

Insulina e glicose como moduladores do desenvolvimento de plântulas de milho doce (*Su1*)

Luiz Fernando Ganassali Oliveira Júnior^{1,5}, Ricardo Bressan-Smith², Antônia Elenir Amâncio de Oliveira³, Messias Gonzaga Pereira², Luciana Belarmindo Silva³, Leandro Hespanhol Viana² e Henrique Duarte Vieira⁴

Recebido em 3/11/2007. Aceito em 10/11/2008

RESUMO – (Insulina e glicose como moduladores do desenvolvimento de plântulas de milho doce (*Su1*)). Durante a germinação e o desenvolvimento pós-germinativo de milho, o fluxo metabólico é intenso, ocorrendo síntese e degradação de açúcares (glicose, frutose e sacarose) e hidrólise de amido, além da redução da concentração do ácido abscísico (ABA). Acredita-se que altas concentrações de glicose exógena, promovam acúmulo de ABA, proporcionando atraso na germinação e desenvolvimento de plântulas. Concentrações menores, por outro lado, podem ocasionar estímulo na germinação e desenvolvimento. Neste trabalho, foi observado que a glicose (800 μ M) estimulou a germinação e o desenvolvimento inicial de genótipo de milho comum e retardou, severa ou brandamente, genótipos de milho doce (*su1*), provavelmente devido às diferentes concentrações endógenas de glicose de cada genótipo. Foi visto, também, que a concentração de 1,2 μ M de insulina foi capaz de estimular o maior desenvolvimento de genótipos de milho comum (UENF 506-8) e doce H43IN e nula para o genótipo doce HDC. Quando adicionada insulina e glicose ao meio, foi obtido efeito aditivo para o desenvolvimento. Esses resultados sugerem que a insulina e glicose apresentam forte influência na germinação e no desenvolvimento de sementes de milho.

Palavras-chave: desenvolvimento de plântulas, germinação de sementes, glicose, insulina, (*Zea mays* L.) milho doce (*Su1*)

ABSTRACT – (Insulin and glucose as modulators of the development of sweet corn seedling (*Su1*)). During germination and development of corn seeds the metabolic flow is intense, the synthesis and degradation of sugars (glucose, fructose and sucrose) and hydrolysis of starch, besides to the decrease in abscisic acid (ABA) concentration are some of the major events. High concentrations of exogenous glucose are believed to promote accumulation of ABA, causing delay in the germination and development of seedlings, while lower concentrations stimulated the germination and development. In our studies it was verified that 800 μ M glucose stimulated the germination and initial development of the common corn genotype and delayed severely or softly for sweet corn (*su1*) genotypes, probably due to different glucose endogenous concentrations of each genotype. It was also verified that 1.2 μ M insulin was capable to stimulate the development for the common corn and sweet H43IN genotypes and did not affect HDC sweet genotype development. These events may have happened due to metabolic differences in the mutants. When insulin and glucose were added to the medium, additive effects on the development were observed. These results suggest that both insulin and glucose have strong influence on germination and development of corn seeds.

Key words: glucose, insulin, seed germination, seedling development, (*Zea mays* L.) sweet corn (*Su1*)

Introdução

A germinação de sementes pode ser dividida em três fases: a embebição; o aumento da atividade metabólica (divisão celular) e o crescimento (Bewley 1997). A embebição é um fenômeno físico no qual a absorção de água é impulsionada pelo potencial mátrico extremamente negativo da semente seca (Bewley & Black 1985). Após a embebição, o desenvolvimento do embrião inicia-se pela expansão seguida de divisão, diferenciação celular e atividade de biossíntese e armazenamento de lipídeos e proteínas (Borisjuk *et al.* 1995), culminando com emergência radicular e crescimento da plântula. Durante a germinação, a ativação das rotas metabólicas e o crescimento inicial do embrião são fortemente regulados pelo ambiente e por sinais hormonais. Como exemplo, sabe-se que a luz estimula a germinação de sementes em diversas espécies e seus efeitos modulam o equilíbrio entre o incremento da biossíntese de giberelinas e decréscimo dos níveis do ácido abscísico (ABA) (Koorneef & Karssen 1994; Toyomasu *et al.* 1994; Yang *et al.* 1995). Em contraste, a germinação é fortemente inibida pelo ABA, alta concentração de glicose ou disponibilidade limitada de água (Bewley & Black 1985).

