

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

JOSCINEIA KELLI CLIPPEL

**CONTEÚDO E VARIAÇÃO SAZONAL DE
CARBOIDRATOS OCORRENTES NA FLORA DA
MATA ATLÂNTICA DO ESPÍRITO SANTO**

**VITÓRIA
2006**

JOSCINEIA KELLI CLIPPEL

**CONTEÚDO E VARIAÇÃO SAZONAL DE
CARBOIDRATOS OCORRENTES NA FLORA DA
MATA ATLÂNTICA DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal, na área de concentração Fisiologia Vegetal.
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.

**VITÓRIA
2006**

C641c Clippel, Joscineia Kelli, 1977-
Conteúdo e variação sazonal de carboidratos ocorrentes na flora da
Mata Atlântica do Espírito Santo / Joscineia Kelli Clippel. – 2006.
78 f. : il.

Orientador: Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito Santo,
Centro de Ciências Humanas e Naturais

1. Carboidratos. 2. Polissacarídeos. 3. Variações sazonais. 4. Mata
Atlântica. 5. Plantas e água - Espírito Santo (Estado). I. Cuzzuol,
Geraldo Rogério Faustini. II. Universidade Federal do Espírito Santo.
Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

JOSCINEIA KELLI CLIPPEL

**CONTEÚDO E VARIAÇÃO SAZONAL DE
CARBOIDRATOS NA FLORA DA MATA ATLÂNTICA
DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em 22 de fevereiro de 2006.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Dra. Lílian Beatriz Penteado Zaidan
Instituto de Botânica de São Paulo

Prof.^a Dr.^a Luciana Dias Thomaz
Universidade Federal do Espírito Santo

Dedico este trabalho aos meus pais, Adelino e Adelina, pelo apoio imprescindível.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por permitir estudar um pouco da Sua criação.

Ao Professor Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol, pela orientação, paciência e apoio nessa oportunidade ímpar de aprendizado.

Aos colegas Luís Cláudio Zanette Nascimento, Magda Rossi e Hallan Nunes Chamon do Carmo, pelo grande auxílio na execução dos trabalhos de laboratório.

Ao amigo Emmanuel Bersan Pinheiro, pelo 'socorro' na recuperação do meu arquivo da dissertação corrompido uma semana antes do envio para a banca examinadora. Valeu Emmanuel!

Aos amigos Jehová e Mariangela pelo apoio na tradução do resumo para o inglês.

Aos meus irmãos Zeca, Maria, Zilar, Ana e Braz, pelo apoio e por estarem sempre presente nos momentos de maior desafio.

Às amigas Viviane, Rosângela e Gislene, pela amizade tão importante de todos os momentos.

Aos professores, colegas e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal pela acolhida.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

RESUMO

Além de atuarem como substrato energético e compostos estruturais, os carboidratos podem agir na proteção contra estresses ambientais em períodos desfavoráveis ao crescimento. São empregados nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e têxtil. Embora os carboidratos tenham ampla importância econômica e ecológica, pouco se sabe sobre a produção desses compostos em plantas nativas e/ou ocorrentes na Mata Atlântica, em especial àquelas do Espírito Santo. Dessa forma foi realizado o presente trabalho com o objetivo de analisar a composição dos carboidratos não estruturais em órgãos subterrâneos das herbáceas *Dioscorea* sp. 1 (Dioscoriaceae), *Dioscorea* sp. 2 (Dioscoriaceae), *Hedychium coronarium* J. Koenig (Zingiberaceae), *Hippeastrum reticulatum* Herb. (Amaryllidaceae), *Prescottia nivalis* Barb. Rodr. (Orquidaceae), *Scadoxus multiflorus* Martyn (Amaryllidaceae) e *Sinningia aghensis* Chautems (Gesneriaceae). Também, foi quantificado o conteúdo dos polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes da herbácea *Canavalia rosea* L. e das arbóreas *Cassia fistula* L., *Cassia grandis* L., *Erythrina variegata* L., *Hymenaea coubaril* L. e *Ormosia arborea* (Vell.) Harms, todas da Família Leguminosae. Foi investigado, ainda, o efeito da sazonalidade no balanço dos carboidratos solúveis em tubérculos de *S. aghensis*. Plantas tuberosas de Dioscoriaceae são ricas em amido que chega a representar 50% de sua massa seca (MS). As espécies que apresentaram a maior quantidade de frutose foram as bulbosas *H. reticulatum* (25% da MS) e *S. multiflorus* (8,5% da MS) e a rizomatosa *P. nivalis* (6,7% da MS). Os maiores teores de açúcares totais solúveis, especialmente a sacarose (63% da MS) também foram observados em *P. nivalis*. As tuberosas *Dioscorea* sp. 2 e *S. aghensis* e a rizomatosa *Hedychium coronarium* apresentaram os valores mais baixos de açúcar total e amido. A grande quantidade de frutose em *H. reticulatum* sugere a presença de frutanos. Quanto aos polissacarídeos de reserva de parede celular, valores maiores foram encontrados em sementes de *Hymenaea coubaril* (70% da MS), seguida de *Cassia grandis* (50% da MS) e *Canavalia rosea* (40% da MS). *E. variegata* e *O. arborea* apresentaram os mais baixos valores desses compostos, representando 10 e 3% de sua MS, respectivamente. A composição de carboidratos em tubérculos de *S. aghensis* mostrou variação sazonal e/ou fenológica com o amido flutuando de 5,5% da MS no

outono para 77,7% da MS no inverno, período em que foi registrada menor precipitação (3,6 mm). Resultados inversos foram obtidos para os açúcares totais solúveis, sacarose e frutose, cujos maiores conteúdos no verão decresceram, em média, 50% no inverno. A elevada concentração de amido no inverno sugere que esse polissacarídeo esteja associado a mecanismos de tolerância ao déficit hídrico.

Palavras-chave: Carboidratos não estruturais – polissacarídeos de reserva de parede celular – variação sazonal – déficit hídrico – Mata Atlântica.

ABSTRACT

In Plants, the main storage carbohydrates include starch, soluble sugar, fructans and cell wall polysaccharides. Moreover, carbohydrates act like energetic substrate and structural compounds, many of these sugars can act as a protection against environmental stress in growth periods. Carbohydrates are used in food, pharmaceutical, cosmetic and textile industries. Although they have wide economic and ecologic importance, relatively little is known about their yield in plants native to the Atlantic present, especially in Espírito Santo (ES). This study was performed in order to contribute to more information. Non-structural carbohydrates were analysed from underground organs of the herbaceous *Dioscorea* sp. 1 (Dioscoriaceae), *Dioscorea* sp. 2 (Dioscoriaceae), *Hedychium coronarium* J. Koenig (Zingiberaceae), *Hippeastrum reticulatum* Herb. (Amaryllidaceae), *Prescottia nivalis* Barb. Rodr. (Orquidaceae), *Scadoxus multiflorus* Martyn (Amaryllidaceae) and *Sinningia aghensis* Chautems (Gesneriaceae). To evaluate the cell wall polysaccharides, seeds of the herb *Canavalia rosea* L. and of the tree species *Cassia fistula* L., *Cassia grandis* L., *Erythrina variegata* L., *Hymenaea coubaril* L. and *Ormosia arborea* (Vell.) Harms (Leguminosae) were used. The soluble carbohydrates seasonal variation was performed in *S. aghensis* tuberculum. On the whole, Dioscoriaceae tuberous plants are rich in starch, reaching 50% in *Dioscorea* sp. 1 dry mass (DM). The species that exhibited the greatest amounts of fructose were the bulbous *H. reticulatum* (25% DM) and *S. multiflorus* (8,5% DM) and the rhizomatous *P. nivalis* (6,7% MS). The biggest soluble sugar purports, especially sucrose (63% DM), also were seen in *P. nivalis*. The tuberous *Dioscorea* sp. 2 and *S. aghensis* and the rhizomatous *Hedychium coronarium* presented the lowest total sugar and starch values, which could present another carbohydrates order on the analysed season. The high fructose content in *H. reticulatum* suggests the presence of fructans. From the cell wall storage polysaccharide purport analysed, the greatest purports were found in *Hymenaea coubaril* seeds (70% DM), followed by *Cassia grandis* (50% DM) and *Canavalia rosea* (40% DM). *E. variegata* and *O. arborea* exhibited the lowest values of these compounds, representing 10 and 3% of DM respectively. Thus, *H. coubaril*, *C. grandis* and *C. rosea* appear take potential species in polysaccharide production for technological purposes. In carbohydrates seasonal variation analyses

of *S. aghensis* tuberculum, the starch were 5,5% in autumn and 77,7% in winter, as of period which was reported lowest precipitation (3,6 mm). The total sugar soluble purport, sucrose and fructose were higher in summer, decreasing 50% in winter. As to glucose, greatest concentrations were found in autumn, followed by a conspicuous decrease in summer. The high concentration of starch in winter suggests that it may be linked to drought tolerance mechanisms.

Key Words: Non-structural carbohydrates, cell wall storage carbohydrates, seasonal variation, water deficit, Atlantic Forest flora.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1 CARBOIDRATOS.....	14
1.2 CARBOIDRATOS DE RESERVA	15
1.2.1 SACAROSE	15
1.2.2 FRUTANOS	16
1.2.3 AMIDO	17
1.2.4 POLISSACARÍDEOS DE RESERVA DE PAREDE CELULAR	18
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
2 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS DE OITO ESPÉCIES HERBÁCEAS E CINCO ESPÉCIES ARBÓREAS OCORRENTES NA FLORA DO ESPÍRITO SANTO	24
2.1 INTRODUÇÃO	25
2.2 OBJETIVOS	27
2.3 MATERIAL E MÉTODOS	28
2.3.1 MATERIAL VEGETAL	28
2.3.2 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS EM ÓRGÃOS SUBTERRÂNEOS DE RESERVA	29
2.3.3 DETERMINAÇÃO DOS CARBOIDRATOS SOLÚVEIS	29
2.3.4 AMIDO	30
2.3.5 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DE SEMENTES.....	31
2.4 RESULTADOS	37
2.5 DISCUSSÃO	42
2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
3 VARIAÇÃO SAZONAL DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS EM TUBÉRCULOS DE <i>Sinningia aghensis</i> CHAUTEMS (GESNERIACEAE)	53
3.1 INTRODUÇÃO	54

3.2 OBJETIVOS	57
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	58
3.3.1 MATERIAL VEGETAL	58
3.3.2 EXTRAÇÃO DOS CARBOIDRATOS SOLÚVEIS	58
3.3.3 QUANTIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS SOLÚVEIS	59
3.3.4 DETERMINAÇÃO DA MASSA SECA E DO CONTEÚDO RELATIVO DE ÁGUA.....	60
3.4 RESULTADOS	61
3.5 DISCUSSÃO	69
3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	78

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Carboidratos

Os carboidratos são as moléculas mais abundantes na natureza (KERBAUY, 2004). De acordo com a estrutura química eles podem ser poliidroxiáldeídos ou poliidroxicetonas, ou então substâncias que por hidrólise liberam estes compostos (LEHNINGER, 1991).

O nome carboidrato é devido ao fato da maioria das substâncias desta classe apresentar fórmulas empíricas com proporção de 1:2:1 entre os átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio, o que sugere a idéia de carbono “hidratado” ou “hidratos” de carbono (LEHNINGER, 1991). São também conhecidos como açúcares e têm função de reserva energética ou estrutural (KERBAUY, 2004).

Os açúcares mais simples são denominados monossacarídeos e não se hidrolisam (SOLOMONS, 1996). Geralmente têm sabor muito doce e os mais abundantes e conhecidos são a glicose e a frutose (LEHNINGER, 1991).

Os carboidratos que ao se hidrolisarem liberam de duas a dez moléculas de monossacarídeo são chamados de oligossacarídeos (SOLOMONS, 1996), como a sacarose, que ao se hidrolisar libera glicose e frutose e a maltose, que após hidrólise libera duas moléculas de glicose (LEHNINGER, 1991).

Porém, a maior parte dos carboidratos encontrados na natureza ocorre na forma de polissacarídeos (LEHNINGER, 1991), que pela hidrólise liberam um número superior a dez monossacarídeos (SOLOMONS, 1996). Dentre estes encontram-se o amido (TOIT et al., 2004), os frutanos (FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993), a celulose (LEHNINGER, 1991), os xiloglucanos (TINÉ et al., 2000) e os galactomananos (POTOMATI; BUCKERIDGE, 2002).

Em plantas esses carboidratos possuem diversos papéis ecológicos (WYKA, 1999), tais como: a) o crescimento vegetativo após o período de dormência; b) a reprodução vegetativa durante ausência ou escassez de fotossíntese; c) a recuperação após herbivoria; d) a sobrevivência em período de dormência; e) a

sobrevivência ao sombreamento e f) a sobrevivência após distúrbios específicos do ambiente como fogo ou enchente.

1.2 Carboidratos de reserva

1.2.1 Sacarose

A sacarose é uma molécula chave para as vias metabólicas das plantas, pois é o principal produto da fixação do CO₂ pela fotossíntese (MORAES, 2001). É a principal forma de transporte de açúcar das folhas para as demais partes da planta (LEHNINGER, 1991). Do seu local de síntese, as folhas, a sacarose é exportada para regiões de consumo como caules, gemas vegetativas, raízes e órgãos reprodutivos (CHAVES-FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001; KOMOR, 2000).

Segundo Lehninger (1991), a vantagem da sacarose sobre a glicose como forma de açúcar para ser transportado pode ser o fato de sua estrutura estar protegida do ataque oxidante ou hidrolítico por parte das enzimas vegetais até que esta chegue ao interior da célula.

A enzima que promove a síntese desse dissacarídeo é a sacarose-6-fosfato-sintase (MARTINEZ-TRUJILLO et al., 2004), que tem sua atividade aumentada significativamente com o suprimento de CO₂ (PRASAD et al., 2004). A enzima sacarose sintase também está envolvida na síntese desse açúcar, porém, como descreve Klotz et al. (2004), sua principal função é a degradação da sacarose. Dessa maneira, a sacarose sintase fornece substrato para a respiração, para a síntese do amido ou de polissacarídeos de parede celular (KLOTZ et al., 2004). Um outro grupo de enzimas envolvidos na degradação da sacarose é o das invertases (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 2004).

Papéis fisiológicos que são atribuídos à sacarose estão bem estudados em *Solanum tuberosum* (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 2004). Experimentos realizados com esta solanácea sugerem que os níveis de sacarose são os responsáveis pela regulação dos processos metabólicos que ocorrem durante a transição dos tubérculos de

órgão-dreno, na fase de tuberização, para órgão-fonte, na quebra de dormência e brotação de ramos aéreos.

Outra função da sacarose é a proteção contra estresses ambientais através do ajustamento osmótico (CHAVES-FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001), além de ser a precursora de outros carboidratos como os frutanos (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 2004; MORAES, 2001).

Um exemplo da participação da sacarose em estresses é mostrado por Silva e Arrabaça (2004) em experimento realizado com gramíneas. Folhas de plantas que foram rapidamente desidratadas tiveram seu conteúdo de sacarose diminuído em relação às plantas-controle, enquanto o inverso foi observado para as plantas que sofreram desidratação lenta, sendo que nessas últimas foi observado um aumento no potencial osmótico, atribuído à sacarose.

A sacarose também é utilizada na indústria como adoçante natural, e para a produção de álcool combustível. E devido a esse valor econômico, existem áreas extensas de plantações para estes fins, com destaque para os cultivos de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) nas regiões tropicais (MORAES, 2001).

1.2.2 Frutanos

Os frutanos (FIGURA 1) são polímeros de frutose presentes em vegetais e depois do amido e da sacarose são os carboidratos de maior ocorrência em plantas (FIGUEIREDO-RIBEIRO; 1993), sendo que cerca de 15% das angiospermas acumulam esse polissacarídeo (VIJN; SMEEKENS, 1999). São encontrados principalmente nas ordens Poales, Liliales e Asterales (FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993).

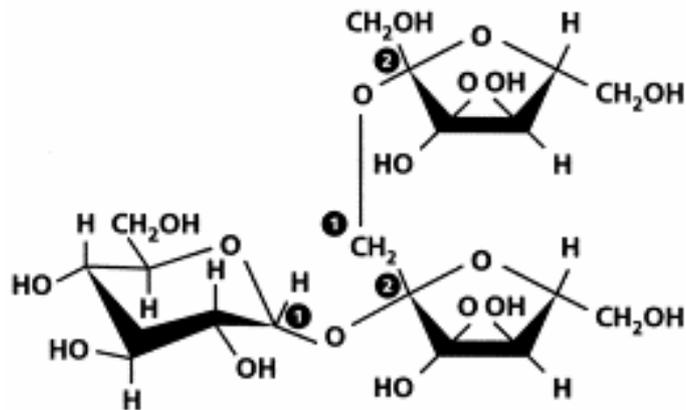


Figura 1: Estrutura molecular de frutano do tipo inulina (Van Laerle; Van den Ende, 2002)

Estudos sobre o papel ecológico dos frutanos foram realizados em *Viguiera discolor*, uma espécie herbácea perene do cerrado brasileiro (ISEJIMA; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993). Em raízes tuberosas dessa planta os frutanos variaram tanto na composição quanto no conteúdo, de acordo com a fase fenológica. Durante a rebrota foi quantificada mais frutose livre, sugerindo que a hidrólise desse polissacarídeo ocorre com a quebra da dormência em *V. discolor*.

