

COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES OSMOCONDICIONADAS DE *Platymiscium pubescens* Micheli (TAMBORIL-DA-MATA)¹

Eduardo Euclides de Lima e Borges², Sonia Cristina J.G.A. Perez⁴, Rita de Cassia Gonçalves Borges², Sebastião Tavares de Rezende³ e Silvana Ribeiro Garcia⁵

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi investigar alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes osmocondicionadas de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens* Micheli). Foram analisados o crescimento do eixo embrionário, a germinação, as alterações na parede celular, a mobilização de carboidratos e proteínas e a atividade de α -galactosidase. Observou-se que o teor de umidade das sementes da testemunha aumentou continuamente até 96 horas de embebição, enquanto as mantidas nas soluções de PEG estabilizaram-se a partir de 48 horas. A germinação ocorreu somente nas sementes mantidas em água, alcançando 30% em 120 horas. As sementes mantidas em solução -0,4 MPa de PEG por 120 horas tiveram 66% de germinação quando transferidas para água, sendo a maior em relação aos demais potenciais. A massa fresca e o comprimento do embrião aumentaram significativamente durante o período de 120 horas em solução de PEG (-0,4 MPa/120 horas), porém a massa seca teve incremento não-significativo. Os teores de arabinose e xilose em membranas lavadas com água decresceram significativamente durante o osmocondicionamento. A galactose não foi detectada na membrana em 120 horas. A arabinose mostrou ser a principal constituinte da membrana. A atividade de α -galactosidase mostrou diferença significativa durante o período de 120 horas. Os teores de ramnose, arabinose e xilose alteraram-se significativamente na fração pécica, enquanto a ramnose foi a única na fração hemicelulósica. A glicose foi detectada somente nessa última fração. Os teores de glicose no embrião e cotilédones alteraram-se significativamente durante o osmocondicionamento. Os teores de estaquiose e de rafinose não tiveram alterações significativas nos cotilédones, enquanto o de sacarose reduziu-se significativamente, mantendo-se mais alto do que os dos outros dois oligossacarídeos. O teor de proteína decresceu significativamente nas 120 horas de osmocondicionamento. Concluiu-se que o osmocondicionamento potencializou a germinação das sementes durante o processo de embebição, resultando em modificações da parede celular pela deposição de açúcares redutores.

Palavras-chave: Germinação, *Platymiscium pubescens*, carboidrato, proteína e parede celular.

PHYSIOLOGICAL BEHAVIOR OF OSMOPRIMED SEEDS OF *Platymiscium pubescens* Micheli (TAMBORIL-DA-MATA)

ABSTRACT - The objective of this study was to investigate the physiological and biochemical alterations in tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) osmoconditioned seeds. Embryonic axis growth, germination, cell wall changes, carbohydrate and protein content and α -galactosidase activity were analyzed. Seed water content for control seeds was found to increase continuously throughout 96 hours of imbibition, while those maintained in the PEG solutions stabilized at 48 hours. Germination occurred only in seeds maintained in water, reaching 30% in 120 hours. The seeds maintained in -0.4 MPa PEG solution for 120 hours showed 66% of germination when transferred to water, and had the greatest potential. Fresh matter and length increased significantly during the 120 hour period in PEG solution (-0.4 MPa/120 hours), while dry matter showed no significant increment. Arabinose and xilose contents in water washed-membranes decreased significantly during osmopriming. Galactose

¹ Recebido para publicação em 2.4.2002.

Aceito para publicação em 6.11.2002.

Trabalho parcialmente financiado pela FAPEMIG.

² Professores do Departamento de Engenharia Florestal e ³ do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular de Universidade Federal de Viçosa-MG; ⁴ Professora do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos-SP. ⁵ Faculdade de Viçosa, 36570-000 Viçosa-MG.

was not detected until 120 hours. Arabinose had the largest concentration. The α -galactosidase activity showed significant activity during the 120 hour period. Rhamnose, arabinose and xilose contents changed significantly in the pectic fraction, while rhamnose was the only one in the hemicellulose fraction that showed significant change. Glucose contents changed significantly during the osmopriming. Stachyose and raffinose contents showed no significant change, while sucrose content was reduced significantly though maintained higher than the other oligosaccharides during the entire period. Protein contents decreased significantly after 120 hours of osmopriming. It was concluded that priming caused seed germination by reducing sugar deposition in the cellular wall.

Key words: Germination, *Platymiscium pubescens*, carbohydrate, protein, cellular wall.

1. INTRODUÇÃO

A germinação de sementes é um processo complexo, e seus mecanismos variam entre espécies ou mesmo entre populações de mesma espécie (Khatri et al., 1991). O osmocondicionamento de semente tem sido empregado, para que os mecanismos envolvidos na germinação de diversas espécies sejam entendidos. A solução de polietilenoglicol (PEG) tem sido usada como meio osmótico para simular o estresse hídrico que ocorre no campo e que, segundo Baskin & Baskin (1998), poderia induzir à dormência secundária. Porém, é necessário que a semente alcance determinado nível de umidade, cujo teor é variável com a espécie. Khan & Karssen (1980), trabalhando com *Chenopodium bonnes-henricus*, e Samimy & Khan (1983), com *Rumex crispus*, induziram dormência secundária quando as sementes foram submetidas ao estresse hídrico de -0,86 e -1,57 MPa, respectivamente. A condição hídrica e a temperatura são dois fatores que exercem influência decisiva na manutenção do banco de sementes no solo. A absorção de umidade pelas sementes em quantidade suficiente para alcançar nível mínimo poderia estimular o metabolismo. Entretanto, a baixa temperatura no solo florestal não é adequada para que ocorra a germinação, levando as sementes à dormência secundária. Assim, elas teriam a potenciação para germinar, mas teriam de aguardar condições térmicas propícias, que viriam em outra estação, ou a queda de alguma árvore. A dormência secundária asseguraria a sobrevivência nesse período. Por outro lado, o período de alta temperatura poderia encontrar as sementes com baixo teor de umidade, mas com o estímulo metabólico pronto para que ocorra a germinação em curto espaço de tempo, adequado para vencer a concorrência com as demais espécies, pelo osmocondicionamento ocorrido na estação anterior.