A relação entre açúcares e ABA na regulação da germinação de sementes ainda não está totalmente elucidada. É presumível que altos níveis de glicose exógena promovam o acúmulo de ABA, o qual resultaria no atraso da germinação e do desenvolvimento da plântula. Arenas-Huertero *et al.* (2000) mostraram que a concentração de ABA em sementes de *Arabidopsis* sp. duplicou, depois de terem sido tratadas com altas concentrações de glicose (333 mM). Em contraste, a concentração endógena de ABA em sementes de *Arabidopsis* sp. não foi alterada depois de terem sido tratadas com baixos níveis de glicose (27,7 mM) (Garcarrubio *et al.* 1997). Foi verificado também que, aplicando-se 167 mM de glicose nas sementes, elas apresentaram redução da concentração do ABA e, conseqüentemente, maior germinação. Resultados semelhantes foram observados por Finkelstein & Lynch (2000) após tratamento com diferentes concentrações de glicose ou frutose. Assim, foi observado que, para *Arabidopsis* sp., diferentes concentrações exógenas de glicose apresentaram efeitos distintos sobre o ABA e, conseqüentemente, sobre a germinação de sementes.

Sabe-se que as funções estruturais e metabólicas na célula requerem quantidades adequadas de carbono. Diante

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, Setor de Botânica, Vitória, ES, Brasil

² Universidade Federal do Norte Fluminense, Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

³ Universidade Federal do Norte Fluminense, Laboratório de Química e Função de Proteína e Peptídeo, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁴ Universidade Federal do Norte Fluminense, Laboratório de Fitotecnia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁵ Autor para correspondência: lfg@pesquisador.cnpq.br

disso, as plantas desenvolveram habilidade de perceber diferentes níveis internos de açúcar e de manter homeostase metabólica e iônica adequadas em cada fase do seu desenvolvimento (Price *et al.* 2003). Estes eventos estão fortemente sujeitos à regulação porque a biossíntese, o consumo e o seu armazenamento de açúcar podem ocorrer no mesmo órgão. As plantas modulam o controle da biossíntese de açúcar no tecido fonte e do consumo no tecido dreno. Porém, a complexa via regulatória é controlada por enzimas e diferentes intermediários que ocasionam mudanças de atividade celular dependente de açúcar (Smekens 2000; Coruzzi & Bush 2001; Coruzzi & Zhou 2001). Muitas vezes, alguns processos podem ser medidos por níveis absolutos de um açúcar particular como a glicose (Borisjuk *et al.* 1998) ou a sacarose (Borisjuk *et al.* 2002), ao passo que outros podem ser modulados pelo fluxo de açúcares em eventos metabólicos da célula (Krapp *et al.* 1993).

Recentemente, proteínas com seqüência homóloga à insulina foram caracterizadas em sementes de *Canavalia ensiformis* (Oliveira *et al.* 1999) e de *Vigna unguiculata* (Venancio *et al.* 2003) e em folhas de *Bauhinia variegata* (Silva *et al.* 2002; Xavier Filho *et al.* 2003). A proteína relacionada imunologicamente à insulina também foi detectada em briófitas e em angiospermas, e até mesmo em cianobactérias (Silva *et al.* 2002; Xavier Filho *et al.* 2003). As evidências disponíveis apontam para o efeito estimulador da insulina sobre a germinação ou o crescimento, ou ambos, quando são fornecidas doses exógenas desse hormônio à semente. Não há informações precisas sobre o papel desta proteína no metabolismo de açúcares em plantas, como ocorre em animais. Embora não tenha sido feita análise detalhada em termos de transporte de açúcares e de atividade enzimática, no presente trabalho foi procurado demonstrar alguns efeitos da aplicação exógena de insulina e glicose no crescimento e no consumo de açúcares e amido do endosperma. Foi utilizado o mutante (*Su1*) de milho (*Zea mays* L.), que contrasta com o milho comum por apresentar deficiência enzimática que promove maior acúmulo de açúcares na semente, na expectativa de a insulina modular diferentemente os processos de biossíntese e degradação destes componentes.