Devido aos benefícios que proporciona à saúde humana, atualmente os frutanos são produzidos em escala industrial para serem adicionados a produtos alimentícios (CAPITO, 2001). Esse polissacarídeo tem sido empregado com sucesso nos casos de constipação, prevenção de doenças do intestino como câncer, por estimular a proliferação das bifidobactérias, e no controle da osteoporose, por estimular a absorção de cálcio (TOMOMATSU, 1994).

1.2.3 Amido

Nos vegetais o amido é encontrado na forma de amilose ou de amilopectina (HOOVER, 2001; SOLOMONS, 1996), ambas constituídas de centenas de moléculas de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas (LEHNINGER, 1991), sendo que a amilopectina tem estrutura mais ramificada que a da amilose (SOLOMONS, 1996). A ADP-glicose pirofosforilase e a amido sintase são as

enzimas responsáveis pela síntese desse polissacarídeo (KERBAUY, 2004; SAKULSINGHAROJ et al., 2004).

Uma das funções metabólicas do amido armazenado é fornecer esqueletos de carbono e energia para a respiração na rebrota da parte aérea (FASIDI; BAKARE, 1995), e liberar glicose para a síntese de sacarose (KERBAUY, 2004). O amido é encontrado nas raízes, nos tubérculos, nas sementes (LEHNINGER, 1991; SOLOMONS, 1996) e nas folhas (KERBAUY, 2004). Algumas raízes e tubérculos são produzidos em larga escala com finalidade comercial, como por exemplo a batata (*Solanum tuberosum*), a batata doce (*Ipomea batatas*), a cassava (*Manihot esculenta*), o gengibre (*Zingiber officinalis*) e várias espécies de cará (gênero *Dioscorea*), dentre outras (HOOVER, 2001).

1.2.4 Polissacarídeos de reserva de parede celular

Os polissacarídeos de parede celular das sementes (TABELA 1) são, depois do amido e dos frutanos, uma das maneiras pelas quais as plantas estocam carboidratos (BUCKERIDGE et al., 2000).

De acordo com a divisão proposta por Buckeridge et al. (2000), são três os principais grupos de polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC) amplamente distribuídos no reino vegetal:

- Xiloglucanos
- Galactanos
- Mananos → glucomananos
→ galactomananos

Alguns aspectos destes polissacarídeos estão resumidos na tabela 1.

Tabela 1: Aspectos dos principais polissacarídeos de reserva de parede celular dos vegetais.

Polissacarídeo	Resíduo na cadeia principal	Resíduo ligado à cadeia principal	Família
Manano	Manose	Raramente a galactose	Arecaceae Rubiaceae
Glucomanano	Manose Glicose	Galactose	Solanaceae
Galactomanano	Manose	Galactose	Leguminosae Convolvulaceae Annonaceae
Xiloglucano	Glicose	Xilose Galactose Arabinose	Leguminosae Tropaeolaceae Myrcinaceae
Galactano	Galactose	Arabinose	Leguminosae Rubiaceae

Fonte: Adaptado de Buckeridge et al. (2000).

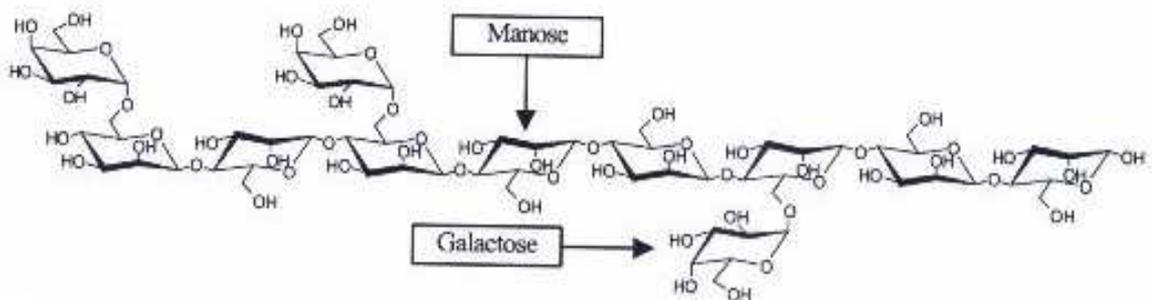
Os polissacarídeos de reserva de parede celular são encontrados em sementes, e em grande parte de espécies pertencentes às leguminosas (BUCKERIDGE et al., 2000; FRANCO et al., 1996). Esses carboidratos possuem uma importante utilização na indústria alimentícia. *Detarium senegalense*, por exemplo, uma leguminosa cuja semente é utilizada na produção de farinha pelos nigerianos, é rica em xiloglucano (WANG et al., 1996).

Estudos recentes de Ren et al. (2005) mostraram que o polissacarídeo das sementes de *Afzelia africana*, uma leguminosa africana cuja farinha é utilizada no preparo de sopas, é do tipo xiloglucano (FIGURA 2).

Mananos têm sido utilizados em pesquisas médicas sobre a doença celíaca (VINCENTINI et al., 2005). Esse polissacarídeo tem sido testado no controle dessa patologia, mostrando-se um importante antagonista da fração tóxica do glútem para os pacientes celíacos.

Conhecidos como gomas, os galactomananos (FIGURA 2) são largamente utilizados pelas indústrias têxteis, farmacêuticas e cosméticas, sendo considerados de baixo custo, ecologicamente corretos e não-tóxicos (JOSHI; KAPOOR, 2003).

a)



b)

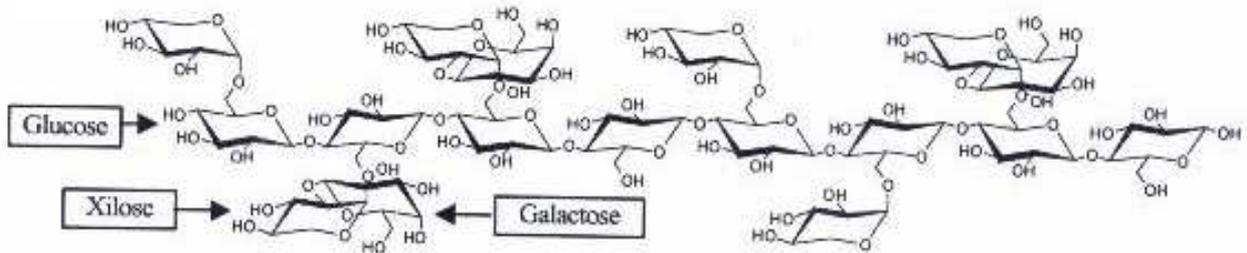


Figura 2: Estrutura molecular básica dos polissacarídeos (a) galactomanano e (b) xiloglucano (Franco et al., 1996).

1.3 Referências Bibliográficas

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M A. S. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology Biochemistry**, n. 38, v.1, p.141-156, 2000.

CAPITO, S. M. P. **Raiz tuberosa de Yacón (*Polymnia sonchifolia*): Caracterização química e métodos de determinação de frutanos (CG e CLAE-DPA)**. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

CHAVES-FILHO J.T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

FASIDI, I. O. E BAKARE, N. O. Distribution of food reserves in *Dioscorea dumetorum* (Kunth) Pax tubers during sprouting. **Food Chemistry**, v. 52, p. 423-426, 1995.

FIGUEIREDO-RIBEIRO et al. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogam S.A, 2004.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 5, n. 2, p. 203-208, 1993.

FRANCO, T. T.; RODRIGUES, N. R.; SERRA, G. E.; PANEGASSI, V. R. E BUCKERIDGE M. S. Characterization of storage cell wall polysaccharides from Brazilian legume seeds and the formation of aqueous two-phase systems. **Journal of Chromatography B: Biomedical Applications**, v. 680, p. 255-261, 1996.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and roots starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 253-267, 2001.

ISEJIMA, E. M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Fructan variations in tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae): the influence of phenology. **Plant Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 723-727, 1993.

JOSHI, H.; KAPOOR, V. P. *Cassia grandis* Linn. Seed galactomannan: structural and crystalloraphical studies. **Carbohydrate Research**, v. 338, p.1907-1912, 2003.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogam S.A, 2004.

KLOTZ, K. L., FINGER, F. L. ; SHELVER, W. L. characterization of two sucrose synthase isoforms in sugarbeet root. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 107:115, 2003.

KOMOR, E. Source physiology and assimilate transport: the interaction of sucrose metabolism, starch storage and phloem export in source leaves and the effects on sugar status in phloem. **Aust. Journal Plant Physiology**, v. 27, p. 497-505, 2000

LEHNINGER, A. L.; **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Savier, 1991.

MARTINEZ-TRUJILLO, M.; CHÁVEZ-BÁRCENAS, T.; LIMONES-BRIONES, V.; SIMPSON, J. E HERRERA-ESTELLA, L. Functional analysis of the promoter of the rice sucrose phosphate synthase gene (sps 1). **Plant Science**, v. 166, p. 131-140, 2004.

MORAES, M. G. **Carboidratos solúveis em gramíneas nativas do cerrado**. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

POTOMATI, A.; E BUCKERIDGE, M. S. Effect of abscisic acid on the mobilisation of galactomannan and embryo development of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (Leguminosae-Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 303-310, 2002.

PRASAD, P. V. V., BOOTE, K. J., VU, J. C. V., ALLEN Jr, L., H. The carbohydrate metabolism enzymes sucrose-P syntase and ADG-pyrophosphorylase in phaseolus bean leaves are up-regulated at elevated growth carbon dioxide and temperature. **Plant Science**, v. 166, p.1565-1573, 2004.

REN, Y.; PICOUT, D. R.; ELLIS, P. R.; ROSS-MURPHY, S. B. E REID, J. S. G. A novel xyloglucan from seeds of *Azelia africana* Se. Pers. – extraction, characterization, and conformational properties. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 997-1005, 2005.

SAKULSINGHARAJ, C., CHOI, S., HWANG, S., EDWARDS, G. E., BORK, J., MEYER, C. R., PREISS, J., OKITA, T. W. Engineering starch biosynthesis for increasing rice seed weight: the role of the cytoplasmic ADP-glucose pyrophosphorylase. **Plant Science**, v. 167, p. 1323-1333, 2004.

SILVA, J. M.; ARRABAÇA, M. C. Contributions of soluble carbohydrates to the osmotic adjustment in the C₄ grass *Setaria sphacelata*: A comparison between rapidly and slowly imposed water stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 551-555, 2004.

SOLOMONS, T. W. **Química Orgânica**. Rio de Janeiro: LCT, 1996.

TINÉ, M. A. S.; CORTELAZZO, A.; BUCKERIDGE, M. S. Occurrence of xyloglucan containing protuberances in the storage cell walls of cotyledons of *Hymenaea coubaril* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 4, p. 413-417, 2000.

TOIT, E. S. DU; ROBBERTSE, P. J.; NIEDERWIESER, J. G. Plant carbohydrate partitioning of *Lachenalia* cv. Ronina during bulb production. **Scientia Horticulturae**, v. 102, p. 433-440, 2004.

VAN LAERE, A. ; VAN den ENDE, W. Inulin metabolism in dicots: chicory as a model system. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 803-813, 2002.

VIJN, I.; SMEEKENS, S. Fructan: More than a reserve carbohydrate? **Plant Physiology**, v. 120, p. 351-359, 1999.

VINCENTINI, O.; De ANGELIS, I.; IANNUCELLI, R.; SILANO, M.; STAMMATI, A.; De VINCENZI, M. Protective effects of mannan in Caco-2/TC7 cells treated with wheat-derived peptides. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, p. 338-343, 2005.

WANG, Q.; ELLIS, P. R.; ROSS-MURPHY, S. B.; REID, J. S. D. A new polysaccharide from a traditional Nigerian plant food: *Detarium senegalense* Gmelim. **Carbohydrate Research**, v. 284, p. 229-239, 1996.

WYKA, Tomasz. Carbohydrate storage and use in alpine population of the perennial herb, *Oxytropis sericea*. **Oecologia**, v. 120, p. 198-208, 1999.

**2 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS DE OITO ESPÉCIES HERBÁCEAS
E CINCO ESPÉCIES ARBÓREAS OCORRENTES NA FLORA DO
ESPÍRITO SANTO.**

2.1 INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica brasileira abriga mais de 20 mil espécies de plantas, sendo que destas mais de 50% são endêmicas (SCHAFFER; PROCHNOW, 2002). No entanto, apesar dessa enorme biodiversidade, pouco se sabe sobre o seu potencial econômico como fonte de alimentos, produtos para a farmacologia e novas plantas com fins paisagísticos (CREPALDI et al., 2001). Essa mesma realidade nacional é também verdade para o Espírito Santo, mesmo esse Estado contando com uma das maiores biodiversidades de espécies vegetais arbóreas do planeta (THOMAZ, 1996). Embora projetos sobre a prospecção da vegetação nativa vêm sendo executados em alguns estados brasileiros, nenhum estudo foi realizado até o momento na flora do Espírito Santo.

O interesse da indústria alimentícia e farmacêutica é crescente em relação aos produtos que podem ser identificados em plantas nativas. De maneira geral os carboidratos aparecem como um dos compostos de maior interesse na tecnologia de sementes tropicais (YEXKULL; MUTERT, 1995) e em plantas com órgão subterrâneo de reserva (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 1986).

A enorme biodiversidade em florestas tropicais fornece uma grande variedade de alimentos, especialmente através de suas sementes e órgãos subterrâneos de armazenamento onde é possível encontrar diversos produtos, além de carboidratos, com potencial para serem explorados pela indústria alimentícia e farmacêutica (GONÇALVES et al., 2002).

Estudos sobre a bioprospecção em plantas nativas tropicais do Brasil são ainda incipientes, porém, já apresentando resultados animadores como aqueles obtidos com o fruto da palmeira *Syagrus coronata*, uma espécie nativa do sertão nordestino popularmente chamada de licuri. As análises bioquímicas mostraram que essa espécie é importante fonte de alimento para a população local, sendo indicada a utilização de seus frutos como complemento vitamínico de escolares da área rural da caatinga baiana (CREPALDI et al., 2001).

Em levantamento realizado na vegetação de cerrado e de Mata Atlântica do Estado de São Paulo na década de 80 e 90, foram identificados polissacarídeos com funções fisiológicas. Dentre esses, se destacam os polissacarídeos frutanos, em plantas tuberosas de Asteraceae (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 1986), e xiloglucanos e galactomananos em sementes de Leguminosae (BUCKERIDGE; DIETRICH, 1990).

Os frutanos destacam-se devido a uma série de benefícios à saúde humana que despertaram a atenção da indústria alimentícia mundial. O fato dos frutanos não serem absorvidos pelo organismo humano fez desses polímeros de frutose uma potente fonte alternativa de açúcar de baixa caloria ideal para uso em diabéticos (TOMOMATSU, 1994). No cólon do intestino humano, os frutanos funcionam como fonte de carbono para as bifidobactérias inibidoras da proliferação das bactérias patogênicas, reduzindo dessa forma a incidência de doenças intestinais como o câncer de cólon (COUSSEMENT; FRANCK, 1998).

A possibilidade de serem utilizados como estabilizante de alimentos, cooperou para que os frutanos fossem empregados com sucesso em iogurtes, sorvetes e cremes. Essa prática é amplamente difundida em países da Europa, Estados Unidos e Japão onde são aceitos como fibras alimentares (SILVA, 1996).

Embora as espécies nativas brasileiras constituem um dos nossos recursos mais importantes, só recentemente trabalhos sobre a sua utilização vêm sendo desenvolvidos. Dessa forma, muitas outras plantas tropicais ainda não são conhecidas e, certamente, representarão novas fontes de alimentos e de uma diversidade de compostos quando forem descobertas. A ocorrência de herbáceas apresentando órgãos subterrâneos de armazenamento das famílias Amaryllidaceae, Gesneriaceae, Zingiberaceae, Orquidaceae, Dioscoreaceae e Leguminosae, incluindo *Canavalia rosea* e a arbórea *Hymenea courbaril* na flora do Espírito Santo, determinou na realização desse trabalho tendo como objetivo principal caracterizar os carboidratos de reserva em algumas espécies dos grupos taxonômicos citados anteriormente.

2.2 OBJETIVOS

- Quantificar os açúcares solúveis totais nas frações de oligo e polissacarídeos e o amido nos órgãos de reserva subterrâneos de sete espécies herbáceas ocorrentes na Mata Atlântica do Espírito Santo;
- Quantificar os polissacarídeos de reserva de parede celular de sementes de cinco espécies arbóreas e de uma espécie herbácea ocorrentes na Mata Atlântica do Espírito Santo.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Material vegetal

Esse estudo foi realizado no período de março de 2003 a fevereiro de 2004 no laboratório de Fisiologia Vegetal do Setor de Botânica da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Foram analisados os carboidratos dos órgãos subterrâneos espessados de sete espécies herbáceas (FIGURA 1) e de sementes de seis arbóreas ocorrentes na vegetação da Mata Atlântica do Espírito Santo. As espécies herbáceas foram *Dioscorea* sp. 1 e *Dioscorea* sp. 2 (Dioscoriaceae); *Hedychium coronarium* J. Koenig (Zingiberaceae); *Hippeastrum reticulatum* Herb. (Amaryllidaceae); *Prescottia nivalis* Barb. Rodr. (Orquidaceae); *Scadoxus multiflorus* Martyn (Amaryllidaceae) e *Sinningia aghensis* Chautems (Gesneriaceae). As plantas foram coletadas na reserva Biológica de Duas Bocas (Cariacica, ES) e no Morro do Cruzeiro (Vila Velha) e plantadas em vasos plásticos e acondicionadas em casa de vegetação do Departamento de Ciências Biológicas da UFES para posterior extração e análise dos carboidratos. Todas as plantas se encontravam em estágio vegetativo no período de amostragem. Dados sobre as espécies estão resumidos na tabela 2.

