

CRESCIMENTO E MOBILIZAÇÃO DE CARBOIDRATO EM EMBRIÃO DE SEMENTES DE FEDEGOSO (*Senna macranthera* Irwin et Barneby) DURANTE A GERMINAÇÃO

Eduardo Euclides de Lima e Borges¹, Rita de Cassia Gonçalves Borges¹, Carlos Pedro Boechat Soares¹, Sonia Cristina J.G. de Andrade Perez²

RESUMO: Avaliaram-se os pesos de matérias fresca e seca, o comprimento, os teores de amido e de açúcares redutores e o peso de cotilédones em embriões isolados ou não das sementes de fedegoso (*Senna macranthera* Irwin et Barneby), colocados para crescer em água por três dias, sob luz constante a 25°C. O peso dos embriões frescos aumentou, tanto nos embriões isolados quanto nos de sementes inteiras, sendo maior nos primeiros. Por outro lado, observou-se pequena diminuição nos valores de pesos dos embriões secos, sendo mais nítida nos embriões isolados. Houve aumento constante no comprimento dos embriões isolados, enquanto naqueles de sementes inteiras houve pequeno aumento nas primeiras 24 horas, estabilizando-se a seguir. A concentração de açúcares redutores declinou nos embriões isolados, permanecendo constante naqueles de sementes inteiras. O teor de amido apresentou redução em ambos os tipos de embrião, com diminuição mais acentuada naqueles de sementes inteiras. Observou-se pequena redução no peso de cotilédones secos após 48 horas de embebição. Conclui-se que a embebição causa alongamento do eixo embrionário, sendo maior naqueles sem restrição dos tecidos envoltórios. Durante o alongamento há consumo de reservas, não sendo, entretanto, utilizada para deposição na parede celular, uma vez que não se observou grandes variações no peso de matéria seca.

Palavras-chave: Fedegoso, crescimento embrionário, germinação, carboidrato

EMBRYO GROWTH AND CARBOHYDRATE MOBILIZATION IN FEDEGOSO (*Senna macranthera* Irwin et Barneby) SEEDS DURING GERMINATION

ABSTRACT: *The fresh and dry weights, the length, the starch content and of oxidating sugars were evaluated in both embryos, isolated or not, from fedegoso seeds (*Senna macranthera* Irwin et Barneby). The cotyledons weight grew in water during three days, under constant light in 25°C. The weight of the fresh embryos increased, so much in the isolated embryos as well as in the whole seeds, being*

¹ Professores do Departamento de Engenharia Floresta da UFV, Viçosa, 36571-000, MG.

² Professora do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 13.565-905, SP. Pesquisa financiada pela FAPEMIG.

larger in the first one. Small decrease was observed in the weights of the dry embryos, clearly in the isolated embryos. There was constant increase in the length of the isolated embryos, while in those of whole seeds there was small increase in the first 24 hours, being stabilized to proceed. The concentration of reducing sugars decreased in the isolated embryos, keeping constant in those of whole seeds. The content of starch presented reduction in both embryo types, with decrease more accentuated in those of whole seeds. Small reduction was observed in the weight of dry cotyledons after 48 hours of soak. It was concluded that the soak causes elongation of the embryonic axis, being larger in those without the restriction of the embryo covers. During the elongation there is consumption of reserve, however they are used for deposition in the cellular wall, given that it was not observed great variation in the dry matter weight.

Key words: Fedegoso, embryonic growth, germination, carbohydrate

1. INTRODUÇÃO

A germinação de sementes consiste na retomada do crescimento do eixo embrionário. Esta alteração de tamanho é, inicialmente, determinada pela embebição de água, seguida pela mobilização de reservas para formação de estruturas de parede celular. Segundo Bewley & Blake (1994), é aceito, de maneira geral, que a extensão celular predomina na germinação das sementes da maioria das espécies estudadas, não havendo correlação e nem necessidade de divisão celular. A deformação permanente das células está subordinada ao limite de resistência da parede celular e, uma vez vencida, ocorrerá a expansão (Bewley & Blake, 1994) e subsequente possibilidade de deposição de novos polissacarídeos na parede (Brett & Waldron, 1996).

