

Alterações na Concentração e Oxidação de proteínas em Raízes de Três diferentes Ciclos de Seleção do Saracura sob Condições de Encharcamento

[Previous](#) [Top](#)
[Next](#)



XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 29/08 a 02/09 de 2004 - Cuiabá - Mato C

MARCUS J. C. LOPES¹, ISABEL R. P. SOUZA², PAULO C. MAGALHÃES², ELTO E. G. GAMA², JOSÉ D. ALVES³ e MARCELO M. MURAD³

¹ Estudante de Mestrado em Agronomia/ Fisiologia Vegetal pela UFLA, Lavras, MG ² Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, e-mail: isabel@cnpms.embrapa.br ³ UFLA, Dep. de Biologia/Setor de Fisiologia Vegetal, Lavras, MG

INTRODUÇÃO

A ausência parcial (hipoxia) ou total (anoxia) de oxigênio afeta a produtividade de várias culturas implantadas em solos com baixa drenagem, compactados ou alagados. No Brasil existem milhões de hectares de várzeas para a utilização agrícola (Silva, 1984) e, o milho, se tolerante, seria uma alternativa interessante para melhor aproveitamento destas áreas. Afim de preencher essa lacuna, uma equipe multidisciplinar da Embrapa Milho e Sorgo desenvolveu e lançou no mercado, em 1997, um composto de milho de ampla base genética denominado BRS4154-Saracura que tolera encharcamento intermitente do solo e por isso é recomendado o seu cultivo em área de várzea (Parentoni et al., 1995) Nessas condições de encharcamento do solo, tem sido mostrado, em plantas com baixa tolerância a esse estresse, a ocorrência de estresse oxidativo, como resultado do aumento de espécies reativas de oxigênio que podem causar danos às membranas celulares, ácidos nucléicos (Smirnof, 1993) e degradação de proteínas (Palma, 2002). Uma vez que para o milho BRS4154-Saracura, considerado tolerante à hipoxia, estas ocorrências ainda não foram investigadas, este trabalho teve por objetivo, verificar sob encharcamento, a concentração de proteína total e a oxidação protéica em raízes de plântulas após o primeiro, oitavo e décimo sexto ciclos de seleção do Saracura.

MATERIAL E MÉTODOS

Genótipos e condições de encharcamento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. Sementes dos ciclos de seleção do Saracura: C1, C8 e C16 e da cultivar BR 107 foram plantadas com o embrião voltado para cima, a uma profundidade aproximada de 1 cm do solo, em copos plásticos perfurados na base, segundo metodologia descrita por Porto (1997). Os copos foram previamente preenchidos com solo de várzea, cuja adubação foi realizada de acordo com a análise química e irrigados com água destilada. Após a germinação das sementes (5 dias após o plantio), os copos foram distribuídos inteiramente ao acaso em bandejas e submetidos ao encharcamento com água destilada mantida constante até a superfície do solo.

Coleta das raízes e Oxidação protéica

Para análise de proteína total e oxidação protéica as raízes foram coletadas nos períodos 0 (não encharcado), 8, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 h após encharcamento. Para extração protéica foram macerados 300 mg de ápices de raízes em nitrogênio líquido, adicionando-se 900 µl de tampão fosfato de potássio a 25 mM, pH 7,0. As amostras foram submetidas à centrifugação de 16000 g a 4 °C. No sobrenadante coletado, foi determinada a concentração protéica de acordo com o método de Bradford (1976) e a oxidação de proteínas conforme metodologia descrita por Levine (1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância revelou que a interação genótipo*tempo de encharcamento foi significativa ($P < 0.01$) para concentração e oxidação de proteínas. O desdobramento de tempo dentro de cada genótipo mostrou variações nestas características ao longo do tempo de encharcamento para a BR107 e para o Saracura nos três ciclos de seleção. De maneira geral, os teores de proteínas totais nas raízes de plantas das cultivares BR 107 e Saracura apresentaram o mesmo padrão de distribuição em relação ao tempo de encharcamento, diminuindo até o período de 72 horas e aumentando logo em seguida, até as 144 horas de estresse (Figura 1). Esse aumento significativo na concentração de proteínas nas últimas 48 horas de encharcamento possivelmente se deve à morte de raízes observada, principalmente ao final do experimento. Estes dados estão em concordância com os de Vitorino et al.(2001) que verificaram taxas de sobrevivência, próxima a zero, para plântulas do BR107 e do Saracura comercial, sob encharcamento contínuo, respectivamente, após 4 e 6 dias. No presente experimento observou-se uma clorose das folhas a partir das 48 horas e sempre mais intenso no BR 107, que evoluiu ao final do experimento para uma coloração bege escura. Em todo esse tempo de estresse, os teores de proteínas nas raízes do Saracura foram quase sempre superiores aqueles encontrados no BR107. Esses resultados sugerem que no milho tolerante, algum mecanismo seja acionado favorecendo a síntese ou protegendo as proteínas da degradação, quando exposto a ambientes com baixos níveis de oxigênio. A literatura tem mostrado que sob condições de anoxia/hipoxia, a síntese protéica é limitada, ocorrendo variações consideráveis na qualidade das proteínas que estão sendo sintetizadas (Sachs et al. 1980). Neste contexto, a síntese de algumas delas é aumentada, de outras é diminuída e até mesmo inibidas. De maneira geral, aquelas proteínas que tem sua síntese aumentada ou diminuída/inibida naquelas condições, estão relacionadas aos metabolismos aeróbico e anaeróbico, respectivamente. Quanto à oxidação das proteínas das raízes observou-se, que houve um aumento generalizado para o genótipo BR107 e Saracura (ciclos 8 e 16), até as 72 horas de encharcamento, com exceção do Saracura-ciclo 1 que ocorreu às 96 h, com um decréscimo contínuo até ao final do período experimental (Figura 2). Entretanto, na maioria dos tempos sob encharcamento, o BR107 apresentou valores mais elevados para esta característica. Os resultados mostram uma relação inversa entre concentração e oxidação de proteínas, confirmando com isso, a influência do estresse de oxigênio nessas duas características e a conseqüente perda da função radicular decorrente do início de morte das raízes. Estresses abióticos como toxidez de alumínio em milho susceptível (Boscolo et al., 2002) e exposição a ozônio em feijão (Junqua et al., 2000) tem causado aumento na oxidação de proteínas, diretamente proporcional ao tempo de exposição. Tanto o BR107 quanto os ciclos de seleção do Saracura apresentaram a mesma tendência para concentração e oxidação de proteínas, sob encharcamento. Entretanto, para a maioria dos tempos de encharcamento, os ciclos de seleção apresentaram valores maiores

