

ATIVIDADES DE TRANSAMINASE GLUTAMICO-OXALOACÉTICO
E TRANSCARBAMILASE DE ORNITINA EM FOLHAS
DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)
AFETADAS PELA DEFICIÊNCIA DE POTÁSSIO

L.E. Gutierrez*

O.J. Crocomo*

RESUMO: Folhas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) normais e deficientes em potássio dos cultivares Rosinha Precoce e Goiano Precoce foram analisadas para determinação das atividades de transaminase glutâmico-oxaloacético (E.C. 2.6.1.1) e transcarbamilase de ornitina (E.C. 2.1.3.3). Em plantas deficientes em potássio houve aumento na atividade das duas enzimas estudadas e nos dois cultivares. Esses resultados explicariam o acúmulo de citrulina e arginina em plantas deficientes em potássio devido a maior atividade da transcarbamilase de ornitina, que possivelmente seria um mecanismo de reduzir a toxidez por amônia.

Termos para indexação: transaminase glutâmico-oxaloacético, transcarbamilase de ornitina, feijoeiro, *Phaseolus vulgaris*.

ORNITHINE TRANSCARBAMYLASE AND GLUTAMIC-OXALOACETIC
TRANSAMINASE ACTIVITIES OF BEAN LEAVES
(*Phaseolus vulgaris* L.) AS AFFECTED BY
POTASSIUM DEFICIENCY

* Departamento de Química da E.S.A. "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo - 13.400 - Piracicaba, SP e CEBTEC/FEALQ.

ABSTRACT: Leaves of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) deficient in potassium and the proper control of two cultivars were analysed in relation to ornithine transcarbamylase (E.C. 2.1.3.3) and glutamic-oxaloacetic transaminase (E.C. 2.6.1.1) activities. Leaves of bean plants grown under potassium deficiency showed higher activities of both enzymes. These data suggest that the accumulation of citrulline and arginine in potassium deficient plants was due to the higher activity of ornithine transcarbamylase, probably as a mechanism to reduce ammonium toxicity.

Index terms: ornithine transcarbamylase, glutamic-oxaloacetic transaminase, bean, *Phaseolus vulgaris*.

INTRODUÇÃO

As plantas deficientes em potássio se caracterizam por apresentarem diminuição do crescimento, manchas amareladas nos limbos das folhas e pequena quantidade de raízes (COBRA NETO *et alii*, 1971). Nessas plantas ocorreu acúmulo de açúcares redutores e redução nos teores de clorofilas a e b (GUTIERREZ *et alii*, 1978) e também redução na síntese proteica (BASSO, 1973). Esses sintomas também são provocados por elevados teores de amônio (PATNAIK *et alii*, 1972).

A atividade enzimática é alterada nas plantas deficientes em potássio. Assim, HARPER & PAULSEN (1969) verificaram diminuição na atividade da sintetase de glutamina e aumento na desidrogenase glutâmica em plantas deficientes em potássio.

A transaminase glutamico-oxaloacético (GOT) foi encontrada em praticamente todas as espécies vegetais, detectando-se maior atividade no citossol (ELLIS & DAVIES, 1961; WONG & COSSINS, 1969; SPLITTSTOESSER & STEWART ,

1970). Em milho e abóbora, SPLITTSTOESSER & STEWART (1970) relataram maior atividade nas raízes e verificaram um aumento na atividade de GOT em cotiledões de abóbora durante a germinação. A deficiência de potássio provocou aumento na atividade de GOT em folhas de *Citrus* (ACHITUV & BAR-AKIVA, 1976).

A transcarbamilase de ornitina (OTC) é uma enzima do ciclo da uréia que catalisa a formação de citrulina (BROWN & COHEN, 1959). A existência do ciclo da uréia em plantas foi demonstrada por KASTING & DELWICHE (1958) e SPLITTSTOESSER (1969).

CROCOMO *et alii* (1974) relataram que plantas deficientes em potássio apresentaram acúmulo de ornitina, citrulina e arginina, sem entretanto verificar a atividade das enzimas relacionadas com a síntese desses aminoácidos.

O objetivo do presente trabalho foi o de estudar a atividade de transcarbamilase de ornitina e transaminase glutâmico-oxaloacético em feijoeiro deficiente em potássio.

MATERIAL E MÉTODOS

Germinação e cultivo das plantas: sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) dos cultivares Rosinha Precoce e Goiano Precoce foram utilizadas para a obtenção de plantas normais e deficientes em potássio. O procedimento foi descrito anteriormente por GUTIERREZ (1977).

Atividade de transaminase glutâmico - oxaloacético (GOT): tanto para a extração da enzima como para o ensaio enzimático foi adotado a metodologia de HARPER & PAULSEN (1969) descrita por GUTIERREZ (1977). A atividade de específica é expressa em micromoles de ácido oxaloacético formado por hora e por miligrama de proteína.

