



Produção, qualidade e expressão isoenzimática de semente de trigo produzidas sob diferentes doses de boro

André Pich Brunes¹, André Oliveira de Mendonça^{1*}, Sandro de Oliveira¹, Elisa Souza Lemes¹, Igor Dias Leitzke² e Francisco Amaral Villela³

Recebido: 10 de outubro de 2014 Recebido após revisão: 13 de novembro de 2015 Aceito: 29 de agosto de 2016
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3182>

RESUMO: (Produção, qualidade e expressão isoenzimática de sementes de trigo produzidas sob diferentes doses de boro). Para o aumento da produção de trigo, novas tecnologias se fazem necessárias, como, por exemplo, a utilização de micronutrientes. Objetivou-se avaliar a influência da suplementação da adubação com micronutriente boro na expressão isoenzimática, germinação e rendimento de sementes de trigo. O experimento foi desenvolvido no laboratório didático de análise de sementes e em casa de vegetação, ambos localizados no município do Capão do Leão, RS, Brasil. Utilizaram-se sementes de trigo da cultivar FUNDACEP Horizonte. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x6, sendo duas épocas de aplicação (semeadura e perfilhamento) e seis doses de boro (0, 1, 2, 3, 4 e 5 kg ha⁻¹) com quatro repetições. A fonte de boro utilizada foi o tetraborato de sódio, que apresenta 11,5% de boro. As variáveis avaliadas foram: germinação, primeira contagem de germinação, rendimento de sementes por planta, peso hectolítrico e peso de mil sementes. Os padrões isoenzimáticos estudados foram: esterase (EST, EC 3.1.1.1), fosfatase ácida (FAC, EC 3.1.3.2), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT, EC 2.6.1.1), malato desidrogenase (MDH, EC 1.1.1.37) e peroxidase (PO, EC 1.11.1.7). A aplicação de boro, tanto na semeadura quanto no perfilhamento, reduz o vigor e o rendimento de sementes de trigo, cultivar FUNDACEP Horizonte. Variações eletroforéticas de isoenzimas estão associadas ao fornecimento de boro em plantas de trigo.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*, boro, qualidade de sementes, enzimas, produção de sementes.

ABSTRACT: (Yield, quality, and isozyme expression in wheat seeds produced with boron fertilization). The use of novel technologies, like micronutrient fertilization, is necessary to achieve increased production of wheat grain. We aimed to evaluate the influence of boron fertilization on isozyme expression, germination, and yield of wheat seeds. The experiment was conducted at the seed analysis teaching laboratory and in a greenhouse, both at Capão do Leão municipality, Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. We used wheat seeds from cultivar FUNDACEP Horizonte. The experimental design was completely randomized in a 2 x 6 factorial scheme, with two application times (sowing and tillering), six boron doses (0, 1, 2, 3, 4, and 5 kg ha⁻¹), and four replicates. The boron source used was sodium tetraborate, which has 11.5% boron in its composition. The evaluated variables were: germination, first germination count, seed yield per plant, test weight, and thousand-seed weight. The studied isozyme patterns were: esterase (EST, EC 3.1.1.1), acid phosphatase (FAC, EC 3.1.3.2), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT, EC 2.6.1.1), malate dehydrogenase (MDH, EC 1.1.1.37), and peroxidase (PO, EC 1.11.1.7). Boron application, at both sowing and tillering, reduces vigor and yield of wheat seeds from cultivar FUNDACEP Horizonte. Isozyme electrophoretic variations are associated with boron uptake in wheat.

Keywords: *Triticum aestivum*, boron, seed quality, enzymes, seed production.

INTRODUÇÃO

O trigo é o principal cereal de inverno produzido no Brasil, sendo a estimativa de produção para a safra 2014 aproximadamente 7,5 milhões de toneladas. No Brasil, a Região Sul concentra a maior área cultivada com esta espécie, com expectativa de 2,5 milhões de hectares e produtividade média de quase 2,8 t ha⁻¹, na safra 2014 (Conab 2014). Nesse contexto, há necessidade da adoção de novas práticas culturais para aumentar a produtividade e a qualidade da produção, sendo a utilização de micronutrientes de fundamental importância nesse processo.

Os micronutrientes são elementos químicos essenciais para o crescimento das plantas, exigidos em quantidades reduzidas (Mortvedt 2001). O micronutriente boro é um

elemento de baixa mobilidade dentro do floema, e consequentemente, os sintomas de sua deficiência manifestam-se nos tecidos jovens ou recém-formados (Malavolta *et al.* 2002). Apesar do papel fisiológico deste ainda não estar perfeitamente entendido, sabe-se da sua importância na formação da parede celular, mais especificamente na síntese de componentes, como a pectina, a celulose e a lignina e no transporte de glucídios (Moraes *et al.* 2002).

O boro é exigido em pequenas quantidades pelas culturas, sendo a decisão para aplicar doses adequadas de boro no solo vital para aumentar a produtividade, exigindo-se cautela por ser o intervalo de deficiência e toxicidade bastante estreito (Scivittaro & Machado 2004), uma vez que a toxicidade pode ser constatada com baixos níveis

1. Pós-Graduando do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas (UFPel/FAEM). Campus Universitário, Caixa Postal 354, CEP 96001-970, Pelotas, RS, Brasil.

