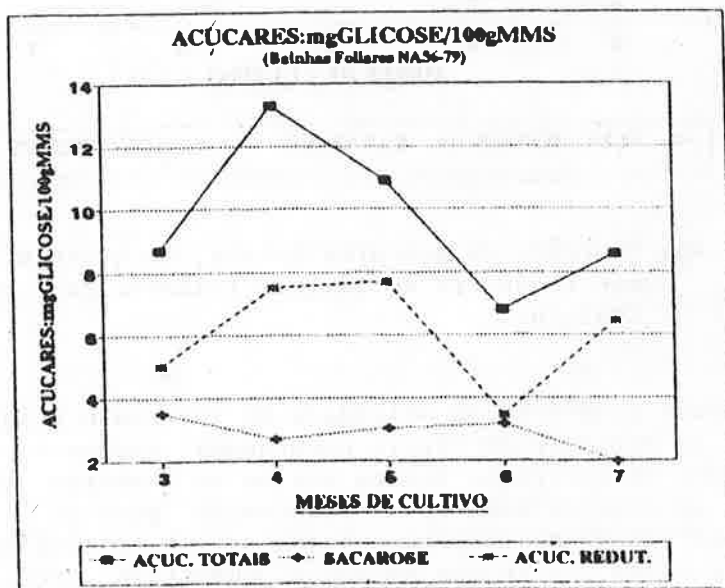


Figura 5a. Conteúdo de açúcares totais, sacarose e açúcares redutores em bainhas foliaves do cultivar NA56-79.



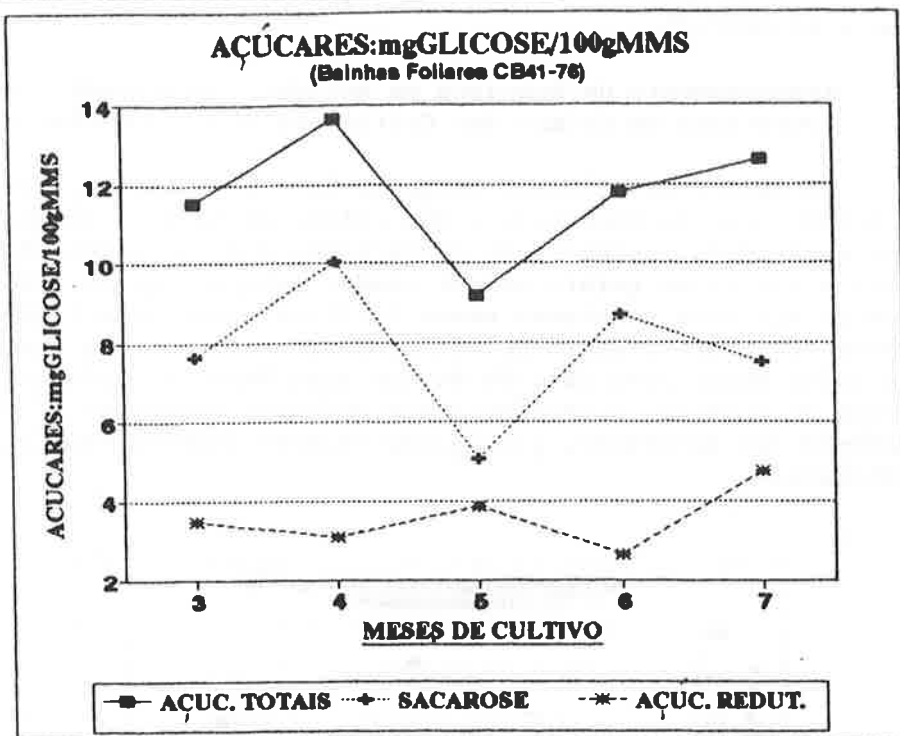


Figura 5b. Conteúdo de açúcares totais, sacarose e açúcares redutores em bainhas foliares do cultivar CB41-76.

PRADO et alii (1978) demonstraram que a atividade da invertase ligada à parede celular das bainhas, ao contrário das outras invertases da cana-de-açúcar, é inibida pelo excesso de sacarose. Este fato pode representar uma especialização da bainha foliar para evitar o desdobramento excessivo da sacarose, a exemplo do que possivelmente ocorreu nas folhas. O teor de açúcares da bainha foliar das plantas variou muito em função dos cultivares. Os dados mostraram que as bainhas do CB41-76 acumularam muito mais sacarose do que as de NA56-79. E a bainha das plantas do cultivar NA56-79 acumulou muito mais açúcares redutores do

que a do CB41-76.