Segundo Borges et al. (2001), a germinação de sementes de *Senna macranthera* ocorre pela expansão

celular. Os autores verificaram que não há alterações significativas nas reservas. Resultados semelhantes foram encontrados por Armstrong & McDonald (1992) em sementes de soja, cujos comprimentos e a matéria seca da radícula e da plúmula aumentaram após o osmocondicionamento.

Toorop et al. (2000) concluíram que a germinação de sementes de *Lycopersicon esculentum* ocorria devido ao enfraquecimento mecânico do endosperma, permitindo que a radícula o rompesse. Muito embora alguns autores tenham tentado relacionar o enfraquecimento mecânico de tegumento com a atividade de enzimas, em poucas espécies tem havido essa associação com a parede celular (Bewley, 1997).

Spyropoulos & Lambiris (1980) constataram que em sementes de *Ceratonia siliqua* o crescimento do eixo embrionário, o decréscimo da matéria seca total e a formação de amido correlacionaram-se com o decréscimo de galactomanano. Entretanto, a atividade de α -galactosidase embrionária não foi afetada significativamente. Os teores de açúcares solúveis nos cotilédones foram altos quando as sementes estiveram sob estresse hídrico, especialmente devido ao alto teor de galactose e manose.

Hulbert et al. (1988) concluíram pela não-incorporação de metionina em proteína durante o estresse hídrico de sementes de *Pinus taeda*. Da mesma forma, os resultados obtidos por Dell'acquilla (1992), com sementes de trigo *Triticum aestivum*, evidenciaram que a síntese de proteína no eixo embrionário é reduzida quando o embrião é submetido ao estresse hídrico. Entretanto, o bloqueio da germinação sob estresse e a subsequente recuperação em água não estão associados ao bloqueio ou estímulo à síntese de determinada proteína.

Segundo Klitgaard (1995), *Platymiscium pubescens* var. *pubescens* ocorre na Bahia, no Espírito Santo, no Distrito Federal e em Minas Gerais. Neste último foi identificada a presença da espécie nas cidades de Carangola,

Vespasiano, Coronel Pacheco, Jequitibá, Paraopeba, Lagoa Santa, Caratinga, Ipatinga, Viçosa e nas rodovias Viçosa-Cajuri e Belo Horizonte-Brasília. A espécie é identificada pelos nomes de timburi, timburil e jacarandá-branco. Ainda segundo a autora, o habitat da espécie é o cerrado, embora Marangon (1999) a identifique como de floresta estacional semidecidual, ocorrendo em altitudes de 300 a 750 m. De acordo com Klitgaard (1995), a espécie é de vegetação secundária e sua madeira é usada para construção de moirão de cerca, além de sua utilização como planta ornamental e de reflorestamento. Segundo Lorenzi (1992), ela também pode ser usada na recuperação de áreas degradadas.

Tendo em vista a carência de informações fisiológicas e bioquímicas concernentes à germinação das sementes de grande parte das espécies florestais arbóreas nativas, foi desenvolvido o presente trabalho, com o objetivo de verificar o efeito do osmocondicionamento sobre os mecanismos fisiológicos envolvidos na germinação de sementes de *Platymiscium pubescens* (tamboril-da-mata).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O fruto de *Platymiscium pubescens* Micheli (tamboril-da-mata) é uma sâmara, contendo uma semente envolta por tecido duro e asa membranácea. O embrião é envolto por uma membrana, conforme a Figura 1.



Figura 1 – Frutos e partes da semente (membrana, cotilédone e eixo embrionário) de *Platymiscium pubescens* (tamboril-da-mata).

Figure 1 – Fruits and seed parts (membrane, cotyledone and embryonic axis) of *Platymiscium pubescens* (tamboril-da-mata).

Sementes colhidas de quatro árvores foram colocadas para embeber em solução de polietilenoglicol (PEG, p.m. 6.000), nos potenciais de -0,2, -0,4 e -0,6 MPa, e a testemunha foi colocada somente em água destilada, por 120 horas, colhendo-se amostras a cada 24 horas, para determinação de umidade. Esta determinação foi feita todos os dias, em estufa a 105 °C por 24 horas. Foram utilizadas três repetições de 20 sementes cada. Durante a retirada de amostras procurou-se verificar a ocorrência de sementes germinadas em cada potencial. Não se detectando germinação em -0,4 e -0,6 MPa, as sementes foram então colocadas para embeber nesses potenciais por 96 e 120 horas, à temperatura de 25 °C. Em seguida, foram lavadas ao final de cada tempo e colocadas para germinar à mesma temperatura, sob iluminação constante, proporcionada por oito lâmpadas fluorescentes OSRAM, de 40 W, tipo luz do dia especial. A cada hora foi feita contagem de sementes germinadas. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentavam protusão de radícula. Utilizaram-se cinco repetições com 20 sementes cada, para cada tratamento.

O comprimento e as massas dos embriões frescos e secos de sementes colocadas em solução de PEG -0,4 MPa foram avaliados em amostras colhidas com tempos zero, 72 e 120 horas de embebição. As avaliações dos comprimentos dos embriões foram feitas antes de serem levados para a estufa, utilizando-se um ampliador fotográfico e curvímeter. As matérias secas foram avaliadas após secagem dos embriões em estufa a 45 °C, por 48 horas. Todas as quantificações foram feitas em cinco repetições de 20 sementes.