2. Graduando em Agronomia, UFPel/FAEM.

3. Prof. Dr. do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, UFPel/FAEM.

* Autor para contato. E-mail: andreh_mendonca@hotmail.com

no solo, podendo causar principalmente clorose nas folhas mais velhas, e posteriormente nas folhas novas, evoluindo para necrose, podendo em algumas culturas provocar a queima completa das folhas, provocando a queda das folhas. A toxicidade provocada nas plantas pode ser dependente da velocidade de transporte do elemento das raízes para a parte aérea (Delgado *et al.* 1994).

Dentre suas funções, vale destacar a participação no alongamento celular, por fazer parte dos polissacarídeos da parede celular, sendo sua desordem nutricional prejudicial ao crescimento radicular (Obata 1995). Desta forma, a avaliação da dose e a época adequada para o manejo e adubação de boro podem ser fundamentais para o aumento da sua eficiência e da qualidade de sementes da cultura. Uma das formas de avaliar a deficiências e/ou toxicidade dos nutrientes, que podem causar prejuízos na produção e na qualidade das sementes, pode ser feita através da avaliação de alterações que podem ocorrer em determinados sistemas enzimáticos.

A avaliação de alterações em enzimas específicas por meio de eletroforese constitui eficiente ferramenta para o acompanhamento da qualidade das sementes sob diferentes condições, sendo empregadas em estudos de regulação gênica e bioquímica, constituindo-se de técnica versátil, simples e rápida (Muniz *et al.* 2007). As isoenzimas podem ser variações de uma dada enzima, que apresenta uma mesma especificidade de substrato, sendo estes marcadores do tipo co-dominante, o que possibilita a identificação de todos os alelos para um mesmo gene que podem estar relacionados a qualidade de sementes (Tunes *et al.* 2011).

A intensidade das bandas e o perfil isoenzimático são específicos para determinada parte da planta, tecido e estágio de desenvolvimento (Malone *et al.* 2006). Logo, tem-se como isoenzimas mais importantes para verificação da qualidade de plantas e sementes a esterase (EST, EC 3.1.1.1), fosfatase ácida (FAC, EC 3.1.3.2), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT, EC 2.6.1.1), malato desidrogenase (MDH, EC 1.1.1.37) e peroxidase (PO, EC 1.11.1.7) (Vieira *et al.* 2009).

Diante desse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência da adubação com boro na expressão isoenzimática, na germinação, e rendimento de sementes de trigo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no laboratório didático de análise de sementes e em casa de vegetação, ambos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), localizados no município do Capão do Leão, RS, Brasil (Latitude 31°48'02.69"S). Utilizaram-se sementes de trigo do cultivar FUNDACEP Horizonte.

Para a semeadura foram utilizados vasos com capacidade de 8 litros, preenchidos com solo peneirado coletado de horizonte A1 de um Planossolo Háplico Eutrófico solódico pertencente à unidade de mapeamento Pelotas (Streck *et al.* 2008), o qual apresentava teor de boro total

de 7,25 mg kg⁻¹. A adubação e a calagem foram realizadas de acordo com a Comissão de Fertilidade e Química do Solo-RS/SC (2004), incorporando os nutrientes ao solo aos sete e sessenta dias antes da semeadura, respectivamente.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x6, sendo duas épocas de aplicação (Semeadura e Perfilhamento) e seis doses de boro (0, 1, 2, 3, 4 e 5 kg ha⁻¹) com quatro repetições. A fonte de boro utilizada foi o tetraborato de sódio (boráx), o qual apresenta 11,5% de boro, aplicado via solo.

A colheita manual foi realizada no estádio em que dois terços das espiguetas apresentavam coloração amarelo-clara ou creme, caracterizando a maturidade fisiológica. A partir destas sementes colhidas, foram avaliadas as seguintes variáveis: germinação (G); primeira contagem de germinação (PCG); rendimento de sementes por planta (RSP); peso hectolítrico (PH); peso de mil sementes (PMS).

Para o teste de germinação foram semeadas quatro amostras de 50 sementes, sendo utilizadas como substrato duas folhas de papel do tipo "germitest", previamente umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso de papel seco, montados em rolos e mantidos em germinador a temperatura constante de 20 °C. A avaliação foi realizada após oito dias, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009), e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais. A primeira contagem da germinação foi avaliada aos quatro dias após a semeadura por ocasião da realização do teste de germinação. O rendimento de sementes por planta foi obtido pela pesagem das sementes colhidas, sendo o peso corrigido para a umidade de 13%. O peso hectolítrico foi realizado com quatro amostras e balança específica, com capacidade de um litro de sementes, sendo o resultado expresso em kg hL⁻¹. O peso de mil sementes foi realizado segundo as Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009), onde foram empregadas oito repetições de 100 sementes. Para estas pesagens calculou-se a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Todas as unidades experimentais apresentaram coeficiente de variação inferior a quatro, portanto, multiplicou-se a média por 10, e assim obteve-se o peso de mil sementes.

Os padrões isoenzimáticos estudados foram: esterase (EST, EC 3.1.1.1), fosfatase ácida (FAC, EC 3.1.3.2), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT, EC 2.6.1.1), malato desidrogenase (MDH, EC 1.1.1.37) e peroxidase (PO, EC 1.11.1.7). Para isso, coletou-se uma planta aos 60 dias após a emergência (parte aérea), por unidade experimental, aleatoriamente, e maceradas em gral de porcelana, em cada tratamento. De cada uma das amostras, 200 mg desse macerado foram colocados em tubo tipo Eppendorf, acrescidos de solução extratora (tampão tris-citrato 0,1M pH 8,3 + tampão borato de lítio 0,1M pH 8,3 + 0,15% de 2-mercaptoetanol) 1:2 (p/v).

