

AVALIAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DA ENZIMA PEROXIDASE EM SEMENTES DE PLANTAS DE MILHO SUBMETIDAS A RESTRIÇÃO HÍDRICA^(*)

Juara Rodrigues Cardoso Santos⁽¹⁾, Danielle Rezende Vilela⁽²⁾, Elise de Matos Pereira⁽³⁾, Edlânia Maria Souza⁽⁴⁾, Renato Coelho de Castro Vasconcellos⁽⁵⁾, Giovani Virgílio Tirelli⁽⁶⁾, Heloísa Oliveira dos Santos⁽⁷⁾ e Édila Vilela De Resende Von Pinho⁽⁸⁾

Palavras-Chave: *Zea mays*, estresse oxidativo, sistema de defesa antioxidante.

Embora o milho seja o terceiro cereal mais cultivado no mundo, essa gramínea se mostra sensível à falta de água (AYDINSAKIR et al., 2013 - <https://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2013.06.013>). A disponibilidade hídrica pode ser o fator determinante do desenvolvimento e da produtividade da planta, podendo retardar ou, inclusive paralisar o crescimento vegetativo, bem como atrasar o desenvolvimento reprodutivo (STORCK et al., 2009 - <http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v8n1p27-39>). A identificação e a compreensão dos mecanismos de tolerância à seca são fundamentais no desenvolvimento de novos genótipos comerciais mais tolerantes ao déficit hídrico (SHAO et al., 2008 - <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.01.002>).

A produção de novos genótipos de cultivares tolerantes a restrição hídrica é uma das grandes demandas atuais para aumentar a produtividade, utilizar uma menor quantidade de água a ser consumida por planta e diminuir os riscos de perda de produção em áreas e épocas sujeitas a esse fator abiótico. No intuito de minimizar perdas de produtividade em função do déficit hídrico, em programas de melhoramento de plantas têm sido realizadas seleções de cultivares com boas características agronômicas e ao mesmo tempo tolerantes à seca. Para suportar situações de deficiência hídrica as plantas desenvolvem estratégias, envolvendo modificações morfoanatômicas, celulares e moleculares (NOGUEIRA et al., 2001 - <https://doi.org/10.1590/S0103-31312001000100009>).

As enzimas podem ser utilizadas como marcadores moleculares, podendo colaborar no desenvolvimento de materiais com tolerância, que irão assegurar altas produtividades mesmo em condições adversas. Entre as enzimas mais produzidas, em resposta a estresses, estão as enzimas de defesa contra as espécies reativas de oxigênio (EROS) como a catalase (CAT), super óxidodismutase (SOD) e a peroxidase (POX). As peroxidases (POX) são enzimas que neutralizam peróxidos usando ascorbato, essas enzimas fazem parte do grupo dos principais antioxidantes nas células vegetais. Quando os superóxidos são gerados como um subproduto da fotossíntese ou oxidação NADPH, o SOD converte rapidamente superóxidos em moléculas de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) relativamente estáveis e neutras. As peroxidases limpam os peróxidos de hidrogênio e neutralizam-os através do ciclo ascorbato-glutationa (WANG, Y.Y. - <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2025-2>).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a expressão da enzima peroxidase em sementes de milho, selecionando genótipos através da caracterização dos materiais sob condições de estresse. O experimento foi conduzido em condição de casa de vegetação na Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG (21°14'S, 40°17'W /e altitude de 918,80m).

* Fonte financiadora: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

¹ Engenheira Agrônoma, MsC., Bolsista doutorado CAPES*, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Aquecida Sol, s/n, Caixa Postal 3037 – CEP 37200-900, Lavras – MG. E-mail: juara.eng.agronoma@gmail.com

² Engenheira Agrônoma, MsC., Bolsista doutorado CNPq*, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG. E-mail: dani_rezende22@hotmail.com

³ Engenheira Agrônoma, DsC, Bolsista Pós-Doc CNPq*, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG. E-mail: elisedematospereira@yahoo.com.br

⁴ Engenheira Agrônoma, MsC., Bolsista doutorado CAPES*, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG. E-mail: edlania.maria@hotmail.com

⁵ Biólogo, DsC., Bolsista de desenvolvimento tecnológico e industrial (DTI- CNPq), EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas – BA. E-mail: renatoccv@hotmail.com

⁶ Engenheiro Agrônomo, MsC., Trainee de pesquisa GDM, Buenos Aires - Argentina. E-mail: gvtirelli@gmail.com

