

ATIVIDADES DAS ENZIMAS CATALASE E ESTERASE EM SEMENTES DE CAFÉ PRODUZIDAS SOB DIFERENTES TRATAMENTOS DE FERTIRRIGAÇÃO¹

Ana Rosália Calixto da Silva Chaves², Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa³, Ana Izabella Freire⁴,Débora P. de Matos⁵, Flávia Carvalho Santos⁶, Luis Filipe Coelho⁷, Marcella N. de Freitas⁸, Rodrigo S. Ribeiro Pinto⁹

¹ Trabalho financiado pelo Consórcio Pesquisa Cafés e com apoio da Embrapa Café, UFLA, CNPq, Capes e FAPEMIG

² Graduanda em Agronomia, bolsista PIBIC/CNPq, DAG/UFLA, ana_calixto16@hotmail.com

³ Pesquisadora Embrapa Café, Setor Sementes, DAG/UFLA, sttelarosa@embrapa.br

⁴ Graduanda em Agronomia, Bolsista PIBIC/FAPEMIG, DAG/UFLA, anabellafr1987@yahoo.com.br

⁵ Graduanda em Agronomia, Bolsista PIBIC/CNPq, DAG/UFLA, deboradematosp@yahoo.com.br

⁶ Pós-doutoranda Embrapa Café, Setor Sementes, DAG/UFLA, flavinha.agronomia@dag.ufla.br

⁷ Professor Dr., DEG/UFLA, acolombo@deg.ufla.br

⁸ Graduando em Agronomia, PIVIC/DAG/UFLA

⁹ Mestranda em Agronomia, DAG/UFLA, cella_nunes@hotmail.com

⁹ Agrônomo, bolsista Embrapa Café, DAG/UFLA, rodrigoparaíso@hotmail.com

RESUMO

Com a escassez das áreas produtivas e com a limitação de algumas regiões pela deficiência hídrica, a irrigação vem sendo cada vez mais utilizada, seja para aumentar a produtividade a qualidade dos produtos ou para diminuir os custos da aplicação de adubo. Na cultura de café está sendo utilizada, principalmente, a fertirrigação, que além das vantagens destacadas evita a compactação do solo, concorre para um menor gasto de energia e evita os danos mecânicos causadas por máquinas usadas na adubação. Sabe-se que, dentre outros fatores, a adubação pode influenciar na qualidade de sementes, além de interferir nos resultados dos padrões de proteínas e de isoenzimas, como a catalase e a esterase. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da fertirrigação nos padrões isoenzimáticos da catalase e esterase em sementes de café produzidas em lavoura cafeeira irrigada e adubada com diferentes doses de nutrientes nitrogenados. Os frutos foram colhidos em lavoura da Universidade Federal de Lavras, espécie *Coffea arabica* L., sendo fertirrigado por um sistema de gotejamento e dois parcelamentos, doze e quatro aplicações por ano. Após a colheita dos frutos no estádio cereja, estes foram despulpados, desmucilados, secados e submetidos às análises de eletroforese de isoenzimas. Da análise dos resultados, constatou-se que os tratamentos de fertirrigação com diferentes parcelamentos e doses de adubação não afetam o perfil eletroforético das isoenzimas catalase e esterase.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L., eletroforese, isoenzimas.

ACTIVITY OF CATALASE AND ESTERASE IN COFFEE SEEDS PRODUCED UNDER DIFFERENT TREATMENTS FERTIRRIGAÇÃO.

ABSTRACT

With the shortage of productive areas and the limitation of some regions by water stress, irrigation has been increasingly used, is to increase productivity and product quality to reduce the cost of applying fertilizer. In the culture of coffee is mainly used fertigation, which also highlighted the advantages prevents soil compaction, contributes to a lower energy expenditure and prevents mechanical damage caused by machinery used in fertilization. It is known that, among other factors, fertilization can influence the seed quality, and interfere with the results of the patterns of proteins and isoenzymes, such as catalase and esterase. Thus, this study was to evaluate the effects of fertigation isozyme patterns of esterase and catalase in coffee seeds produced in coffee plantations irrigated and fertilized with different doses of nitrogenous nutrients. The fruits were harvested crops from the Federal University of Lavras, *Coffea arabica* L., and fertigated a drip system and two installments, 0:04 applications per year. After harvesting the cherry fruit at the stadium, they were pulped, desmucilados, dried and submitted to analysis of isoenzyme electrophoresis. Analysis of the results, it was found that the fertigation treatments with different doses of installments and fertilization do not affect the electrophoretic profile of catalase and esterase isoenzymes.

Key words: *Coffea arabica* L., electrophoresis, isoenzymes.