A eletroforese foi realizada em géis de poliacrilamida 7%, colocando 20 µL de cada amostra em orifícios feitos

com o auxílio de um pente de acrílico. Os padrões enzimáticos foram analisados de acordo com metodologia descrita por Scandálíos (1969) e Alfenas (1998). Os géis foram colocados em cubas eletroforéticas verticais mantidas em temperatura ambiente. As migrações eletroforéticas foram realizadas com uma diferença de potencial de $10V\text{ cm}^{-1}$, até que a linha de frente formada pelo azul de bromofenol atingisse a extremidade inferior do gel. Os géis foram revelados, para os referidos sistemas enzimáticos, conforme Scandálíos (1969) e Alfenas (1998) e fixados em solução de glicerol 10%.

A interpretação dos resultados foi baseada na análise visual dos géis de eletroforese, levando em consideração a presença ou ausência, bem como a intensidade de cada uma das bandas eletroforéticas.

Os dados de germinação, primeira contagem de germinação, rendimento, peso hectolítrico e peso de mil sementes foram analisados quanto à normalidade e homocedasticidade e, posteriormente, submetidos à análise de variância pelo teste “F”. Constatada significância, as médias de época de aplicação foram comparadas pelo teste “t”, e dose de boro por regressão polinomial, onde a escolha do modelo para cada variável foi baseado na significância dos parâmetros e nos valores do R^2 , todos a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferenças significativas quanto à germinação de sementes de trigo provenientes de plantas adubadas com boro no perfilhamento e na semeadura. A germinação em todas as doses analisadas foi acima de 90%, sendo elevada para os padrões de sementes, cujo mínimo exigido é de 80% (Brasil 2005).

Para a primeira contagem de germinação observou-se que os tratamentos não diferiram quanto a época de aplicação, com exceção das doses 1 e 3 kg ha^{-1} , onde a aplicação na semeadura apresentou menor porcentagem de sementes germinadas, ao passo que na dose 5 kg ha^{-1} a aplicação no perfilhamento foi o que apresentou menor resultado (Tab. 1). Observando-se o comportamento das doses na variável primeira contagem de germinação, a aplicação na semeadura, apresentou comportamento linear, ao passo que para as doses aplicadas no perfilhamento, o comportamento foi quadrático, com máxima eficiência na dose 2,09 kg ha^{-1} (Fig. 1A).

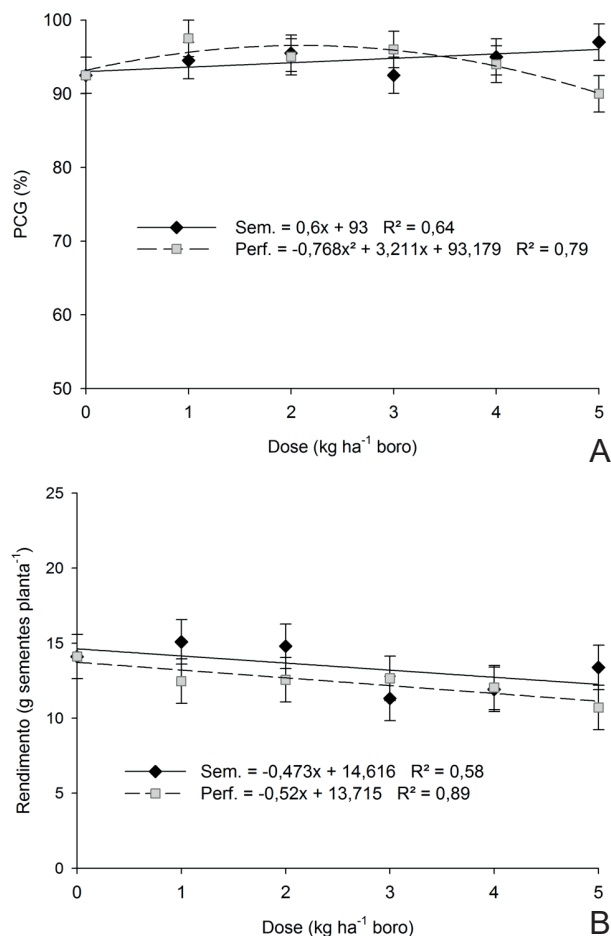


Figura 1. Primeira contagem de germinação (A) e rendimento de sementes por planta (B) de sementes de trigo colhidas em plantas submetidas a diferentes doses de boro e épocas de aplicação.

Os resultados obtidos concordam com os verificados em estudos com aplicação de borato de sódio na dose de 10 kg ha^{-1} , em diferentes estádios de crescimento, pois o tratamento não influenciou a germinação e a primeira contagem de germinação das sementes de arroz irrigado, cultivar IRGA 422CL (Leite *et al.* 2011).

Comportamento semelhante foi observado para o rendimento de sementes por planta, ao ocorrer similaridade entre as épocas de aplicação em todas as doses estudadas (Tab. 1). Em ambas as aplicações, observou-se redução linear média de 0,5% por unidade da dose (Fig. 1B). Ao

Tabela 1. Primeira contagem de germinação (PCG) e rendimento de sementes por planta (RSP) de sementes de trigo colhidas em plantas submetidas a diferentes doses de boro e épocas de aplicação.