A extração de proteína foi feita em embriões mantidos em solução de PEG -0,4 MPa, pelo período de zero a 120 horas, segundo Alfenas et al. (1991). Utilizou-se o tampão TRIS-HCl, 0,1 M, pH 7,5 como solução de extração. A quantificação foi feita conforme Bradford (1976), utilizando-se a albumina de serum bovina (BSA) como padrão de proteína. Foram feitas cinco repetições, cada uma em duplicata.

A extração e a determinação de atividade de α -galactosidase foram feitas segundo Rezende (1998), com modificações. O extrato foi obtido ao macerar 50 mg de embriões mantidos em PEG -0,4 MPa pelo período de 72 a 120 horas em 1,5 ml de tampão acetato de sódio 100 mM pH 5,0 e centrifugado sob refrigeração a 13.000 rpm, por 60 segundos. A quantificação de α -galactosidase foi feita com adição de p-nitrofenil galactopiranosídeo (pNPGal) 2,0 mM ao extrato

enzimático, seguida de incubação em banho-maria, a 37 °C, por 30 minutos. Acrescentou-se 1,0 ml de carbonato de sódio 0,5 M para paralisar a reação. A leitura foi feita no comprimento de onda de 410 nm. Os valores de absorbância foram transformados em micromoles de p-NP, utilizando-se uma curva-padrão. Uma unidade da atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1,0 mM de p-NP por minuto, nas condições do ensaio. Foram realizadas três repetições de medidas de atividade de cada enzima.

Os embriões originados de sementes mantidas em solução de PEG -0,4 MPa por zero, 72 e 120 horas tiveram a membrana que os recobre retirada e submetida ou não à lavagem com água deionizada, quantificando-se sua composição após preparação dos alditóis acetatos.

A extração de parede celular e a separação de pectina e hemicelulose foram feitas conforme descrito por Carpita & Gilbeaut (1993), sendo preparados alditóis acetatos para análise de açúcares redutores em cromatografia gasosa. Foram feitas quatro repetições de cada extração e quantificação.

As extrações de açúcares redutores e oligossacarídeos do embrião e dos cotilédones foram feitas conforme metodologia descrita por Black et al. (1996), com modificações: o material seco e moído foi homogeneizado com etanol 80% a 75 °C, por 30 minutos, sendo em seguida centrifugado por 10 minutos a 10.000 rpm. O sobrenadante foi separado, e homogeneizou-se o precipitado com etanol 80% por mais cinco vezes. Os sobrenadantes foram misturados e secos totalmente, ressuspendendo-se com 1,0 ml de água ultrapura. Retirou-se 0,5 ml, que foi usado para preparo do alditol acetato. O restante da amostra foi utilizado para quantificação dos oligossacarídeos.

As digestões da membrana, da hemicelulose e da pectina foram feitas conforme metodologia descrita em Borges et al. (2000) e a quantificação dos açúcares redutores, conforme Englyst & Cummings (1984). Utilizou-se cromatógrafo a gás Shimadzu GC14-A, equipado com detector de ionização de chama (FID), acoplado a um registrador e integrador C-R6A chromatopac. Utilizou-se coluna moderadamente polar, 50% de cianopropilfenil-dimetilsiloxane. O fluxo de gás foi de 0,25 ml/min. As temperaturas do injetor, do detector e da coluna foram 250, 220 e 275 °C, respectivamente. A razão de divisão foi de 1/40, tendo sido injetado 1,0 ml de alditol acetato.

Os oligossacarídeos foram quantificados após passagem das amostras em coluna sep-pak C-18 e, após redução de volume, injetados 20 µl em cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) Shimadzu, equipado com coluna aminex HPX-42C, de 300 mm X 7,8 mm, tendo a água como fase móvel, com fluxo de 0,6 ml/min. O aparelho está equipado com detector de índice de refração.

Todos os experimentos foram estabelecidos no delineamento inteiramente casualizado. As determinações de teor de umidade e atividade da α -galactosidase tiveram três repetições, enquanto aqueles correspondentes à matéria fresca e seca e ao comprimento do eixo embrionário tiveram cinco repetições. As características avaliadas foram submetidas aos testes de normalidade dos dados e de homogeneidade de variância e posteriormente submetidas à análise de variância e ao teste F, a 1% de probabilidade. As equações de regressão não foram ajustadas pelo fato de se ter apenas três pontos (zero, três e cinco dias). Os experimentos de membrana foram instalados no esquema fatorial 2 X 3 (sem e com lavagem e três tempos: zero, 72 e 120 horas), com quatro repetições. Os dados de açúcares redutores foram submetidos ao teste de homogeneidade e normalidade e, em seguida, procedeu-se à análise de variância e ao teste F, a 1% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o Sistema de Análise Estatística (SAEG, versão 8.X, Universidade Federal de Viçosa).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se no Quadro 1 que houve rápida embebição das sementes, tanto na água quanto nas soluções de PEG, nas primeiras 24 horas. Enquanto a estabilização da umidade das sementes mantidas em água ocorre em 96 horas, aquelas mantidas nos potenciais -0,4 e -0,6 MPa o fizeram em 24 horas e no potencial de -0,2 MPa, em 48 horas. Houve 30% de germinação nas sementes mantidas em água por 120 horas, alcançando 67% em 144 horas, indicando que elas alcançaram nível crítico de umidade, o que lhes permitiu germinar. Por outro lado, não se observou germinação das sementes mantidas em soluções de PEG, em todos os potenciais. Vê-se pela Figura 2 que as sementes alcançaram teor de umidade que lhes permitiu germinar somente quando transferidas para água. O potencial de -0,4 MPa por 120 horas estimulou claramente a germinação em relação aos demais, o que permitiu alcançar 60% de germinação em 300 minutos. Quando o osmocondicionamento em -0,4

e -0,6 MPa foi feito por 120 horas, a similaridade da porcentagem de germinação foi somente verificada nos primeiros 180 minutos, com incremento superior aos demais tratamentos. O tratamento no potencial de -0,6 MPa/120 horas representou maior incremento na germinação nos primeiros 180 minutos.

