

ANÁLISE DAS PROTEÍNAS DE RESERVA DO GRÃO DOS 550 ACESSOS DA COLEÇÃO NUCLEAR DE ARROZ DA EMBRAPA (CNAE)

SILVEIRA, Ricardo Diógenes Dias; **SANTOS**, Karina Freire d'Eça Nogueira; **CRUZEIRO**, Gustavo Alencastro Veiga; **BORBA**, Tereza Cristina Oliveira; **DIDONET**, Claudia Cristina Garcia Martim; **BRONDANI**, Claudio.

Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiânia-Goiás.

E-mail: ricardo_diogenes@yahoo.com.br

Palavras-chaves: Qualidade do grão; recursos genéticos, *Oryza sativa*, proteínas.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é um cereal rico em carboidratos e proteínas, apresentando aminoácidos essenciais para a dieta humana (DAMARDJATI, 1997). Porém existem poucos estudos relacionados à qualidade do grão de arroz com relação às proteínas totais de reserva, principalmente envolvendo acessos de coleções de germoplasma. Apesar de existirem relatos de variações de 7 a 12% no teor protéico deste cereal, verifica-se a necessidade de determinar a variabilidade disponível, e posteriormente, utilizar esta variabilidade para aumentar o teor protéico de cultivares comerciais de arroz. Como coleções de germoplasma são geralmente compostas por milhares de acessos, o ponto de partida para determinar a variação do teor de proteína de reserva total de arroz é a caracterização de coleções nucleares, pois estas consistem de um limitado conjunto de acessos que procura representar a diversidade genética de um banco de germoplasma com um mínimo de redundância (Van Hinthum, 1999).

Neste trabalho foram caracterizados os 550 acessos da coleção nuclear de arroz da Embrapa (CNAE), selecionados a partir de 10.000 acessos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão (Abadie et al., 2005). A CNAE está estratificada em três grupos de acessos: 308 variedades tradicionais (VT), oriundas de coletas de germoplasma no Brasil; 148 Linhagens e Cultivares Introduzidas (LCI), oriundas de programas de melhoramento do exterior; e 94 Linhagens e Cultivares do Brasil (LCB), desenvolvidas por programas brasileiros de melhoramento. Cada estrato, além da estratificação relacionada à origem, também possui sub-estratificações baseadas no tipo de sistema de cultivo dos acessos: irrigado e sequeiro. No estrato VT, além acessos irrigado e sequeiro, existem acessos "facultativos", os quais podem ser cultivados tanto em sequeiro quanto irrigado.

Portanto, com o intuito de explorar toda essa variabilidade e conhecer um pouco mais a respeito das concentrações protéicas de genótipos de arroz, este trabalho teve como objetivo quantificar as proteínas totais dos 550 acessos da CNAE, a fim de conhecer a influência do tipo de cultivo e da origem de cada acesso nos seus teores de proteínas.

MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL VEGETAL

Foram utilizadas 550 amostras de grão de arroz, pertencentes à Coleção Nuclear de Arroz da Embrapa (CNAE). Estas são separadas em variedades tradicionais do Brasil (VT), linhagens e cultivares melhoradas oriundas de programas de melhoramento brasileiro (LCB) e linhagens e cultivares melhoradas provenientes de programas de melhoramento de outros países (LCI).

PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras protéicas foram obtidas a partir dos grãos secos, descascados, moídos e desengordurados com acetona (P.A), assim obteve-se uma farinha seca e homogênea usada no preparo dos extratos. A partir desta farinha, foi possível realizar a extração de proteína total de cada genótipo separadamente. Para isto utilizou-se 10 mg da farinha, 250 μ L de NaOH 0,1M em tubo de microcentrífuga e essa mistura foi agitada por 1 hora. Após este período centrifugou-se por 8 minutos a 13.000 rpm, sendo coletado o sobrenadante em um único tubo. Este procedimento foi realizado por duas vezes, a fim de extrair a maior quantidade de proteína total. Foram realizadas quatro repetições independentes por amostra, a fim de diminuir o desvio-padrão da leitura de cada amostra. Ao final da extração armazenaram-se os tubos com os extratos à temperatura de -20°C .