Material e métodos

Foram utilizados dois genótipos de milho doce (H43IN e HDC) e um genótipo de milho comum (UENF506-8) (*Zea mays* L.).

As sementes de milho foram sanitizadas em solução de hipoclorito de sódio 5% (v/v) por 6 horas. Em seguida, 75 sementes por tratamento, divididas em três repetições (25 sementes por repetição), foram embebidas entre duas folhas de papel (3 MM, Whatman, Clifton, NJ) com água ultra pura (controle), água mais insulina (concentração final 1,2 μ M), água mais glicose (concentração final 800 μ M) e glicose mais insulina (concentrações finais 1,2 μ M e 800 μ M, respectivamente) e acondicionadas em estufa de crescimento, no escuro, por 100 horas, a 26-28 °C, e umidade relativa de 85%. Cem horas após a germinação, foram retiradas 15 plântulas para as análises.

As concentrações de insulina e glicose utilizadas foram estabelecidas a partir de ensaios realizados previamente com o genótipo UENF506-8,

quando uma curva de germinação e crescimento foi construída, utilizando-se concentrações conhecidas de glicose (200 μ M, 400 μ M, 600 μ M, 800 μ M, 1 mM) e de insulina (1,0 μ M, 1,2 μ M, 1,4 μ M e 1,6 μ M). As concentrações de 800 μ M de glicose e 1,2 μ M de insulina foram as que apresentaram melhores resultados.

Após 100 horas de germinação, a parte aérea e a parte radicular da plântula foram dissecadas manualmente, sendo a massa de matéria fresca e os comprimentos da raiz e da parte aérea determinados. Em seguida, os órgãos aéreos e radiculares foram pesados, congelados em N₂ e acondicionados em freezer a -80 °C para determinações posteriores. A extração de açúcares solúveis e de amido foi feita a partir de tecidos congelados. Inicialmente, os mesmos foram macerados em N₂ até a consistência de pó fino, sendo pesado 0,4 g e adicionados 800 μ l de etanol 80%. O macerado foi homogeneizado em vortex por inversão de tubos e aquecidos em banho a 70 °C, por 90 minutos. Decorrido esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 13.600 \times g por 15 minutos, sendo o sobrenadante, no qual se encontravam os açúcares solúveis, armazenado. Na etapa seguinte, foi feita a extração do amido, tendo sido o pellet ressuspenso em etanol 80%, duas vezes, e o sobrenadante descartado para evitar qualquer interferência de resíduos de açúcares. Após a última lavagem, o pellet foi ressuspenso com 1000 μ l de KOH 0,2 N, homogeneizado em vortex e incubado a 95 °C, por 60 minutos. Em seguida, foram adicionados 140 μ l de ácido acético 1 N de forma a neutralizar o extrato. Por fim, o extrato foi centrifugado a 13.600 \times g, por 15 minutos, e o sobrenadante contendo o amido armazenado (Stitt *et al.* 1989).

As determinações de glicose, frutose e sacarose foram realizadas por análise enzimática (Stitt *et al.* 1989). Nos poços de uma placa de cultura de células foram adicionados amostra, água e tampão (imidazol 100 mM, pH 7,4, MgCl₂ 5 mM, NAD 2 mM, ATP 1 mM), além de 2U de glicose-6-fosfato desidrogenase (G₆PDH) e 1,5 U de hexoquinase para mensuração da glicose. Após o término da reação, foram adicionadas ao meio 3U de fosfoglicose isomerase para determinação de frutose. A sacarose foi determinada por adição de 5U de β -frutosidase, após a determinação de frutose.

Para determinação do amido foi seguido o mesmo protocolo de Stitt *et al.* (1989). A uma alíquota do extrato foram adicionados 35 μ l de tampão citrato, pH 4,6, e 2U de amiloglicosidase, seguida de incubação a 60 °C, por 45 minutos. Logo após, a amostra foi centrifugada a 13.600 \times g, 2 minutos, e retirada uma alíquota de 5 μ l de glicose resultante dessa reação para determinação de glicose, conforme descrito anteriormente.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram provenientes de cinco repetições e submetidos às análises de variância e teste de média.

Resultados e discussão

Após 100 horas de germinação, 100% das sementes em todos os tratamentos apresentaram tanto crescimento radicular quanto da parte aérea e o endosperma tornou-se reduzido em função da translocação de carbono.