A mobilização de reservas em embriões de sementes de diversas espécies tem sido estudada por diferentes autores. Segundo Ziegler (1995), as reservas de carboidratos, lipídios e proteínas são utilizados na constituição de componentes estruturais no crescimento da plântula. Bewley & Black (1994) afirmam que carboidratos pré-formados na semente servem como substrato da respiração durante o período pré-germinativo, no que concordam os dados de Buckeridge et al. (1995) para sementes de *Dimorphandra mollis*. Segundo esses últimos autores, antes da protusão da radícula a estaquio-

se, a rafinose e a sacarose são decompostos no endosperma e cotilédones em galactose, glicose e frutose. A ausência de manose e galactose no embrião sugere que são metabolizados antes de serem enviados do endosperma para o eixo embrionário. Os dados sugerem que sacarose, rafinose e estaquiose presentes no eixo são utilizadas durante a fase inicial da germinação.

Considerando-se que o conhecimento sobre as alterações físicas e fisiológicas que ocorrem durante a germinação das sementes de espécies florestais nativas é deficitário, o objetivo desse trabalho foi verificar as modificações nas reservas de carboidratos e as modificações físicas em embriões de sementes de fedegoso.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de fedegoso coletadas de várias árvores na região de Viçosa, MG, tiveram a dormência quebrada com ácido sulfúrico durante 20 minutos. Foram tratadas com hipoclorito de sódio por cinco minutos sendo, em seguida, lavadas com água deionizada. Foram, então, dissecadas em eixo embrionário, tegumento + galactomanano. Sementes inteiras foram consideradas como testemunha. Os eixos embrionários e as sementes inteiras foram colocados em frasco de Witton com água e levados para germinador regulado para temperatura constante de 25°C e iluminação contínua de 24 horas proporcionada por oito

por oito lâmpadas tipo fluorescentes OSRAM, de 40W cada uma, tipo luz do dia especial. Foram colocados 30 embriões e 30 sementes inteiras por repetição, sendo usadas três repetições. A cada dia foram retiradas amostras de embrião e de sementes inteiras e feitas pesagens e medidas do crescimento. A avaliação do peso da matéria fresca foi feita logo após a retirada das amostras. Nas sementes inteiras foi feita a dissecação e as partes foram, então, pesadas. As avaliações dos comprimentos dos embriões isolados e de sementes inteiras foram feitas antes de serem levadas para a estufa, utilizando-se de um ampliador fotográfico e curvímeter. As amostras foram secadas em estufa a aproximadamente 45°C por 48 horas, sendo feitas as determinações de peso da matéria seca. Na avaliação do galactomanano total foram feitas as somas das pesagens das cascas das sementes, bem como daquele galactomanano que foi lixiviado para as placas durante o processo de germinação ou que ficaram retidos nos cotilédones. As placas e cotilédones foram lavados e, após secagem da água de lavagem em estufa, deduziu-se o peso total do galactomanano.