DOSAGEM DE PROTEÍNAS

Utilizou-se o material extraído de cada genótipo para a análise das dosagens de proteínas pelo método de Bradford (1976). A partir das quatro repetições de cada genótipo, foram preparadas triplicatas das amostras para serem quantificadas por espectrofotometria. Para isto utilizou-se 10 μ L da proteína extraída e 90 μ L de água destilada, em tudo para microcentrífuga. Como padrão de comparação utilizou-se uma curva de calibração utilizando BSA (soro albumina bovina) nas concentrações de 2,5 a 40 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de densidade óptica obtidos pelo espectrofotômetro das triplicatas das repetições de cada amostra foram comparados e o valor mais diferente foi desprezado. Desta forma foram considerados apenas os dois valores mais semelhantes para obter-se a média de cada repetição.

A partir destas médias, foram processadas análises de variância dos dados em delineamento inteiramente casualizado com três repetições por amostra, utilizando o programa estatístico genes (Cruz, 2001). Em seguida, foi efetuada comparação entre médias pelo método de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A fim de uma melhor avaliação dos grupos de acessos da CNAE realizou-se a subdivisão destes de acordo com o sistema de cultivo e quanto à origem dos acessos. Para o sistema de cultivo foram construídos dois subgrupos: Irrigados e Sequeiros, englobando todos os materiais que possuem exclusivamente estas formas de cultivo. Enquanto que os materiais que apresentam sistema de cultivo facultativo, ou seja, podem ser cultivados tanto em sistema de sequeiro quanto de irrigado foram

eliminados destes subgrupos (somente algumas Variedades Tradicionais). Assim foi formado um subgrupo especial para estes, nomeado de Facultativos. O grupo de acessos formado quanto à origem foi subdividido de acordo com cada estrato, analisando além da influência da localidade de proveniência do material a influência do tipo de cultivo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância apresentaram diferença altamente significativa ($P < 0,01$) entre os genótipos. A quantificação das proteínas totais apresentou uma variação de 4,44% a 20,24%, com a média de 10,32% (Tabela 1). O maior teor protéico foi observado no acesso Wc 0144 (Figuras 1 e 2), oriundo de um programa de melhoramento da Colômbia, com tipo de sistema de cultivo irrigado. Em contraposição, o menor valor foi observado no acesso Piojota, uma variedade tradicional do Brasil cultivada no sistema de cultivo sequeiro.

Não houve diferença significativa na comparação da média dos estratos, nem na média dos grupos de acordo com sistema de cultivo. Deste modo, não existe um padrão de teor protéico de acordo com a procedência do material (variedade tradicional brasileira, melhorado no Brasil ou melhorado no exterior), ou de acordo com o sistema de cultivo (sequeiro, irrigado ou facultativo). Contudo, foram identificados acessos da CNAE significativamente superiores em relação ao teor protéico, cujos valores são maiores que o valor máximo descrito para as cultivares comerciais de arroz (12%).

Este resultado é de extremo interesse para o programa de melhoramento genético do arroz, que estará desenvolvendo a partir de agora, linhagens elite e cultivares com maior teor protéico. Os acessos com maior teor protéico estão sendo caracterizados por gel SDS-PAGE, para realizar também a análise qualitativa da proteína de reserva do arroz.

Tabela.1 Médias das proteínas totais dos subgrupos dos acessos da CNAE

GRUPOS	MÉDIAS %	INTERVALO DE MÉDIAS%	DESVIO PADRÃO	CV%	QM _R
Irrigados	10,52	5,962 - 20,248	2,12	3,03	0,12
LCB Irrigado	10,58	5,962 - 15,921	1,36	3,16	0,11
LCBs	10,36	4,807 - 15,921	1,36	2,93	0,09
LCB Sequeiro	10,13	4,807 - 13,715	1,38	2,75	0,08
LCI Irrigado	10,54	5,962 - 20,248	1,62	3,28	0,12
LCIs	10,23	4,841 - 20,248	1,53	5,8	0,35
LCI Sequeiro	9,93	4,841 - 14,446	1,99	4,03	0,16
Sequeiros	10,13	4,442 - 15,442	1,4	3,5	0,13
Facultativos	10,41	5,962 - 15,871	1,33	4,04	0,18
VTs	10,29	4,442 - 15,871	1,86	4,7	0,23
VT Irrigado	10,33	5,962 - 13,674	1,3	3,36	0,12
VT Irrigado e Facultativo	10,38	5,962 - 15,871	1,31	6,42	0,44
VT Sequeiro	10,18	4,442 - 15,442	1,42	4,63	0,22
VT Sequeiro e Facultativo	10,27	4,442 - 15,871	1,39	4,58	0,18
VT Sequeiro e Irrigado	10,26	4,442 - 15,442	1,38	3,42	0,12
Agrupamento Total	10,31	4,442 - 20,247	0,21	01/03/53	132

*: Significância pelo teste F, $p > 0,05$ e $p > 0,01$, respectivamente



Figura. 1: Arquitetura de planta do acesso Wc0144.