Maior desenvolvimento radicular foi verificado para o mutante H43IN germinado em H₂O após 100 horas, quando comparado ao genótipo comum (Tab. 1). Uma tendência para comportamento similar foi verificada para o mutante HDC. Provavelmente, este fato esteja relacionado aos maiores teores de glicose endógeno apresentados por esses genótipos de milho doce. Em *Arabidopsis* sp., foi relatado que a glicose exerce forte influência durante a germinação e desenvolvimento de sementes (Gibson *et al.* 1996; Garcarrubio *et al.* 1997; Arenas-Huertero *et al.* 2000), reduzindo o efeito do ABA e, conseqüentemente, acelerando a germinação e o desenvolvimento inicial (Price *et al.* 2003). Para que ocorra o desenvolvimento do embrião, a

Tabela 1. Comprimento radicular e da parte aérea dos genótipos de milho comum e doce após 100 horas de germinação no escuro (n = 15).

Tratamento	Comprimento radicular (cm)			Comprimento parte aérea (cm)		
	UENF506-8	H43IN	HDC	UENF506-8	H43IN	HDC
H ₂ O	10,83cB	12,72bA	11,63aAB	3,73bA	4,00aA	2,60aA
Insulina (1,2 μ M)	14,83bA	15,73aA	11,83aB	4,00abA	4,47aA	2,17aB
Glicose (800 μ M)	14,33bA	6,20cC	11,17aB	5,33aA	1,50bB	2,57aB
Insulina + Glicose	17,17aA	16,33aA	12,37aB	4,77abA	4,60aA	2,30aB

Os valores representam médias obtidas. As médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

concentração de ABA deve ser reduzida e o ácido giberélico secretado, ativando a expressão da α -amilase na camada de aleurona, promovendo a hidrólise do amido em glicose no endosperma. A glicose liberada pode ser fosforilada pela hexoquinase e convertida para sacarose no escutelo, que será translocada para o embrião (Buchanan *et al.* 2000). Numa segunda etapa, esses mesmos açúcares, principalmente a glicose, estariam sendo prontamente utilizados como fonte de carbono. Dessa forma, pressupõe-se que, pelo fato dos genótipos de milho doce possuírem maiores teores endógenos de glicose, tenha ocorrido maior germinação e desenvolvimento inicial de plântulas quando submetidos à solução de H₂O.

O genótipo UENF506-8 apresentou taxas maiores de desenvolvimento radicular nos tratamentos com insulina (36,9%), glicose (32,1%) e insulina + glicose (58,5%), quando comparadas àquela do tratamento com H₂O (Tab. 1), merecendo destaque o tratamento insulina + glicose. Presume-se que o bom desempenho em meio enriquecido com glicose e/ou insulina tenha ocorrido por se tratarem de substâncias que possam favorecer a translocação de solutos, como glicose e outros açúcares e, também, influenciar na regulação de enzimas, como a invertase, estando estes envolvidos diretamente com o metabolismo e transporte de açúcares ou afetando a relação fonte-dreno (Koch 1996; Jang & Shenn 1997; Smeekens & Rook 1997) e ao efeito antagonístico do ABA. Os teores de glicose resultantes no endosperma após o desenvolvimento da plântula também foram superiores ao controle, comprovando a maior eficiência da insulina e/ou glicose adicionada ao meio durante a germinação (Tab. 3). Ou seja, para tal desenvolvimento a plântula requisitou menor quantidade de açúcares.

Quanto aos outros genótipos (H43IN e HDC), quando comparados ao UENF506-8 nos três tratamentos (insulina, glicose e insulina + glicose), de maneira geral, não foi observado o mesmo desenvolvimento (Tab. 1 e 2).