### Armazenamento de Açúcares em Relação à Atividade de Invertases em Colmos dos Cultivares NA56-79 e CB41-76

Os teores de açúcares (Figuras 6a e 6b) mostram, como esperado, que os internódios dos colmos da NA56-79 acumularam quantidades apreciáveis de sacarose e de açúcares totais a partir do quinto mês de idade. Nota-se que os teores de açúcares redutores nesse cultivar aumentaram rapidamente com o crescimento do colmo, sendo a taxa desse aumento muito maior para CB41-76 do que para NA56-79. Após os 6 meses de cultivo, a tendência dos açúcares redutores no NA56-79 foi decrescer, alcançando valores semelhantes aos iniciais.

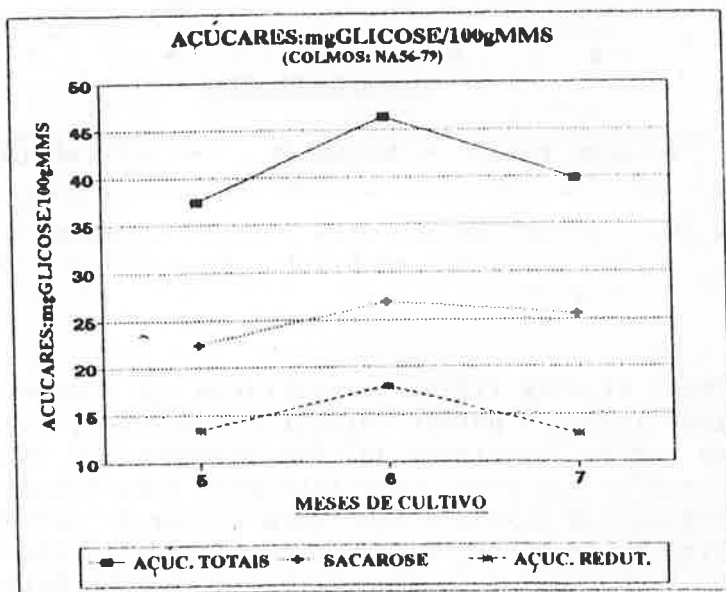


Figura 6a. Conteúdo de açúcares totais, sacarose e açúcares redutores em colmos do cultivar NA56-79.