Para a análise dos polissacarídeos de reserva de parede celular, foram utilizadas sementes de *Cassia fistula* L., *Cassia grandis* L., *Canavalia rosea* L., *Erythrina variegata* L., *Hymenaea courbaril* L e *Ormosia arborea* W., pertencentes à família Leguminosae (FIGURA 2). Sementes de *H. courbaril* foram coletadas na Reserva Biológica de Santa Lúcia situada no município de Santa Teresa-ES. *C. fistula*, *C. grandis* e *E. variegata* foram coletadas no campus da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) em Vitória - ES, enquanto *O. arborea* em fragmentos florestais em Domingos Martins - ES. Sementes de *C. rosea* foram coletadas na restinga do Parque Estadual Paulo César Vinha, localizado em Guarapari - ES. O período de análise dos polissacarídeos de parede celular foi de outubro a dezembro de 2004. As informações sobre estas espécies estão resumidas na tabela 3.

2.3.2 Extração e quantificação dos carboidratos não estruturais em órgãos subterrâneos de reserva.

A metodologia empregada para extração dos carboidratos foi a de Carvalho (1991), que consiste na retirada de fragmentos de 1 g de MF dos órgãos subterrâneos foram fervidos em etanol 80% durante 5 minutos para inativação enzimática. Em seguida o material foi macerado no gral com pistilo e submetido à extração dos oligossacarídeos em banho-maria 80°C por 30 minutos. O extrato foi centrifugado a 3.000 g por 15 minutos para separar o sobrenadante (fração etanólica) rico em oligossacarídeos do resíduo. O mesmo processo foi repetido mais duas vezes.

Após a última extração dos oligossacarídeos, o resíduo foi ressuspendido em 15 mL de água destilada e levado ao banho-maria a 60°C por 30 minutos para extração dos polissacarídeos. Os sobrenadantes foram filtrados a vácuo, em tecido de algodão, obtendo-se as frações aquosas, constituídas de polissacarídeos. Essa operação foi repetida mais uma vez. Os resíduos sólidos foram reservados para posterior análise do amido.

As frações etanólicas e aquosas foram concentradas no rotoevaporador até atingir o volume de 5 mL para quantificação posterior dos carboidratos solúveis.

Para a determinação da massa seca (MS) dos órgãos subterrâneos, seis amostras de 1 g dos órgãos subterrâneos foram mantidas em estufa a 65°C por 3 dias, quando foi obtida a MS constante.

2.3.3 Determinação dos carboidratos solúveis totais

Foi utilizado o método da antrona, segundo Jermyn (1956), e a leitura realizada em espectrofotômetro a 620 nanômetros (nm). Como padrão utilizou-se alíquotas de glicose de 0 a 50 µg. A solução de antrona utilizada em todo o experimento continha, a cada 100 mL, 76 mL de ácido sulfúrico, 24 mL de água e 0,2 g de antrona.

Para o conteúdo da sacarose também utilizou-se o método da antrona, conforme descrito por Riazzi et al. (1985). A amostra foi fervida por 5 minutos com hidróxido de potássio (KOH 5,4 N) para a degradação dos carboidratos redutores. A leitura foi realizada a 620 nm.

O conteúdo de frutose na forma livre e combinada presente nos extratos foi estimado pela reação de hidrólise ácida em antrona. As amostras foram levadas ao banho-maria 37°C por 45 minutos. Utilizou-se frutose como padrão com alíquotas de 0 a 50 µg. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm.

Os conteúdos de glicose na forma livre presente nos extratos foram estimados através do kit de glicose (BioSystem). A leitura foi realizada a 500 nm.

As curvas padrões utilizadas para a quantificação dos carboidratos originaram as seguintes equações. Para o amido a curva padrão utilizada foi a mesma dos açúcares totais:

$$\text{Açúcares totais: } y=0,0176x + 0,0048$$

$$\text{Sacarose: } y= 0,018x + 0,0492$$

$$\text{Frutose: } y= 0,0214 + 0,0096$$

$$\text{Glicose: } y= 0,0103x - 0,0062$$

2.3.4 Amido

A extração foi realizada em ácido perclórico segundo Mc Cready et al. (1950), a frio, do resíduo das extrações dos açúcares solúveis. Foram adicionados 5 mL de água e 6,5 mL de ácido perclórico 52%, por 15 minutos, sendo periodicamente agitados. Em seguida foram acrescentados 15 mL de água e a mistura levada para centrifugação durante 15 minutos, a 3000 g a 5° C. Esse passo foi repetido mais uma vez e os sobrenadantes reunidos para quantificação do amido.

A quantificação desse polissacarídeo foi feita utilizando-se o método da antrona (JERMYN, 1956), da mesma maneira como foi realizado para açúcares solúveis totais. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, a 620 nm.

2.3.5 Extração e quantificação dos polissacarídeos de sementes

As sementes de cada espécie foram secadas em estufa 70°C durante 5 dias para inativação enzimática. As sementes com testas mais rígidas foram submetidas a escarificação mecânica e embebidas por 48 horas. Após a remoção da testa, foi feita a trituração das sementes em liquidificador e o pó transferido para estufa com temperatura média de 70°C, onde permaneceu por um período de três dias para obtenção da matéria seca. O material foi armazenado em frascos de vidro em temperatura ambiente para posterior extração dos polissacarídeos. Devido às diferenças de tamanho das sementes entre as espécies estudadas, foi determinado utilizar 1g de matéria seca triturada para análise de seus constituintes químicos.

A extração dos polissacarídeos de reserva de parede celular de sementes seguiu a metodologia de Saeman et al. (1945) onde um grama de matéria seca da semente foi colocada em um erlenmeyer contendo 100mL de água destilada, sobre uma placa aquecedora a 80°C, permanecendo nessas condições por 4 horas, em agitação contínua.

Transcorrido esse tempo, o extrato foi filtrado em tecido algodão, e o filtrado foi transferido para novo erlenmeyer acrescido de 300 mL de álcool etílico comercial, na proporção de 1:3 v/v. Para precipitação dos polissacarídeos a mistura ficou em repouso por 24 horas. O precipitado foi lavado com acetona, seco em estufa a 60°C e dissolvido em água destilada com agitação contínua. O homogeneizado foi concentrado em rotaevaporador rotatório até completa secagem. A massa do polissacarídeo foi determinada pela diferença do peso do balão volumétrico vazio e após a secagem do precipitado.

Para determinar o grau de pureza dos polissacarídeos extraídos, foram quantificados os açúcares totais solúveis dos extratos segundo o método de Dubois et al. (1956), sendo usada D-glicose como padrão na concentração de 0 a 50 µL.

Esse método consiste numa reação química dos monossacarídeos com fenol em presença de ácido sulfúrico. A reação produz dois tipos de compostos: o hidroximetilfurfural (a partir das hexoses) e o furfural (a partir das pentoses). Ambos apresentam coloração amarelada e absorção a 490 e 480 nm respectivamente. Utilizam-se ácido sulfúrico PA e solução de fenol a 5%. Na amostra controle (branco), utilizam-se 500 µL de água destilada, 0,5 mL de fenol sulfúrico e 2,5 mL de ácido sulfúrico PA. Nas amostras das sementes, utilizam-se 50 µl da amostra com concentração de 40 mg.40 mL⁻¹ do polissacarídeo, 450 µL de água destilada, 0,5 de fenol sulfúrico e 2,5 mL de ácido sulfúrico.

As pipetagens foram realizadas em capela de exaustão e os tubos foram agitados para homogeneização da mistura, esfriados, seguindo-se as leituras realizadas no espectrofotômetro (FEMTO 482) em 490 nm de absorbância.

Em seguida foi calculado o teor de açúcares totais utilizando-se a equação:

$$Y=0,0139x + 0,0166$$

Tabela 2. Características gerais das espécies herbáceas analisadas para a extração dos carboidratos não-estruturais.

Espécie	Família	Órgão analisado	Habitat	Período de floração	Local da coleta	Nome popular
<i>Dioscorea</i> sp. 1	Dioscoria- ceae	Tubérculo*	Mata ombrófila*	Inverno*	Duas Bocas (Cariacica - ES)	Cará*
<i>Dioscorea</i> sp. 2	Dioscoria- ceae	Tubérculo*	Mata ombrófila*	Inverno*	Duas Bocas (Cariacica - ES)	Cará*
<i>Hedychium</i> <i>coronarum</i> J. Koenig	Zingibera- ceae	Rizoma tuberoso	Brejos	Ano todo**	Duas Bocas (Cariacica - ES)	Jasmim Lírio-do- brejo
<i>Hippeastrum</i> <i>reticulatum</i> Herb.	Amaryllida- ceae	Bulbo	Restinga	Primavera Verão**	Parque Estadual Paulo César Vinha (Guara- pari - ES)	Açucena Amarílis
<i>Prescottia</i> <i>nivalis</i> Barb. Rodr.	Orquida- ceae	Rizoma tuberoso	Área rupestre	Setembro	Morro do Cruzeiro (Vila Velha - ES)	Orquídea
<i>Scadoxus</i> <i>multiflorus</i> Martyn	Amaryllida- ceae	Bulbo	Mata ombrófila	Primavera Verão **	Duas Bocas (Cariacica - ES)	Coroa-da- imperatriz
<i>Sinningia</i> <i>aghensis</i> Chautems	Gesneria- ceae	Tubérculo	Área rupestre	Primavera	Morro do Cruzeiro (Vila Velha - ES)	Violeta

Fonte: *Joly (1991).

**Lorenzi; Souza (1999).

Tabela 3. Características gerais da espécie herbácea (*C. rosea*) e das espécies arbóreas analisadas para a extração de polissacarídeos de reserva de parede celular.

Espécie	Família	Parte analisada	Ocorrência	Período de floração	Local da coleta	Nome popular
<i>Canavalia rosea</i> L.	Legumino- sae	Semente	Restinga	-	Parque Estadual Paulo César Vinha (Guarapari – ES)	Feijão da praia
<i>Cassia fistula</i> L.	Legumino- sae	Semente	Terra firme	Dezembro a Fevereiro	Campus da UFES (Vitória - ES)	Chuva-de-ouro
<i>Cassia grandis</i> L.	Legumino- sae	Semente	Terra firme*	Agosto a Novembro*	Campus da UFES (Vitória - ES)	Cássia-grande*
<i>Erythrina variegata</i> L.	Legumino- sae	Semente	Terra firme	-	Campus da UFES (Vitória - ES)	Eritrina
<i>Hymenaea coubaril</i> L.	Legumino- sae	Semente	Solos de alta e média fertilidade*	Outubro a Dezembro*	Reserva Biológica de Stª Lúcia (Santa Teresa – ES)	Jatobá*
<i>Ormosia arborea</i> (Vell.) Harms	Legumino- sae	Semente	Floresta pluvial e latifoliada*	Outubro e Novembro*	Alto Biriricas (Domingos Martins – ES)	Olho-de-boi*

Fonte: * Lorenzi (1992).

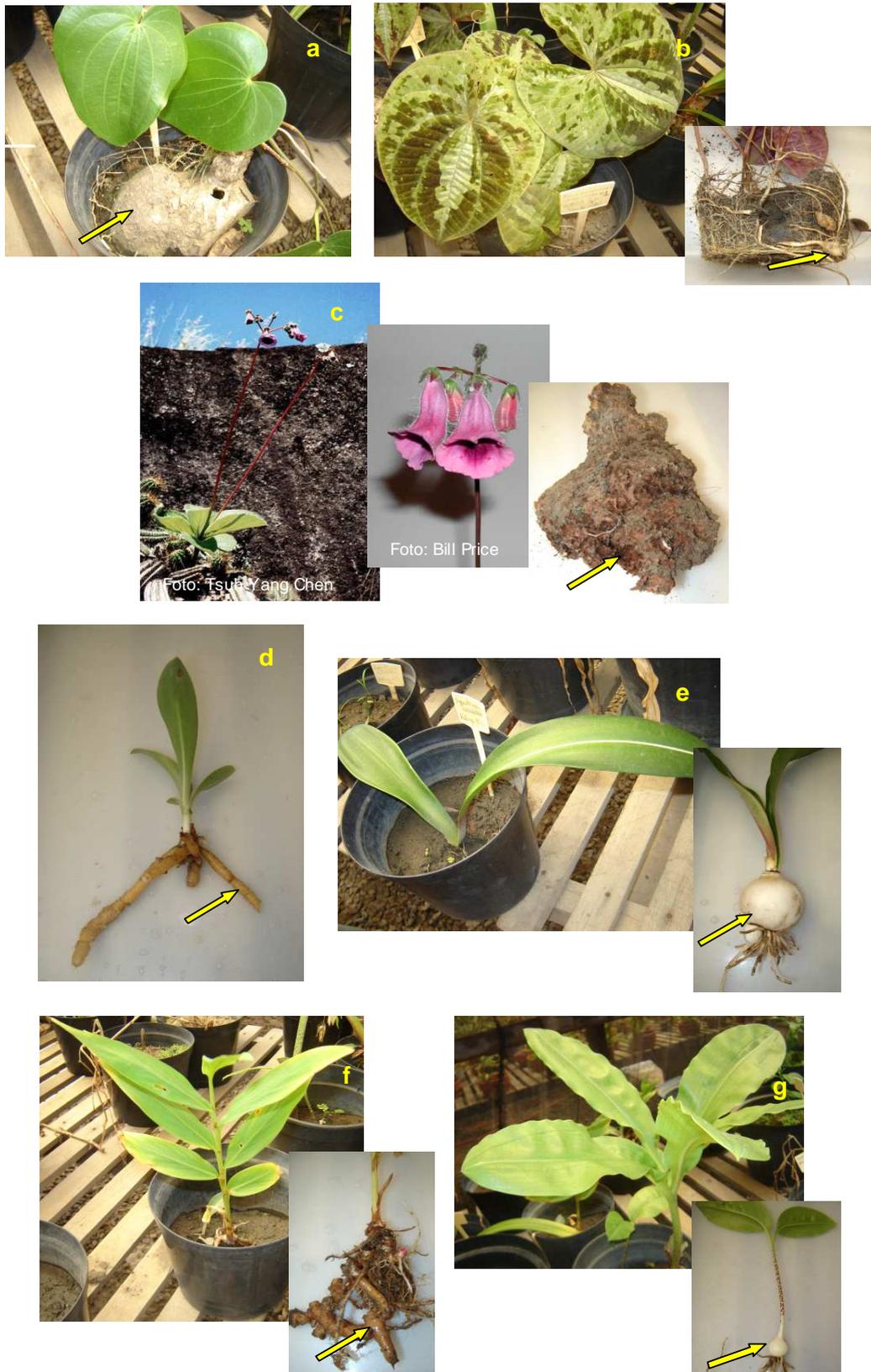


Figura 3: Plantas herbáceas de: (a) *Disocorea* sp 1 (Dioscoreaceae); (b) *Dioscorea* sp 2 (Dioscoreaceae); (c) *Sinningia aghensis* Chautems (Gesneriaceae) ; (d) *Prescottia nivalis* Barb. Rodr (Orquidaceae); (e) *Hippeastrum reticulatum* Herb. (Amaryllidaceae); (f) *Hedychium coronarium* J. Koenig (Zingiberaceae); (g) *Scadoxus multiflorus* Martyn (Amaryllidaceae). As setas indicam o órgão subterrâneo de reserva analisado.



Figura 4: Plantas da Família Leguminosae: (a) *Cassia grandis* L.; (b) *Erythrina variegata* L.; (c) *Cassia fistula* L.; (d) *Hymenaea coubaril* L.; (e) *Ormosia arborea* (Vell.) Harms.; (f) *Canavalia rosea* L.

2.4. RESULTADOS

A figura 5 apresenta os dados referentes ao conteúdo de açúcares totais solúveis nas frações etanólica (oligossacarídeos) e aquosa (polissacarídeos). O conteúdo total dessas frações aquosas e etanólicas foi maior em bulbos de *H. reticulatum* (945 mg,g⁻¹ MS), rizomas de *P. nivalis* (837 mg,g⁻¹ MS) e bulbos de *Scadoxus multiflorus* (310 mg,g⁻¹ MS), especialmente na fração de oligossacarídeos para *P. nivalis* e *S. multiflorus* e, de polissacarídeos para *H. reticulatum*. As plantas tuberosas *Dioscorea sp.1*, *Dioscorea sp.2* e *S. aghensis* e formadora de rizoma *H. coronarium*, apresentaram baixos valores de açúcares totais solúveis variando de 580 mg,g⁻¹ a 160 mg,g⁻¹ da MS, sendo que para *D. sp 2* e *H. coronarium* os valores foram maiores nas frações de polissacarídeos e para *Dioscorea sp 1* e *S. aghensis* esse açúcar predominou na fração de oligossacarídeos.