Provavelmente, o desenvolvimento inferior observado para estes genótipos tenha sido em função das concentrações de glicose e insulina utilizadas, já que foram ajustadas para o desenvolvimento ótimo do UENF506-8 (milho comum). Acredita-se que, pelo fato dos genótipos mutantes apresentarem altas concentrações de açúcares, o ideal seria fornecer concentrações menores para se ter desenvolvimento mais elevado. Tanto é provável que essa tenha sido uma das razões que, em presença de glicose, o genótipo H43IN apresentou menor crescimento e acúmulo de massa fresca (Tab. 1 e 2). Nesse genótipo, no tratamento com glicose, foi verificada uma inibição do crescimento radicular de 51,6%. Foram observadas, também, maiores taxas de crescimento radicular nos tratamentos com insulina (31%) e insulina + glicose (36%), quando comparadas ao tratamento com H₂O. Já o genótipo HDC teve um comportamento indiferente diante de quase todos os tratamentos submetidos para todas as medidas (Tab. 1 e 2). Provavelmente, dada a sua concentração endógena de glicose e fatores genéticos ligados ao melhoramento deste híbrido.

O genótipo UENF506-8 (Tab.2) apresentou incremento da massa radicular nos tratamentos com insulina (50%) e insulina + glicose (58,3%). Quanto à massa da parte aérea, houve incremento de 78,5% no tratamento com glicose, quando comparado ao tratamento com H₂O. Quanto ao genótipo H43IN, comportamentos idênticos para massa radicular e da parte aérea foram observados (Tab. 2) quando relacionados ao tratamento com glicose. Para os tratamentos insulina e insulina + glicose valores superiores foram verificados em função do estímulo exercido pela insulina.

Após 100 horas de germinação, os teores de glicose (Tab. 3) frutose (Tab. 4) e sacarose (Tab. 5) do UENF506-8 foram substancialmente inferiores àqueles dos demais genótipos, exceto para sacarose no tratamento com glicose, cujo valor não diferiu significativamente daquele detectado para HDC. Já o genótipo H43IN, quando submetido ao

Tabela 2. Massa radicular e da parte aérea dos genótipos de milho comum e doce após 100 horas de germinação no escuro (n = 15).

Tratamento	Massa radicular (g)			Massa da parte aérea (g)		
	UENF506-8	H43IN	HDC	UENF506-8	H43IN	HDC
H ₂ O	0,12bA	0,14bA	0,13aA	0,14bA	0,13bA	0,07aB
Insulina (1,2 μ M)	0,18aAB	0,21aA	0,16aB	0,16abA	0,18aA	0,07aB
Glicose (800 μ M)	0,13bA	0,08cB	0,12aAB	0,25aA	0,04cB	0,05aB
Insulina + Glicose	0,19aAB	0,20aA	0,15aB	0,20abA	0,19aA	0,08aB

Os valores representam médias obtidas. As médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Teor de glicose em genótipos de milho comum e doce após 100 horas de germinação no escuro (n = 5).

Tratamento	Glicose ($\mu\text{Mol gMF}^{-1}$)		
	UENF506-8	H43IN	HDC
H ₂ O	187,3cB	402,3dA	392,9aA
Insulina (1,2 μM)	248,9bB	438,7cA	413,9aA
Glicose (800 μM)	235,5bC	513,7aA	429,4aB
Insulina + Glicose	337,5aC	468,8bA	417,9aB

Os valores representam médias obtidas. As médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tabela 4. Teor de frutose em genótipos de milho comum e doce após 100 horas de germinação no escuro (n = 5).

Tratamento	Frutose ($\mu\text{Mol gMF}^{-1}$)		
	UENF506-8	H43IN	HDC
H ₂ O	180,6bB	378,3cA	332,1aA
Insulina (1,2 μM)	242,3aC	453,3bcA	345,4aB
Glicose (800 μM)	187,3abC	526,4aA	267,5bB
Insulina + Glicose	209,1abC	499,2bA	325,0aB

Os valores representam médias obtidas. As médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tabela 5. Teor de sacarose em genótipos de milho comum e doce após 100 horas de germinação no escuro (n = 5).

Tratamento	Sacarose ($\mu\text{Mol gMF}^{-1}$)		
	UENF506-8	H43IN	HDC
H ₂ O	196,4bB	405,4cA	392,6aA
Insulina (1,2 μM)	209,1bC	432,3bcA	350,1aB
Glicose (800 μM)	301,3aB	529,8aA	356,2aB
Insulina + Glicose	350,2aBA	499,1bA	347,9aB

Os valores representam médias obtidas. As médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

tratamento com glicose, apresentou teores de glicose, frutose e sacarose remanescentes no endosperma superiores aos demais tratamentos. Não por ter otimizado sua utilização, mas sim, em função do excesso de glicose (endógena + exógena) ter inibido o desenvolvimento da plântula e, dessa forma, não ter havido consumo. Isso vem a reforçar a hipótese de que a glicose, em concentrações altas, provocaria retardo na germinação e no desenvolvimento, conforme descrito por Arenas-Huerta *et al.* (2000).