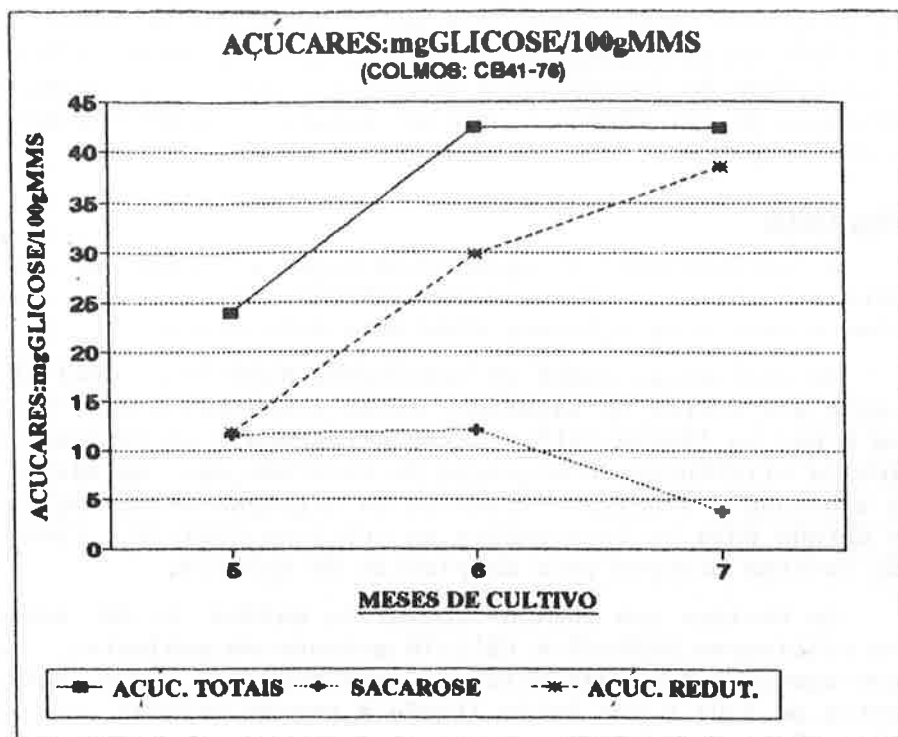


Figura 6b. Conteúdo de açúcares totais, sacarose e açúcares redutores em colmos do cultivar CB41-76.

Os teores de açúcares redutores dos internódios dos colmos do cultivar CB41-76 em crescimento, dos cinco aos sete meses, aumentaram linearmente com a idade da planta. Isto indica que foram acumulados em quantidade muito maior do que a de sacarose. Em termos de açúcares solúveis totais, dos internódios, a tendência foi de acompanhar os aumentos dos teores de açúcares redutores, ocorrendo no final do experimento uma queda no cultivar NA56-79 e um acúmulo no CB41-76. Quando se compara o conteúdo de açúcares redutores com a atividade da invertase ácida apresentada anteriormente, observa-se que o aumento de açúcares reduto

res do quinto para o sexto mês foi acompanhado de queda na atividade dessa enzima. Essa relação inversa entre níveis de atividade de invertases e açúcares redutores no colmo é indicação de uma rápida hidrólise durante o desenvolvimento dos internódios (BATA & SINGH, 1986).

## RESULTADOS

O cultivar CB41-76 apresentou maior atividade de invertase ácida nas folhas, menor conteúdo de sacarose no colmo e teores de açúcares redutores mais altos;

As diferenças entre os cultivares NA56-79 e CB41-76, quanto aos teores de sacarose, estão localizados na bainha e não na lâmina foliar. Essa diferença é atribuída à elevada eficiência de migração da sacarose das lâminas para a bainha e à baixa eficiência de migração desse açúcar da bainha para os internódios no cultivar CB41-76. Condição inversa ocorreu para as plantas do NA56-79;

Os tecidos das lâminas foliar da bainha e do colmo dos cultivares NA56-79 e CB41-76 possuem um conjunto de invertases, sendo duas solúveis (uma ácida pH 5,5 e outra neutra pH 7,0) e uma ácida ligada à parede celular, com um ótimo pH para cada caso;

Os cultivares NA56-79 e CB41-76 comportam-se diferentemente tanto em relação aos níveis de atividade de invertases como em relação aos teores de açúcares;

O CB41-76 contém os mais baixos níveis de sacarose no colmo e alta atividade de invertase ácida nas folhas, sendo considerado de **baixo açúcar**. O NA56-79, considerado de **alto açúcar**, apresenta teores elevados de sacarose no colmo e altos níveis de invertase neutra.

## RESUMO

Considerando que as formas isoenzimáticas de invertases interferem nos vários estádios do desenvolvimento da cana-de-açúcar e que este parâmetro bioquímico pode ser

utilizado como referência na seleção de cultivares geneticamente melhorados, foram realizados experimentos com os cultivares NA56-79 e CB41-76, avaliando-se a atividade das invertases ácidas solúveis, neutra e da parede celular, visando à compreensão, em condições de campo, das diferenças varietais relativas à função dessas enzimas na distribuição e utilização de sacarose e dos açúcares redutores. As plantas (de 1 ano) foram cultivadas em Latossolo Vermelho-Escuro no município de Araras-SP, com manejo apropriado. Entre o 5º e 7º mês foram feitas amostragens das forlhas +3 e +4 (lâminas e bainhas) e de colmos (internódios 3º e 4º) para dosagem de açúcares redutores, açúcares solúveis totais, proteína total solúvel e atividade das isoenzimas invertase ácida solúvel (pH 5,5), invertase neutra (pH 7,0), invertase da parede da lâmina foliar (pH 3,8), invertase da bainha foliar (pH 3,5) e invertase da parede celular do tecido do colmo (pH 2,2). Nos diferentes tecidos analisados de ambos os cultivares foram detectadas duas isoenzimas solúveis (uma ácida, pH 5,5 e uma neutra pH 7,0), além de uma invertase ácida ligada à parede celular. Os mais baixos níveis de sacarose e alta atividade de invertase ácida nas folhas foram detectados no cultivar CB41-76, enquanto que o cultivar NA56-79 apresentou teores elevados de sacarose no colmo, além de elevados níveis de invertase neutra. As diferenças entre ambos os cultivares, quanto aos teores de sacarose, estão localizadas na bainha e não na lâmina foliar, o que se atribui à alta eficiência de migração desse dissacarídeo da lâmina para a bainha e baixa eficiência de migração da bainha para os internódios do colmo, no cultivar CB41-76. Ocorre o inverso no cultivar NA56-79.