INTRODUÇÃO

O uso da irrigação vem se tornando cada vez mais comum na cafeicultura, mesmo em áreas que apresentam condições propícias à cultura. Áreas produtivas estão cada vez mais escassas e dentro de alguns anos a produção de algumas regiões estará limitada, principalmente pela deficiência hídrica. A irrigação desde que usada corretamente, pode aumentar a produtividade, melhorar a qualidade, diminuir custos na aplicação de adubo e de alguns defensivos, além de possibilitar a expansão de novas fronteiras agrícolas (MANTOVANI, 2000).

Dentre os vários métodos de irrigação, o localizado é o que tem maior potencial para economia de água e de energia elétrica, e, dentro dessa categoria, o gotejamento vem se destacando como um dos principais métodos de irrigação por ter potencial de aumentar a produção e, simultaneamente, conservar o solo, os recursos hídricos e o ambiente, apresentando ainda outra grande vantagem que é a possibilidade de se efetuar fertirrigações, ou seja, aplicação de fertilizantes via irrigação (COELHO et al., 2009).

A utilização da fertirrigação oferece inúmeras vantagens em comparação com o método convencional de aplicação de fertilizantes. Entre elas, pode-se destacar a não-compactação do solo e o fim de injúrias mecânicas nas plantas, causadas pela entrada de equipamentos pesados nas áreas de cultivos para promover a adubação pelos métodos tradicionais; menor quantidade de equipamento exigido e menor gasto de energia. Destaca-se também a possibilidade de maior número de parcelamento dos nutrientes, tais como o nitrogênio, potássio e fósforo, sem a necessidade de maquinário e mão-de-obra além de possibilitar a aplicação independentemente das condições climáticas (COELHO e SILVA, 2005).

O nitrogênio é um dos principais nutrientes e participa no metabolismo das plantas, como constituinte de moléculas de proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos, citocromos, moléculas de clorofila, sendo considerado um dos elementos mais importantes para o aumento da produção (Ferreira, 1997 e Fornasieri-Filho, 1992).

Sabe-se que, dentre outros fatores, a adubação nitrogenada pode interferir nos resultados dos padrões de proteínas e de isoenzimas. Quando há um excessivo fornecimento de nitrogênio, a planta aumenta a síntese de proteínas e a formação de novos tecidos, usando a maior parte dos carboidratos na elaboração de proteínas e de aminoácidos (Fornasieri-Filho, 1992).

Dessa forma a fertirrigação influencia os padrões isoenzimáticos (Singleton et al., 1990), como o das isoenzimas catalase (CAT) e esterase (EST).

A enzima catalase juntamente com outras é conhecida como removedora de radicais livres, pois desempenha o papel de desintoxicação de H_2O_2 (tóxico para a planta). Transformando a H_2O_2 em H_2O e O_2 . Esses radicais livres liberados danificam as membranas, o que culmina nas reações destrutivas (McDonald, 1999). Assim, o funcionamento das mitocôndrias, nas quais as reações químicas da respiração acontecem, fica comprometido, juntamente com o fornecimento de energia e compostos secundários para a síntese de proteínas (Leningher et al., 1995).

A enzima esterase (EST) está envolvida tanto na hidrólise de ésteres quanto no metabolismo de lipídios. Segundo Basavarajappa et al., (1991), sendo a peroxidação de lipídeos um evento associado a danos de membrana das sementes, alterações podem levar à ocorrência de eventos deteriorativos, que podem contribuir para a redução na germinação das sementes à medida que é aumentado o fator salinidade.

Assim, no presente trabalho objetivou-se avaliar os efeitos da fertirrigação na expressão dos sistemas isoenzimáticos catalase (CAT) e esterase (EST) em sementes de café produzidas em lavoura cafeeira irrigada sob diferentes doses e parcelamentos de nutrientes nitrogenados.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Lavras, com espécie *Coffea arabica* L., cultivar Topázio, cuja lavoura foi implantada em Janeiro de 2006 e submetida aos tratamentos culturais conforme a necessidade, mantendo-se a lavoura livre de plantas daninhas. O sistema de irrigação utilizado foi o de gotejamento, com controle simultâneo da aplicação dos fertilizantes nas três repetições, sendo a umidade do solo indiretamente monitorada por tensiômetros instalados nas profundidades de 10, 25, 40 e 60 cm, cujas leituras foram utilizadas para o cálculo das lâminas de água. Além do sistema tradicional (sem irrigação e adubado quatro vezes por ano durante o período das águas), foram estudadas cinco doses de adubação, 70, 100, 130, 160 e 190% do recomendado, aplicadas por meio de fertirrigação por um sistema de gotejamento e dois parcelamentos, doze e quatro aplicações por ano.

Após a colheita dos frutos no estádio cereja, estes foram despulpados e desmucilados por submersão em água, durante 24 horas, e lavados em água corrente. Após a secagem, em estufa de circulação forçada, as sementes sem pergamínio foram submetidas às análises de eletroforese de isoenzimas.