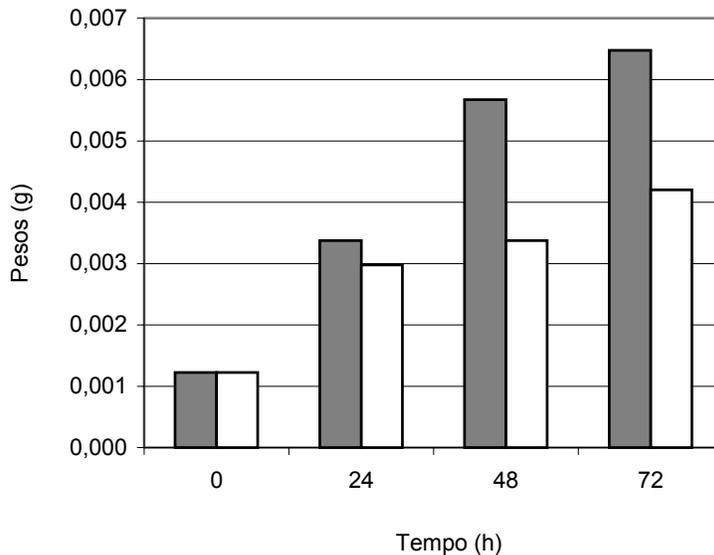
As extrações dos açúcares redutores e do amido foram feitas utilizando-se de 15mg de amostra de embriões secos, conforme Passos (1996). A amostra foi moída cinco vezes em turrax, com 1,0mL de cada vez com éter de petróleo, seguida de nova extração com acetona. Após secagem da amostra, extraíram-se os açúcares redutores por cinco vezes, com 1,0mL de cada vez de etanol 80% a quente. O extrato etanólico contendo os açúcares solúveis foi separado por centrifugação. Após secagem do precipitado, digeriu-se o amido com 1,0mL de ácido perclórico 35%, por 15min, conforme metodologia descrita por Passos (1996). Os açúcares solúveis e os provenientes da digestão do amido foram quantificados pelo método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956).

Para quantificação dos açúcares redutores por cromatografia gasosa, procedeu-se a extração de maneira similar ao já descrito, partindo-se, entretanto, de amostra de 300mg. O extrato

etanólico foi secado e ressuspenso com 1,0mL de água. Concentrou-se a solução até 0,5mL, transferindo-se para tubo de ensaio, segundo a metodologia descrita por Englyst & Cumming (1984) na preparação dos alditóis acetatos para quantificação em cromatografia gasosa. Os cromatogramas foram obtidos em cromatógrafo a gás Shimadzu GC 14-A, equipado com detector de ionização de chama (FID), acoplado a um registrador e integrador C-R6A CHROMATOPAC. Foi utilizada coluna capilar moderadamente polar, com 50% cianopropil fenil dimetil siloxane com 25m de comprimento e espessura do filme de 0,25µm. O fluxo do gás de arraste (H₂) foi de 0,25mL/min. A temperatura do injetor foi de 250°C, a da coluna foi isotérmica de 220°C e do detector de 275°C. A razão de split foi de 1/40. Injetou-se 1,0 µL do alditol acetato.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso de embriões frescos isolados aumentou continuamente e em taxa claramente superior ao dos embriões provenientes de sementes inteiras (Figura 1). Enquanto o peso do primeiro quintuplicou em relação àqueles embriões da testemunha nas primeiras 72 horas, o dos embriões de sementes inteiras somente triplicou. A diferença de peso aumentou entre os dois tipos de embrião a partir de 24 horas de embebição. É de se esperar tal comportamento, tendo em vista o efeito restritivo dos tecidos envoltórios, camada de galactomanano e tegumento, na expansão do eixo embrionário durante a embebição. A competição entre embrião e o polissacarídeo torna menor a disponibilidade de água para o primeiro, tendo em vista a alta higroscopicidade do oligossacarídeo. comprimento dos embriões (Figura 2), vê-se que o embrião isolado cresceu também em taxas maiores do que o proveniente de sementes inteiras. No primeiro, o crescimento foi contínuo, enquanto que no segundo praticamente estabilizou-se a partir de 48 horas.



□ embriões de sementes inteiras; ■ embriões isolados. Erro padrão da média menor que 0,01.

Figura 1. Peso de embriões frescos provenientes de sementes de fedegoso (*Senna macranthera*) mantidos em água por 72 horas.

Figure 1. Fresh embryo weight from fedegoso (*Senna macranthera*) seeds after 72 hours in water.