e menores, respectivamente, para concentração e oxidação protéica. Associado a isto, os ciclos apresentaram clorose com intensidade muito inferior ao BR107 ao longo do tempo de encharcamento. Estes resultados sugerem que a seleção para o encharcamento contribuiu para uma melhora no mecanismo de proteção em relação a estas características no estágio de plântulas. É importante destacar que o Saracura foi desenvolvido para tolerar encharcamento temporário e não contínuo, a partir do estágio V6. Portanto, estão em andamento pesquisas que levam em consideração, os aspectos qualitativos das proteínas do milho Saracura paralelamente ao conjunto desses componentes obtidos na variedade sensível BR107.

LITERATURA CITADA

- BEERS, E.P.; WOFFENDEN, B. J.; ZHAO, C. Plant proteolytic enzymes: possible roles during programmed cell death. **Plant Molecular Biology**. 44, 399-415, 2000.
- BOSCOLO, P. R. S.; MENOSSI, M.; JORGE, R. A. Aluminum-induced stress oxidative in maize. **Phytochemistry** 62, 181-189, 2003.
- BRADFORD, J. M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. V.72, p.248, 1976.
- DALLING, M. J. Plant proteolytic Enzymes, vols I and II, **CRC Press**, Boca Raton, FL, 1986.
- ELSTNER, E. F.; OSSWALD, W. Mechanisms of oxygen activation during plant stress. In: **Proceedings of the royal Society of Edinburgh**, 102B, 131-154, 1994.
- HUFFAKER, R.C. Proteolytic activity during senescence of plants. **New Phytologist**. 116 (1990) 199-231.
- JUNQUA, M.; BIOLLEY, J-P.; PIE, S.; KANOUN, M.; DURAN, R.; GOULAS, P. In vivo occurrence of carbonyl in Phaseolus vulgaris proteins as a direct consequence of a chronic ozone stress. **Plant Physiology Biochem**. 38, 853-861, 2000.
- LEVINE, R.L.; GALARD, D.; OLIVIER, C. N.; AMICI, A.; CLIMENTE, I.; LENZ, A.G.; AHN, B.W.; SHALTIEL, S.; STADTMAN, E. R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol**. 186, 464-478. 1990
- PALMA, J. M.; SANDALIO, L. M.; CORPAS, F J.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; MCCARTHY, I.; DEL-RIO, L.A. Plant proteases, protein degradation, and oxidative stress: role of peroxisomes. **Plant Physiology and Biochemistry**. 40, 521-530, 2002.
- PARENTONI, N. P.; GAMA, E. E. G.; MAGNAVACA, R.; MAGALHÃES, P. C. **Seleção para tolerância ao encharcamento em milho (*Zea mays L.*)**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL: O MILHO EM PERSPECTIVA. EMBRAPA/CNPMS, Sete Lagoas, MG, Brasil, 1995.
- PORTO, M.P. Método de seleção de plantas de milho para tolerância ao encharcamento do solo. **Pesq. Agrop. Gaúcha**, v.3, n.2, p.187-190, 1997.
- SACKS, M. M; FREELING, M AND OKIMOTO, R. the anaerobic protein of maize. **Cell**. 20: 761-767, 1980.
- SILVA, A. R. **Tolerância ao encharcamento**. In: SIMPÓSIO SOBRE ALTERNATIVAS AO SISTEMA TRADICIONAL DAS VÁRZEAS DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. 22p., 1984.
- SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. **New Phytologist**, 125:27-58, 1993.
- VIERSTRA, R. D. Proteolysis in plants: mechanisms and functions. **Plant Molecular Biology**. 32. 275-302, 1996.



XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 29/08 a 02/09 de 2004 - Cuiabá - Mato C