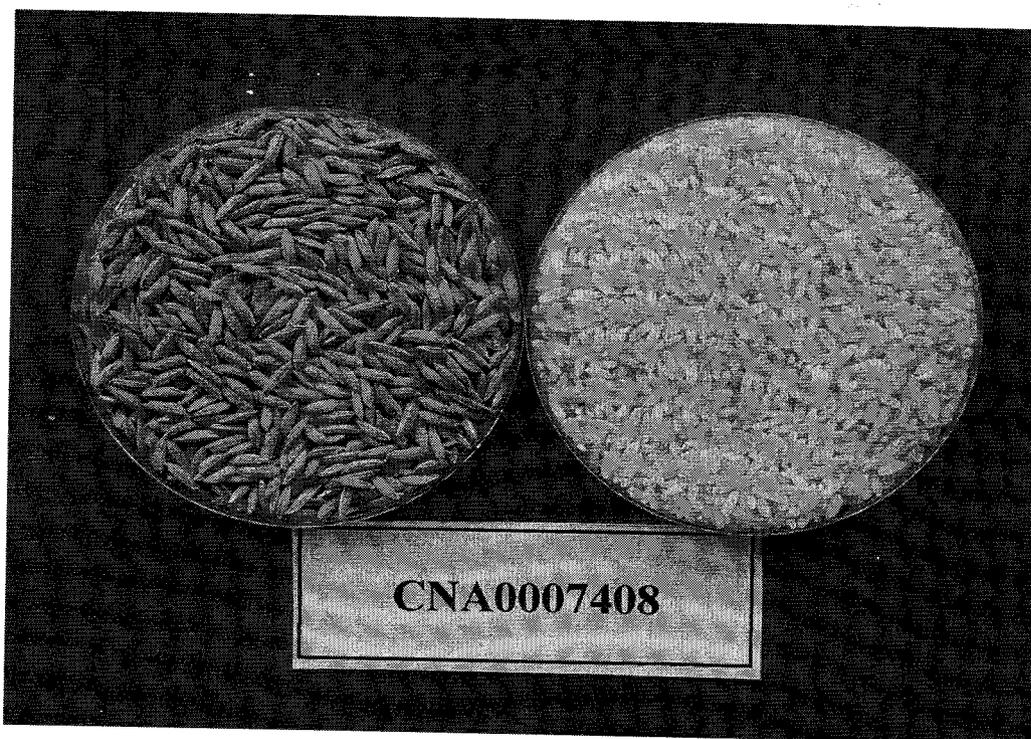


Figura. 2: Aparência do grão com casca e polido do acesso Wc0144.

CONCLUSÃO

Este trabalho comprovou a existência de variabilidade para o teor de proteína de reserva total do grão de arroz. Os acessos identificados como superiores para esta característica já estão sendo utilizados pelo programa de melhoramento da Embrapa Arroz e Feijão para o desenvolvimento de cultivares comerciais de alto valor nutricional, contribuindo com isto para o aumento da segurança alimentar brasileira, a qual é fortemente baseada no consumo de grão de arroz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, T; CORDEIRO, CMT; FONSECA, JR; ALVES, RBN; BURLE, ML; BRONDANI, C; RANGEL, PHN; CASTRO, EM; SILVA, HT; FREIRE, MS; ZIMMERMANN, FJP; MAGALHÃES, JR. Construção de uma coleção nuclear de arroz para o Brasil. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.40, n.2, p.129-136, fev. 2005.

BRADFORD, MM. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248 – 254, 1976.

CRUZ CD. Programa Genes versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: **UFV**, 2001. 648 p.73. 2005.

DAMARDJATI, DS. Grain properties and its relationship to standard and Grading: special case on rice grain quality. **Biotrop** v. 59, p. 61-79, 1997.

VAN HINTHUM, T. The general methodology for creating a core collection. In: JOHNSON, RC.; HODGKIN, T. (Ed.). **Core Collections for today and tomorrow**. Rome: IPGRI, 1999. p.10-17.

Apoio Financeiro: Finep/MCT.