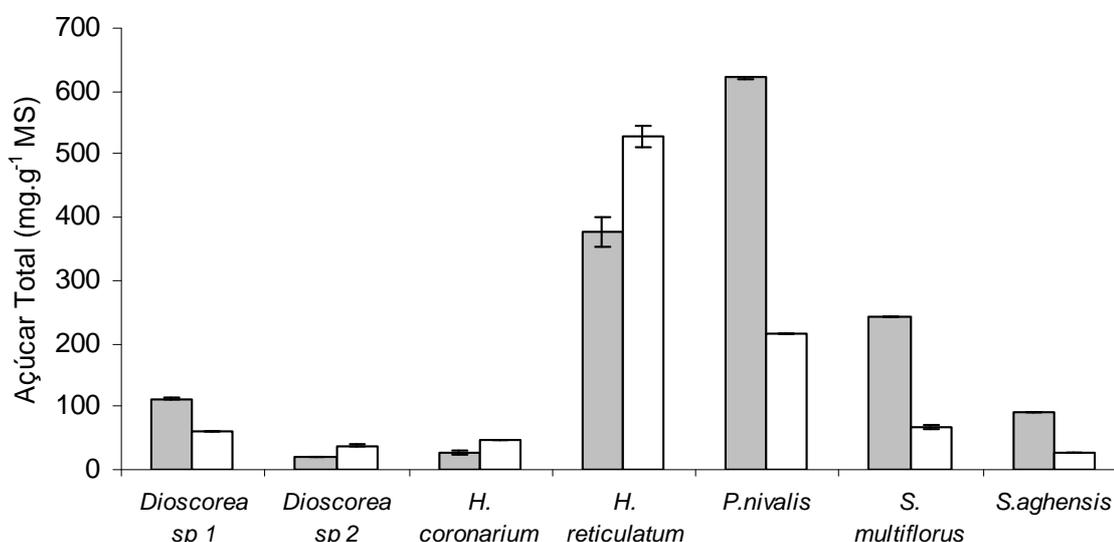


Figura 5. Conteúdo de açúcares totais solúveis nas frações de oligossacarídeos (■) e polissacarídeos (□) nos órgãos subterrâneos das espécies herbáceas analisadas. Barras representam o erro padrão (n=6).

Dos açúcares totais solúveis, a sacarose foi o componente em maior concentração (FIGURA 6), especialmente nas espécies formadoras de bulbos (*H. reticulatum* e *S. multiflorus*) e rizoma (*P. nivalis*). Nesse aspecto, *H. reticulatum* e *P. nivalis*

mostraram as maiores concentrações desse açúcar chegando a corresponder, em média, a 660 mg.g^{-1} da massa seca. Maior concentração de sacarose foi encontrada na fração de polissacarídeos de *H. reticulatum* e em oligossacarídeos para *P. nivalis*. Os valores correspondentes desse carboidrato para *H. reticulatum* foi de 134 mg.g^{-1} de MS da fração de oligo e 531 mg.g^{-1} de MS da fração de polissacarídeos enquanto em *P. nivalis* a concentração de sacarose foi de 470 mg.g^{-1} de MS da fração de oligo e 176 mg.g^{-1} de MS da fração de polissacarídeos. *S. multiflorus* foi a terceira espécie mais rica nesse dissacarídeo com o valor de 146 mg.g^{-1} de MS da fração de oligo e 58 mg.g^{-1} de MS da fração de polissacarídeos. Das plantas tuberosas *Dioscorea sp. 1* e *S. aghensis* foram as que mostraram maiores concentrações de sacarose variando de 50 a 80 mg.g^{-1} de MS na fração de polissacarídeos enquanto valores insignificantes foram encontrados nas frações de oligossacarídeos em seus tubérculos.

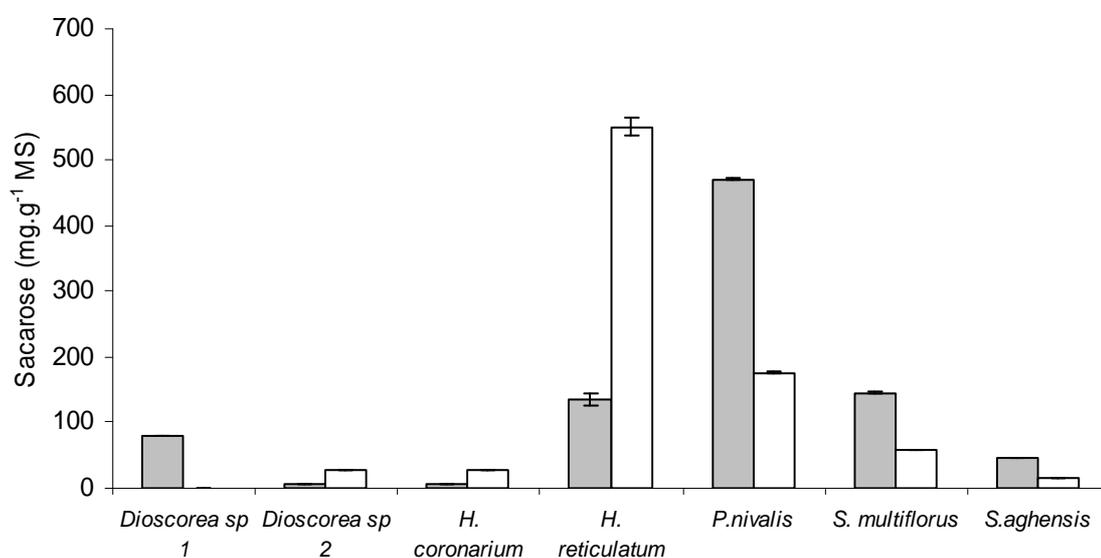


Figura 6. Conteúdo de sacarose como parte integrante dos açúcares solúveis nas frações de oligossacarídeos (■) e polissacarídeos (□) nos órgãos subterrâneos das espécies herbáceas analisadas. Barras representam o erro padrão (n=6).

A frutose livre e combinada foi o segundo componente mais representativo dos carboidratos totais solúveis (FIGURA 7). Mais uma vez as espécies que apresentaram maiores concentrações de sacarose também mostraram maiores

valores de frutose sendo que a concentração desse monossacarídeo foi desprezível na fração de polissacarídeo para todas as espécies investigadas. Sendo assim, os maiores valores (fração de oligossacarídeos) foram obtidos, entre as formadoras de bulbo, em *H. reticulatum* (246 mg.g^{-1} de MS), seguida de *S. multiflorus* (85 mg.g^{-1} de MS) e, rizomatosas, *P. nivalis* (67 mg.g^{-1} de MS). *Dioscorea* sp. 1, *S. aghensis*, *H. coronarium* e *Dioscorea* sp. 2 mostraram os mais baixos valores de frutose que variou de 25 a 47 mg.g^{-1} da matéria seca de seus órgãos subterrâneos.

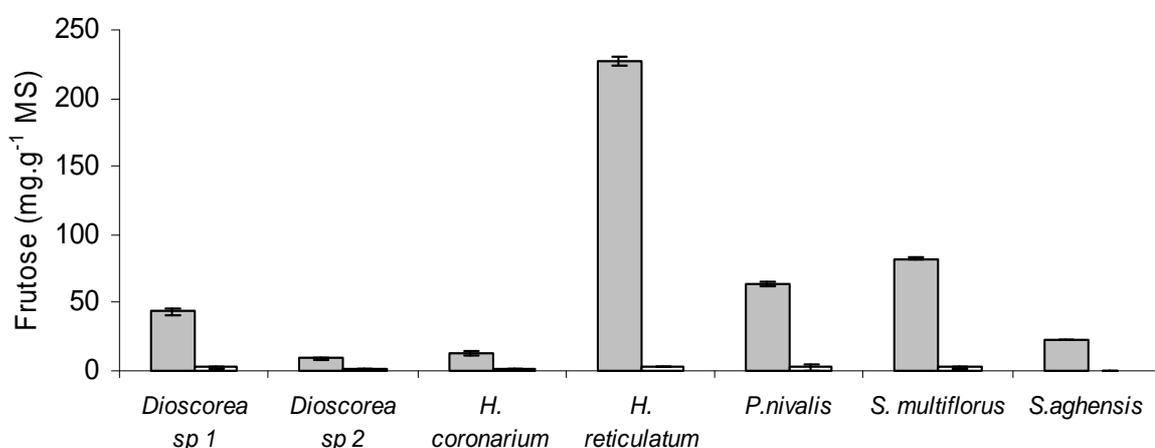


Figura 7. Conteúdo de frutose como parte integrante dos açúcares solúveis nas frações de oligossacarídeos (■) e polissacarídeos (□) nos órgãos subterrâneos das espécies herbáceas analisadas. Barras representam o erro padrão (n=6).

A glicose livre foi o componente energético em menor concentração entre os carboidratos totais solúveis variando de 6 a 50 mg.g^{-1} de MS (FIGURA 8). Semelhante ao observado para a frutose, maiores valores de glicose foram encontrados na fração de polissacarídeo de *H. reticulatum*, representando apenas 24 mg.g^{-1} de matéria seca, e na fração de oligossacarídeo de *P. nivalis* cuja concentração de glicose foi de 44 mg.g^{-1} de MS. Das espécie estudadas, a que apresentou maior valor desse açúcar, somando-se as duas frações, foi *P. nivalis* (50 mg.g^{-1} de MS) enquanto *S. multiflorus* foi a espécie que teve o menor valor desse monossacarídeo (6 mg.g^{-1} de MS).

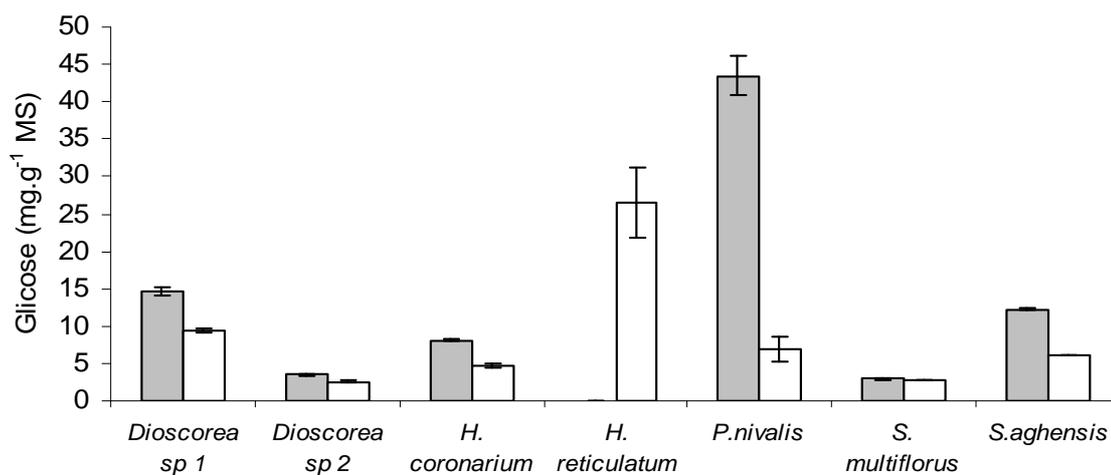


Figura 8. Conteúdo de glicose como parte integrante dos açúcares solúveis nas frações de oligossacarídeos (■) e polissacarídeos (□) dos órgãos subterrâneos das espécies herbáceas analisadas. Barras representam o erro padrão (n=6).

Os resultados sobre o conteúdo de amido apresentados na figura 9 mostram que as plantas tuberosas da Família Dioscoriaceae possuem os mais elevados teores desse polissacarídeo. Maior valor foi verificado em *Dioscorea sp. 1* (520 mg.g⁻¹ de MS) seguida de *Dioscorea sp. 2* (129 mg.g⁻¹ de MS). *S. multiflorus*, *H. coronarium* e *H. reticulatum* apresentaram valores intermediários (20 a 40 mg.g⁻¹ de MS), enquanto *P. nivalis* e *S. aghensis* tiveram os valores mais baixos, inferiores a 10 mg.g⁻¹ de MS.

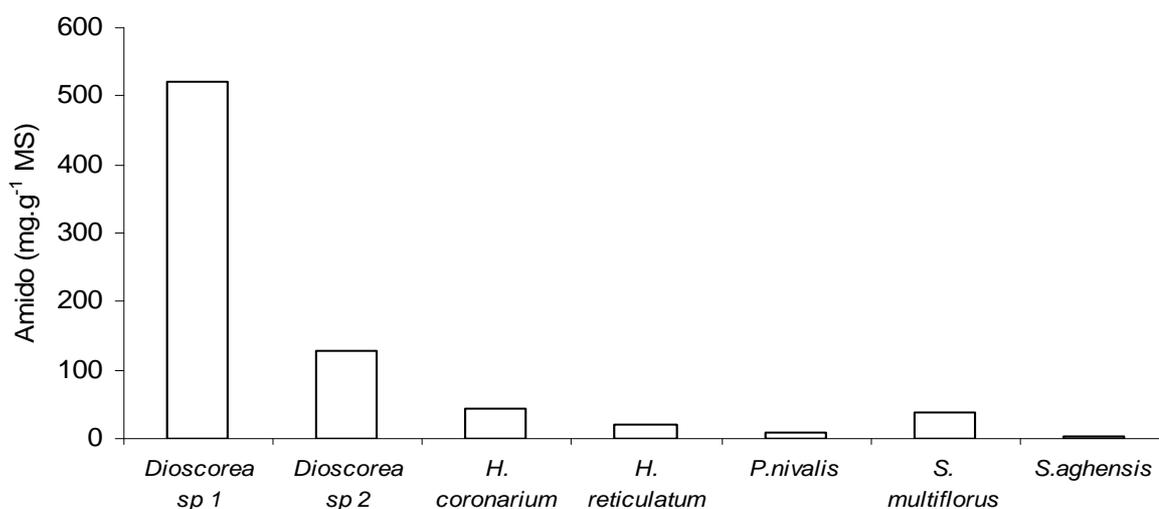


Figura 9. Conteúdo de amido nos órgãos subterrâneos das espécies herbáceas analisadas.

Quanto aos polissacarídeos de reserva de sementes das espécies de Leguminosae investigadas (figura 10), *H. coubaril*, *C. grandis* e *C. rosea* aparecem como os indivíduos que detêm maiores concentrações desses carboidratos representando 730, 530 e 400 mg.g⁻¹ de MS, respectivamente, enquanto valores intermediários foram obtidos em *C. fistula* (240 mg.g⁻¹ de MS) e *E. variegata* (110 mg.g⁻¹ de MS). *O. arborea* mostrou o mais baixo teor desses carboidratos representando apenas 30 mg.g⁻¹ da massa seca de suas sementes.

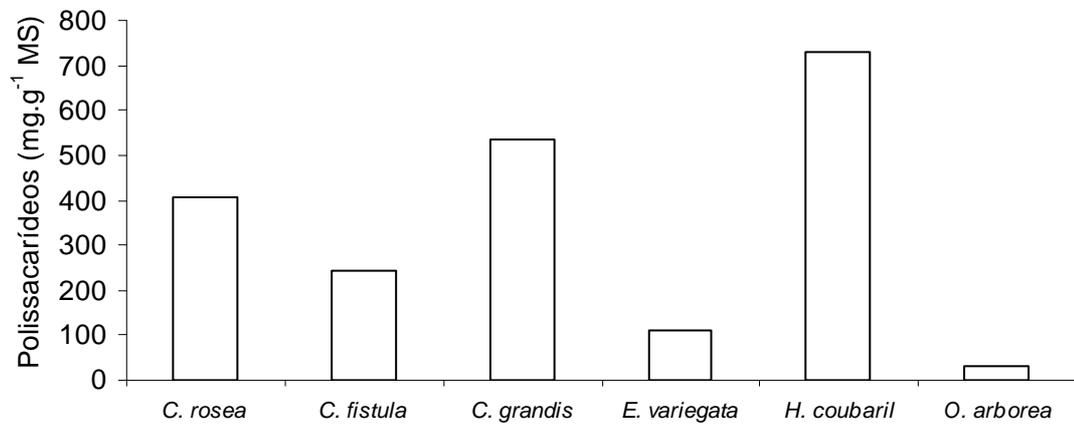


Figura 10: Conteúdo de polissacarídeos de reserva de parede celular das sementes das espécies analisadas.

2.5. DISCUSSÃO

Conforme as análises realizadas, nota-se a existência de um padrão de proporcionalidade na composição dos carboidratos onde a sacarose aparece em maior concentração, a frutose com valores intermediários seguido de baixíssimas concentrações de glicose. Das plantas estudadas, bulbos de *H. reticulatum* destacaram-se por apresentar maior teor de açúcares totais solúveis (94,5% MS) constituído, basicamente de sacarose (66,5% MS), seguida de frutose (25% MS) do extrato bruto que consiste em frações etanólicas e aquosas. Comportamento similar, porém, com valores inferiores, foi verificado em bulbos de *S. multiflorus* e rizomas de *P. nivalis* onde o conteúdo de sacarose foi de 20% da MS e 65%, respectivamente.

Stancato et al. (1995) registraram, também, para *Hippeastrum hybridum*, uma espécie cultivada ornamental, teores elevados de açúcares em que 58% da MS de seus bulbos foi constituída de sacarose e 22% da MS de amido. Em relação a essa espécie, os teores de sacarose em *Hippeastrum reticulatum* da restinga do Espírito Santo, são similares. No entanto, o teor de amido dessa espécie foi muito baixo, correspondendo somente a 2% da MS.

