

Análise Bioquímica e Condutividade Elétrica de Sementes de Maracujá Submetidas a Envelhecimento Acelerado

Cristina Ferreira Larré¹, Ana Paula dos Santos Zepka² e Dario Munt de Moraes³

Introdução

A espécie *Passiflora alata* Dryander, conhecida popularmente por maracujá-doce [1] ou maracujá-guaçu [2], é considerada nativa do Brasil e se caracteriza por apresentar frutos com elevado valor nutritivo, boas qualidades gustativas, tamanho e aparência externa de grande aceitação; mostrando assim, ser uma opção apropriada para ocupar o mercado interno e externo de frutos *in natura* [3].

Em sementes de maracujá redondo amarelo, obtidas comercialmente, foram realizadas as análises bioquímicas de teor de proteínas solúveis totais e atividade da enzima α -amilase, assim como, a condutividade elétrica objetivando determinar o efeito de três tratamentos: sem envelhecimento acelerado (EA), EA de 24 e 48 horas, na avaliação do potencial fisiológico das sementes dessa espécie.

O teste de envelhecimento acelerado avalia a qualidade de sementes submetidas à temperatura e umidade relativa do ar elevadas, baseado no fato de que a taxa de deterioração das sementes aumenta consideravelmente quando submetidas a tais condições, além disso, o teste pode ser considerado como um dos mais sensíveis para a avaliação do vigor, dentre os disponíveis na atualidade [8].

O teste de envelhecimento acelerado é reconhecido como um dos mais utilizados para a avaliação do potencial fisiológico de milhares de sementes, fornecendo dados com amplo grau de consistência [4].

Material e métodos

A. Procedimento

O experimento foi conduzido no segundo semestre do ano de 2005, no Laboratório de Fisiologia de Sementes, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, com sementes de maracujá redondo amarelo, obtidas comercialmente.

As sementes utilizadas foram submetidas ao envelhecimento acelerado, acondicionadas em saquinhos e colocadas em câmara de envelhecimento acelerado com tela de alumínio, sendo uniformemente distribuídas à temperatura de 40 °C e 100% de umidade relativa por períodos de zero (sem EA), 24 e 48 horas.

B. Análises bioquímicas e condutividade elétrica

O teor de proteínas solúveis totais foi determinado em amostras de 250mg de sementes secas e moídas. A extração foi feita utilizando-se 20ml de KH_2PO_4 , pH 6,8, com posterior agitação e centrifugação a 3000rpm por 15 minutos. Após coletar o sobrenadante, retirou-se uma alíquota de 0,1ml do extrato e adicionou-se 5,0ml do reagente de cor (Comassie Blue). As proteínas solúveis totais foram determinadas espectrofotometricamente, conforme metodologia descrita por Bradford [5] e os resultados expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ de massa seca de semente.

A atividade da enzima α -amilase foi determinada na semente no tempo zero, aos sete e 21 dias após a semeadura em papel mata borrão, utilizando-se três repetições de 0,5g de sementes (tempo zero) e de plântulas nos demais estágios, por tratamento. A atividade da enzima foi determinada espectrofotometricamente no comprimento de onda de 620nm, conforme AOAC [6] sendo os resultados expressos em mg de amido hidrolisado g^{-1} semente.

A condutividade elétrica foi determinada nos tempos de três, seis e 24 horas de incubação, utilizando-se três subamostras de 25 sementes com quatro repetições para cada tratamento; as quais foram embebidas em 80ml de água deionizada à temperatura constante de 20 °C. Após cada período, a condutividade elétrica da solução foi determinada em um *condutivímetro % Digimed MD-31*, e os resultados expressos em $\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$ de semente conforme Vieira & Krzyzanowski [7].

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições estatísticas. As médias foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), sendo previamente submetidas à análise de variância.

Resultados e Discussão

Nesse experimento foi observado que o teor de proteína solúvel em sementes de maracujá redondo amarelo submetidas aos três períodos de EA decresceu significativamente à medida que o tempo de exposição ao envelhecimento acelerado aumentou (Tabela 1) enquanto que o tratamento sem EA conservou mais alto esse teor, confirmando a precisão deste teste pelo baixo coeficiente

1. Bióloga, aluna de mestrado em Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Campus Capão do Leão, s/n, Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900. E-mail: cristina_larre@yahoo.com.br

2. Bióloga, aluna de mestrado em Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Campus Capão do Leão, s/n, Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900.

3. Professor Adjunto do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Campus Capão do Leão, s/n, Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900.

de variação. Já a atividade da enzima α -amilase em sementes e plântulas de sete e 21 dias de maracujá redondo amarelo, submetidas ao EA, foi maior na semente e diminuiu com o aumento do tempo de vida da plântula (Tabela 2). Das & Sem-Mandi [9], citando resultados de Shaw & Ou-Lee, trabalhando com sementes de arroz, concluíram que a atividade da α -amilase é necessária para a germinação das sementes.