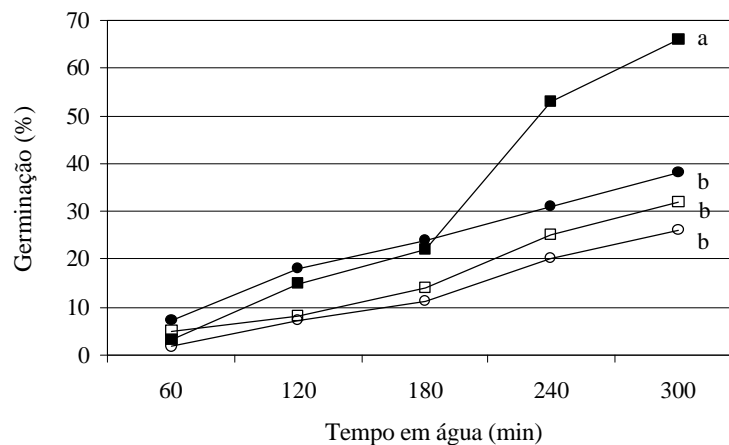
As sementes mantidas em soluções de potencial -0,4 MPa por 120 horas tiveram a matéria fresca dobrada nas primeiras 72 horas de germinação, estabilizando-se em seguida (Figura 3, Quadro 2). O comprimento e a massa fresca dos embriões tiveram incrementos significativos nas 120 horas de embebição na solução de PEG. A massa fresca mostrou clara redução na taxa de crescimento após 72 horas. Assim, a germinação observada

quando as sementes são transferidas para água se deve a pré-expansão do embrião, em parte ocasionada pela água absorvida. De maneira similar, Borges et al. (2001), estudando sementes de *Senna macranthera* durante o período inicial de germinação, verificaram que a massa fresca apresentou pequeno aumento, enquanto o comprimento do embrião aumentou nas primeiras 24 horas, estabilizando-se em seguida. Houve pequena redução no massa seca. Em trabalhos realizados com sementes de *Zea mays* por Garcia et al. (1995), não foi constatado sinal de divisão celular durante o osmocondicionamento. Entretanto, ao serem transferidas para água houve aumento de divisão celular e de síntese de ADN, supondo-se que ambas as atividades são eventos específicos da germinação daquela espécie.

Quadro 1 - Teor de umidade (%) em sementes de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) em soluções de diferentes potenciais osmóticos

Table 1 - Seed water content (%) of tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) in solutions with different osmotic potentials

Potencial (MPa)	Tempo (h)					
	0	24	48	72	96	120
Água	12,68±1,59	58,16±7,90	63,30±0,27	68,83±0,71	72,88±1,28	69,26±0,16
-0,2	12,68±1,59	58,37±1,00	62,39±0,06	63,31±1,03	62,99±1,42	57,73±0,22
-0,4	12,68±0,59	59,64±5,04	61,63±0,15	60,06±0,51	60,48±0,91	59,39±0,53
-0,6	12,68±1,59	57,65±0,15	58,66±1,00	57,01±0,63	57,72±0,78	56,23±0,15



Médias no tempo de 300 minutos seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ($P < 0,01$).
Means at last time followed by a common letter are not significantly different by the Tuckey test ($P < 0,01$).

Figura 2- Germinação acumulada de sementes de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) após osmocondicionamento em solução de PEG. Concentração/tempo de permanência em solução de PEG: -0,4 MPa/4d:□ ; -0,4 MPa/5d:■; -0,6 MPa/4d:○; -0,6 MPa/5d:● .

Figure 2- Cumulative germination of seeds of tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) after osmoconditioning in PEG solution. Concentration/time in PEG solution: -0,4 MP/4d:□; -0,4 MPa/5d:■, -0,6 MPa/4d:○, -0,6 MPa/5d:●.

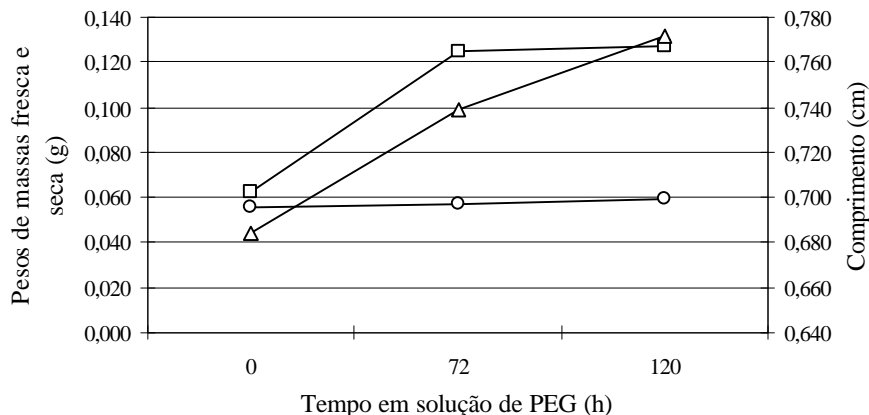


Figura 3 – Comprimento e massas fresca e seca de embriões de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) durante o osmocondicionamento em solução de PEG (-0,4 MPa). Massa fresca: □; massa seca: ○; comprimento: △.