Dose (kg ha^{-1} boro)	PCG (%)		RSP (g)			
	Semeadura	Perfilhamento	Semeadura	Perfilhamento		
0	1 ns	93	93	ns	14,1	14,1
1	*	95	98	ns	15,1	12,5
2	ns	96	95	ns	14,8	12,6
3	*	93	96	ns	11,3	12,7
4	ns	95	94	ns	11,9	12,0
5	*	97	90	ns	13,4	10,7
C. V. (%)		2,6			11,3	

1. Médias antecedidas por * ou ns na linha, para cada variável, diferem ou não, respectivamente, pelo teste “t” ($p \leq 0,05$).

contrário disso, aumento de produtividade em milho foi encontrado utilizando-se solo de cerrado em experimento conduzido em casa de vegetação, considerando adequada a dose de 9,4 kg ha⁻¹ (Fageria 2000). Esta variabilidade de desempenho da adubação está relacionada principalmente à rápida lixiviação do boro para camadas mais profundas do solo (Oliveira *et al.* 2009), em função da baixa capacidade de adsorção deste nutriente no solo. Além disso, a disponibilidade imediata do boro aplicado na adubação, aliada à estreita faixa entre deficiência e toxicidade na planta, pode provocar ação tóxica, influenciando negativamente a produtividade das plantas (Communar & Keren 2007).

Nas variáveis peso hectolítrico e peso de mil sementes, não ocorreu diferença significativa entre semeadura e perfilhamento, exceto nas doses 4 e 5 kg ha⁻¹ para peso hectolítrico, e nas doses de 2, 4 e 5 kg ha⁻¹ para peso de mil sementes (Tab. 2). Em ambas as variáveis as diferenças ocorreram com menor desempenho na aplicação no perfilhamento.

Para peso hectolítrico observou-se redução linear média de 0,5% por unidade da dose de boro aplicado no perfilhamento. Já na aplicação na semeadura obteve-se comportamento quadrático, onde a menor taxa obteve-se na dose 2,75 kg ha⁻¹ (Fig. 2A). Para peso de mil sementes, ambas as épocas de aplicação demonstraram comportamento quadrático decrescente, com maior peso nas doses de 0,7 e 0,07 kg ha⁻¹ de boro na semeadura e no perfilhamento, respectivamente (Fig. 2B).

Essas reduções no peso hectolítrico e no peso de mil sementes fortalecem a hipótese que as doses de boro até 5 kg ha⁻¹ provocam toxicidade às plantas de trigo. Vários fatores podem estar associados à alta absorção de boro pela planta como, pH, textura, umidade e temperatura do solo (Gupta 2000). Porém a hipótese que justificaria o alto acúmulo de boro nas folhas de cevada é que o aumento do teor de boro no solo favoreceu o diferencial de potencial químico entre o boro do solo e da planta, permitindo a passagem direta do elemento pela parede bilipídica, ocasionada pela ausência de cargas (Dordas & Brown 2001). Essa passagem preferencial do nutriente, considerando as doses aplicadas no solo, pode explicar a excessiva absorção de boro nas plantas de cevada, prejudicando seu rendimento. Em arroz, não se observou efeito do boro no rendimento, utilizando borato de

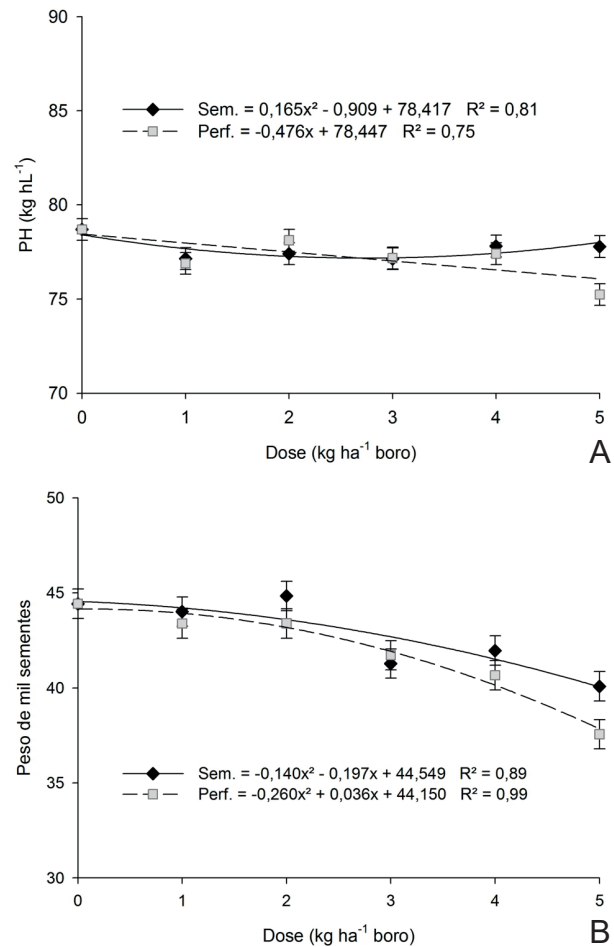


Figura 2. Peso hectolítrico (A) e peso de mil sementes (B) de sementes de trigo colhidas em plantas submetidas a diferentes doses de boro e épocas de aplicação.

sódio na dose de 10 kg ha⁻¹ em várias épocas (Leite *et al.* 2011). Todavia há relato de respostas significativas no rendimento de arroz no caso em que foram realizadas aplicações de boro na planta (Dunn *et al.* 2005).

O boro atua na translocação de açúcares para os órgãos propagativos, contudo, o nível tóxico de boro no solo e nas plantas está bastante próximo aos níveis de deficiência, o que pode explicar o comportamento das variáveis verificado no presente trabalho (Malavolta *et al.* 2002). Além disso, resultado negativo no rendimento, peso de mil sementes e peso hectolítrico, podem

Tabela 2. Peso hectolítrico (PH) e peso de mil sementes (PMS) de sementes de trigo colhidas em plantas submetidas a diferentes doses de boro e épocas de aplicação.