Nas análises de isoenzimas, amostras de 50 sementes de cada tratamento foram trituradas em moinho da marca Tecnal modelo TE613/1, em seguida foram maceradas em recipiente de porcelana com nitrogênio líquido para evitar a desnaturação de proteínas pelo aquecimento. O pó obtido foi refrigerado a 4 °C, na presença de PVP e armazenadas à temperatura de -86 °C. A extração das proteínas foi realizada adicionando-se a 100 mg do pó da semente, 320 µL do tampão de extração (0,2M Tris) homogeneizados em vortex e, posteriormente, mantidos por uma

hora em geladeira. As amostras foram centrifugadas a 16.000 rpm, a 4 °C por 60 minutos e 60 µL do sobrenadante foram aplicados nos géis de poliacrilamida. O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi tris-glicina pH 8,9. A eletroforese foi realizada a 110V durante 5 horas e os géis foram revelados para os seguintes sistemas isoenzimáticos: esterase (EST) e catalase (CAT), conforme metodologia descrita por Alfenas (1998).

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 em cada sistema isoenzimático avaliado.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A expressão das enzimas catalase (CAT) e esterase (EST) nos diferentes tratamentos pode ser observada nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

Foram detectadas bandas de CAT em todos os tratamentos avaliados, porém, não foi observada diferença na expressão da enzima entre os tratamentos. A expressão da enzima esterase também não foi alterada pelos diferentes tratamentos de adubação nitrogenada, conforme observado na Figura 2.

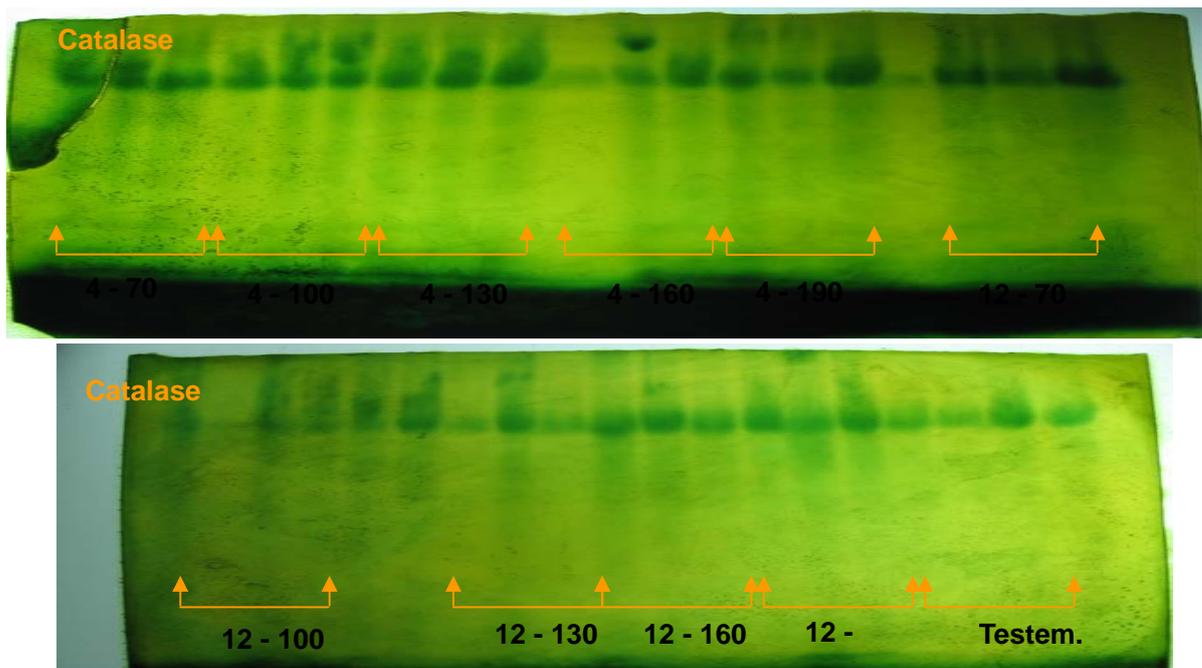


Figura 1- Perfil eletroforético da enzima catalase (CAT) em sementes de café produzidas sob diferentes doses e parcelamentos de fertirrigação.



Figura 2- Perfil eletroforético da enzima esterase (EST) em sementes de café produzidas sob diferentes doses e parcelamentos de fertirrigação.

Vários autores constataram alterações nos perfis eletroforéticos de isoenzimas, em resposta a diferentes tratamentos. Porém, segundo Imolesi (1999), estes perfis podem apresentar variáveis dependendo do tecido analisado, da ocorrência de microrganismo em associação com esses tecidos, da adubação e das condições ambientais.