Figure 3 – Seed length and fresh and dry matters of tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) during osmoconditioning in PEG solution (-0.4 MPa). Fresh matter: □, dry matter: ○; length: △.

Quadro 2 – Resumo da análise de variância de massas fresca e seca e do comprimento de embriões de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*)

Table 2 – Summary of ANOVA of tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) embryo length and fresh and dry matters

FV	GL	Quadrado Médio		
		Peso Fresco	Peso Seco	Comprimento
Tempo	2	0,6732.10 ⁻² **	0,1447.10 ⁻⁴ ns	0,9706.10 ⁻² **
Resíduo	12	0,2151.10 ⁻⁴	0,6533.10 ⁻⁵	0,7019.10 ⁻³
CV (%)	-	4,42	4,46	3,62

** F significativo a 1% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

A análise das alterações na composição da membrana que recobre o embrião mostra que os teores dos açúcares arabinose e xilose reduziram-se significativamente quando as sementes foram mantidas por 120 horas em solução de PEG, seguidas de lavagem (Quadro 3). Somente a galactose não foi detectada naquele tempo. A arabinose mostra-se como a principal constituinte da membrana. É interessante ressaltar a diferença na composição da membrana com e sem lavagem em água antes das análises. Todos os açúcares analisados nas membranas sem lavagem tiveram aumentos nos seus teores, quando no PEG, indicando erradamente aumento nos seus teores como deposição na membrana. Esses resultados permitem depreender que durante o período de embebição há remoção de açúcares do eixo embrionário ou dos cotilédones, que ficam retidos na membrana. Comparando esses dados com aqueles da Figura 4, percebe-se

que a atividade da enzima α -galactosidase no embrião, quando no PEG, mantém-se constante nas primeiras 96 horas, aumentando em seguida. A análise estatística mostrou que houve diferença significativa a 1% de probabilidade, na atividade da enzima, entre os tempos de avaliação. Entretanto, a atividade da enzima não parece ser o provável componente metabólico que justificaria a redução na galactose da membrana. É interessante ressaltar que testes realizados não indicaram a presença da enzima na membrana, havendo a necessidade da presença do embrião para essa atividade ou mesmo a síntese de uma isoenzima de α -galactosidase específica para atuar na membrana.

Considerando os valores dos açúcares redutores da parede celular do embrião (Quadros 4 e 5, Figura 5), conclui-se que a ativação de α -galactosidase (Figura 4),

muito embora tenha mostrado diferença significativa ao longo de 120 horas de observação, não parece ser em nível de parede celular, pois a análise estatística não detectou diferença significativa entre os três tempos de avaliação de galactose na fração pécica ou hemicelulósica. Observa-se que houve aumentos significativos para a ramnose, arabinose e xilose na fração pécica, percebendo-se que há deposição de açúcares redutores com a permanência em solução de PEG, especialmente em relação à arabinose, que apresentou aumento mais que

Quadro 3 - Teores de açúcares redutores (mg/g matéria seca) em membrana de sementes de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) em solução de PEG (-0,4 MPa)
Table 3 - Membrane reducing sugar contents (mg/g dry matter) in seeds of tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) in PEG solution (-0.4 MPa)

Açúcar	Tempo (dias)	Sem Lavagem	Com Lavagem
Ranose	0	16,99 A	12,42 B
	3	16,14 A	13,19 B
	5	22,53 A	10,63 B
Arabinose	0	34,68 A	35,18 A
	3	40,71 A	37,22 A
	5	55,47 A	30,63 B
Xilose	0	12,07 A	11,58 A
	3	12,50 A	11,13 B
	5	15,16 A	10,31 B
Galactose	0	13,63	12,50 (3)
	3	14,23	12,81 (2)
	5	18,64	

Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste F ($P < 0,05$).

Os valores entre parênteses correspondem ao número de repetições.

Quadro 4 - Resumo da análise de variância de teores de açúcares redutores (mg/g massa seca) na pectina e hemicelulose de parede celular de embriões de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) mantidas em solução de PEG (-0,4 MPa)

Table 4 - ANOVA summary in the cellular wall reducing sugar contents (mg/g dry matter) of pectine and hemicellulose in tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) embryos, kept in PEG solution (-0.4 MPa)

FV	GL		Quadrado Médio				
			Ranose	Arabinose	Xilose	Galactose	Glicose
Tempo	2	Pectina	0,2861.10 ⁻² *	0,1143*	0,4780.10 ⁻² *	0,7707.10 ⁻² ns	-
Resíduo	9		0,5033.10 ⁻³	0,0239	0,8589.10 ⁻³	0,2622.10 ⁻²	-
CV (%)	-		24,29	36,99	25,07	32,11	-
Tempo	2	Hemi-celulose	0,1286.10 ⁻² *	0,1120.10 ⁻¹ ns	0,1117.10 ⁻² ns	0,1264.10 ⁻¹ ns	0,0499ns
Resíduo	9		0,1872.10 ⁻³	0,8263.10 ⁻²	0,4008.10 ⁻²	0,8508.10 ⁻²	0,0318
CV (%)	-		9,51	20,18	17,98	35,10	37,70

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

dobrado nas primeiras 72 horas. Também chama a atenção a ausência da glicose na fração pécica. O comportamento desse açúcar na hemicelulose é semelhante aos demais, na mesma fração, cujas variações ao longo do tempo não diferiram significativamente (Quadro 4), com exceção da ramnose, que apresentou decréscimo significativo em seu conteúdo, em PEG. A manose apareceu na fração hemicelulose somente com 120 horas de embebição em solução de PEG, com valor de 0,15 mg/g de massa seca. Assim, conclui-se que há deposição de açúcares na parede celular (Quadro 5), muito embora não se perceba aumento significativo no mesmo (Figura 3). Resultados obtidos por Qouta et al. (1999) com sementes de *Brassica oleracea* mostram que houve pequeno aumento de açúcar depositado na parede somente após a retirada do meio osmótico.