**Palavras-chave:** Sacarose, açúcares redutores, cana-de-açúcar, isoenzimas de invertases, invertase ácida, invertase neutra, invertase de parede celular.

## SUMMARY

Sugarcane cultivars NA56-79 and CB41-76 were used to

evaluate the activity of the isoforms of acidic (pH 5.5), neutral (pH 7.0) and cell wall (pH 2.2, 3.5 and 3.8) invertases, pertaining to their functions in the control of distribution and utilization of sucrose and reducing sugars in plants maintained in the field. Samples of leaves (blade and sheath) and stalks were harvested in time intervals between the 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> months of growth. In the different tissues two soluble isoenzymes were detected, one acidic pH 5.5 and one neutral pH 7.0, besides one cell wall-linked invertase. The lowest level of sucrose and high acidic invertase were observed in leaves of cv. CB41-76, while high levels of sucrose and neutral invertase were detected in the stalks of cv. NA56-79. Concerning sucrose levels, the differences between both cultivars are found in the leaf sheath, but not in the blade, which could be due to the high efficiency of sucrose migration from the blade to the sheath and the low efficiency of its migration from the sheath to the stalk internodes in cv. CB 41-76, while in cv. NA56-79 an inverse situation occurs.

**Key words:** Sucrose, reducing sugars, sugarcane, invertase isoenzymes, acid invertase, neutral invertase, cell wall invertase.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, A.G., 1967. Evaluation of Sugar-Enzyme Relationships Among Twelve Puerto Rico Sugarcane Varieties. **Journal of Agriculture of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, 51 (1): 29-38.
- ALEXANDER, A.G., 1973. **Sugarcane Physiology**. Amsterdam, Elsevier Scientific Pul. Co. 753p.
- BATTA, S.K. & R. SINGH, 1986. Sucrose Metabolism in Sugarcane Grown Under Varying Climatic Conditions: Synthesis and Storage of Sucrose in Relation to the Activities of Sucrose Synthase, Sucrose-Phosphate Synthase and Invertase. **Phytochemistry**, New York, 11: 2431-2437.
- DUBOIS, M.; K.A. GILLES; J.K. HAMILTON; P.A. REVERS; F. SMITH, 1956. Colorimetric Method for Determination of

- Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, Washington, **28**: 350-356.
- FLEISCHMACHER, P.L.; F.E. PRADO & A.R. SAMPIETRO, 1980. Cell Wall Invertases from Apex and Callus Tissues of Sugarcane. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, **21**: 1273-1281.
- GAYLER, K.R. & K.T. GLASZIOU, 1972. Physiological Functions of Acid and Neutral Invertase in Growth and Sugar Storage in Sugarcane. **Physiologia Plantarum**, Kobenhaun, **27**: 25-31.
- GLASZIOU, K.T., 1960. Accumulation and Transformations of Sugars in Sugarcane. **Plant Physiology**, Washington, **35**: 895-905.
- GLASZIOU, K.T. & K.R. GAYLER, 1972. The Role of Cell Walls in Sucrose Transport in Sugarcane Stalks. **Plant Physiology**, Washington, **35**: 895-905
- HARTT, C.E.; H.P. KORTSCHAK; A.J. FORBES; G.O. BULL, 1963. Translocation of  $^{14}\text{C}$  in Sugarcane. **Plant Physiology**, Washington, **38**: 305-318.
- HATCH, M.D. & K.T. GLASZIOU, 1963. Sugar Accumulation Cycle in Sugarcane. II. Relationship of Invertase Activity to Sugar Content and Growth Rate in Storage Tissue of Plant Grown in Controlled Environments. **Plant Physiology**, Washington, **38**: 344-348.
- HATCH, M.D.; J.A. SACHER & K.T. GLASZIOU, 1963. Sugar Accumulation Cycle in Sugarcane. I. Studies on Enzymes of the Cycle. **Plant Physiology**, Washington, **38**: 338-343.
- HAWKER, J.S., 1985. Sucrose. In: DEY, P.M. & R.A. DIXON (eds.). **Biochemistry of Storage Carbohydrates in Green Plants**. London, Academic Press. p. 1-48.
- JONES, R.A. & P.B. KAUFMAN, 1975. Multiples Forms of Invertase in Developing oat Internodes. **Plant Physiology**, Washington, **55**: 114-119.
- LOWRY, O.H.; N.J. ROSEBROUGH; A.L. FARR; R. J. RANDALL, 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. **Journal Biological Chemistry**, Baltimore, **193**: 265-275.
- MADAN, V.K.; K. SINGH; S. SHIVAPURI; H.P. PANDE; Y.R. SAXENA, 1980. Activity of Invertase (s) in Sugarcane Lea