Sotiropoulos et al. (2006), estudando o efeito da adubação na expressão de isoenzimas, observaram que com o aumento da concentração de boro, no meio de cultura, houve significativo incremento na atividade de enzimas nas folhas de maçã (peroxidase, catalase e da superóxido dismutase), demonstrando o efeito da adubação nos perfis enzimáticos.

Sá (1994) observou que, uma vez que diversos nutrientes atuam como ativadores enzimáticos ou como componentes das membranas, eles afetam o tamanho, peso e vigor das sementes, evidenciando a necessidade de se estudar os sistemas isoenzimáticos.

IMOLESI et al. (2001) em estudo visando identificar a influência de diferentes doses de nitrogênio, utilizadas em adubação de solo, na expressão de isoenzimas em milho, concluíram que os padrões eletroforéticos da isoenzima esterase não foram alterados em função da dose de nitrogênio utilizada. No entanto, os padrões da isoenzima catalase foram alterados em função da dose de nitrogênio utilizada.

Alguns autores também observaram a influência dos fatores abióticos sob a atividade enzimática, Nkang (1988) verificou que em sementes de milho submetidas ao envelhecimento acelerado, houve um declínio na atividade da enzima catalase, com o aumento do tempo de envelhecimento. Ainda nesse sentido, Drochioiu et al. (1993) pesquisando a atividade da enzima catalase em sementes de milho em várias condições de envelhecimento acelerado, verificaram que a atividade desta enzima decresceu à medida que a umidade relativa, temperatura e tempo de armazenamento aumentaram.

Neste trabalho, no entanto, a expressão das enzimas catalase e esterase não foram afetados pelos tratamentos de fertirrigação.

CONCLUSÕES

Os tratamentos de fertirrigação com diferentes parcelamentos e doses de adubação não afetam o perfil eletroforético para as isoenzimas catalase (CAT) e esterase (EST).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONOW, S. **Caracterização morfológica, isoenzimática e molecular de cultivares de arroz**. 2004. 125 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 455p.

COELHO, G.; SILVA, A. M. da. O efeito da época de irrigação e de parcelamento de adubação sobre a produtividade do cafeeiro em três safras consecutivas. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 400-408, mar./abr., 2005.

COELHO, G.; SILVA, A. M. da; REZENDE, C. F.; SILVA, A. R.; PAIVA CUSTÓDIO, A., A. Efeito de épocas de irrigação e de parcelamento de adubação sobre a produtividade do cafeeiro 'catuaí'. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 67-73, jan./fev., 2009.

DROCHIOIU, G.; CRISTEA, M. & STRAJERU, S. Catalase activity of maize seeds in the process of forced aging. **Cercetari Agronomice in Moldova**, Suceava, v.26, n.1, p.19-25, 1993.

IMOLESI, A.S. **Efeito da adubação nitrogenada na qualidade fisiológica, em características morfo-agronômicas e nos padrões eletroforéticos de proteínas e isoenzimas de sementes de milho**. 1999. 57 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

IMOLESI, Anderson Santos ; PINHO, Édila Vilela de Resende Von ; PINHO, Renzo Garcia Von ; VIEIRA, Maria das Graças G Carvalho ; CORRÊA, Rogério Sebastião Batista . Efeito da adubação nitrogenada em características morfo-agronômicas e nos padrões eletroforéticos de proteínas e isoenzimas de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, p. 17-25, 2001.

NKANG, A. Some aspects of the biochemical basis of viability of loss in stored *Ginkgo biloba* seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.16, n.2 p.247-260, 1988.

SALGADO, K.C.de C. **Certificação da pureza genética em sementes híbridas de milho por meio de marcadores morfológicos e moleculares**. 2001. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SOTIROPOULOS, T.E.; MOLASSIOTIS, A.; ALMALIOTIS, D.; MOUHTARIDOU, G.; DIMASSI, K.; THERIOS, I.; DIAMANTIDIS, G. Growth, nutritional status, chlorophyll content, and antioxidant responses of the apple rootstock mm 111 shoots cultured under high boron concentrations in vitro. **Journal of Plant Nutrition**, v.29, n.3, p.575-583, 2006.

VIEIRA, E.S.N. **Marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares na caracterização de cultivares de soja e café**. 2004. 137 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VIEIRA, E.S.N. **Similaridade genética entre cultivares de feijão do grupo carioca por meio de marcadores morfológicos e moleculares visando a certificação da pureza genética.** 2000. 84 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras.

ELETROFORESE DE PROTEÍNAS E ISOENZIMAS EM SEMENTES DE *Copaifera langsdorffii* Desf. (LEGUMINOSAE CAESALPINIOIDEAE) ENVELHECIDAS ARTIFICIALMENTE¹

Dulcinéia de Carvalho², Robério Anastácio Ferreira³, Luciana Magda de Oliveira⁴, Alessandro Fabiano de Oliveira⁵ e Rinã Celeste Rodrigues Gemaque⁵