

ALTERAÇÕES MORFO-FISIOLÓGICAS NO GRÃO DE PÓLEN E ATIVIDADE DA ALCOOL DESIDROGENASE EM MILHO SOB DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ENCHARCAMENTO

ISABEL R. P. DE SOUZA, PAULO C. MAGALHÃES, LAUDIENE E. MEYER, NADJA DE MOURA PIRES, CAMILO DE L. T. DE ANDRADE.

e-mail: isabel@cnpms.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Encharcamento é considerado um dos maiores estresses ambientais que podem reduzir drasticamente o crescimento e a produtividade do milho. Este pode causar, dentre vários outros fatores, deficiência mineral, decréscimo na disponibilidade do nitrogênio no solo e/ou sua absorção, aumento dos compostos tóxicos no solo e aumento dos patógenos causadores de doenças (Jackson e Drew, 1984). Limitação de oxigênio é o estresse primário e o fator mais limitante às plantas sob encharcamento, o qual altera drasticamente a expressão gênica em milho (Sachs et al., 1996). Mudanças na anatomia e morfologia da planta de milho em resposta a anaerobiose tem sido bem detalhada através da formação de aerênquima (Grineva e Bragina, 1993), entretanto, alterações em relação a fertilidade masculina não tem sido objeto de estudo. O principal objetivo deste trabalho foi verificar a existência de mudanças estruturais a nível de grão pólen e na atividade da álcool desidrogenase.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Foram utilizadas duas variedades de milho BR 107 e Saracura, a qual foi selecionada para áreas sujeitas a encharcamento temporário.

Delineamento experimental

O ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação em vasos, 3 plantas/vaso, preenchido com solo de várzea, sendo cada vaso considerado uma parcela. O solo foi adubado de acordo com a análise química.

Utilizou-se o delineamento experimental fatorial inteiramente casualizado com três repetições e os tratamentos consistiram de 3 épocas de encharcamento iniciando-se nos estádios de crescimento V6, V10 e V14 e de 3 diferentes frequências de encharcamento: direto, 3 em 3 dias e 5 em 5 dias.

Alcool desidrogenase

A mistura de reação enzimática foi realizada de acordo com o descrito por Russell et al. (1990), 0,300 ml de Tris-Cl 1 M (pH 8,0), 0,040 ml de NAD⁺ 10mg/ml, 20 ul de amostra e água para completar o volume final de 1,96 ml. Após a adição de 0,040 ml de 50% etanol a mistura de reação foi invertida uma vez e a leitura realizada a A₃₄₀ nm.

Fixação do pendão

Foram coletadas hastes da parte mediana do pendão e imersas em fixador de Farmer, 3:1 (etanol : ácido acético), pelo período de duas horas a temperatura ambiente, após esta etapa foram preservadas em álcool 70% e armazenadas em geladeira.

Contagem do número de pólenes

Retirou-se antera das hastes fixadas, partindo-a ao meio sobre lâmina de microscópio e

pressionando-a para liberação dos grãos de pólen. Os pólenes foram corados com solução de carmim propiônico para visualização dos núcleos. Em uma mesma lâmina foram contados os grãos de pólen em três campos diferentes, em área delimitada, utilizando-se um microscópio axioplan-Zeiss. Plantas que produziram pólenes inviáveis ou com ausência de pendão receberam valor zero na contagem do número de pólenes.

Tamanho do pólen

Mediu-se o maior comprimento do pólen como parâmetro de tamanho. Foram medidos 10 grãos de pólen/campo em cada lâmina utilizada para a contagem do número de pólen.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Produção de grãos de pólen degenerados, anteras estéreis e plantas sem pendão, foram observados em sua maioria nos tratamentos com encharcamento direto, Figura 1. Verifica-se na Tabela 1 que o encharcamento direto, independente do estágio de desenvolvimento, causou efeito deletério sobre a produção de pólen. Plantas no estágio de desenvolvimento V6 submetidas a encharcamento direto ou em intervalo de 3 em 3 dias, foram igualmente afetadas na produção, e tamanho de pólen, sugerindo que quanto mais cedo as plantas forem submetidas a este tipo de estresse, maior será o efeito sobre a fertilidade da planta, causando esterilidade masculina. A significância da interação (estádio de desenvolvimento x cultivar) demonstrou que para as características produção de pólen e tamanho de pólen, a cultivar BR 107, embora não diferisse da cultivar Saracura, foi mais afetada no estágio V6 (dados não mostrados). Não houve influência dos tratamentos sobre a atividade da álcool desidrogenase nas raízes, possivelmente esta característica deva ser avaliada na fase inicial de imposição das diferentes frequências de encharcamento e não no florescimento. Aumento na atividade desta enzima tem sido observada em raízes de plântulas de milho submetida a encharcamento (Kato et al., 1999). Para a característica tamanho de pólen, houve significância da interação (frequência de encharcamento x cultivar), sendo que na cultivar Saracura o efeito do encharcamento direto ou de 3 em 3 dias produziu igualmente, pólenes de tamanhos reduzidos. O menor tamanho de pólen foi verificado na cultivar BR 107 sob encharcamento direto (dados não mostrados). Ainda para a característica tamanho de pólen, a significância da interação (estádio de desenvolvimento x frequência de encharcamento) demonstrou que a cultivar BR 107 apresentou tendência de menores valores nos estádios mais novos, V6 e V10, sob frequência de encharcamento direto ou de 3 em 3 dias (dados não mostrados). Resposta abortiva foi verificada na formação de espiga em plantas de milho submetidas a encharcamento (Lejeune e Bernier, 1996). Verificou-se neste estudo que plantas submetidas a frequência de encharcamento direto ou em intervalos curtos, tiveram a fertilidade masculina afetada diretamente através de redução na produção e tamanho de grãos de pólen. Encharcamento direto, causou de maneira geral, esterilidade masculina com a produção de pólenes degenerados e anteras estéreis.