O fato de a mesma concentração de glicose ter retardado apenas o desenvolvimento do mutante, e não do UENF506-8, é explicável, pois o mutante *su1* contém maiores teores de glicose que UENF506-8. Assim, quando 800 μM de glicose foram adicionados às sementes, esta concentração excedeu àquela ideal e induziu aumento da concentração do ABA, ocasionando o menor desenvolvimento, que resultou no menor consumo de açúcares e amido.

Quanto às sementes do genótipo UENF506-8, que foram germinadas na presença de glicose (800 μM), o comprimento radicular foi igual ao tratamento com insulina. Contudo, foram observadas maiores taxas de crescimento da parte aérea, de massa da parte aérea e de concentração de açúcares (235,5 $\mu\text{Mol gMF}^{-1}$ glicose; 187,3 $\mu\text{Mol gMF}^{-1}$ frutose e

301,3 $\mu\text{Mol gMF}^{-1}$ sacarose) no endosperma. Provavelmente, o maior desenvolvimento da parte aérea tenha sido em função das sementes germinadas com glicose apresentarem o embrião mais desenvolvido, pois segundo Weber *et al.* (1997), o maior teor de sacarose e o menor de glicose e frutose no endosperma sugerem maior desenvolvimento do embrião e, possivelmente, isso tenha levado ao maior desenvolvimento da parte aérea.

Os maiores teores de amido, independentemente do tratamento aplicado, foram observados no genótipo UENF506-8 (Tab. 6). Para esse genótipo, o valor numérico mais elevado foi verificado com o tratamento insulina + glicose. Já os teores de amido apresentados pelos genótipos HDC e H43IN não diferiram estatisticamente, mesmo quando comparados entre os diferentes tratamentos (Tab. 6).

Um dos tratamentos mais interessante para o crescimento foi o das sementes germinadas na presença de insulina + glicose (Tab.1). Nesse tratamento, o milho comum (UENF506-8) apresentou crescimento radicular superior ao tratamento com insulina ou com glicose, promovendo um efeito aditivo. Já para o mutante H43IN, considerando esse mesmo parâmetro, o tratamento insulina + glicose não ocasionou diferenças quando comparado ao tratamento com insulina e o tratamento com glicose proporcionou o menor crescimento. Estes resultados confirmam o efeito positivo da insulina sobre o desenvolvimento da plântula, mesmo quando aplicados teores de glicose além do necessário. É bem provável que, neste trabalho, a insulina tenha otimizado o excesso de glicose, que resultaria em inibição, e proporcionado incremento no desenvolvimento (Tab.1).

Os resultados apresentados pelos genótipos UENF506-8 e H43IN, quando as sementes foram germinadas na presença de insulina (1,2 μM), mostraram crescimento superior ao do tratamento com H₂O. É possível que, a insulina tenha proporcionado uma otimização na disponibilidade de solutos, bem como em seu transporte, promovendo um maior desenvolvimento. Com adição de insulina exógena ao meio, vários efeitos positivos foram observados no desenvolvimento pós-germinativo em sementes de *Cirullus vulgaris* (melancia), *Helianthus annuus* (girassol) e *Cucumis sativus* (pepino), verificado pelo aumento da atividade de enzimas envolvidas na conversão de lipídeos armazenados em carboidratos (Goodman & Davis 1992), estímulo da biossíntese de proteína ribossomal e desenvolvimento de plântulas de milho (Sánchez de Jiménez *et al.* 1999) e de

Tabela 6. Teor de amido em genótipos de milho comum e doce após 100 horas de germinação no escuro (n = 5).