Shin et al. (2002) relataram teores elevados de sacarose em duas espécies híbridas do gênero *Lilium* (“Casablanca” e “Mona”), ambas produtoras de bulbo. Esse carboidrato é o de maior mobilidade nas plantas uma vez que a maioria dos esqueletos de carbono produzidos na fotossíntese é canalizada para sua síntese (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 2004). A estabilidade estrutural desse dissacarídeo permite que o mesmo seja o principal carboidrato transportado no floema e devido a sua configuração estrutural não redutora é protegida do ataque enzimático (MORAES, 2000). Além de ser amplamente utilizada como adoçante natural, a sacarose é empregada na indústria para a produção de álcool combustível (MORAES, 2000).

Na maioria das plantas, a sacarose é o principal açúcar exportado de órgãos-fonte (folhas) para órgãos-dreno (caule, gemas vegetativas, raízes e órgãos reprodutivos) onde é utilizada para o crescimento desses órgãos e/ou armazenamento em

vacúolos. As hexoses liberadas a partir da hidrólise de sacarose podem ser utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos e também fornecendo açúcares redutores para o processo de ajustamento osmótico (CHAVES-FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001). De fato, a resistência de algumas plantas ao déficit hídrico parece estar relacionada ao acúmulo de carboidratos solúveis de baixa massa molecular (VIRGONA; BARLOW, 1991), os quais reduzem o potencial osmótico.

O teor elevado de sacarose e a distribuição de *P. nivalis* no Brasil restrita a habitats rupestres (PABST; DUNGS, 1977) tem levado alguns autores como Muller et al. (1997) a classificá-la como planta “revivecente”, e este mesmo autor sugere que a sacarose desempenhe papel chave nos mecanismos de resistência ao estresse hídrico.

Os teores consideráveis de frutose encontrados em *H. reticulatum* (20% da MS), em *S. multiflorus* e em *P. nivalis* (8% de MS) podem ser um indicativo da presença de frutanos. Para a confirmação dessa suposição faz-se necessária uma análise mais detalhada dos órgãos subterrâneos dessas espécies, uma vez que nenhuma referência foi encontrada na literatura a esse respeito.

Os frutanos são polissacarídeos com grande importância econômica e ecológica. São polímeros de D-frutose relacionada estrutural e metabolicamente com a sacarose e diferem dos demais polissacarídeos por serem altamente solúveis em água quente e insolúvel em etanol, bastante suscetível à hidrólise ácida e são armazenados exclusivamente nos vacúolos (POLLOCK, 1986). São encontrados abundantemente em monocotiledôneas da Ordem Poales e da Família Amaryllidaceae (de regiões temperadas) e nas Famílias Iridaceae e Liliaceae (de distribuição cosmopolita), e de cerrado (Brasil), e nas dicotiledôneas, esse carboidrato está presente em espécies da Família Asteraceae, com distribuição também cosmopolita (FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993). Podem ser encontrados em diferentes estruturas das plantas como folhas e caules ou em órgãos de armazenamento como bulbos, tubérculos e rizóforos.

Quando comparada a *Sinningia alagophylla*, uma espécie do Cerrado, cujo conteúdo de amido corresponde a 50 % da MS (ALMEIDA, 1994), os resultados obtidos com *S. aghensis*, da flora do Espírito Santo, parecem contraditórios, uma vez que o amido representou apenas 1% de sua MS. No entanto, Muller et. al. (1997), trabalhando com os gêneros *Ramonda* e *Haberlea*, ambos da família Gesneriaceae, constataram resultados similares ao verificado em *S. aghensis* em que a sacarose foi o carboidrato solúvel mais representativo e o amido, o menos expressivo.

Muitos dos alimentos atualmente consumidos originaram-se de regiões tropicais, onde se encontram os parentes selvagens das espécies cultivadas (KERBAUY, 2004). Tratando-se de alimentação humana as espécies do gênero *Dioscorea* possuem rizomas tuberosos feculentos contendo vitaminas do complexo B, sendo conhecidos no Brasil como cará (JOLY, 1991). Algumas espécies podem apresentar propriedades organolépticas (CRAUFURD et al., 2001) e precursores da síntese de adrenocorticóides (CHU; FIGUEIRO-RIBEIRO, 2002). Segundo Mercier (1985), o amido é o principal polissacarídeo de reserva em tubérculos de mandioca, inhame e cará, podendo ser armazenado nas células vegetais em grande quantidade, em plastídios especiais denominados amiloplastos. O amido difere dos demais carboidratos por ser um polímero de glicose, complexo e insolúvel, servindo como a principal fonte de reserva das plantas.

Os tubérculos das espécies do gênero *Dioscorea* sp. 1 estudados no presente trabalho apresentaram conteúdo elevado de amido chegando ao valor de 50% da MS. Segundo Alves e Grossmann (2002), a quantidade elevada de amido em *Dioscorea alata* (inhame) demonstra ser viável seu uso na indústria de processamentos alimentícios para fabricação de biscoitos. De acordo com Leonel e Cereda (2002), embora o gênero *Dioscorea* seja rico em amido com potencial de produção estimado em 6,1 toneladas por hectare, industrialmente ele é menos utilizado que o amido de mandioca. Esse fato deve-se a grande quantidade de mucilagens que mantêm o amido em suspensão não permitindo a sua sedimentação.

As indústrias alimentícias são as maiores consumidoras de amido, entretanto, este polímero é usado também em um grande número de processos industriais destacando-se seu uso pelas indústrias química e têxtil (LEONEL; CEREDA, 2002). Atualmente, devido às restrições a amidos modificados impostas principalmente pelas indústrias alimentícias, as empresas produtoras de amido no mundo vêm demonstrando um interesse cada vez maior em amidos naturais com características que atendam ao mercado consumidor. Desse modo, embora o conteúdo de amido em *Dioscorea* sp. 1 (52% da MS) possa ser considerado significativo e o de *Dioscorea* sp.2 (12,9% da MS) não ter sido tão elevado, análises mais refinadas poderiam revelar propriedades físico-químicas de grande interesse para o mercado consumidor dessas Dioscoriaceae da flora do Espírito Santo.

Além do potencial das plantas nativas como produtoras de carboidratos com fins comerciais, uma outra importância econômica de plantas portadoras de órgãos de reserva subterrâneos é a sua utilização como ornamentais. O gênero *Hippeastrum* contém várias espécies de valor ornamental (STANCATO et al., 1995). São conhecidas como amarílis e algumas delas, devido à combinação de vermelho e verde-escuro, são favoráveis para comercialização no natal e ano novo, uma vez que seu florescimento pode ser manipulado para esses períodos (SILBERBUSH et al., 2003). Destaca-se também *H. coronarium*, uma macrófita aquática, exótica e invasora, popularmente conhecida como lírio-do-brejo ou mariazinha-do-brejo (SANTOS, 2003), e o gênero *Sinningia* com amplo cultivo, conhecidas como gloxínias (CHAUTEMS et al., 2003).

Além dos órgãos subterrâneos, as plantas armazenam polissacarídeos importantes na parede celular de sementes (BUCKERIDGE et al., 2000). Muitas sementes de leguminosas são conhecidas por acumular carboidratos como reservas nutritivas. Normalmente, os polissacarídeos de reserva de parede como o galactomanano, o galactano e o xiloglucano são tidos como reserva das plântulas em crescimento, sendo mobilizados no processo de germinação (BUCKERIDGE; REID, 1996). O consumo dessas fibras proporciona uma série de benefícios ao organismo humano tendo sido relatado resultados satisfatórios na prevenção de algumas doenças crônicas (BELLO, 1995). Funções gastrointestinais, aumento da massa fecal,

redução dos níveis de colesterol, glicemia e insulina pós-prandial são alguns dos efeitos fisiológicos promovidos pelas fibras biológicas (LOPEZ et al., 1997).

Das espécies analisadas no presente trabalho, *H. courbaril* mostrou o mais elevado valor de PRPC que chegou a representar 70% da massa seca de sementes. Esse maior valor em relação àquele encontrado em jatobá da flora de São Paulo (40% de xiloglucano) por Buckeridge e Dietrich (1990) denota diferenças quantitativas e, possivelmente, até qualitativas do xiloglucano extraído em sementes de Jatobá da Mata Atlântica do Espírito Santo. Variações qualitativas e quantitativas para polissacarídeos numa mesma espécie habitando diferentes localidades é citado na literatura (FREITAS et al., 2005). Nesse aspecto, o conteúdo de polissacarídeos de *Copaifera langsdorfii* da Mata Atlântica foi mais alto do que aquele obtido do ambiente de cerrado (BUCKERIDGE et al., 1992) e similar ao conteúdo verificado no presente trabalho entre *H. courbaril* da Mata Atlântica de São Paulo do Espírito Santo. Análises mais refinadas como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) poderiam confirmar os resultados obtidos e avaliar ainda aspectos físicos e fisiológicos do xiloglucano do Jatobá da restinga.

Estudos têm demonstrado que a farinha da semente do jatobá-do-cerrado possui conteúdo elevado de fibra alimentar, com grande potencial para utilização na preparação de produtos como biscoitos (SILVA et al., 1999).

Buckeridge et al. (1992) e Morais (2000) analisaram a composição dos polissacarídeos de sementes de *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*, espécie nativa encontrada do nordeste ao sul do Brasil, e *Copaifera langsdorfii* oriunda da Mata Atlântica e de Cerrado. Eles verificaram que a composição do xiloglucano era igual ao encontrado para o tamarindo (*Tamarindus indica*) quanto à proporção de monossacarídeos liberados por hidrólise ácida. Os polissacarídeos de *C. langsdorfii*, no entanto, mostraram conteúdos de galactose mais altos do que o xiloglucano de tamarindo.

Em *C. grandis* foram encontrados polissacarídeos compreendendo 53% da massa seca de suas sementes (FIGURA 10). A presença de polissacarídeos do tipo galactomanano em espécies do gênero *Cassia* de florestas tropicais da Índia

(KAPOOR; JOSHI, 2003) sugere que os polissacarídeos encontrados em *C. grandis* e *C. fistula* sejam também do tipo galactomanano com valores percentuais equivalentes ao relatado por Kapoor e Joshi (2003). Dada a elevada concentração de polissacarídeos em *C. grandis*, essa espécie poderia ser recomendada como fonte de galactomananos com fins comerciais, bem como *H. courbaril*.

Depois de *H. courbaril* e *Cassia grandis*, *Canavalia rosea* foi a espécie que apresentou maior concentração de polissacarídeos (40% da MS). A identificação de polissacarídeos do tipo galactomananos em *Canavalia ensiformis*, uma arbórea que se desenvolve no Ceará (OLIVEIRA et al. 1999b) sugere que o polissacarídeo encontrado em *C. rosea* seja do tipo galactomanano.

Uma outra propriedade desse composto está relacionado aos mecanismos de defesa das plantas à herbivoria. O ataque de insetos causa perdas consideráveis no cultivo das leguminosas. Embora exista uma variedade de defesas químicas contidas nas plantas, como inibidores de proteinase, metabólitos secundários do tipo taninos e alcalóides, o besouro da espécie *Callosobruchus maculatus* da Ordem Coleoptera, é a maior praga para as cultivares agrícolas (CHRISPEELS, 1996). *Canavalia ensiformes* possui diversos metabólicos como as proteínas canatoxina e canavalina que em conjugação com os galactomananos têm efeito tóxico no desenvolvimento das larvas de *C. maculatus* (OLIVEIRA et al.; 1999a). Por pertencer ao mesmo gênero de *C. ensiformis*, é possível que *C. rosea* também possua constituintes químicos similares.

A concentração de polissacarídeos em *E. variegata* foi muito baixa (FIGURA 6), representando apenas 10% de sua massa seca, sendo esse valor menor ainda em *O. arborea* (3%) mostrando que essas duas espécies possuem baixo potencial para trabalhos de bioprospecção visando à produção de polissacarídeos funcionais. Até o momento nenhuma informação foi localizada a respeito da constituição química dos polissacarídeos dos gêneros *Erytrina* e *Ormosia* ficando a identificação dos polissacarídeos de *E. variegata* e *O. arborea* dependente da análise por cromatografia o que poderia revelar características moleculares de grande valor para a indústria química e alimentícia interessadas em fibras biológicas.

Semelhante a essas duas espécies, o conteúdo de reserva em sementes de plantas nativas não é muito explorado apesar da grande diversidade e biomassa vegetal existente em florestas brasileiras. Porém, como constatado no presente trabalho, os estudos relacionados à bioprospecção revelam resultados promissores mostrando o grande potencial econômico de sementes e de órgãos subterrâneos de armazenamento encontrados na flora brasileira. É preciso ressaltar que grande parte dos alimentos originou-se de regiões tropicais, onde se encontram os parentes selvagens das espécies cultivadas. Tais indivíduos possuem materiais genéticos que podem ser usados para modificar o cultivo atual e produzir variedades resistentes a pestes e doenças, e que podem adaptar-se a solos e climas insatisfatórios para o cultivo (CORSON, 2002).

Dessa forma, a continuação desse estudo permitirá a criação de um banco de dados sobre os recursos da Mata Atlântica do Estado do Espírito Santo como produtora de “carboidratos funcionais” e fornecer subsídios para programas de desenvolvimento sustentável e, ainda, estabelecer estratégias de conservação de sua flora considerada uma das mais ricas do mundo (THOMAZ, 1996). Essa imensa riqueza natural constitui-se em verdadeiro patrimônio científico e cultural que precisa ser conhecido, preservado e explorado.

2.6 Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, Vilma Palazetti de. V. **Tuberização em *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae), uma espécie do cerrado**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1994.
- BELLO, J. Los alimentos funcionales nutraceuticos: funciones saludables de algunos componentes de los alimentos. **Alimentaria**, v. 267, p. 49-58, 1995.
- ALVES, R.M.L.; GROSSMANN, M.V.E. Yam flour for expanded snacks. **Ciência Tecnologia Alimentícia**, v.22, n.1, p. 32-38, ISSN 0101-2061, 2002.
- BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M A. S. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology Biochemistry**, n. 38, v.1, p.141-156, 2000.
- BUCKERIDGE, M.S.; REID, J.S.G. Major cell wall storage polysaccharides in legume seeds: structure, catabolism and biological functions. **Ciência e Cultura**, v. 48, p. 153–162, 1996.
- BUCKERIDGE, M.S.; ROCHA, D.C.; REID, J.S.G.; DIETRICH, S.M.C. Xyloglucan structure and post-germinative metabolism in seeds of *Copaifera langsdorfii* from savana and forest populations. **Physiology Plantarum**, v. 86, p.145–151, 1992.
- BUCKERIDGE, M.S.; DIETRICH, S.M.C. Galactomannan from Brazilian legume seeds. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 13, p. 109-112, 1990.
- CARVALHO, Maria Angela Machado. **Variações no conteúdo e na composição de frutanos em rizóforos de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby**. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1991.
- CHAUTEMS, P. M.; SPICHIGER, R.; KITE, G. SAVOLAINEM, V. Systematics and evolution of tribe Sinningeae (Gesneriaceae) evidence from phylogenetic analyses of six plastid DNA regions and nuclear ncpGS. **American Journal of Botany**, v. 90, n. 3, p. 445-460, 2003.
- CHAVES-FILHO J.T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.
- CHRISPEELS, M. J. Transfer of bruchid resistance from the common bean to other starchy grain legumes by genetic engineering with the α -amylase inhibitor gene. In: Carozzi, N.; Koziel, M. (eds.). **Transgenic Plants for Control of Insect Pests**. Taylor & Francis Publishers, Londres, Inglaterra, 1996.
- CHU, E.P.; FIGUEREIDO-RIBEIRO, R.C.L. Growth and carbohydrate changes in shoot cultures of *Dioscorea* species as influenced by photoperiod, exogenous sucrose and cytokinin concentrations. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 70, p. 241-249, 2002.

CORSON, W.H. 4ª edição, **Augustus Editora**, São Paulo, SP, 2002.

COUSSEMENT, P.; FRANCK, A. New food applications for inulin. **Agro-food-Industry Hi-Tech**, v.9, p. 26-28, 1998.

CRAUFURD, P.Q.; SUMMERFIED, R.J.; ASIEDU, R.; PRASAD, P.V.V. Domancy in yam. **Experimental Agriculture**, v. 37, p. 147-181, 2001.

CREPALDI, I.A.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; RIOS, M.D.G.; PENTEADO, M.V.C.; SALATINO, A. Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronata*) Martius Beccari. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, p. 155-159, 2001.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. colorimetric method for the determination of sugars and related substances. **Division of Biochemistry**, v. 28, n. 3, 1956.

FIGUEIREDO-RIBEIRO et al. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogam S.A, 2004.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 5, n. 2, p. 203-208, 1993.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; DIETRICH, S.M.C.; CHU, E.P.; CARVALHO, M.A.M.; VIEIRA, C.C.J.; GRAZIANO, T.T. Reserve carbohydrates in underground organs of native Brazilian plants. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 9, p. 159-166, 1986.

FREITAS, R. A.; MARTIN, S.; SANTOS, G. L.; VALENGA, F.; BUCKERIDGE M. S.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M. R. Physico-chemical properties of seed xyloglucans from different sources. **Carbohydrates Polymers**, v. 60, p. 507-514, 2005.

GONÇALVES, J.F. DE C.; FERNANDES, A.V.; OLIVEIRA, A.F.M. Primary metabolism components of seeds from Brazilian Amazon tree species. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 14, n. 2, p. 139-142, 2002.

JERMYN, M. A. A new method for determination of ketohexoses in presence of aldohexoses. **Nature**, v. 177, p. 38-39, 1956.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal**. 5 ed. São Paulo: Nacional Editora, 1991.