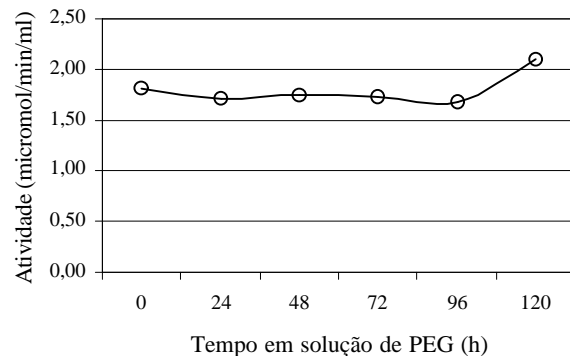


Figura 4 - Atividades de α -galactosidase em embriões de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) mantidos em solução de PEG (-0,4 MPa).

Figure 4 - Embryo α -galactosidase activity of tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) kept in PEG solution (-0.4 MPa).

Quadro 5 - Teores médios de açúcares redutores (mg/g massa seca) da parede celular de embrião de sementes de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) em solução de PEG (-0,4 MPa)

Table 5 - Mean contents of cell wall reducing sugars (mg/g dry matter) in tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) embryos kept in PEG solution (-0.4 MPa)

Componentes	Tempo (h)	Ramnose	Arabinose	Xilose	Galactose	Glicose
Pectina	0	0,062	0,224	0,077	0,109	-
	72	0,104	0,494	0,133	0,186	-
	120	0,111	0,535	0,141	0,184	-
Hemicelulose	0	0,159	0,485	0,357	0,286	0,468
	72	0,150	0,390	0,334	0,199	0,346
	120	0,124	0,477	0,366	0,304	0,569

Analisando-se os açúcares redutores nos cotilédones e no eixo embrionário não se detectou a presença de nenhum outro açúcar que não a glicose (Figura 6). Esta, por sua vez, decresceu significativamente em ambos os compartimentos nas primeiras 96 horas no PEG, com tendência de aumento em seguida. Como a utilização desse açúcar pela deposição na parede celular não foi proporcional à sua degradação, pode-se supor que ele foi utilizado em outras funções, como a respiração, por exemplo, não ocorrendo sua retenção pela membrana (Quadro 3). Não deixa de ser intrigante o fato de se detectar a presença de um único açúcar redutor em ambos os compartimentos. Provavelmente ele exerce função osmótica, permitindo maior absorção de água na fase inicial de embebição.

Os teores de oligossacarídeos nos cotilédones estão na Figura 7. Vê-se que a sacarose é o maior componente entre os demais, apresentando redução significativa

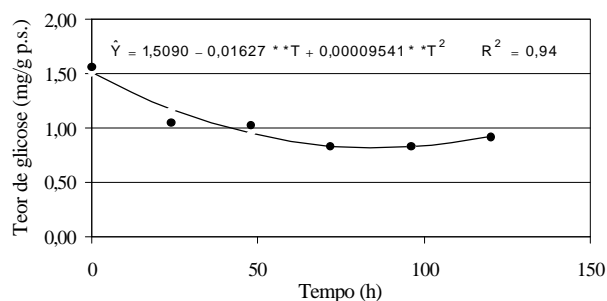


Figura 6 - Teores de glicose (mg/g massa seca) em sementes de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) em solução de PEG (-0,4 MPa).

Figure 6 - Glucose content (mg/g dry matter) in tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) seeds in PEG solution (-0.4 MPa).

durante o período em que as sementes estiveram na solução do PEG. Não se observaram maiores variações na concentração da rafinose durante as primeiras 96 horas, porém ela foi inteiramente consumida em 120 horas. O seu destino é desconhecido, tendo em vista que a frutose não foi detectada em nenhuma amostra de qualquer tempo de embebição. A glicose, por sua vez, teve sua concentração decrescente a partir das primeiras 24 horas (Figura 6). A galactose poderia ter sido incorporada, em parte, na parede celular, onde não se detectaram variações significativas nem na pectina e nem na hemicelulose (Quadro 4), mas apresentou tendência de aumento na membrana (Quadro 3), naquelas não lavadas, em 120 horas, e desapareceu nas lavadas, no mesmo tempo, mostrando claramente que foi eliminada durante o tempo de embebição. Os valores de estaquiose decresceram significativamente durante o período em que esteve no PEG. Desta forma, a estaquiose e a sacarose mostraram ser os primeiros oligossacarídeos utilizados durante a pré-emergência da radícula. Observa-se que não existe um padrão de comportamento entre as diferentes espécies, quanto ao consumo de oligossacarídeos e de açúcares redutores. Diferentemente do tamboril-da-mata, sementes de *Brassica campestris* (Baleroni et al., 1997) e de *Dimorphandra mollis* (Buckeridge et al. 1995) degradam sacarose, rafinose e estaquiose antes da protusão da radícula. Em sementes de *Pinus lambertiana*, observou-se que no início da embebição a sacarose aumentou 50%, a estaquiose decresceu e a glicose aumentou. A rafinose decresceu somente após a germinação (Murphy & Hammer, 1988). Em sementes de *Senna macranthera*, a concentração de açúcares redutores permaneceu constante, enquanto o teor de amido diminuiu (Borges et al., 2001). Uma parte do desaparecimento dos açúcares pode ser explicada pela suposição de Jensen