Tratamento	Amido (mg gMF^{-1})		
	UENF506-8	H43IN	HDC
H ₂ O	210,4bA	94,9aB	71,8aB
Insulina (1,2 μM)	280,9abA	131,9aB	88,1aB
Glicose (800 μM)	255,5bA	137,2aB	101,6aB
Insulina + Glicose	351,4aA	137,8aB	106,8aB

Os valores representam médias obtidas. As médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

cevada (Csaba & Pal 1982). Embora seu papel ainda não tenha sido desvendado, supõe-se que a insulina induza a ativação de uma via de translocação em células do milho (Flores *et al.* 2001) que, seletivamente, regula a translocação de glicose para o maior desenvolvimento. Flores *et al.* (2001) isolaram uma proteína de 20 kDa, um fator de crescimento do tipo insulina (do inglês, “insulin-like growth factor”- IGF), denominada de ZmIGF, que em contato com sementes de milho em solução, ocasionou aumento significativo da velocidade de germinação e do crescimento de plântulas.

Tanto a insulina quanto a glicose atuaram de forma decisiva na germinação e desenvolvimento de plântulas de milho, mostrando efeitos diferenciados quando comparadas plântulas de milho doce e comum. Essas diferenças podem ser resultantes da concentração endógena de glicose, sugerindo, assim, uma função na regulação do ácido abscísico. Todavia, estudos adicionais são necessários a fim de explicitar a forma como a insulina está envolvida com o metabolismo de açúcares, seja otimizando o transporte de solutos, como glicose, frutose ou sacarose, seja atuando em pontos específicos da rota metabólica.