KAPOOR, V.P.; JOSHI, H. *Cassia grandis* Linn. f. seed galactomannan: structural and crystallographical studies. **Carbohydrate Research**, v. 338, p. 1907-1912, 2003.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogam S.A, 2004.

LEONEL, M.; CEREDA, M.P. Physicochemical characterization of some starch tubers. **Ciência Tecnologia Alimentícia**, v. 22, n. 1, p. 65-69, 2002.

LÓPEZ, G.; ROS, G.; RINCÓN, F.; PERIAGO, M. J.; MARTÍNEZ, C.; ORTUNO, J. Propriedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción em el tracto gastrointestinal. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 47, n. 3, p. 203-207, 1997.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil – Arbustivas, herbáceas e trepadeiras**, 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1999.

Mc CREADY, R. M., GUGGOLZ, J., SILVEIRA, V., OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas. **Analytical Chemistry** v. 22, p. 1156-1158, 1950.

MERCIER, C.. Biosynthesis and accumulation of polysaccharides in seeds and tubers. **Physiology Plantarum**, v. 23, p. 231-242, 1985.

MORAES, M. G. **Carboidratos solúveis em gramíneas nativas do cerrado**. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

MORAIS, G.A. **Germinação e Desenvolvimento inicial de *Hymenaea courbaril* L.: efeito de condições ambientais contrastantes e da remoção cotiledonar**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2000.

MULLER, J.; SPRENGER, N.; BORTILIK, K.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. Desiccation increases sucrose levels in *Ramonda* and *Haberlea*, two genera of resurrection plants in the Gesneriaceae. **Physiology Plantarum**, v. 100, p. 153-158, 1997.

OLIVEIRA, A.E.A.; GOMES, V.M.; SALES, M.P.; FERNANDES, K.V.S.; CARLINI, C.R.; XAVIER-FILHO, J. The toxicity of Jack bean (*Canavalia ensiformis*) L. DC. canatoxin to plant pathogenic fungi. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, p. 59–62, 1999a.

OLIVEIRA, A.E.A.; SALES, M.P.; MACHADO, O.L.T.; FERNANDES, K.V.S.; XAVIER-FILHO, J. The toxicity of Jack bean (*Canavalia ensiformis*) cotyledon and seed coat proteins to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 92, p. 249–255, 1999b.

POLLOCK, C.J. Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. **New Phytologist**, v. 104, p. 1-24, 1986.

PABST, G.F.J.; DUNGS, F. **Orquidaceae Brasilienses**. Brücke-verlag, 1977.

RIAZI, A. MOTSUDA, K. ARSLON, A. Water – Stress induced changes in concentrations of prolines and other solutes in growes regions of young barley leaves. **Journal of Sperimental Botany**, v. 172, p. 1716-1725, 1985.

SAEMAN, J. F.; BUHL, J. L.; HARRIS, E. E. Quantitative saccharification of wood and cellulose. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, v. 17, p. 35-37, 1945.

SANTOS, S.B.; PEDRALLI, G. Biologia e fenologia de populações de *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberaceae) da estação ecológica do Tripuí, Ouro Preto, MG. In: **54º Congresso Nacional de Botânica**, Belém, 2003.

SCHAFFER, W.B.; PROCHNOW, M. ORGANIZADORES. **A Mata Atlântica e Você. Como preservar, recuperar e se beneficiar da mais ameaçada floresta brasileira**. Brasília: APREMAVI, 2002.

SHIN, K. S.; CHAKRABARTY, D.; PAEK, K. Y., Sprouting rate change of carbohydrate contents and related enzymes during cold treatment of lily bulblets regenerated in vitro. **Scientia Horticulturae**, v. 96, p.195-204, 2002.

SILBERBUSH, M.; EPHRATH, J.E.; ALEKPEROV, C.E; BEN-ASHER, J. Nitrogen and potassium fertilization interactions with carbon dioxide enrichment in *Hippeastrum* bulb growth. **Scientia Horticulturae**, v. 98, p. 85-90, 2003.

SILVA, R.F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**, v. 41, p. 792-794, 1996.

SILVA, M.R.; SILVA, M.A.A.P.; CHANG, Y.K. Uso de farinha de jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) em biscoitos tipo "cookie". **Alimentação e Nutrição**, v. 10, p. 7-22, 1999.

STANCATO, G.C.; MAZZAFERA, P.; MAGALHÃES, A.C. Dry matter partitioning during the propagation of *Hippeastrum hybridum* as affected by light. **Scientia Horticulturae**, v. 62, p. 81-87, 1995.

THOMAZ, L.D. **Florística e Fitossociologia da Floresta Atlântica na Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Tereza-ES**. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1996.

TOMOMATSU, H. Health effects of oligosaccharides. **Food Technology** v. october, p. 61-65, 1994.

VIRGONA, J.M.; BARLOW, W.E.R. Drought stress induces changes in non-structural carbohydrate composition of wheat stems. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 239-247, 1991.

YEXKULL, H.R.; MUTERT, E. Global extent, development and economic impact of acid soils. **Plant Soil**, v. 171, p. 1-15, 1995.

**3 VARIAÇÃO SAZONAL DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS EM
TUBÉRCULOS DE *Sinningia aghensis* CHAUTEMS
(GESNERIACEAE).**

3.1 INTRODUÇÃO

No Reino Vegetal, os carboidratos de reserva mais abundantes incluem o amido, açúcares solúveis (redutores e não-redutores), glucomanos e frutanos (TOIT et al., 2004). Além de atuarem como substrato energético e de compostos estruturais, vários desses açúcares desempenham o papel de proteção contra os estresses ambientais (MORAES, 2001).

Em algumas espécies vegetais, os carboidratos podem apresentar uma variação sazonal atribuída à fase fenológica. *Oxytropis sericea*, por exemplo, uma herbácea perene que cresce nos Alpes, apresentou uma diminuição dos carboidratos não-estruturais nos órgãos de reserva na fase de dormência que ocorre no inverno (WYKA, 1999).

Da mesma forma, variação sazonal foi encontrada em plantas de cerejeira (*Prunus avium* L.) onde se observou, no verão, aumento na concentração de carboidratos em seus troncos. Na primavera, quando se dá o florescimento e o desenvolvimento dos frutos dessa cultura, foi observada redução dos níveis de carboidratos (CLAIR-MACZULAJTYS et al., 1994).

Variações sazonais também foram registradas em outros compostos vegetais, além dos carboidratos (TOOR et al., 2006; RAFFO et al., 2006; MARINHO-SORIANO et al., 2005; CAMPEOL et al., 2005; KIM et al., 2006). Condições ambientais como radiação solar e temperatura influenciaram no teor de compostos antioxidantes em frutos de tomateiro. No inverno, o teor de licopeno aumentou em detrimento dos compostos fenólicos (RAFFO et al., 2006; TOOR et al., 2006).

Marinho-Soriano et al. (2005) verificaram a variação sazonal de compostos químicos em algas pardas (*Sargassum vulgare*) e vermelhas (*Gracilaria cervicornis*). Nestas espécies a flutuação sazonal de proteínas foi correlacionada com o conteúdo de nitrogênio disponível na água, enquanto a flutuação nos níveis de carboidratos foi atribuída à variação da temperatura, salinidade e radiação.

Análises em folhas de *Polygonum tinctorum*, uma espécie produtora de corante azul, mostrou uma variação sazonal dos precursores dessa tinta utilizada pela indústria.

Esta espécie mostrou uma acentuada redução na produção dos precursores do seu corante nos meses mais secos do ano, conforme foi relatado por Campeol et al. (2005).

Em trabalho recente realizado na Coreia com folhas de *Paeonia lactiflora*, uma herbácea muito utilizada na medicina oriental, Kim et al. (2006) observaram que em folhas desta espécie, o princípio ativo paeniflorina esteve presente em altos níveis nas amostras do final da primavera e verão, decaindo drasticamente após esses períodos.

No Brasil, os primeiros estudos a respeito da composição de carboidratos (TERTULIANO; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993; FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 1986) e das variações ambientais e/ou fenologia em plantas nativas tropicais (DIAS-TAGLIACOZZO, 1995; ISEJIMA; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993; CARVALHO, 1991; ISEJIMA et al., 1991) tiveram início no final da década de 80. Desses poucos trabalhos podemos destacar os resultados com *Vernonia herbacea*, uma herbácea da família Asteraceae do Cerrado de São Paulo. Na fase de brotação, os açúcares solúveis contribuíram com 93% da massa seca em rizóforos desta espécie (CARVALHO, 1991)

Embora a flora de Mata Atlântica do Espírito Santo detenha uma das maiores diversidades do planeta (THOMAZ, 1996) e esteja sujeita a um clima seco no inverno e chuvoso no verão (IEMA, 2003/2004), as espécies vegetais desse bioma ainda não são bem conhecidas quanto à interação entre ambiente e/ou fenologia no balanço de seus compostos energéticos.

Visando contribuir com informações sobre a variação sazonal de carboidratos, foi escolhida para esse estudo *Sinningia aghensis* Chautems (Gesneriaceae), uma espécie que chama a atenção pelo seu hábito rupestre e por sua tolerância à seca. *S. aghensis* é uma espécie tuberosa endêmica e em extinção do Espírito Santo (IPEMA, 2006). A Família Gesneriaceae tem ampla distribuição no Brasil, e o gênero *Sinningia* é encontrado em vários Estados, principalmente na Bahia, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Pernambuco e Espírito Santo (CHAUTEMS, 1991).

Resultados preliminares mostraram que o amido apresentou valores muito baixos não ultrapassando 10% da massa seca no final de verão e início de outono de 2003. Tratando-se de um órgão de reserva subterrâneo esperávamos que essa espécie viesse a apresentar teores mais elevados de amido, uma vez que outra espécie do mesmo gênero, *Sinningia allagophylla*, que se desenvolve no Cerrado de São Paulo, possui, em média, 47% da massa seca dos tubérculos de amido, declinando para 32% na fase de senescência (ALMEIDA, 1994). Referências de plantas que apresentam variações sazonais e/ou fenológicas nos teores de carboidratos (CUZZUOL et al., 2005) contribuíram para levantar a hipótese de que os carboidratos em tubérculos de *S. aghensis* devam apresentar, também, variações sazonais e/ou fenológicas.

3.2 OBJETIVO

- Analisar a variação sazonal dos carboidratos não estruturais em tubérculos de *Sinningia aghensis* Chautems (Gesneriaceae), uma espécie herbácea, perene e rupestre endêmica do Espírito Santo.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Material Vegetal

Seis plantas de *S. aghensis* foram coletadas, aleatoriamente, no Morro do Cruzeiro, município de Vila Velha, Espírito Santo. As coletas foram realizadas nas quatro estações do ano: outono (30 de abril de 2003), inverno (11 de julho de 2003), primavera (23 de outubro de 2003) e verão (29 de janeiro de 2004), por volta das 8:00 horas. A parte aérea das plantas coletadas no outono e no inverno estavam em fase vegetativa, enquanto as da primavera apresentaram-se todas com inflorescência e as do verão demonstravam sinais iniciais de senescência.

O material foi acondicionado em sacolas plásticas e conduzido ao laboratório do Setor de Botânica da Universidade Federal do Espírito Santo onde foram realizadas as extrações e quantificações dos carboidratos. Os tubérculos foram separados da parte aérea e limpos com água das partículas do solo para medida da massa fresca.

3.3.2 Extração dos Carboidratos Solúveis

Frações de 1 grama de massa fresca dos tubérculos de *S. aghensis* foram retirados e fervidos em etanol 80% durante 5 minutos para inativação enzimática. Em seguida maceradas no graal com pistilo e submetidas à extração de oligossacarídeos em banho-maria 80°C por 15 minutos conforme o método de Carvalho (1991). O extrato foi centrifugado a 3.000 g por 15 minutos para separar o sobrenadante (fração etanólica) rica em oligossacarídeos do resíduo. O mesmo processo foi repetido duas vezes. Após a última extração o resíduo foi ressuscitado em 15 mL de água destilada e levado ao banho-maria a 60°C por 30 minutos para extração de polissacarídeos. Os sobrenadantes foram novamente centrifugados e filtrados à vácuo. Repetiu-se essa operação mais uma vez. As frações etanólicas e aquosas foram reunidas e levadas ao rotoevaporador a uma temperatura de 60°C até atingir o volume de 5 mL. Os extratos brutos foram acondicionados no freezer a - 8°C para posteriores análises dos carboidratos solúveis e a massa residual foi reservada e mantida na mesma temperatura para extração do amido.

O amido foi extraído da massa residual citada no item 3.2.1 de acordo com Mc Cready et al. (1950). Junto ao resíduo, em tubos de centrifuga, foram adicionados 5 mL de água e 6,5 mL de ácido perclórico 52%, por 15 minutos (a frio), sendo periodicamente mexidos. Foram acrescentados 15 mL de água e em seguida foi centrifugado a 3.000 g por 15 minutos. O sobrenadante foi separado e a mesma operação repetida mais uma vez. Os extratos foram unidos e armazenados no freezer para posterior quantificação do amido.

3.3.3 Quantificação dos Carboidratos Solúveis

Para a quantificação do açúcar total e da frutose utilizou-se o método da antrona (0,2%) em ácido sulfúrico, segundo metodologia descrita por Jermyn (1956). A solução de antrona utilizada no experimento continha, a cada 100 mL, 76 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄), 24 mL de água e 0,2 g de antrona (C₄H₁₀O), da Merc. O conteúdo de glicose foi estimado de acordo com o Kit Bio Systems e lido em densidade ótica (DO) de 500 nm. Para a sacarose utilizou-se o método da antrona (0,2%) e hidróxido de potássio (5,4N), segundo Riazi et al.,1985. Açúcar total, sacarose e frutose foram lidos em DO de 620 nm.

Para a quantificação do amido, foi utilizando o método da antrona (0,2%) que consiste em misturar uma alíquota do extrato de amido misturado com antrona e água destilada seguida de 10 minutos fervura (JERMYN, 1956). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm da mesma maneira como foi efetuado para os açúcares totais. Os resultados obtidos em mg.g⁻¹ MS foram multiplicados por 0,9 como fator de correção, segundo McCready et al. (1950).

A quantificação dos mesmos foi feita utilizando diferentes equações a partir da média da leitura de duplicatas dos extratos preparados. As curvas padrões que originaram estas equações foram feitas com alíquotas de 50, 100, 150 e 200 µl de solução estoque (frutose e sacarose) na concentração de 200 µg.mL⁻¹ e alíquotas de 10, 20, 30 e 40 µl da solução estoque para a glicose. Para o amido a curva padrão utilizada foi a mesma dos açúcares totais:

$$\text{Açúcares totais: } y=0,0171x - 0,0002 \text{ (R}^2= 0,9999\text{);}$$

Sacarose: $y = 0,0213x + 0,0024$ ($R^2 = 0,9992$);

Frutose: $y = 0,0218x + 0,0036$ ($R^2 = 0,9989$);

Glicose: $y = 10,47x - 4,4$ ($R^2 = 0,9994$).

3.3.4 Determinação da massa seca e do conteúdo relativo de água

Para a determinação da massa seca (MS) dos tubérculos, amostras de 1 g de massa fresca (MF) foram retiradas, pesadas em balança de precisão e mantidas em estufa 65°C até a estabilização da massa. Da parte aérea, o caule e as folhas foram pesados separadamente e as condições de secagem foram as mesmas descritas para os tubérculos.

O conteúdo relativo de água (CRA) presente nas amostras foi calculado pela diferença entre de massa fresca e massa seca e transformado em porcentagem (%) de água por massa fresca.

3.4 RESULTADOS

Tubérculos de *S. aghensis* apresentaram variação sazonal em todos os carboidratos quantificados. O teor de açúcares totais (FIGURA 11) apresentou uma diminuição do outono para o inverno (118,65 e 84,95 mg.g⁻¹ da MS, respectivamente). Nas estações seguintes, primavera e verão, os açúcares solúveis totais apresentaram um aumento, com 113,33 e 173,27 mg.g⁻¹ da MS, respectivamente.

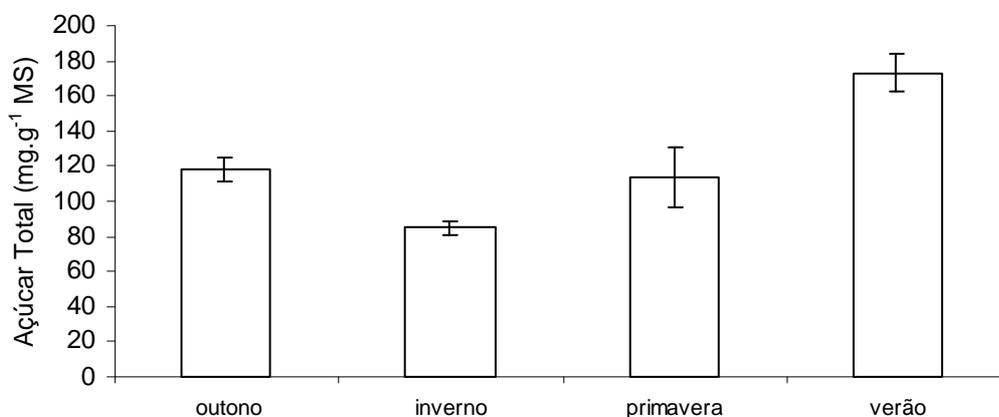


Figura 11. Conteúdo de carboidratos solúveis totais nos tubérculos de *S. aghensis* nas quatro estações do ano. Barras representam o erro padrão (n=6).