O rompimento das camadas externas da semente pode ser feito por expansão do eixo embrionário e cotilédones ou por efeito enzimático. A expansão do eixo embrionário parece ser o fato comum, tendo em vista que mesmo o pequeno crescimento do eixo nas sementes inteiras, após três dias, foi tempo suficiente para o início da germinação. Nesse caso, a própria expansão provocada pela água seria suficiente para romper as camadas externas ao embrião. Outra possibilidade seria a deposição de açúcares na parede celular do eixo embrionário, resultando no seu crescimento, com aumento do peso seco. Entretanto, não se observou qualquer diferença entre os pesos dos embriões secos isolados e daqueles provenientes de sementes inteiras.

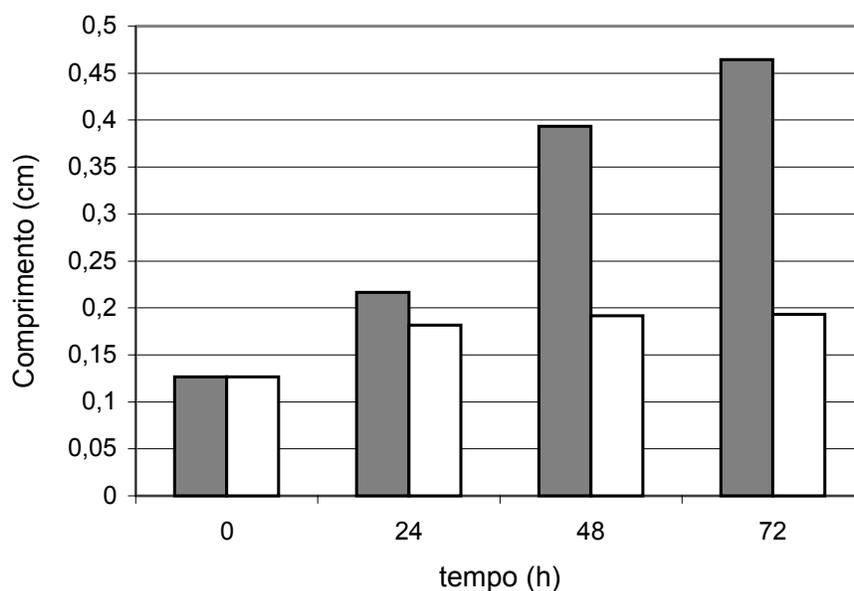
Vê-se, na Figura 3, que o peso dos cotilédones frescos teve aumento substancial em 24 horas, estabilizando em seguida. Por outro lado, tiveram pequena redução na massa seca após esse período.

O teor de galactomanano aumentou nas primeiras 24 horas, decrescendo, em seguida. Esse decréscimo no galactomanano não pode ser creditado como mobilização de açúcares para o embrião ou mesmo para a respiração tendo em vista a alta solubilidade do mesmo em água, perdendo-se parte dele para o substrato de germinação. Esse resultado difere do obtido por Dirk et al. (1999), que detectaram aumento nos teores de glicose, de frutose e de sacarose no embrião de sementes de *Trigonella foenum-graecum*. Acreditam os autores, que esse aumento seja proveni-

ente da mobilização de galactomanano do endosperma.

Vê-se, na Figura 4, que o teor de amido nos dois grupos de embriões decresceu em 72 horas, especialmente naqueles isolados, cujo decréscimo ocorreu em 48 horas. Os açúcares solúveis dos embriões isolados tiveram pequeno decréscimo, enquanto nos embriões de sementes inteiras houve claro aumento. Como não houve deposição na parede, o decréscimo ocorreu em 48 horas. Os açúcares solúveis dos embriões iso-

