

EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO COM ZINCO NA EXPRESSÃO ISOENZIMÁTICA

Leticia Winke Dias¹; André Pich Brunos¹, Elisa Souza Lemes¹, Sandro de Oliveira¹, André Oliveira de Mendonça¹, Rosane Maria Morales Guidotti², Francisco Amaral Villela³

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., micronutrientes, isoenzimas.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) tem papel fundamental no contexto alimentar brasileiro e de vários países do mundo. No Brasil, as áreas cultivadas no Rio Grande do Sul são responsáveis por mais de 66,9% da produção nacional deste cereal, atingindo aproximadamente 8 milhões de toneladas na safra 2012/2013 (CONAB, 2013).

A nutrição adequada das plantas é fator importante para a produtividade da cultura, neste contexto, o zinco é um elemento de fundamental importância para a cultura de arroz, sendo o nutriente de maior relevância após o nitrogênio e o fósforo (BARBOSA FILHO & PEREIRA, 1987). Sendo ativador e componente estrutural de várias enzimas, assim como de estruturas celulares (BRUNES et al., 2011). Participa da fotossíntese nas plantas C4, através da enzima carboxilase pirúvica. É necessário para a produção de triptofano, aminoácido precursor do AIA (ácido indolacético), hormônio vegetal promotor de crescimento e também esta envolvido no metabolismo do nitrogênio (FERREIRA & CRUZ, 1991).

Com base na pequena quantidade de zinco exigida pelas plantas, pode-se dar ênfase ao tratamento de sementes com micronutriente, que representa menores custos de aplicação, melhor uniformidade na distribuição, menores perdas e racionalização no uso de reservas naturais não renováveis (RIBEIRO et al., 1994).

A análise da expressão isoenzimática constitui-se em uma das técnicas de marcadores bioquímicos muito utilizados desde a década de 60. O termo isoenzima faz referência as diferentes formas moleculares (alelos) que uma determinada enzima pode apresentar, porém, reagindo sempre com o mesmo substrato (MARKET & MOLLER, 1959).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o teor de zinco e a expressão isoenzimática de sementes de arroz recobertas com zinco.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biosementes do Departamento de Fitotecnia e no Laboratório de Análises Químicas do Departamento de Solos, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Foram utilizadas as cultivares de arroz IRGA 424 e Puitá INTA CL.

Os tratamentos consistiram na combinação de 6 doses do produto a base de zinco e duas cultivares, em esquema fatorial (**Fator A:** cultivar “ IRGA 424 e Puitá INTA CL”, **Fator B:** doses de zinco- 0, 2, 4, 6, 8 e 10 mL kg de sementes⁻¹), totalizando 12 tratamentos com quatro repetições. A fonte utilizada contém 780 g L⁻¹ de zinco.

As variáveis analisadas após o tratamento de sementes foram:

Teor de zinco: As plântulas foram coletadas aos 21 dias após a semeadura, e a extração de zinco do tecido vegetal foi realizada conforme TEDESCO et al. (1995).

Expressão isoenzimática: foram feitas avaliações de eletroforese, para a verificação da expressão das isoenzimas esterase (EST), fosfatase ácida (FAC) e Glutamato oxalocetato transaminase (GOT). A avaliação consiste na utilização de 200 mg do extrato vegetal colocados em tubos *ependorf*, acrescidos de solução extratora (tampão do gel + 0,15 % de

¹ Pós graduando em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas (UFPel). E-mail: leticiawinke@yahoo.com.br

² Técnica química do departamento de solos. Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

³ Prof. Dr. do PPG Ciência e Tecnologia de Sementes, UFPel.

2-mercaptoetanol), na proporção 1:2 (p/v). A eletroforese foi realizada em géis de poliacrilamida 7%, colocando-se 20 μ L de cada amostra, em orifícios feitos com o auxílio de um pente de acrílico. Três aplicações (repetições) para cada uma das amostras foram realizadas. Os padrões enzimáticos foram analisados pelo sistema de tampões, descrito por SCANDALIOS (1969). Os géis foram colocados em cubas eletroforéticas verticais, mantidas em câmara fria, com temperatura entre 4 e 6 °C. As migrações eletroforéticas foram realizadas com uma diferença de potencial de 10 V.cm⁻¹, até que a linha frontal, formada pelo azul de bromofenol, atinja 9 cm do ponto de aplicação. Os géis foram revelados conforme SCANDALIOS (1969) e ALFENAS (1998). Os géis de eletroforese foram fixados em solução 5-5-1, de água destilada: metanol: ácido acético.