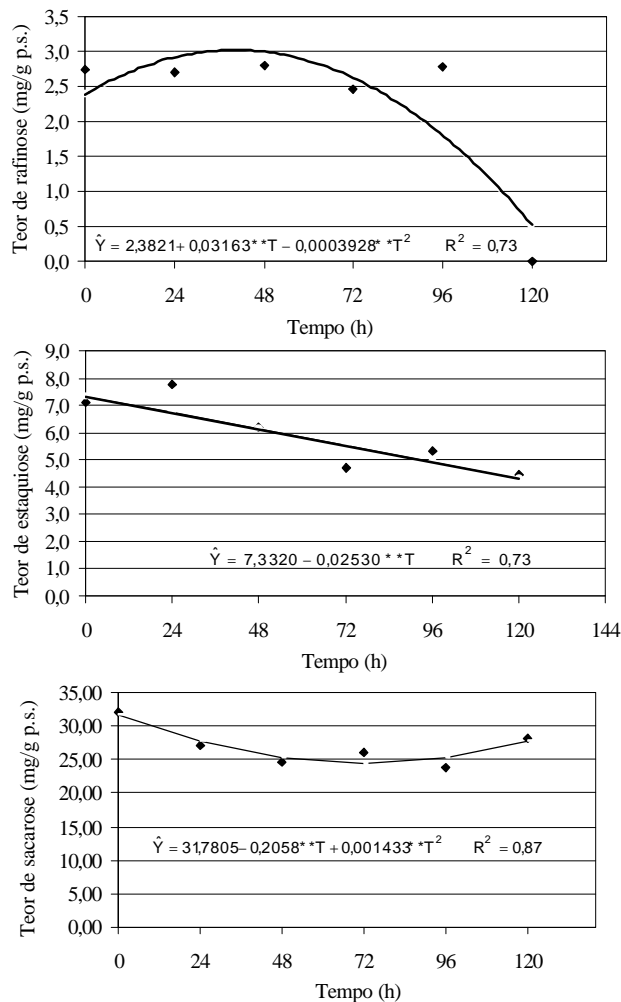


Figura 7 – Teores de oligossacarídeos (mg/g massa seca) em cotilédones de sementes de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) em solução de PEG (-0,4 MPa).

Figure 7 – Cotyledon oligosaccharide contents (mg/g dry matter) in tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) seeds kept in PEG solution (-0.4 MPa).

(1985), segundo o qual a rota da biossíntese de amino-ácidos aromáticos e de fenóis depende do metabolismo do carboidrato como fonte inicial de substrato. Muito embora o autor não apresente dados de tais conversões em sementes, o mesmo levanta a possibilidade dessa ocorrência no cloroplasto de folha. Aparentemente não houve interconversão acentuada entre açúcares e proteínas, tendo em vista o decréscimo significativo das segundas (Figura 8). Diferentemente, Smith & Coob (1992) verificaram aumento significativo no teor de proteína durante o osmocondicionamento de sementes

de *Capsicum annum*. Por outro lado, Qouta et al. (1999) somente observaram queda no teor de proteínas após dois dias do final da embebição, com o que concordam GARCIA et al. (1995), segundo os quais os embriões de *Zea mays* sintetizam ADN, ARN e proteínas em maiores quantidades após remoção da solução osmótica. Segundo Bray (1995), o tipo de proteína formada, e não a taxa de sua formação, seria responsável pela germinação, o que foi confirmado por Borges & Borges (1996) com sementes de *Dalbergia nigra*, durante o osmocondicionamento, quando não encontraram correlação entre o teor de proteína e a germinação das sementes. Por outro lado, Fujikura & Karssen (1992) verificaram que proteínas relacionadas ao vigor expressam-se mais em sementes osmocondicionadas, havendo correlação entre essa expressão e taxa de germinação.

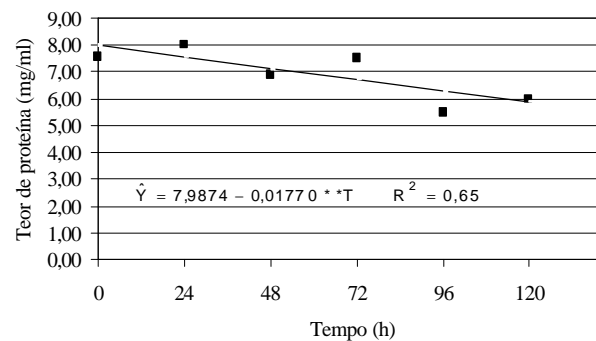


Figura 8– Teor de proteína (mg/g massa fresca) em embriões de sementes de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) mantidos em solução de PEG (-0,4 MPa).

Figure 8 – Embryo protein content (mg/g dry matter) in tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*) seeds kept in PEG solution (-0.4 MPa).

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, chegou-se às seguintes conclusões:

- O osmocondicionamento das sementes de *Platymiscium pubescens* provoca entumescimento e expansão do eixo embrionário, associado a alterações de açúcares redutores na parede celular, resultando em aumento do comprimento do eixo embrionário.

- Não se detectou clara participação de proteínas e modificações em mono e oligossacarídeos nas alterações físicas observadas durante o osmocondicionamento.

- A atividade de α -galactosidase não se mostrou responsável pelas alterações na composição da parede celular ou nos teores dos açúcares.

- A estaquiose e a sacarose mostraram ser os primeiros oligossacarídeos degradados durante a protusão da radícula.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C. et al. **Eletrforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1991. 242 p.

ARMSTRONG, H.; McDONALD, M. B. Effect of osmoconditioning on water uptake and electrical conductivity in soybean seeds. **Seed Science Technology**, v. 20, p. 391-400, 1992.