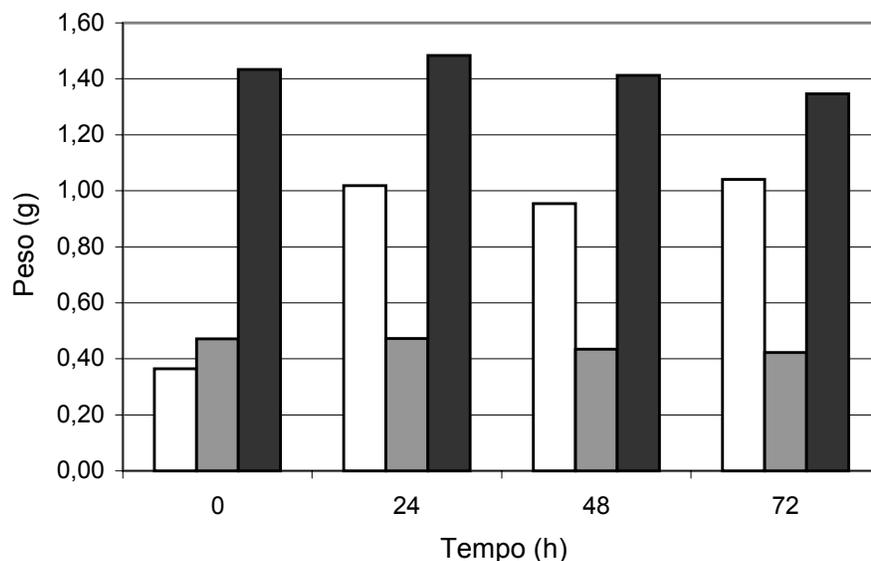
lados tiveram pequeno decréscimo, enquanto nos embriões de sementes inteiras houve claro aumento. Como não houve deposição na parede celular, é de se supor que parte do açúcar tenha sido usada na respiração e parte perdida para o meio de crescimento. As maiores concentrações do amido e dos açúcares solúveis nas sementes inteiras poderiam ser explicadas pela retenção pelo tegumento, enquanto não houve seu rompimento, em grande número de sementes.



■ embrião isolado; □ embrião de sementes inteiras. Erro padrão da média menor que 0,01.

Figura 2. Comprimento de embriões provenientes de sementes de fedegoso (*Senna macranthera*) mantidos em água por 72 horas.

Figure 2. Embryo length from fedegoso (*Senna macranthera*) after 72 hours in water.



Cotilédone: □ peso fresco; ■ peso seco; Galactomanano: ■; Erro padrão da média menor que 0,01.

Figura 3. Peso de cotilédones frescos e secos e de galactomanano seco provenientes de sementes de fedegoso (*Senna macranthera*) mantidos em água por 72 horas.

Figure 3. Cotylendons fresh and dry weight and galactomanan dry weight contents of fedegoso (*Senna macranthera*) seeds after 72 hours in water.

Stone & Gifford (1999) verificaram decréscimo no teor de açúcares solúveis, tanto na muda quanto no megametófito durante a germinação de sementes de *Pinus taeda*, mas aumentaram durante o crescimento da muda. É interessante ressaltar que esse aumento foi coincidente com o decréscimo no teor de triacilgliceróis, indicando conversão de lipídios em carboidratos. Da mesma forma, Thind & Malik (1995) observaram o acúmulo de amido no eixo embrionário e cotilédones em sementes de *Abelmoschus esculentus* após 24 horas, continuando até 72 horas de germinação. Os autores detectaram clara atividade do ciclo de glioxilato. Por outro lado, Baleroni et al. (1997) observaram decréscimo inicial no teor de carboidrato nos cotilédones de canola para, em

seguida, alcançar o valor máximo. Segundo os autores, os aumentos de glicose e frutose se devem à sacarose como fonte principal, enquanto o amido, pela sua baixa concentração, tem pouca importância como fonte de glicose.

Pela Tabela 1 é possível visualizar as alterações na composição dos açúcares redutores presentes nos embriões isolados. É interessante ressaltar a não detecção da ramnose, mesmo após três dias em água, enquanto a arabinose e a manose, ausentes nas sementes secas, aparecem após três dias de embebição, muito embora a primeira em muito baixa concentração. A xilose, que também apresenta-se em teor reduzido, desaparece do eixo após três dias em água. A galactose tem claro decréscimo na sua concentração. A glicose tem alta concentração

Amido: □ embrião de semente, ■ embrião isolado; açúcares solúveis ○ embrião isolado, ● embrião de semente. Erro padrão da média menor que 0,01.