Dose (kg ha ⁻¹ boro)	PH (kg hL ⁻¹)		PMS (g)			
	Semeadura	Perfilhamento	Semeadura	Perfilhamento		
0	1 ns	78,7	78,7	ns	14,1	14,1
1	ns	77,2	76,9	ns	15,1	12,5
2	ns	77,4	78,1	ns	14,8	12,6
3	ns	77,1	77,2	ns	11,3	12,7
4	*	77,8	77,4	ns	11,9	12,0
5	*	77,8	75,2	ns	13,4	10,7
C. V. (%)		2,6			11,3	

1. Médias antecedidas por * ou ns na linha, para cada variável, diferem ou não, respectivamente, pelo teste "t" (p≤0,05).

aérea das plantas durante os estádios iniciais de alongação da cultura compreende valores entre 2,5 e 6,0 mg kg⁻¹ (Bergmann 1992).

Analisando o sistema isoenzimático EST foi possível identificar três alelos (EST1, EST2 e EST3) (Fig. 3A). A expressão e intensidade dos alelos EST2 e EST3 variou levemente nas doses 4 e 5 kg ha⁻¹ de boro, na aplicação no perfilhamento, quando comparado ao tratamento testemunha. Por outro lado, não observou-se diferença na expressão na aplicação na semeadura. A enzima esterase está relacionada com o catabolismo de lipídeos, fonte de carbono para a síntese de novas moléculas em plântulas (Bewley & Black 1994), uma vez que o maquinário fotossintetizante não está preparado para suprir toda a demanda de carbono requerida pela planta. Esses dados demonstraram redução da expressão desta enzima nas duas últimas doses para aplicação no perfilhamento, sendo este resultado semelhante aos encontrados nesta pesquisa, pois para primeira contagem de germinação, observou-se redução da variável, na aplicação no perfilhamento.

Para a FAC (Fig. 3B), houve a expressão de dois alelos (FAC1 e FAC2) na dose nula, cuja aplicação de boro nas doses 2 e 1 kg ha⁻¹ ocasionou diminuição na intensidade

da banda do alelo FAC1, tanto na semeadura quanto no perfilhamento. 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). Esta enzima pode, sob certas condições, estar envolvida na mobilização de reservas de nutrientes da planta, no transporte ativo de açúcares e outros compostos através da membrana, na diferenciação de plastídeos ou ainda no processo de senescência (Breseghelo *et al.* 1992).

Analisando o sistema eletroforético GOT observa-se a expressão de dois alelos (GOT1 e GOT2) da enzima na dose nula (Fig. 4A). Na aplicação no perfilhamento, o alelo GOT1 foi expresso mais intensamente na dose 1 kg ha⁻¹, com decréscimo nas doses seguintes, ao passo que na semeadura, o aumento das doses induziu a expressão deste alelo. O alelo GOT2 teve expressão aumentada em todas as doses aplicadas no perfilhamento, enquanto que na semeadura a elevação da expressão ocorreu a partir da dose 2 kg ha⁻¹. Porém com a aplicação de boro na dose 1 kg ha⁻¹, no perfilhamento, e nas doses 3 e 5 kg ha⁻¹, na semeadura, houve a expressão de um terceiro alelo (GOT3).

Aumento na atividade desta enzima está relacionado

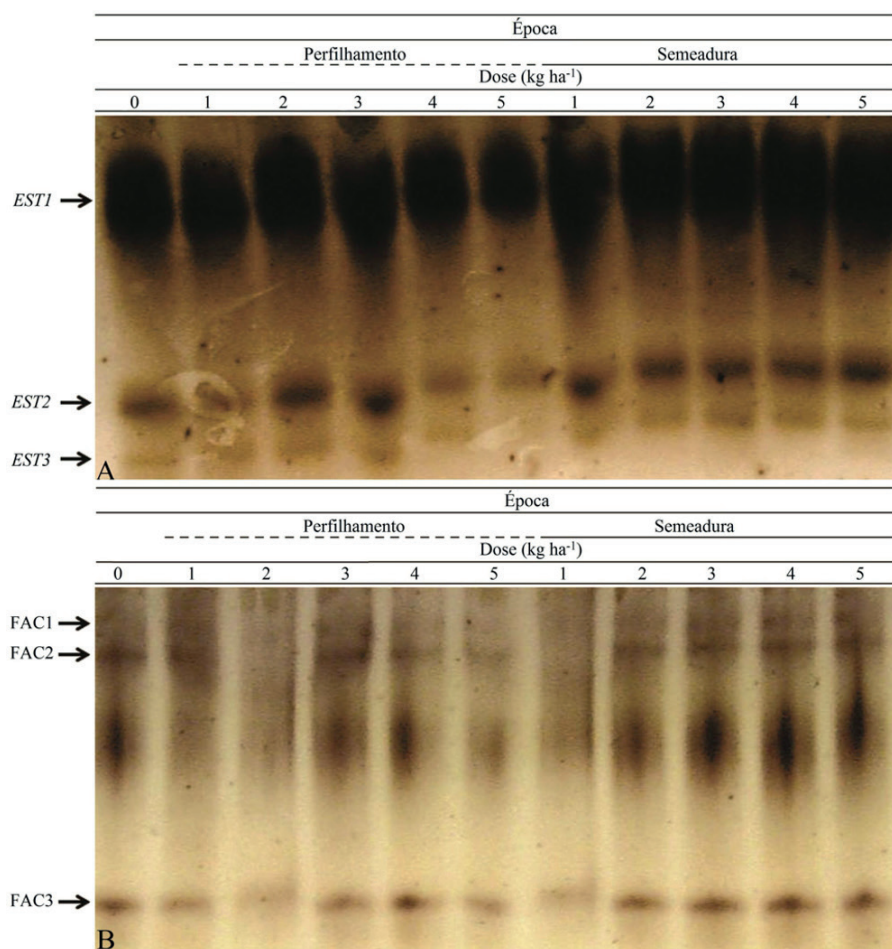


Figura 3. Padrões eletroforéticos obtidos com o sistema isoenzimático esterase (EST) e fosfatase ácida (FAC) em plantas de trigo submetidas a diferentes doses de boro e épocas de aplicação.