Comportamento similar ao descrito para os açúcares totais solúveis, também, foi obtido para a concentração de sacarose que variou de 48,8 mg.g⁻¹ de MS no inverno a 134,33 mg.g⁻¹ de MS no verão (FIGURA 12). Dos açúcares solúveis investigados, esse dissacarídeo representou a maior fração de carboidratos, seguida de frutose e glicose.

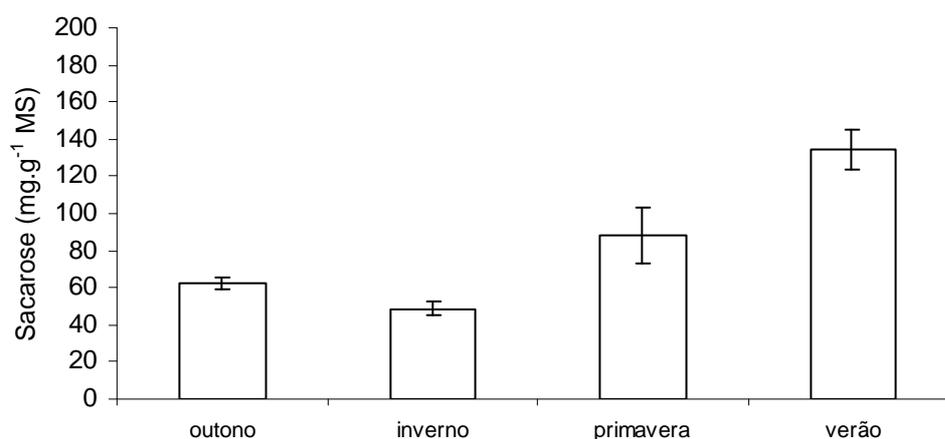


Figura 12. Conteúdo de sacarose como parte dos carboidratos solúveis nos tubérculos de *S. aghensis* nas quatro estações do ano. Barras representam o erro padrão (n=6).

Dentre os carboidratos quantificados, a frutose (FIGURA 13), foi a que apresentou menor flutuação sazonal, com valor médio de 19,5 mg.g⁻¹ da MS no outono, inverno e primavera. Um aumento desse açúcar redutor foi registrado no verão, se aproximando dos 30 mg.g⁻¹ da MS dos tubérculos.

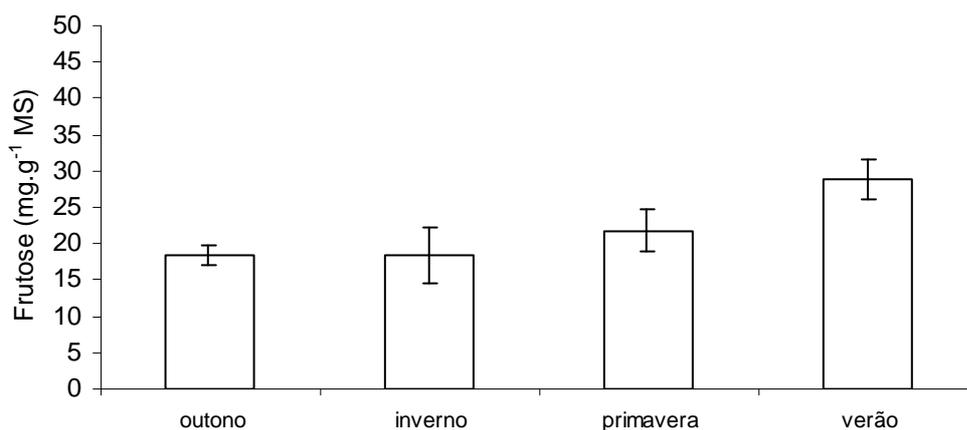


Figura 13. Conteúdo de frutose como parte dos carboidratos solúveis nos tubérculos de *S. aghensis* nas quatro estações do ano. Barras representam o erro padrão (n=6).

Diferente do comportamento descrito, anteriormente, para a sacarose e para a frutose, a concentração de glicose declinou do outono para o inverno e essa queda foi mais acentuada na primavera e verão (FIGURA 14). Dessa forma, a concentração de glicose variou de 13,09 mg.g⁻¹ de MS no outono a 0,55 mg.g⁻¹ de MS na primavera e no verão. Valores intermediários foram verificados no inverno onde a concentração desse monossacarídeo foi de 5,55 mg.g⁻¹ da MS.

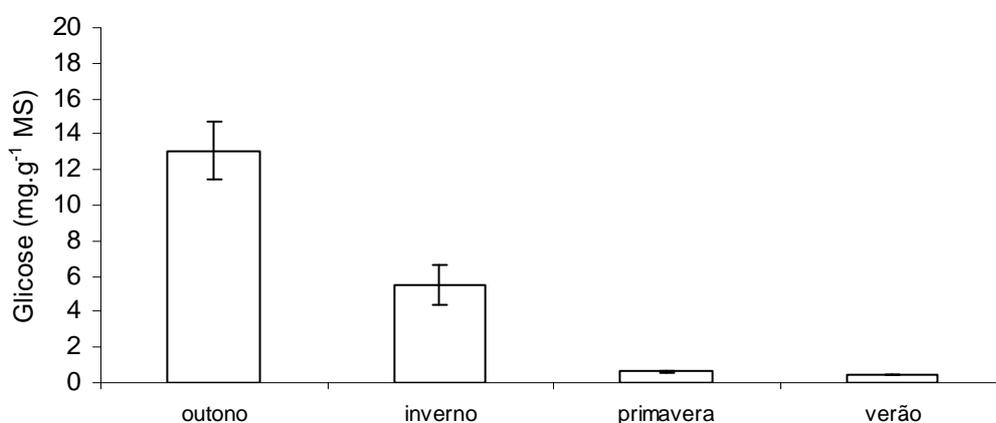


Figura 14. Conteúdo de glicose como parte dos carboidratos solúveis nos tubérculos de *S. aghensis* nas quatro estações do ano. Barras representam o erro padrão (n=6).

Dentre os açúcares quantificados, o amido foi o mais representativo e com maior variação sazonal. Nesse aspecto, o conteúdo desse polissacarídeo variou de uma média 56,8 mg.g⁻¹ de MS no outono, primavera e verão e chegando a representar 777,15 mg.g⁻¹ de MS no inverno (FIGURA 15).

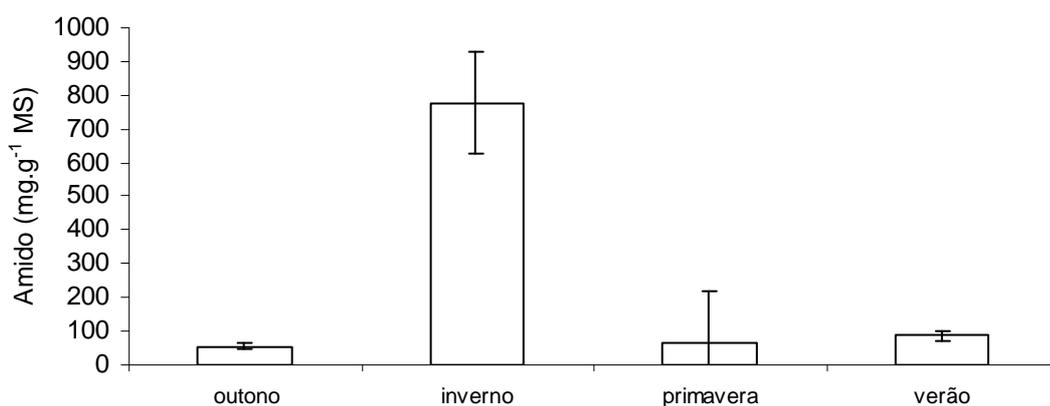


Figura 15. Conteúdo de amido nos tubérculos de *S. aghensis* nas quatro estações do ano. Barras representam o erro padrão (n=6).

O conteúdo relativo de água (CRA) dos tubérculos não variou muito nos períodos das coletas, ficando em torno dos 90% no outono, primavera e verão, apresentando um pequeno decréscimo no inverno cujo valor médio foi de 86% da massa fresca (FIGURA 16).

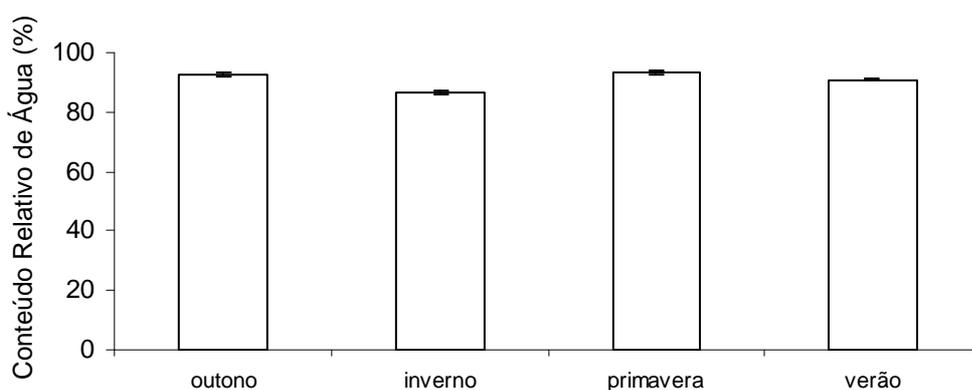


Figura 16. Conteúdo relativo de água (expresso em porcentagem de massa fresca) dos tubérculos de *S. aghensis* nas quatro estações do ano. Barras representam erro o padrão (n=6).

O valor da massa seca dos tubérculos de *S. aghensis* que foi de 7,22 mg.g⁻¹ de MF no outono, aumentou para 13,32 mg.g⁻¹ de MF no inverno, atingindo assim o valor máximo dentre os períodos de coleta. Esta medida voltou a reduzir na primavera,

onde o valor obtido foi de $6,62 \text{ mg.g}^{-1}$ de MF, apresentando em seguida um novo aumento no verão, com cerca de $9,20 \text{ mg.g}^{-1}$ de MF (FIGURA 16).

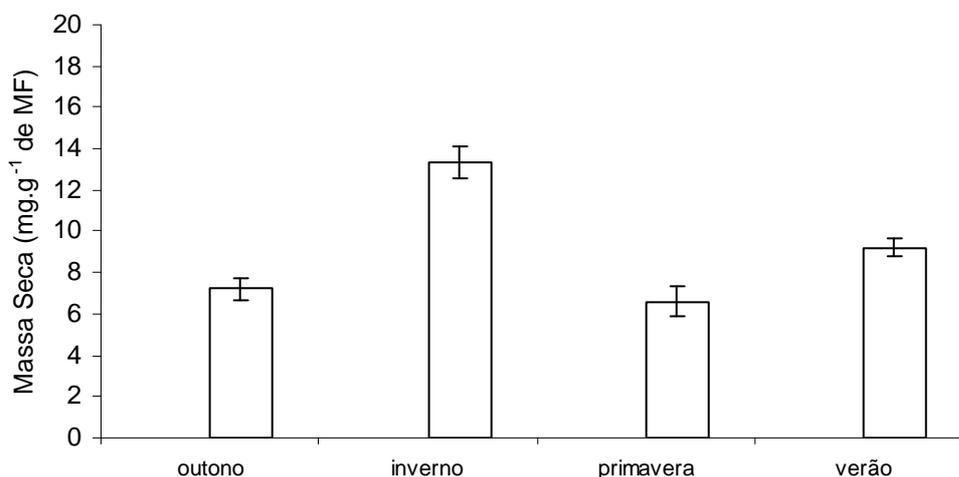


Figura 17: Massa seca dos tubérculos de *S. aghensis* nas quatro estações do ano. Barras representam erro padrão (n=6).

Com relação aos dados climáticos (FIGURA 18), a precipitação também apresentou sensível sazonalidade ficando caracterizado um inverno seco, com a menor precipitação do período (3,6 mm). Na primavera o valor registrado foi um pouco mais elevado, de 21,4 mm. Nesse período de coletas, os meses com maior precipitação foram os do outono, com 145,8 e os do verão, com 163,8 mm.

A temperatura também apresentou variações ao longo dos períodos de coleta (FIGURA 18), porém, com menores amplitudes quando comparada à precipitação. Tanto a temperatura máxima quanto a mínima foram menores no inverno, seguida de aumento na primavera e verão que apresentaram valores similares ao registrado no outono. Dessa forma, as temperaturas mínimas registradas no inverno foram de 17°C , na primavera 18°C , enquanto no outono e verão a temperatura mínima média foi de $19,5^{\circ}\text{C}$. Dentre as temperaturas máximas a menor foi encontrada no inverno com 30°C , aumentando para 33°C na primavera e atingindo os maiores valores no verão e outono com 34°C . Para as temperaturas médias temos 22°C na primavera, 23°C no inverno e 25°C tanto para o verão quanto para o outono.

A umidade relativa do ar apresentou pequenas variações entre as estações (FIGURA 18), obedecendo comportamento semelhante ao já relatado para precipitação e temperatura que declinaram no inverno. O menor registro desse dado meteorológico ocorreu, concomitantemente, com o período de baixas precipitação e temperatura. Assim, no inverno foi 75% e nas demais estações a umidade relativa do ar não variou muito, apresentando uma média de 80%.

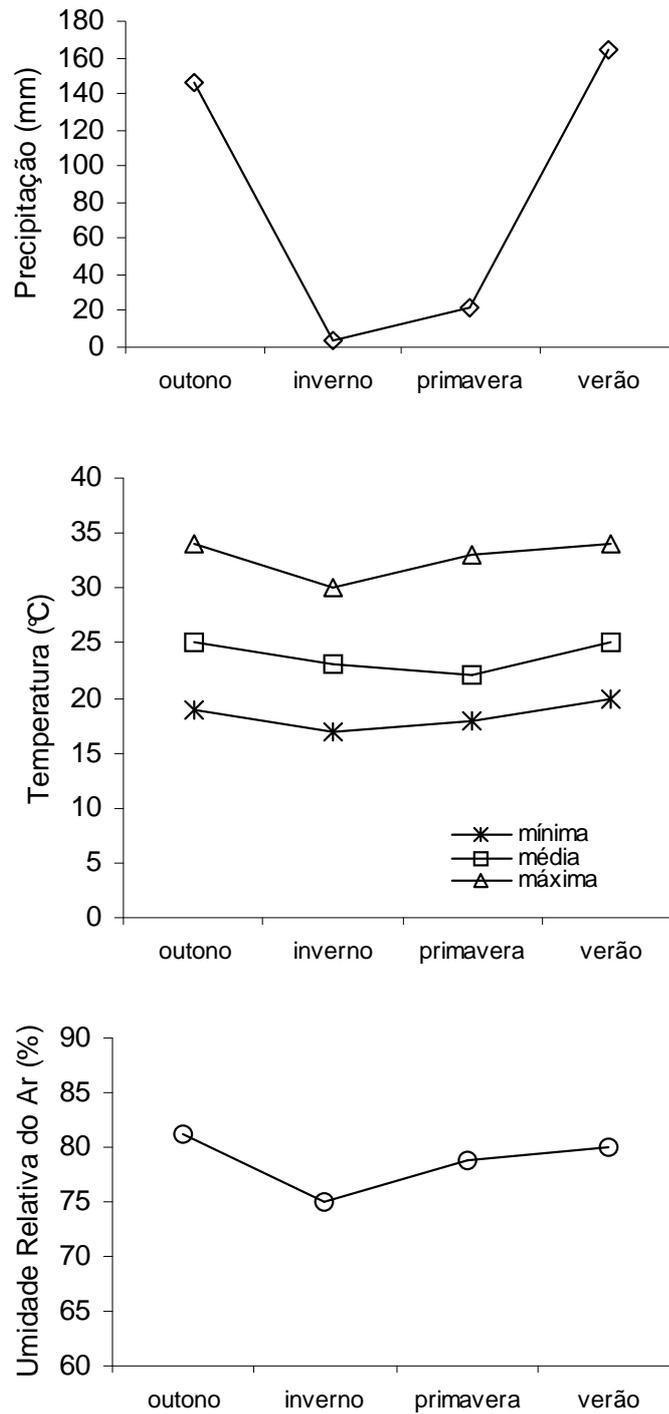


Figura 18. Dados climáticos referentes à precipitação, temperatura e umidade relativa do ar. Os valores considerados são referentes ao período de 30 dias antes de cada coleta, correspondentes ao outono (de 29 de março a 29 de abril de 2003), inverno (de 10 de junho a 10 de julho de 2003), primavera (de 22 de setembro a 22 de outubro de 2003) e verão (de 28 de dezembro de 2003 a 28 de janeiro de 2004). Os dados foram fornecidos pelo Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (IEMA).

A sazonalidade da massa seca da parte aérea, do tubérculo, a razão parte aérea/parte subterrânea e a porcentagem de inflorescência por planta são mostradas na tabela 4.

TABELA 4: Valores referentes à massa seca total da parte aérea, do tubérculo, da razão parte aérea/tubérculo e da porcentagem de inflorescência de *S. aghensis*. MS= massa seca; PA= parte aérea; T= tubérculo; % INFL= número de plantas coletadas com inflorescência.

	Outono	Inverno	Primavera	Verão
MS PA	1,75 ± 0,4	3,98 ± 0,6	9,17 ± 2,0	3,86 ± 0,4
MS T	5,64 ± 0,8	19,31 ± 4,7	16,22 ± 3,9	9,84 ± 3,2
PA/T	0,31	0,20	0,57	0,39
% Inflor	0	0	100	0

3.5 DISCUSSÃO

A análise dos carboidratos em tubérculos de *S. aghensis* mostrou variações sazonais semelhante ao já relatado para algumas espécies de regiões temperadas e tropicais (CARVALHO; DIETRICH, 1996; CRUZ; MORENO, 2001; LU et al., 2005).