A interpretação dos resultados foi baseada na análise visual dos géis de eletroforese, levando em consideração a presença/ausência, bem como a intensidade de cada uma das bandas eletroforéticas. Os dados foram submetidos à análise de variância e havendo significância, realizou-se a regressão linear para o fator doses de zinco ($p \leq 0,05$). Para a análise estatística foi utilizado o Sistema de Análise Estatística Winstat versão 1.0 (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Analisando o sistema enzimático esterase (EST), obteve-se dois alelos da enzima em ambas as cultivares, onde não observou-se diferença na intensidade das bandas conforme o aumento das doses de zinco (Figura 1 A e B). A enzima esterase está relacionada com o catabolismo de lipídeos, fonte de carbono para a síntese de novas moléculas em plântulas (BEWLEY & BLACK, 1994).

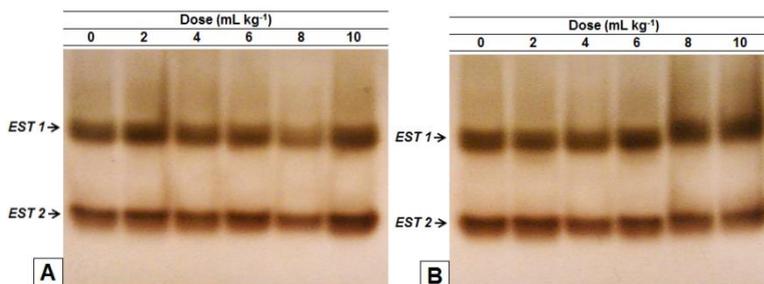


Figura 1. Sistema isoenzimático esterase de plântulas de arroz das cultivares Irga 424 (1A) e Puitá INTA-CL (1B), obtidas de sementes tratadas com doses de zinco.

Para a enzima fosfatase ácida (FAC), as cultivares Irga 424 e Puitá (Figura 2 A e B) apresentaram 5 alelos, e não observou-se diferença na expressão desta enzima. A fosfatase ácida está envolvida na manutenção do fosfato celular, e é capaz de clivar ésteres de fosfato, transformando o fosfato da forma orgânica para a forma inorgânica (CAMARGO et al., 2000).

Já para a enzima glutamato oxaloacetato desidrogenase (GOT), com a presença de 3 alelos, observou-se uma pequena redução da expressão no alelo *GOT 1* nas doses 8 e 10 mL kg⁻¹ e *GOT 2* nas doses 6, 8 e 10 mL kg⁻¹ de sementes na cultivar Irga 424 (Figura 3A). Na cultivar Puitá (Figura 3B), não observou-se alteração na intensidade das bandas. A GOT é responsável pela oxidação de aminoácidos, fornecendo energia para o Ciclo de Krebs ou redução do α -cetogluturato para a síntese de novos aminoácidos, como fonte de energia ao embrião em desenvolvimento (VIEIRA et al., 2009).

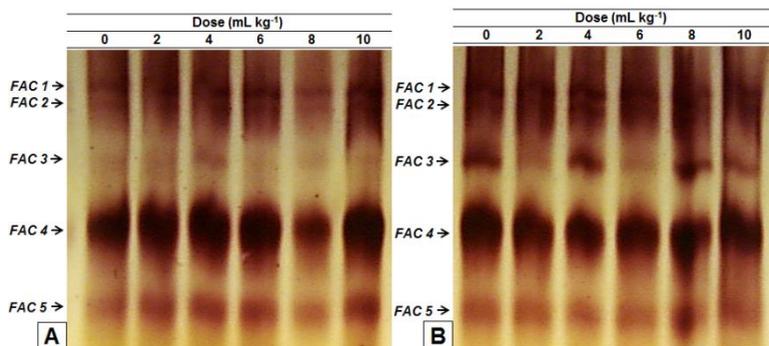


Figura 2. Sistema isoenzimático fosfatase ácida de plântulas de arroz das cultivares Irga 424 (2A) e Puitá INTA-CL (2B), obtidas de sementes tratadas com doses de zinco.