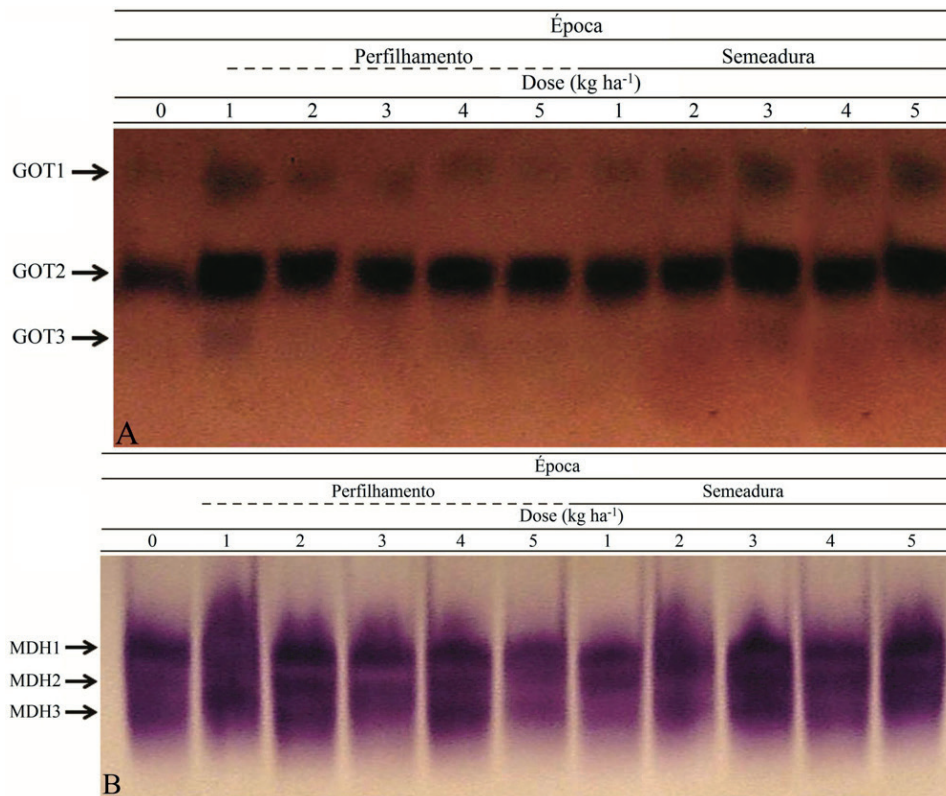


Figura 4. Padrões eletroforéticos obtidos com o sistema isoenzimático glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e malato desidrogenase (MDH) em plantas de trigo submetidas a diferentes doses de boro e épocas de aplicação.

à redução da qualidade das sementes, sendo responsável pela oxidação de aminoácidos, fornecendo energia para o Ciclo de Krebs ou redução do α -cetoglutarato para a síntese de novos aminoácidos, como fonte de energia ao embrião em desenvolvimento (Vieira *et al.* 2009). Em função de esta estar diretamente envolvida no metabolismo do nitrogênio, é possível que variações ocorram a medida que ocorre a síntese e a degradação de aminoácidos, durante o processo de germinação. As variações apresentadas nesse sistema eletroforético, com o aumento da expressão da enzima, evidenciam decréscimo na qualidade da semente, o que confirmaria os dados encontrados para rendimento.

No que tange à expressão da enzima MDH (Fig. 4B), observou-se a presença de três alelos (MDH1, MDH2 e MDH3), não havendo diferença na expressão, nas doses e nas épocas de aplicação. A MDH ocorre tanto na matriz mitocondrial como no citoplasma das células. Nas mitocôndrias atua nas duas reações finais do ciclo do ácido cítrico, o fumarato é hidratado para produzir malato, que é subsequentemente oxidado pela MDH, para regenerar Oxaloacetato (OAA) e produzir outra molécula de NADH. A produção de OAA pode reagir com outro acetil-CoA e continuar o ciclo, o NADH produzido será oxidado na fosforilação oxidativa para produção de ATP (Taiz & Zeiger 2013).

No citoplasma, a MDH catalisa a reação de OAA (derivado do fosfoenolpiruvato) para malato produzindo NAD⁺ que é necessário para a glicólise. A MDH também

atua no ciclo do glioxilato na oxidação do malato a OAA que se combina com outra acetil-CoA para continuar o ciclo, dentro do glioxissomo, e no citosol ao oxidar o malato transportado da mitocôndria em OAA, o qual será convertido a fosfoenolpiruvato que será metabolizado para produzir sacarose pela rota gliconeogênica (Taiz & Zeiger 2013).