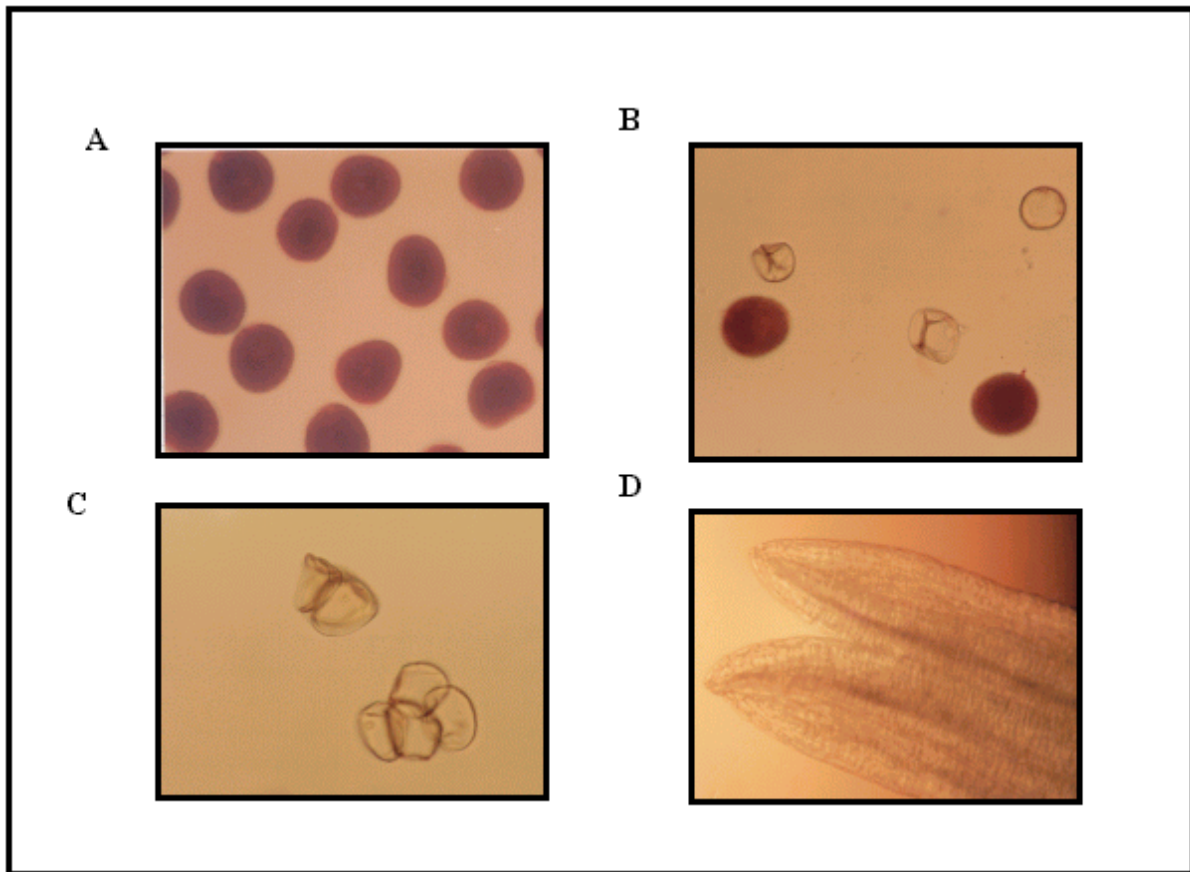


Figura 1. Grãos de pólen normais (A), Percentagem semelhante de grãos de pólen normais e degenerados (B), grãos de pólen degenerados (C) e anteras estéreis (D) representando algumas das alterações morfo-fisiológicas observadas sob encharcamento.