- ves. **International Sugar Journal**, Lucknow, **82**: 55.
- NELSON, N., 1944. A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for Determination of Glucose. **Journal Biological Chemistry**, **153**: 375-380.
- OCHOA-ALEJO, N., 1980. Efeito do Nitrogênio Nítrico, Amoniacal e de Uréia sobre o Crescimento, Carboidratos e Compostos Nitrogenados em Cana-de-Açúcar (*Saccharum spp.*) cv. NA56-79 Cultivada em Solução Nutritiva. Piracicaba. 116p. (Mestrado - ESALQ/USP).
- PLANALSUCAR, 1983. **Super**. Relatório Anual. Piracicaba-SP, IAA/PLANALSUCAR. 183p.
- PRADO, F.E.; M.A. VATTUONE & A.R. SAMPIETRO, 1978. Sugarcane Glycosidases. A New Bound Invertase from Leaf Sheaths. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 16. São Paulo. **Proceedings**. São Paulo. p. 1683-1691.
- QUIROGA, E.N.; R.R. DE MAXUD; M.A. VATTUONE; F.E. PRADO; A.R. SAMPIETRO, 1977. Sugarcane Glycosidases. A General View of the Glycosidases from Stalk. **Plant Science Letters**, Amsterdam, **8**: 135-140.
- RICARDO, C.P.P. & T. AP REES, 1970. Invertase Activity During the Development of Carrot Roots. **Phytochemistry**, New York, **9**: 239-247.
- RIZK, T.Y. & W.C. NORMAND, 1968. Effect of Sugarcane Maturity on Invertase Activity. **Sugar Journal**, Louisiana, **31**(3): 11-12.
- SACHER, J.A.; M.D. HATCH & K.T. GLASZIOU, 1963. Sugar Accumulation Cycle in Sugarcane. III. Physical and Metabolic Aspects of Cycle in Immature Storage Tissue. **Plant Physiology**, Washington, **38**: 348-354.
- SAMPIETRO, A.R.; M.A. VATTUONE & F.E. PRADO, 1980. A Regulatory Invertase from Sugarcane Leaf-Sheaths. **Phytochemistry**, New York, **19**: 1637-1642.
- SUZUKI, J., 1982. Biossíntese e Acúmulo de Sacarose em Cana-de-Açúcar (*Saccharum spp.*): Influência do Íon Potássio Durante Diferentes Estádios do Crescimento em Solução Nutritiva. Piracicaba. 96p. (Doutorado - ESALQ/USP).
- VATTUONE, M.A.; F.E. PRADO & A.P. SAMPIETRO, 1981. Cell



Wall invertases from Sugarcane. **Phytochemistry**, New York, **20**: 189-198.

VIEIRA, I.M.S., 1983. Efeito do Potássio sobre a Atividade de Invertases, Teores de Açúcares e Compostos Nitrogenados em Cana-de-Açúcar (*Saccharum* spp. var. NA56-79) Cultivada em Solução Nutritiva. Piracicaba. 97p. (Mestrado - ESALQ/USP).