Para o padrão eletroforético PO (Fig. 5), houve redução na intensidade dos alelos PO2 e PO3 na dose 2 kg ha⁻¹, e dos alelos PO1, PO2 e PO3 nas doses 4 e 5 kg ha⁻¹, na aplicação de boro no perfilhamento. A aplicação na semeadura induziu a redução dos alelos PO2 e PO3 nas doses 1, 2 e 4 kg ha⁻¹ de boro. As proteínas peroxidases de 50 kDa, presentes como múltiplas isoenzimas em tecidos vegetais (Jebara *et al.* 2005), estão associadas aos processos fisiológicos e bioquímicos como crescimento, formação celular, desenvolvimento de frutos, biossíntese de etileno e resposta a vários estresses (Matamoros *et al.* 2003). Elas participam de processos ligados à parede celular, tais como oxidação de fenóis e lignificação de células vegetais hospedeiras durante a reação de defesa contra agentes patogênicos (Datta & Muthukrishnan 1999). Assim como os outros padrões analisados, as variações ocorridas para PO podem estar associadas ao baixo rendimento das sementes provenientes de plantas adubadas com boro.

As variações nos padrões dos sistemas eletroforéticos permitem afirmar que a aplicação de boro, nas doses utilizadas, pode afetar a expressão das enzimas. Em

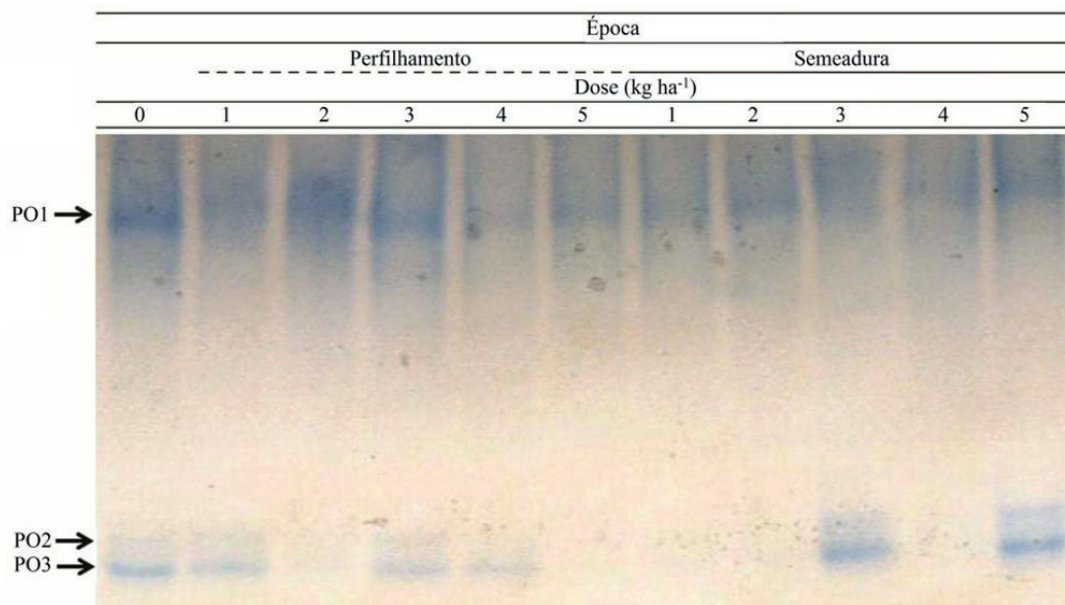


Figura 5. Padrão eletroforético obtido com o sistema isoenzimático peroxidase (PO) em plantas de trigo submetidas a diferentes doses de boro e épocas de aplicação.

função disso, a análise conjunta de vários sistemas isoenzimáticos é recomendável por permitir a verificação de modificações que ocorrem nas plantas submetidas a tratamentos que influenciam na produtividade.

CONCLUSÕES

A semeadura é a melhor época para adubação boratada, promovendo maior rendimento, qualidade e expressão do vigor das sementes de trigo.

A adubação com 2 kg de boro por hectare, em geral, é a que apresenta melhores resultados de produção e qualidade de sementes.