TABELA 01 – Médias de produção de grãos de pólen (número de pólen/mm²), tamanho do pólen (μ m) e atividade da álcool desidrogenase ($A_{340} \text{ min}^{-1}\text{mg PF}^{-1}$) nas variedades BR 107 e Saracura submetidas a diferentes frequências de encharcamento.

*Tratamento	Nº de Pólen/mm ²	Tratamento	Tamanho do Pólen (µm)	Tratamento	Atividade da álcool desidrogenase (A ₃₄₀ min ⁻¹ mg PF ⁻¹)
BR 107 – normal	28,43 a	BR 107 – 3/3- V14	90,35 a	Saracura – 5/5 – V10	0,0447 a
BR-107 – 3/3 – V10	24,70 a b	Saracura – 5/5 – V6	79,29 a	BR 107 – Direto – V14	0,0277 a
Saracura – 3/3 – V10	23,47 a b	BR 107 – 5/5 – V14	78,64 a	BR 107 – Direto – V6	0,0262 a
BR 107 – 3/3 – V14	23,30 a b	Saracura – Normal	74,28 a	Saracura – Direto – V10	0,0238 a
Saracura – Normal	22,70 a b	Saracura – 5/5 – V14	71,21 a b	BR 107 – 5/5 – V6	0,0236 a
BR 107 – 5/5 – V14	20,73 a b c	BR 107 – 5/5 – V10	21,12 a b	Saracura – 3/3 – V6	0,0226 a
BR 107 – 5/5 – V10	18,38 a b c d	Saracura – 5/5 – V10	71,10 a b	Saracura – 3/3 – V14	0,0201 a
Saracura – 5/5 – V10	17,99 a b c d	BR 107 - Normal	68,80 a b	Saracura – 3/3 – V10	0,0178 a
Saracura – 5/5 – V14	17,54 a b c d	BR 107 – 3/3 – V10	68,00 a b	BR 107 – 5/5 – V10	0,0164 a
Saracura – 5/5 – V6	15,31 a b c d	Saracura – Direto – V14	65,45 a b	BR 107 – 3/3 – V10	0,0162 a
Saracura – 3/3 – V14	13,86 a b c d	Saracura – 3/3 – V10	65,32 a b	BR 107 – 3/3 – V14	0,0160 a
Saracura – 3/3 – V6	12,62 a b c d e	BR 107 – Direto – V14	51,76 a b c	BR 107 – 3/3 – V6	0,0159 a
Saracura – Direto – V14	9,62 a b c d e	Saracura – 3/3 – V14	35,15 b c d	BR 107 – Normal	0,0154 a
BR107 – Direto – V14	7,76 b c d e	Saracura – Direto – V6	27,15 c d	Saracura – 5/5 – V6	0,0146 a
Saracura – Direto – V6	6,76 c d e	BR 107 – 5/5 – V6	24,95 c d	Saracura – Direto – V14	0,0145 a
BR 107 – 5/5 – V6	4,42 d e	Saracura – 3/3 – V6	0,03 d	Saracura – Normal	0,0135 a
BR 107 – Direto – V6	0,00 e	BR 107 – Direto – V6	0,0 d	BR 107 – Direto – V10	0,0119 a
BR107 – 3/3 – V6	0,00 e	BR 107 – 3/3 – V6	0,0 d	Saracura – Direto – V6	0,0104 a
BR 107 – Direto - V10	0,00 e	BR 107 – Direto – V10	0,0 d	BR 107 – 5/5 – V14	0,0092 a
Saracura – Direto – V10	0,00 e	Saracura – Direto - V 14	0,0 d	Saracura – 5/5 – V14	0,0085 a

*Tratamento: Variedade – frequência do encharcamento – estágio de desenvolvimento.
Valores seguidos pela mesma letra não diferem pelo teste de Duncan a 5%.

REFERÊNCIAS CITADAS

- GRINEVA, G. M.; BRAGINA, T. V. Formation of Adaptations to Flooding in Corn: Structural and Functional Parameters. **Soviet Plant Physiology**, Washington, v.40 p. 583-587, 1993
- JACKSON, M. B.; DREW, M. C. Effect of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. *In*: KOZLOWSKI, T.T. **ed. Flooding and Plant growth**. London: Academic Press, 1984. p.47-128
- KATO, N.H.; KORI, T.; SAITO, H. Effects of flooding and anoxia on activities of alcohol dehydrogenase in maize seedlings. **Environment Control in Biology**,. v.37, p.211-217, 1999
- LEJEUNE, P. ; BERNIER, G. Effect of environment on the early steps of ear initiation in maize (*Zea mays* L.). **Plant Cell Environment**, Oxford v.19 p.217-224, 1996
- RUSSELL, A D.; WONG D. M.-L.; SACHS, M.M. The anaerobic response of soybean.

Plant Physiology, Bethesda, v.92, p.401-407, 1990