Referências bibliográficas

- Arenas-Huerta, F.; Arroyo, A.; Zhou, L.; Sheen, J. & Leon, P. 2000. Analysis of *Arabidopsis* glucose insensitive mutants, *gin5* and *gin6*, reveals a central role of the plant hormone ABA in the regulation of plant vegetative development by sugar. **Genes & Development** **14**: 2085-2096.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. **Plant Cell** **9**: 1055-1066.
- Bewley, J.D. & Black, M. 1985. Seeds: physiology of development and germination. **Plenum Press** **73**: 115-120.
- Borisjuk, L.; Weber, H.; Panitz, R.; Manteuffel, R. & Wobus U. 1995. Embryogenesis of *Vicia faba* L.: histodifferentiation in relation to starch and storage protein synthesis. **Journal of Plant Physiology** **147**: 203-218.
- Borisjuk, L.; Walenta, S.; Weber, H.; Mueller-Klieser, W. & Wobus, U. 1998. High-resolution histographical mapping of glucose concentrations in developing cotyledons of *Vicia faba* in relation to mitotic activity and storage processes: glucose as a possible developmental trigger. **Plant Journal** **15**: 583-591.
- Borisjuk, L.; Wang, T.L.; Rolletscheck, H.; Wobus, U. & Weber H. 2002. A pea seed mutant affected in the differentiation of the embryonic epidermis is impaired in embryo growth and seed maturation. **Development** **129**: 1595-1607.
- Buchanan, B.; Gruissem, W. & Jones, R. 2000. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists.
- Coruzzi, G. & Bush, D.R. 2001. Nitrogen and carbon nutrient and metabolite signaling in plants. **Plant Physiology** **125**: 61-64.
- Coruzzi, G.M. & Zhou, L. 2001. Carbon and nitrogen sensing and signaling in plants: emerging “matrix effects”. **Current Opinion in Plant Biology** **4**: 247-253.
- Csaba, G. & Pal K. 1982. Effects of insulin, triiodothyronine, and serotonin on plant seed development. **Protoplasm** **110**: 20-22.
- Finkelstein, R.R. & Lynch, T.J. 2000. Abscisic acid inhibition of radicle emergence but not seedling growth is suppressed by sugars. **Plant Physiology** **122**: 1179-1186.
- Flores, G.C.; Aguilar, R.; Reyes de la Cruz, H.; Albores, M. & Sánchez de Jiménez, E. 2001. A maize insulin-like growth factor signals to a transduction pathway that regulates protein synthesis in maize. **The Biochemical Journal** **358**: 95-100.
- Garcarrubio, A.; Legaria, J.P. & Covarrubias, A.A. 1997. Abscisic acid inhibits germination of mature *Arabidopsis* seeds by limiting the availability of energy and nutrients. **Planta** **203**: 182-187.
- Gibson, S.; Kincaid, M.S.; Kuo, M.Y. & Cia, N. 1996. Sugar insensitive (*SIS*) mutants of *Arabidopsis thaliana* (abstract no. 800). **Plant Physiology** **111**: S-169.
- Goodman, D.B.P. & Davis, W.L. 1992. Insulin accelerates the postgerminative development of several fat-storing seeds. **Biochemical and Biophysical Research Communications** **190**: 440-446.
- Jang, J. & Sheen, J. 1997. Sugar sensing in higher plants. **Trends in Plant Science** **2**: 208-214.
- Koch, K.E. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** **47**: 509-540.
- Koornneef, M. & Karssen, C.M. 1994. Seed Dormancy and Germination. Pp. 313-334. In: E.M. Meyerowitz & C.R. Somerville (eds.). **Arabidopsis**. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Krapp, A.; Hofmann, B.; Schafer, C. & Stitt, M. 1993. Regulation of the expression of *rbcS* and other photosynthetic genes by carbohydrates: a mechanism for the sink regulation of photosynthesis. **Plant Journal** **3**: 817-828.
- Oliveira, A.E.A.; Machado, O.L.T.; Gomes, V.M.; Xavier Neto, J.; Pereira, A.C.; Vieira, J.G.H.; Fernandes, K.V.S. & Xavier Filho, J. 1999. Jack bean seed coat contains a protein with complete sequence homology to bovine insulin. **Protein and Peptide Letters** **6**: 15-21.
- Price, J.; Tsai-Chi, L.; Kang, S.G.; Na, J.K. & Jyan-Chyun, J. 2003. Mechanisms of glucose signaling during germination of *Arabidopsis*. **Plant Physiology** **132**: 1424-1438.
- Sanchez de Jiménez, E.; Beltrán-Penã & Ortiz-López, A. 1999. Insulin-stimulated ribosomal protein synthesis in maize embryonic axis during germination. **Physiologia Plantarum** **105**: 148-154.
- Silva, L.B.; Santos, S.S.S.; Azevedo, C.R.; Cruz, M.A.L.; Venâncio, T.M.; Cavalcante, C.P.; Uchoa, A.F.; Astolfi Filho, S.; Oliveira, A.E.A.; Fernandes, K.V.S. & Xavier Filho, J. 2002. The leaves of green plants as well as a cyanobacterium, a red alga, and fungi contain insulin-like antigens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** **35**: 297-303.
- Smeekens, S. 2000. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** **51**: 49-81.
- Smeekens, S. & Rook, F. 1997. Sugar sensing and sugar-mediated signal transduction in plants. **Plant Physiology** **115**: 7-13.
- Stitt, M.; Lilley, R.M.C.; Gerhardt, R. & Heldt, H.W. 1989. Metabolite levels in specific cells and subcellular compartments of plant leaves. **Methods in Enzymology** **174**: 518-552.
- Toyomasu, T.; Yamane, H.; Murofushi, N. & Inoue, Y. 1994. Effects of exogenously applied gibberellin and red light on the endogenous levels of abscisic acid in photoblastic lettuce seeds. **Plant and Cell Physiology** **35**: 127-129.
- Venâncio, T.M.; Silva, L.B.; Oliveira, A.E.A.; Fernandes, K.V.S. & Xavier Filho, J. 2003. A protein with sequence homology to bovine insulin is present in the legume *Vigna unguiculata* (cowpea). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** **36**: 1167-1173.
- Weber, H.; Borisjuk, L. & Wobus, U. 1997. Sugar import and metabolism during seed development. **Trends in Plant Science** **2**: 169-174.
- Xavier Filho, J.; Oliveira, A.E.A.; Silva, L.B.; Azevedo, C.R.; Venâncio, T.M.; Machado, O.L.T.; Oliva, M.L.; Fernandes, K.V.S. & Xavier Neto, J. 2003. Plant insulin or glucokinase: a conflicting issue. **Brazilian Journal of Plant Physiology** **15**: 67-78.
- Yang, Y.Y.; Nagatani, A.; Zhao, Y.J.; Kang, B.J.; Kendrick, R.E. & Kamiya, Y. 1995. Effects of gibberellins on seed germination of phytochrome-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Cell Physiology** **36**: 1205-1211.