Atividades de transcarbamilase de ornitina (OTC) : as folhas foram homogeneizadas em almofariz com sílica

moída, na presença de tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,2) na proporção de 3 ml/g de peso fresco. O extrato foi filtrado em tecido e centrifugado a 10000 g durante 20 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante utilizado como extrato enzimático. Todas as operações foram realizadas em temperatura abaixo de 5°C. Para o ensaio enzimático foi adotada a metodologia de KLECZKOWSKI & COHEN (1964). A atividade específica é expressa em micromoles de citrulina formada por 15 minutos e por miligrama de proteína.

Determinação de proteína: foi utilizado o método de LOWRY *et alii* (1951) utilizando-se a soroalbumina bovina como padrão.

Análise estatística: foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado segundo PIMENTEL GOMES (1970) com oito repetições. Para a análise de variância foi adotado o teste F e para contrastes entre médias o teste Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os valores da atividade específica de transcarbamilase de ornitina de dois cultivares de feijoeiro, normais e deficientes em potássio. Foi observado um aumento significativo na atividade enzimática de OTC para os dois cultivares. O aumento na atividade foi de cerca de 45% para cultivar Rosinha Precoce e da ordem de 30% para o cultivar Goia no Precoce.

Na atividade específica de transaminase glutamico-oxaloacético de folhas normais e deficientes em potássio de dois cultivares de feijoeiro é apresentada na tabela 2. Não foram observadas diferenças significativas entre plantas normais e deficientes em potássio nos dois cultivares estudados, embora tenha ocorrido um aumento na atividade das plantas deficientes, que foi da ordem de 30% para Rosinha Precoce e de 17% para Gioano Precoce.

Tabela 1. Atividade específica de transcarbamilase de ornitina em folhas de dois cultivares de feijoeiro normais e deficientes em potássio. Média de 8 repetições.

Cultivar	Normal	-K
Rosinha Precoce	0,58	0,84
Goiano Precoce	0,60	0,78

d.m.s. 5% = 0,15

Coefficiente de variação : 15,94%

Tabela 2. Atividade específica de transaminase glutâmico-oxaloacético em folhas de dois cultivares de feijoeiro normais e deficientes em potássio. Média de 8 repetições.

Cultivar	Normal	-K
Rosinha Precoce	0,46	0,60
Goiano Precoce	0,63	0,74

d.m.s. 5% = 0,35

Coefficiente de variação: 41,48%

A atividade elevada de GOT foi encontrada em tecidos que apresentaram elevada atividade metabólica como germinação de *Allium* (MALLERY, 1972), cotilédones de abóbora em germinação (SPLITTSTOESSER & STEWART, 1970). Como em plantas deficientes em potássio a síntese protéica está diminuída (CROCOMO & BASSO, 1974) há acúmulo de aminoácidos o que explicaria a maior atividade de GOT encontrada no presente trabalho. Os resultados apresentados na tabela 2 confirmam observações realizadas por ACHITUV & BAR-AKIVA (1976) e de BESFORD & HOBSON (1975) para tomateiro. A maior atividade da GOT em plantas deficientes em potássio provavelmente explica o acúmulo de ácido aspártico nessas plantas conforme observado por

CATTANI (1974).

A relação entre a deficiência de potássio e o acúmulo de aminoácidos citrulina, ornitina e arginina e das poliaminas tem sido estudada por diversos pesquisadores. (CROCOMO *et alii*, 1974; BASSO & SMITH, 1974; CROCOMO & BASSO, 1974). Segundo SMITH (1971) houve um incremento na atividade de enzimas que levam a formação de poliaminas nas folhas das plantas deficientes em potássio. Na tabela 1, observamos que a atividade de OTC foi maior nas plantas deficientes, explicando a maior formação de citrulina e conseqüentemente de arginina.

O fato de OTC estar mais ativa em plantas -K sugere que o ciclo da uréia possa estar também mais ativo, ocasionando a maior formação de arginina. E como a síntese protéica está reduzida (CROCOMO & BASSO, 1974), teremos conseqüentemente acúmulo dos aminoácidos citrulina e arginina que são substratos para a formação das poliaminas.

As plantas deficientes em potássio apresentaram teores mais elevados de amônia (EATON, 1952). Esses teores puderam ser explicados pela maior atividade de redutase do nitrato nessas plantas (GUTIERREZ *et alii*, 1978). Assim, pode-se afirmar que plantas -K apresentariam excesso de amônia, o que provocaria aumento no consumo de oxigênio e aumento na atividade de enzimas da glicólise e ciclos de Krebs (WAKIUCHI *et alii*, 1971) com conseqüente aumento na produção de ATP (MATSUMOTO & WAKIUCHI, 1974). Dessa maneira, ocorrendo maior quantidade de ATP e amônia, provavelmente o ciclo da ureia seria um mecanismo de desintoxicação do excesso de amônia das plantas -K, incorporando esse excesso em aminoácidos do ciclo da uréia via maior atividade de transcarbamilase de ornitina.