⁷ Engenheira Agrônoma e Engenheira Florestal, DsC., Professor Adjunto, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras UFLA, Lavras – MG. E-mail: heloisa.osantos@ufla.br

⁸ Engenheira Agrônoma, DsC., Professora Titular, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG. E-mail: edila@ufla.br

Foram utilizadas sementes de milho de duas linhagens contrastantes L91 - LT (Tolerante a seca) e L31 - NT (Não tolerante a seca), seu híbrido (91x31), seu recíproco (31x91) e suas populações F2. As sementes foram semeadas em vasos de 15 litros com substrato latossolo vermelho e a adubação de cobertura e os demais tratamentos culturais e fitossanitários foram realizados de acordo com as necessidades da cultura. Os materiais foram submetidos a dois tratamentos, com restrição hídrica e sem restrição hídrica (tratamento controle), utilizando o método de pesagem. Após a colheita as sementes foram secadas em secador de espigas a 35°C, até as sementes atingirem o teor de água de 13%, posteriormente as sementes foram armazenadas em câmara fria a 10°C até o momento da análise. As sementes foram submetidas à análise utilizando a técnica de eletroforese para a enzima peroxidase no Laboratório Central de Análises de Sementes LAS/UFLA.

Os resultados dos géis foram avaliados visualmente quanto a presença e ausência de bandas. A maior expressão da enzima peroxidase foi observada na L31, em ambos os tratamentos, mas teve uma maior expressão quando submetida ao déficit hídrico em relação aos outros genótipos, conforme observado na Figura 1. Pode-se inferir que este material estava produzindo uma maior quantidade de peróxido que exige mais produção de POX.

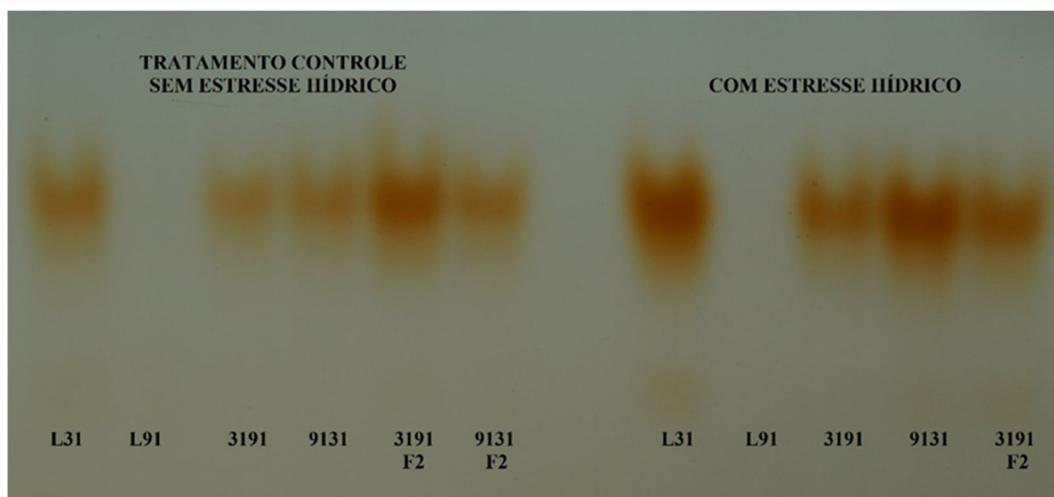


Figura 1. Padrões isoenzimáticos da enzima Peroxidase (POX) em sementes de milho seco submetidas a dois tratamentos, com restrição hídrica e sem restrição hídrica

Podemos observar esse mesmo comportamento nos recíprocos e também nas suas populações F2. O aumento da atividade da peroxidase em L31 pode ser explicada pela alta atividade metabólica devido à maior respiração, que implica a produção de radicais livres e, conseqüentemente, aumenta a atividade de enzimas antioxidantes, como a peroxidase. A L91 não expressou em nenhum dos tratamentos e teve uma menor expressão em todos os seus híbridos e populações F2, devido ao efeito materno.

Esse resultado sugere que a cultivar tolerante produz menos radicais livres de oxigênio ou que possui mecanismos enzimáticos mais eficientes que removem, neutralizam e/ou eliminam estes radicais livres, do que as variedades não tolerantes. Por ser uma das enzimas “scavenger”, ou seja, removedora de peróxido, a perda da atividade dessa enzima pode, parcialmente, esclarecer o fato de as sementes submetidas ao estresse hídrico acumularem mais peróxidos.

Conclui-se que é possível utilizar como estratégia o uso de marcadores moleculares que identifiquem as plantas tolerantes às condições de restrição hídrica.