Variações eletroforéticas de isoenzimas, principalmente para a fosfatase ácida (FAC), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e malato desidrogenase (MDH) estão associadas ao fornecimento de boro em plantas de trigo.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C. 1998. *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins*. Viçosa: UFV. 574p.
- BERGMANN, W. 1992. *Nutritional disorders of plants: development, visual and analytical diagnosis*. New York: Gustav Fischer. 741 p.
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. 1994. *Seeds – Physiology of development and germination*. 2ed. New York: Plenum Press. 445 p.
- BLEVINS, D.G. & LUKASZEWSKI, K.M. 1998. Bn in plant structure and function. Annual Reviews. *Plant Physiology Molecular Biology*, 49: 48-500.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2005. *Padrões para produção e comercialização de sementes de trigo e de trigo duro*. Anexo XII (Instrução Normativa MAPA, nº 25 de 16/12/2005).
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS. 395 p.
- BRESEGHELO, M.L., OLIVEIRA, I.P. & THUNG, M.D. T. 1992. Respostas de cultivares de feijão ao teste de fosfatase ácida. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 27: 647-654.
- CAMARGO, M.L.P., MORI, E.S., MELLO, E.J., ODA, S. & LIMA, G.P. 2000. Atividade enzimática em plântulas de *Eucalyptus grandis* provenientes de sementes envelhecidas artificialmente e manualmente. *Ciência Rural*, 10: 113-122.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO-RS/SC. 2004. *Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina*. 10.ed. Porto Alegre: SBCS/Núcleo Regional Sul/UFRGS. 400 p.
- COMMUNAR, G. & KEREN, R. 2007. Effect of transient irrigation on boron transport in soils. *Soil Science Society of America Journal*, 71: 306-313.
- CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. 2014. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2013/2014 – Décimo Primeiro Levantamento - Agosto/2014 - Conab, 2014. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_08_07_08_59_54_boletim_graos_agosto_2014.pdf>. Acesso em: 16 ago. 2014.
- DATTA S.K. & MUTHUKRISHNAN, S. 1999. *Pathogenesis-related proteins in plants*. Boca Raton: CRC Press. 291 p.
- DELGADO, A., BENLLOCH, M. & FERNANDEZ-ESCOBAR, R. 1994. Mobilization of boron in olive trees during flowering and fruit development. *HortScience*, 29: 616-618.
- DORDAS, C. & BROWN, P.H. 2001. Evidence mediated channel in-transport of boric acid in Squash (*Curcubita pepo*). *Plant and Soil*, 235: 95-103.
- DUNN, D., STEVENS, G. & KENDIG, A. 2005. Boron fertilization of rice with soil and foliar applications. *Crop Management*. Online, doi:10.1094/CM-2005-0210-01-RS, 2005. Disponível em: <<http://plantsci.missouri.edu/deltacrops/pdfs/RiceBoron.pdf>>. Acesso em: 13 maio 2013.
- FAGERIA, N.K. 2000. Níveis adequados e tóxicos de boro na produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo de cerrado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*, 4: 57-62.
- GUPTA, U.C. 2000. Deficiency, sufficiency and toxicity level of boron in crop. In: GUPTA, U. C. (Ed.) *Boron an its role in crop production*. Boca Raton: CRC. Ross. p. 137-145.
- JEBARA, S., JEBARA, M., LIMAM, F. & AOUANI, M.E. 2005. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide

- dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 162: 929-936.
- LEITE, R.F.C., SCHUCH, L.O.B., AMARAL, A.S. & TAVARES, L.C. 2011. Rendimento e qualidade de sementes de arroz irrigado em função da adubação com boro. *Revista Brasileira de Sementes*, 33: 785-791.
- MALAVOLTA, E., PIMENTEL-GOMES, F. & ALCARDE, J. C. 2002. *Adubos e adubações*. São Paulo: Nobel. 200 p.
- MALONE, G., ZIMMER, P.D., CASTRO, M.A.S., CARVALHO, I., MENEGHELLO, G.E. & PESKE, S.T. 2006. Identificação do estágio adequado para realização de análises isoenzimáticas na caracterização de cultivares de arroz. *Revista Brasileira de Sementes*, 28: 193-200.
- MATAMOROS, M.A., DALTON, D.A., RAMOS, J., CLEMENTE, M.R., RUBIO, M.C. & BECANA, M. 2003. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the *Rhizobia-legume* symbiosis. *Plant Physiology*, 133: 499-509.
- MORAES, L.A.C., MORAES, V.H.F. & MOREIRA, A. 2002. Relação entre flexibilidade do caule de seringueira e a carência de boro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37: 1431-1436.
- MORTVEDT, J.J. 2001. Tecnologia e produção de fertilizantes com micronutrientes. Presença de elementos tóxicos. In: FERREIRA, M. E. *et al.* (Eds.). *Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura*. Jaboticabal: CNPq/Fapesp/Potafos, p. 237-254.
- MUNIZ, F.R., CARDOSO, M.G., PINHO, E.A.R.V. & VILELA, M. 2007. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. *Revista Brasileira de Sementes*, 29: 195-204.
- OBATA, H. Micro essential elements. In: MATSUO, T., KUMAZAWA, K., ISHII, R., ISHIHARA, K. & HIRATA, H. 1995. (Eds.). *Science of the rice plant*. Tokyo: Food and Agriculture Police Research Center. p 420-433.
- OLIVEIRA, N.W., MUNIZ, S.A., SILVA, G.A.M., CASTRO, C. & BORKERT, M.C. 2009. Boron extraction and vertical mobility in Paraná State Oxisol, Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 33: 1259-1267.
- SCANDALIOS, J.G. 1969. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochemical Genetics*, 3: 37-39.
- SCIVITTARO, W.B. & MACHADO, O.M. 2004. Adubação e calagem para a cultura do arroz irrigado. In: GOMES, A.S. & MAGALHÃES JUNIOR, A.M. (Eds.). *Arroz irrigado no sul do Brasil*. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas. p. 259-297.
- STRECK, E.V., KÄMPF, N., DALMOLIN, R.S.D., KLAMT, E., NASCIMENTO, P.C., SCHNEIDER, P., GIASSON, E. & PINTO, L.F.S. 2008. *Solos do Rio Grande do Sul*. 2.ed. rev. e ampl. Porto Alegre: Emater/RS. 222 p.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2013. *Fisiologia Vegetal*. 5a ed. Porto Alegre: Artmed. 954 p.
- TUNES, L.M., BADINELLI, P.G., BARROS, A.C.S.A., MENEGHELLO, G.E. & AMARANTE, L. 2011. Influência dos diferentes períodos de colheita na expressão de isoenzimas em sementes de cevada. *Revista Ceres*, 58: 178-184.
- VIEIRA, E.S.N., VON PINHO, E.V.R., CARVALHO, M.G.G. & SILVA, P.A. 2009. Caracterização de cultivares de soja por descritores morfológicos e marcadores bioquímicos de proteínas e isoenzimas. *Revista Brasileira de Sementes*, 31: 86-94.