Estudos realizados com *Cochlospermum regium*, uma planta arbórea que cresce no cerrado brasileiro, apresentou uma flutuação dos carboidratos solúveis e do amido em suas raízes tuberosas durante diferentes estádios de desenvolvimento (CARVALHO; DIETRICH, 1996). Os açúcares solúveis de *C. regium* apresentaram variação de 35% na fase vegetativa para 12 % da MS na fase de dormência. Ainda para essa espécie, o teor de amido variou de 21% na fase vegetativa para 45% da MS na fase de dormência.

Analisando a variação sazonal dos carboidratos nos diferentes órgãos vegetativos de *Erica australis*, uma espécie arbórea mediterrânea, Cruz e Moreno (2001) relataram aumento dos carboidratos solúveis nas estações com maior precipitação e diminuição dos mesmos na estação de baixa precipitação.

Lu et al. (2005), em estudo realizado em Taiwan, verificaram uma variação sazonal no conteúdo de amido nos tubérculos de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) cv KCX01 cultivada em diferentes estações. O conteúdo de amido dos tubérculos foi maior na estação de menor precipitação, enquanto maiores valores foram registrados nos meses chuvosos (LU et al., 2005).

Cruz e Moreno (2001) relataram que em ambientes mediterrâneos, por exemplo, o verão seco e o inverno frio podem impor uma forte sazonalidade em importantes funções da planta, como o acúmulo e mobilização de monossacarídeos e amido. Porém, como é possível ser observado na figura 18, ao longo das estações do ano foram registradas pequenas variações na temperatura e na umidade relativa do ar. Dessa maneira, para *S. aghensis*, estes fatores climáticos não poderiam influenciar significativamente a variação e/ou a composição dos carboidratos, como é relatado para espécies em que o clima apresenta uma grande diferença destes fatores entre as estações (ROSA et al., 2004; CRUZ; MORENO, 2001). Portanto, o fator climático

que poderia ter influenciado a flutuação sazonal dos carboidratos de *S. aghensis*, principalmente sobre o açúcar total, sacarose e amido seria a baixíssima precipitação registrada no inverno (3,6 mm).

Stancato et al. (2001) realizaram experimentos com pseudobulbos de orquídeas *Cattleya forbesii* e *Laelia tenebrosa* e observaram que a quantidade de açúcar total e frutose diminuiu após 25 dias sob restrição hídrica. Embora nos tubérculos de *S. aghensis* a frutose tenha se mantido quase constante no outono, inverno e primavera (FIGURA 13), a baixa precipitação teria influenciado a redução do açúcar total no inverno (FIGURA 11).

O acúmulo maior de amido encontrado nos tubérculos de *S. aghensis* ocorreu no inverno (FIGURA 12) em detrimento da concentração de sacarose (FIGURA 15). Esses dados permitem inferir que a enzima sacarose sintase (SS), que catalisa a degradação e síntese da sacarose atuou provendo substrato para síntese do amido (KLOTZ et al., 2003). Esses mesmos autores comentam, ainda, que a atividade da sacarose sintase tem relação com a tolerância a estresses ambientais como pode ter acontecido com *S. aghensis* durante o inverno, caracterizado pela baixa precipitação e, conseqüentemente, elevado estresse hídrico.

Confirmando essa teoria, observações de Stancato et al. (2001) com pseudobulbos de *Cattleya forbesii* e *Laelia tenebrosa* (Orquidaceae), submetidos à restrição hídrica, mostraram acúmulo de amido como uma estratégia de sobrevivência. Segundo esses autores, as orquídeas mobilizaram os carboidratos solúveis para a síntese de amido nos pseudobulbos, e, provavelmente, mobilizaram-nos também para a parte aérea, uma vez que a planta sob estresse hídrico tem sua taxa fotossintética reduzida.

Comportamento similar também foi constatado por Dias-Tagliacozzo (1995) ao verificar que o conteúdo do polissacarídeo polifrutanos, em rizóforos de *Vernonia herbacea* submetidas a 30 dias de déficit hídrico, foi maior do que nas plantas regadas periodicamente.

Essas e outras informações permitem inferir que *S. aghensis* pode ser classificada como uma espécie tolerante ao estresse hídrico e de que o aumento expressivo no

conteúdo de amido na estação seca (FIGURA 15) sugere que esse polissacarídeo seja o carboidrato associado aos processos de tolerância ao estresse hídrico sazonal. Essa constatação também está de acordo com revisão feita por Farrar et al. (2000) onde é informado que o metabolismo das plantas pode ser modificado significativamente por estresse edáfico ou biótico.

O fato de o amido diminuir em certas épocas do ano para algumas espécies sugere que os estresses ambientais sazonais possam ter grande influência no conteúdo desse polissacarídeo (CRUZ; MORENO, 2001; GEIGER et al. 2000). No caso de *S. aghensis* o acúmulo de amido na estação seca configura-se numa adaptação fisiológica eficiente que permite essa espécie desenvolver-se em ambientes rupestres caracterizados pela restrição hídrica, especialmente nos meses secos do ano.

Outros órgãos que não sejam drenos permanentes como as flores e sementes de soja (*Glycine max*) também tiveram a concentração de amido elevada pelo estresse hídrico (LIU et al., 2004). Plantas que não receberam água, num período de 0 a 3 dias antes da antese apresentaram uma concentração de amido maior que aquelas que não sofreram déficit hídrico.

Pelo exposto, a concentração de amido pode ser influenciada por fatores ambientais interferindo nos mecanismos endógenos como a atividade da enzima-chave envolvida na síntese de amido. O estresse hídrico pode influenciar a atividade da ADP-glicose pirofosforilase e da amido sintase, que são as enzimas diretamente relacionadas à síntese de amido (LIU et al. 2004). Ambas enzimas produzem, em tecidos fotossintetizantes e não-fotossintetizantes, a ADP-glicose, que é a forma ativa da glicose utilizada para a polimerização do amido (SAKULSINGHAROJ et al., 2004). No entanto, é escasso na literatura trabalhos sobre a cinética dessas enzimas sob estresse hídrico.

Uma das maneiras de atuação dos carboidratos solúveis na proteção contra estresses é exercer a função de osmorregulador (CRUZ; MORENO, 2001). Sanchez et al. (1998) submetem quarenta e nove cultivares de ervilha ao déficit hídrico e verificaram que em grãos de todos os cultivares estudados a concentração de

carboidratos aumentou sob restrição hídrica e que o acúmulo de açúcares foi proporcional ao ajustamento osmótico.

O ajustamento osmótico é um processo físico que consiste na diminuição do potencial hídrico em função do aumento da concentração de solutos celulares, sem que haja decréscimo do turgor ou do volume celular (TAIZ; ZEIGER, 2004). Para manter o balanço osmótico, moléculas orgânicas tais como açúcares solúveis, polióis, prolina, etc. são acumuladas no vacúolo (SANCHEZ et al., 1998). Estes compostos podem ser estocados em altas concentrações sem danos às funções fisiológicas.

Como osmoprotetores, os açúcares estabilizam proteínas e membranas substituindo a formação de pontes de hidrogênio com os resíduos de polipeptídios polares (CHAVES-FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001; SANCHEZ et al., 1998). Embora os solutos inorgânicos também possam contribuir para o ajustamento osmótico, concentrações elevadas de íons inorgânicos poderiam mostrar efeito deletério no metabolismo celular (SANCHEZ et al., 1998).

Um aumento significativo da massa seca dos tubérculos de *S. aghensis* é observado no inverno (FIGURA 17), época em que houve um grande acúmulo de amido (FIGURA 15). Resultado semelhante foi observado por Toit et al. (2004) em bulbos de *Lachenalia* cv. Ronina que também correlacionaram de maneira positiva o aumento considerável de amido ao aumento da massa seca. Já para as plantas da Família Asteraceae, o aumento da massa seca de órgãos subterrâneos foi proporcionado pelo maior acúmulo de frutanos nos meses frios caracterizados pela baixa precipitação (CARVALHO; DIETRICH, 1996).

Além dos fatores ambientais, a fenologia tem grande impacto no conteúdo das reservas energéticas. Conforme apresentado na figura 15 e tabela 4, a redução do conteúdo de amido na primavera coincide com a fase de emissão de novos ramos aéreos e da produção de inflorescências. Como já referenciado amplamente na literatura, a fase de floração chega a consumir até 40% das reservas energéticas (LARCHER, 2000).

Dessa maneira, é possível inferir que para *S. aghensis* a concentração elevada de amido no inverno pode estar associada a mecanismos de tolerância ao déficit hídrico ou pode estar relacionada à fase fenológica de crescimento vegetativo e floração desta espécie.

3.4 Referências Bibliográficas

ALMEIDA, Vilma Palazetti de. V. **Tuberização em *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae), uma espécie do cerrado.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1994.

CAMPEOL, E.; ANGELINI, L. G.; TOZZI, S. E BERTOLACCI, M. Seasonal variation of indigo precursors in *Isatis tinctoria* L. and *Polygonum tinctorum* Ait. as affected by water deficit. **Environmental and Experimental Botany**, article in press, 2005.

CARVALHO, Maria Angela Machado. **Variações no conteúdo e na composição de frutanos em rizóforos de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby.** Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1991.

CARVALHO, C. G. D. S.; DIETRICH, S. M. C. Carbohydrates in tuberous roots of *Coclospermum regium* (Mart & Schr.) Pilger at different stages of development. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 19, n.2, p. 127-131, 1996.

CHAUTEMS, A. A família Gesneriaceae na região cacauqueira da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 14, n. 1, p. 51-59, 1991.

CHAVES-FILHO J.T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

CLAIR-MACZULAJTYS, D.; SARTHOU, C. E BORY, G. Effects of pruning on carbohydrate distribution in the trunk of sweet cherry (*Punus avium* L). **Scientia Horticulturae**, v. 59, p. 67-67, 1994.

CORSON, W.H. 4ª edição, **Augustus Editora**, São Paulo, SP, 2002.

CRUZ, A.; MORENO, J. M. Seasonal course of total non-structural carbohydrates in the lignotubers Mediterranean-type shrub *Erica australis*. **Oecologia**, v. 128, p. 343-350, 2001.

CUZZUOL, G. R. F.; CARVALHO, M. A.. M.; ZAIDAN, L. B. P. Growth, photosynthate partitioning and fructan accumulation in plants of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby under two nitrogen levels. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 4, p. 401-410, 2005.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M. **Frutanos em *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby: variações em função da temperatura e da disponibilidade de água.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1995.

FARRAR, J., POLLOCK, C.; GALLAGHER, J., Sucrose and the integration in vascular plants. **Plant Science**, v. 154, p. 1-11, 2000.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 5, n. 2, p. 203-208, 1993.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; DIETRICH, S.M.C.; CHU, E.P.; CARVALHO, M.A.M.; VIEIRA, C.C.J.; GRAZIANO, T.T. Reserve carbohydrates in underground organs of native Brazilian plants. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 9, p. 159-166, 1986.

GEIGER, R. D., SERVAITES, C. J.; FUCHS, M.A. Role of starch in carbon translocation and partitioning at the plant level. **Aust. J. Plant Physiol**, v. 27, p. 571-582, 2000.

HENDRY, G.A.; WALLACE, R.K. The origin, distribution, and evolutionary significance of fructans. In: Suzuki, M., Chatterton, N.J., eds. **Science and Technology of Fructans**. Boca Raton, FL, USA: CRC Press 119-139, 1993.

IEMA - Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

IPEMA, 2006. Disponível em: <http://www.ipema-es.org.br/hp/flora_ameacada.htm>. Acesso em 25 jan. 2006.

ISEJIMA, E. M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Fructan variations in tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae): the influence of phenology. **Plant Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 723-727, 1993.

ISEJIMA, E. M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; ZAIDAN, L. B. P. Fructan composition in adventitious tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae) as influenced by daylength. **New Phytology**, v. 119, p. 149-154, 1991.

JERMYN, M. A. A new method for determination of ketohexoses in presence of aldohexoses. **Nature**, v. 177, p. 38-39, 1956.

KIM, N.; PARK, K.; PARK, I.; PARK, Y. Application of novel HPLC method to the analysis of regional and seasonal variation of the active compounds in *Paeonia lactiflora*. **Food Chemistry**, v. 96, p. 496-502, 2006.

KLOTZ, K. L., FINGER, F. L.; SHELVER, W. L. characterization of two sucrose synthase isoforms in sugarbeet root. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 107-115, 2003.

LARCHER, L. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: Rima, 2000.

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in latering pod set. **Field Crops Research**, v. 86, p. 1-13, 2004

LU, T.; CHEN, J.; LIN, C.; CHANG, Y. Properties of starches from cocyam (*Xanthosoma sagittifolium*) tubers planted in different seasons. **Food Chemistry**, v. 91, p. 69-77, 2005.

MARINHO-SORIANO, E.; FONSECA, P. C.; CARNEIRO, M. A. A. E MOREIRA, W. S. C. Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. **Bioresource Technology**, article in press, 2005.

Mc CREADY, R. M., GUGGOLZ, J., SILVIERA, V., OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas. **Analytical Chemistry** v. 22, p. 1156-1158, 1950.

MORAES, M. G. **Carboidratos solúveis em gramíneas nativas do cerrado**. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PABST, G.F.J.; DUNGS, F. **Orquidaceae Brasileenses**. Brücke-verlag, 1977.

RAFFO, A.; LA MALFA, G.; FOGLIANO, V.; MAIANI, G. E QUAGLIA, G. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 11-19, 2006.

RIAZI, A. MOTSUDA, K. ARSLON, A. Water – Stress induced changes in concentrations of prolines and other solutes in grower regions of young barley leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 172, p. 1716-1725, 1985.

ROSA, M.; HILAL, M.; GOZÁLEZ, J. A.; PRADO, F. E. Changes in soluble carbohydrates and related enzymes induced by low temperature during early developmental stages of quinoa (*Chenopodium chinosa*) seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 683-689, 2004.

SANCHEZ, F. J.; MANZANARES, M.; ANDRÉS, E. F.; TENÓRIO, J. L. E AYERBE, L. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. **Field Crops Research** v. 59, p. 225-235, 1998.

STANCATO, G. C.; MAZZAFERA, P.; BUCKERIDGE, M. S. Effect of a drought period on the mobilization of non-structural carbohydrates, photosynthetic efficiency and water status in an epiphytic orchid. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 39, p. 1009-1016, 2001.

SAKULSINGHARAJ, C., CHOI, S., HWANG, S., EDWARDS, G. E., BORK, J., MEYER, C. R., PREISS, J., OKITA, T. W. Engineering starch biosynthesis for increasing rice seed weight: the role of the cytoplasmic ADP-glucose pyrophosphorylase. **Plant Science**, v. 167, p. 1323-1333, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TERTULIANO, M. F.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from cerrado. **New Phytology**, v. 123, p. 741-749, 1993.

THOMAZ, L.D. **Florística e Fitossociologia da Floresta Atlântica na Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Tereza-ES**. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1996.

TOIT, E. S. DU; ROBBERTSE, P. J.; NIEDERWIESER, J. G. Plant carbohydrate partitioning of *Lachenalia* cv. Ronina during bulb production. **Scientia Horticulturae**, v. 102, 433-440, 2004.

TOOR, R. K.; SAVAGE, G. P.; LISTER, C. E. Seasonal Variations in the antioxidant composition of greenhousegrown tomatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 1-10, 2006.

WYKA, Tomasz. Carbohydrate storage and use in alpine population of the perennial herb, *Oxytropis sericea*. **Oecologia**, v. 120, p. 198-208, 1999.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

- O teor elevado de frutose (20% da MS) em *Hippeastrum reticulatum* sugere a presença de polissacarídeos do tipo frutanos, importante regulador das funções fisiológicas do organismo humano e osmorregulador em plantas que passam por algum tipo de estresse ambiental;
- Os polissacarídeos encontrados em sementes de *Cassia grandis*, *Canavalia rosea* e *Cassia fistula*, que atingem cerca de 40% da MS parece ser do tipo galactomanano. Estudos precisam ser realizados para testar essa hipótese;
- Os teores elevados de sacarose encontrados em *Prescottia nivalis* sugere o envolvimento desse carboidrato nos mecanismos de resistência dessa espécie ao estresse hídrico. Experimentos precisam ser realizados para testar essa hipótese;
- Embora não possa se afirmar que *Sinningia aghensis* seja uma espécie tolerante ao estresse hídrico, a presença de alto teor de amido no inverno sugere uma estratégia que tolere a seca por um período relativamente longo, condição comum vivida pelas plantas rupestres;
- Tendo em vista a flutuação sazonal dos carboidratos solúveis e em especial a grande variação observada para o amido, verifica-se a importância de um acompanhamento periódico desses carboidratos em trabalhos que visem analisar e quantificar os referidos carboidratos não-estruturais em *S. aghensis*;
- Para uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na estratégia de tolerância ao estresse hídrico de *S. aghensis*, faz-se necessária uma análise sazonal da atividade das enzimas ADP-glicose pirofosforilase e da amido sintase, para confirmar se estão presentes e inativas durante certas épocas do ano ou se são sintetizadas apenas quando se instala o estresse hídrico;