Figura 4. Teores de amido e açúcares solúveis em embriões isolados ou provenientes de sementes inteiras de fedegoso (*Senna macranthera*) mantidos em água por três dias.

Figure 4. Starch and soluble sugar contents in isolated embryo or embryo from whole seeds of fedegoso (*Senna macranthera*) after 72 hours in water.

Tabela 1. Teores de açúcares redutores em embriões isolados de fedegoso (*Senna macranthera*) embebidos em água por 72 horas.

Table 1. Reducing sugars content of isolated embryo of fedegoso (*Senna macranthera*) after 72 hours in water.

Tempo (h)	Ramnose	Arabinose	Xilose	Manose	Galactose	glicose
			(Mg/g peso seco)			
0	-	-	0,10 ± 0,05	-	0,60 ± 0,13	0,51 ± 0,11
72	-	0,07 ± 0,02	-	0,38 ± 0,05	0,41 ± 0,07	4,67 ± 0,78

nas sementes secas e, após 72 horas, há aumento expressivo na sua concentração. Tal aumento pode ser creditado ao metabolismo de outras reservas, como lipídios ou proteínas, que não foram analisadas nesse trabalho. Por outro lado,

Modi et al. (2000) detectaram acúmulo nos açúcares redutores em sementes de *Glycine max* durante o estágio de embebição, sendo significativamente maior no eixo embrionário do que nos cotilédones.

4. CONCLUSÃO

Dessa forma, é possível concluir que a germinação de sementes de fedegoso ocorre por expansão do eixo embrionário pela embebição, não necessitando da mobilização de reservas armazenadas, como amido ou oligossacarídeos e com o aumento de açúcares redutores presentes no eixo embrionário.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALERONI, C. R. S.; M. L. L. FERRARESE, S. C. C.; SOUZA, N. E.; FERRARESE-FILHO, O. Isocitrato lyase activity and mobilisation of lipids and carbohydrates in cotyledons of canola. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. São Carlos, v. 9, n. 3, p. 189-192, dez. 1997.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and biochemistry of plant cell walls**. London: Chapman & Hall, 1996. 255 p.
- BUCKERIDGE, M. S.; PANEGASSI, V. R.; DIETRICH, S.M.C. Storage carbohydrate mobilisation in seeds of *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae) following germination. **Revista Brasileira Botânica**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 171-175, dez. 1995.
- DIRK, L.M.A.; van der KROL, A. R.; VREUGDENHIL, D.; HILHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D. Galactomannan, soluble sugar and starch mobilization following germination of *Trigonella foenum-graecum* seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 37, n. 1, p. 41-50, Jan. 1999.
- DUBOIS, M.; GILES, K. A.; HAMILTON, J. K. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- ENGLYST, H. N.; CUMMINGS, J. H. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst**, Cambridge, v. 109, n. 7, p. 937-942, 1984.
- MODI, A.T.; McDONALD, M. D.; STREETER, J. G. Soluble carbohydrates in soybean seeds during development and imbibition. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 1, p. 115-127, 2000.
- PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia Vegetal**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1996. 223 p.
- STONE, S. L.; GIFFORD, D. J. Structural and biochemical changes in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds during germination and early seedling growth. II. Storage triacylglycerols and carbohydrates. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 160, n. 4, p. 663-671, July 1999.
- THIND, S. K.; MALIK, C. P. Carbohydrate metabolism in okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) seeds during germination. **Acta Physiologiae Plantarum**, Warsaw, Polônia, v. 17, n. 4, p. 321-326, 1995.
- ZIEGLER, P. Carbohydrate degradation during germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 447-474.