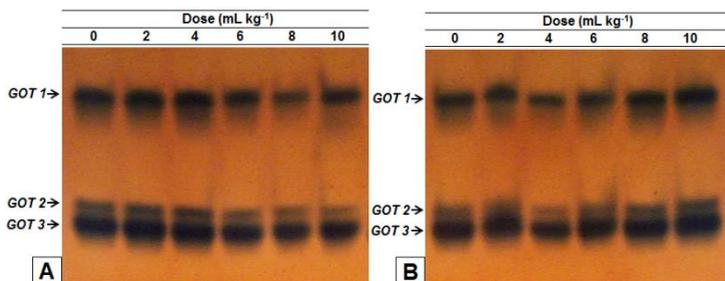


Figura 3. Sistema isoenzimático glutamato oxaloacetato desidrogenase de plântulas de arroz das cultivares Irga 424 (3A) e Puitá INTA-CL (3B), obtidas de sementes tratadas com doses de zinco.

O teor de zinco nas folhas (Figura 4) apresentou, para ambas as cultivares, um comportamento quadrático positivo com ponto de máxima eficiência nas doses de 0,81 e 1,1 mL de zinco por quilograma de sementes, para as cultivares Irga 424 e Puitá, respectivamente.

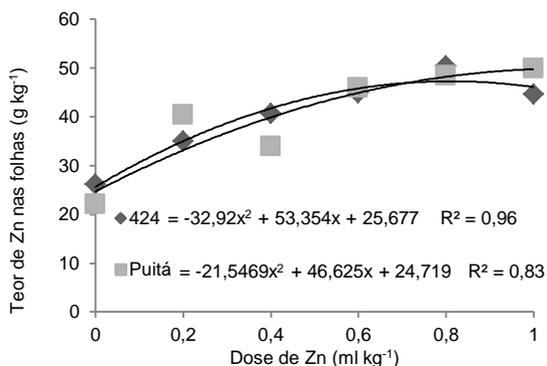


Figura 4. Teor de zinco nas folhas de arroz cultivares Irga 424 e Puitá Inta-CL oriundas de sementes tratadas com diferentes doses de zinco. Capão do Leão, 2013.

CONCLUSÕES

O tratamento de zinco alterou o sistema isoenzimático glutamato oxaloacetato transaminase nas doses 6, 8 e 10 mL kg⁻¹ de sementes da cultivar Irga 424. As doses aumentaram o teor de zinco em plântulas de arroz de 0,81 e 1,1 mL kg⁻¹ nas cultivares Irga 424 e Puitá INTA-CL.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds – Physiology of Development and Germination**. 2ed. New York. Plenum Press. 1994. 445p.
- BARBOSA FILHO, M. P. e FERREIRA, M. **Nutrição do arroz (sequeiro e irrigado)**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1987. 129p. (Boletim Técnico 9).
- BRUNES, A. P.; TAVARES, L.C.; RUFINO, C.A.; DÖRR, C.S.; FONSECA, D. A. R.; SERRONI, M. A.L.O.; BARROS, A. C. S. A. Desempenho de Sementes de Arroz Recobertas com Zinco. In: VII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado. Balneário Camboriú, SC, 2011. **Anais...**V.2, p. 696-699.
- CAMARGO, M.L.P.; MORI, E.S.; MELLO, E.J.; ODA, S.; LIMA, G.P. Atividade enzimática em plântulas de *Eucalyptus grandis* provenientes de sementes envelhecidas artificialmente e manualmente. **Ciência Rural**, v.10, n.2, p.113-122, 2000.
- COMPANHIA NACIONAL de ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: Sexto levantamento grãos safra 2012/2013 - março 2013**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=>> Acesso em: 16 maio 2013.
- FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. **Micronutrientes na Agricultura**. Piracicaba: Potofós/CNPq, 1991. 734p.
- MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. **Sistema de análise estatística para Windows. Winstat. Versão 1.0**. UFPel, 2003.
- MARKET, C. L., MOLLER, F. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. **Proceedings of Natural Academic science**, v.45, 1959, p.753- 763.
- RIBEIRO, N.D.; SANTOS, O.S MENEZES, N.L. Tratamento de sementes de milho com fontes de zinco e boro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília. V.16, n.2, p.116-120. 1994b.
- SCANDALIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. **Biochemical Genetics**, v.3, p. 37-39, 1969.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análises de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995, 174p.
- VIEIRA, E. S. N.; VON PINHO, E. V. R.; CARVALHO, M. G. G.; SILVA, P. A. Caracterização de cultivares de soja por descritores morfológicos e marcadores bioquímicos de proteínas e isoenzimas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 86-94, 2009.