BALERONI, C. R. S. et al. Isocitrato lyase activity and mobilization of lipids and carbohydrate in cotyledons of canola. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 9, n.3, p. 189-192, 1997.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds - ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. London: Academic Press, 1998. 666 p.

BEWLEY, J. D. Breaking down the walls – a role for endo- β -mannase in release from seed dormancy? **Trends Plant Science**, v. 2, p. 464-469, 1997.

BLACK, M. et al. Carbohydrate metabolism in the developing and maturing wheat embryo in relation to its desiccation tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, n. 295, p. 161-169, 1996.

BORGES, E. E. L.; BORGES, R. C. G. Modificações fisiológicas em sementes osmocondicionadas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All.). **Revista Árvore**, v. 20, n. 2, p. 147-154, 1996.

BORGES, E. E. L.; BORGES, R. C. G.; BUCKERIDGE, M. S. Alterações nas composições de carboidratos e de ácidos graxos em sementes de jacarandá-da-bahia osmocondicionadas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 1, p. 10-16, 2000.

BORGES, E. E. L. et al. Crescimento e mobilização de carboidrato em embrião de sementes de fedegoso (*Senna macranthera* Irwin et Barneby) durante a germinação. **Revista Cerne**, v. 7, n. 1, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAY, C. M. Biochemical process during the osmopriming of seeds. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Eds.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 767-789.

BUCKRIDGE, M. S.; PANEGASSI, V. E.; DIETRICH, S. M. C. Storage carbohydrate mobilization in seeds of *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae) following germination. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 18, n. 2, p. 171-175, 1995.

CARPITA, N. G.; GILBEAUT, D. M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **Plant Physiology**, v. 3, p. 1-3, 1993.

DELL'AQUILLA, A. Water uptake and protein synthesis in germinating wheat embryos under the osmotic stress of polyethylene glycol. **Annals of Botany**, v. 69, p. 167-171, 1992.

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.**, v.109, p.937-942, 1984.

FUJIDURA, Y.; KARSSSEN, C. M. Effects of controlled deterioration and osmopriming on protein synthesis of cauliflower seeds during early germination. **Seed Science Research**, v. 2, p. 23-31, 1992.

GARCIA, F. C.; JIMENEZ, L. F.; VAZQUEZ-RAMOS, J. M. Biochemical and cytological studies on osmoprimed maize seeds. **Seed Science Research**, v. 5, p. 15-23, 1995.

HULBERT, C. et al. Inhibition of protein synthesis in loblolly pine hypocotyls by mannitol-induced water stress. **Tree Physiology**, v. 4, p. 19-26, 1988.

JENSEN, R. A. The shikimate/arogenate pathway: link between carbohydrate metabolism and secondary metabolism. **Physiologia Plantarum**, v. 66, p. 164-168, 1985.

KHAN, A. A.; KARSSSEN, C. M. Induction of secondary dormancy in *Chenopodium bonnes-henricus* L. seeds by osmotic and growth regulators. **Plant Physiology**, v. 66, p. 175-181, 1980.

KHATRI, R.; SETHI, V.; KAUSHIK, A. Inter-population variations of *Kochia indica* during germination under different stress. **Annals of Botany**, v. 67, p. 413-415, 1991.

KLITGAARD, B. B. **Systematics of *Platymiscium* (Leguminosae: Papilionoideae: Dalbergieae): taxonomy, morphology, ontogeny and phylogeny**. Aarhus: University of Aarhus, 1995. 168 p. Thesis (Ph.D.) – University of Aarhus, 1995.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352 p.

MARANGON, L. C. **Florística e fitossociologia de área de floresta estacional semidecidual visando dinâmica de espécies florestais arbóreas no município de Viçosa – MG**. São Carlos: UFSCAR, 1999. 145 p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, 1999.

MODI, A. T.; McDONALD, M. B.; STREETER, J. G. Soluble carbohydrates in soybean seeds during development and imbibition. **Seed Science & Technology**, v. 28, n. 1, p. 115-127, 2000.

MURPHY, J.B.; M.F. HAMMER. Respiration and soluble sugar metabolism in sugar pine embryos. **Physiology Plantarum**, v. 74, p. 95-100, 1988.

QOUTA, L. A. et al. Changes in seed reserves and cell-wall composition of component organs during germination of cabbage (*Brassica oleracea*) seeds. **Journal Plant of Physiology**, v. 138, n. 6, p. 700-707, 1999.

REZENDE, S. T. **Teores de oligossacarídeos de rafinose em soja, purificação e caracterização de invertase e alfa-galactosidase de microorganismos**. Brasília: 1998. 166 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, 1998.

SAMIMY, C.; KHAN, A. A. Secondary dormancy, growth regulators effects and embryo growth potential in curly dock (*Rumex crispus*) seeds. **Weed Sci.**, v. 31, p. 153-158, 1983.

SMITH, P. T.; COOB, B. G. Physiological and enzymatic characteristics of primed, redried, and germinated pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **Seed Science of Technology**, v. 20, p. 503-513, 1992.

SPYROPOULOS, C. G.; LAMBIRIS, M. P. Effect of water stress on germination and reserve carbohydrate metabolism in germination seeds of *Ceratonia siliqua* L. **Journal of Experimental of Botany**, v. 31, n. 122, p. 851-857, 1980.

TOOROP, P. E.; Van AELST, A. C.; HILHORST, H. W. M. The second step of the biphasic endosperm cap weakening that mediates tomato (*Lycopersicon esculentum*) seed germination is under control of ABA. **Journal Experimental of Botany**, v. 51, n. 349, p. 1371-1379, 2000.