CONCLUSÕES

Nas folhas de feijoeiro deficientes em potássio foram detectadas atividades de transcarbamilase de ornitina e transaminase glutâmico-oxaloacético mais elevadas do que plantas normais, explicando, provavelmente o acúmulo de citrulina e arginina nessas plantas. Esse acúmulo deve-se a maior atividade do ciclo da uréia, possivelmente um mecanismo de proteção contra a toxidez por amônia via maior atividade da transcarbamilase de ornitina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHITUV, M. & BAR-AKIVA, A. Glutamic-oxaloacetic transamine in leaves of phosphorus deficient citrus leaves. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 36:368-73, 1976.
- ACHITUV, M. & BAR-AKIVA, A. Nitrogen accumulation induced by phosphorus deficiency in citrus plants. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, 1:251-62, 1973.
- BASSO, L.C. Significação bioquímica da deficiência de potássio na formação de aminas em gergelim (*Sesamum indicum*). Botucatu, 1973. 85p. (Doutorado - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu).
- BASSO, L.C. & SMITH, T.A. Effect of mineral deficiency on amine formation in higher plants. *Phytochemistry*, Oxford, 13:875-83, 1974.
- BESFORD, R.T. & HOBSON, G.E. Effect of potassium nutrition on some enzymes from ripening *Lycopersicon esculentum* fruit. *Phytochemistry*, Oxford, 14:57-99, 1975.
- BROWN, G.W. & COHEN, P.P. Comparative biochemistry of urea synthesis. I. Methods for the quantitative assay of urea cycle enzymes in liver. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, 234:1769-74, 1959.
- CATTINI, M.A. Contribuição ao estudo do papel fisiológico e bioquímico do potássio em plantas de feijão

- (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Goiano precoce). Piracicaba, 1974. 67p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- COBRA NETTO, A.; ACORSI, W.R.; MALAVOLTA, E. Estudos sobre a nutrição mineral do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. var. Roxinho). *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, Piracicaba, 24:131-40, 1971.
- CROCOMO, O.J. & BASSO, L.C. Accumulation of putrescine and related amino acids in potassium deficient *Sesamum*. *Phytochemistry*, Oxford, 13:2659-65, 1974.
- CROCOMO, O.J.; CATTINI, M.A.; ZAGO, E.A. Acúmulo de aminas e aminoácidos em relação ao nível de potássio em folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, Curitiba, 17:93-102, 1974.
- EATON, S.A. Effects of potassium deficiency on growth and metabolism of sunflower plants. *Botanical Gazette*, Chicago, 114:165-80, 1952.
- ELLIS, R.J. & DAVIES, D.D. Clutamic-oxaloacetic transaminase of cauliflower. I. Purification and specificity. *Biochemical Journal*, London, 78:615-23, 1961.
- GUTIERREZ, L.E. Atividade de enzimas relacionadas com a assimilação do nitrogênio afetada pela deficiência de potássio e maturidade em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). São Paulo, 1977. 108p. (Doutorado - Instituto de Química/USP).
- GUTIERREZ, L.E.; CROCOMO, O.J.; BASSO, L.C. Efeito da deficiência de potássio sobre alguns aspectos metabólicos em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista de Agricultura*, Piracicaba, 53(4):209-16, 1978.
- HARPER, J.E. & PAULSEN, G.M. Nitrogen assimilation and protein synthesis in wheat seedlings as affected by mineral nutrition. I. Macronutrients. *Plant Physiology*, Lancaster, 44:69-74, 1969.

- KASTING, R. & DELWICHE, C.C. Ornithine, citrulline and arginine metabolism in water melon seedlings. *Plant Physiology*, Lancaster, 33:350-4, 1958.
- KLECZOWSKI, K. & COHEN, P.P. Purification of ornithine transcarbamylase from pea seedlings. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, New York, 107:271-8, 1964.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROYGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, 193:265-75, 1951.
- MALLERY, C.H. Isoenzyme activities during the early stages of *Allium* radicle germination. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 26:136-42, 1972.
- MATSUMOTO, H. WAKIUCHI, N. Changes in ATP in cucumber leaves during ammonium toxicity. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, Jena, 73:82-5, 1974. Apud *Chemical Abstracts*, Easton, 81:115-468y.
- PATNAIK, R.; BARKER, A.V.; MAYNARD, D.N. Effects of ammonium and potassium ions on some physiological and biochemical process of excised cucumber cotyledons. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 27:32-6, 1972.
- PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 4.ed. São Paulo, 1970. 430p.
- SMITH, T.A. The occurrence, metabolism and functions of amines in plants. *Biological Review of the Cambridge Philosophical Society*, Cambridge, 46:201-41, 1971.
- SPLITTSTOESSER, W.E. Metabolism of arginine by aging in 7 days old pumpkin seedlings. *Plant Physiology*, Lancaster, 44:361, 1969.
- SPLITTSTOESSER, W.E. & STEWART, S.A. Distribution and isoenzymes of aspartate aminotransferase in cotyledons of germinating pumpkins. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 23:1119-26, 1970.

- WAKIUCHI, N.; MATSUMOTO, H.; TAKAHASHI, E. Changes of some enzymes activities of *Cucumber* during ammonium toxicity. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 24:248-51, 1971.
- WONG, K.F. & COSSINS, E.A. Studies of the particulate and soluble aspartate amino transferase in germinating pea cotyledons. *Phytochemistry*, Oxford, 8:1327-38, 1969.

Recebido para publicação em: 10.11.88

Aprovado para publicação em: 22.03.89