O teste de condutividade elétrica visa avaliar os íons na água de embebição e o vigor das sementes, baseando-se no fato de que o vigor está relacionado à integridade dos sistemas de membranas celulares [10]. Os testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica são considerados os testes de vigor mais indicados para a composição de um programa de controle de qualidade [11]. Assim sendo, o envelhecimento acelerado por 48 horas teve efeito danoso às membranas celulares, ocasionando alterações na integridade delas devido a maior exposição das sementes a condições adversas de umidade e temperatura (Tabela 3).

Na tabela 1, observa-se que como entre os tratamentos não houve variação significativa, somente o teste de Tukey bastou para avaliar o teor de proteína na semente.

Os principais resultados das análises da variação para as variáveis atividade da enzima α -amilase e condutividade elétrica são apresentados na Tabela 4, na qual se verifica que a interação dos fatores “tratamento” e “tempo” foi significativa para as duas variáveis. Este resultado justifica a comparação das médias de um fator dentro de cada nível do outro, conforme demonstrado nas tabelas 2, 3 e 4.

Estes dados confirmam a hipótese de que a exposição ao envelhecimento acelerado pode reduzir a qualidade fisiológica e também a viabilidade das sementes.

B. Conclusão

A condução dos testes de análises bioquímicas das sementes de maracujá submetidas a envelhecimento acelerado pelo método tradicional (temperatura de 40 °C e 100% de umidade relativa) mostrou-se eficiente para monitorar o comportamento dessa espécie e para avaliar o seu potencial fisiológico.

Referências

- [1] MEDINA, J.C. 1980. Cultura. In: GARCIA, J.L.M. *et al.* Maracujá: da cultura ao processamento e comercialização. Campinas: ITAL. Cap.1, p.5-105.
- [2] LEITÃO FILHO, H.F.; ARANHA, C. 1974. *Botânica do maracujazeiro*. In: Simpósio da cultura do maracujá, 1, 1971, Campinas. Simpósio... Campinas: S.B.F. p.1-13.
- [3] VASCONCELLOS, M.A.S. 1991. *Biologia floral do maracujá doce (Passiflora alata Dryander) nas condições de Botucatu-SP*. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Horticultura, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, São Paulo.
- [4] TEKRONY, D.M. 1995. Accelerated aging. In: Van de Venter, H.A. (Ed.). *Seed vigour testing seminar*. Copenhagen: ISTA. p.53-72.
- [5] BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, New York, v.72, n.1-2, p.248-254.
- [6] ASSOCIATION OFFICIAL OF ANALYTICAL CHEMISTS. 1975. *Official methods of analysis*. 12ª edição, Washington. 1094p.
- [7] VIEIRA, R.D. & KRZYŻANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D. & FRANÇA-NETO, J.B.F. (ed.) 1999. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES. 218p.
- [8] MARCOS FILHO, J. 1999b. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES. Cap.3, p.1-24.
- [9] DAS, G. & SEM-MANDI, S. 1992. Scutellar amilase activity in naturally aged and accelerated aged wheat seeds. *Annals of Botany*, London, v.69, n.6, p.497-501.
- [10] MARCOS FILHO, J. 1987. *Avaliação da qualidade de sementes*. Piracicaba: FEALQ. 320p.
- [11] MARCOS FILHO, M.F. 2000. Tamanho da semente e o teste de envelhecimento acelerado para soja. *Revista Scientia Agrícola*, v.57, n.3, p.473-482.

Tabela 1. Teor de proteína solúvel em sementes de maracujá (*Passiflora alata* Dryander) submetidas aos tratamentos sem envelhecimento acelerado (EA), 24 e 48 horas de EA

Tratamento	Proteína solúvel ($\mu\text{g g}^{-1}$ semente)
Sem EA	193,05 A*
EA – 24 h	191,01 A
EA – 48 h	160,34 B
CV (%)	3,03

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Atividade da enzima α -amilase em sementes e plântulas de 7 e 21 dias, de maracujá redondo amarelo (*Passiflora alata* Dryander), submetidas aos tratamentos sem envelhecimento acelerado (EA), 24 e 48 horas de EA

Tratamento	α -amilase (mg g^{-1} semente ⁻¹)		
	Zero	7 dias	21 dias
Sem EA	1,875 aA*	1,306 bB	0,447 cB
EA – 24 h	1,851 aA	1,411 bAB	0,320 cB
EA – 48 h	1,834 aA	1,427 bA	1,059 cA
CV (%)	1,56	3,99	6,20

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (tratamento) na vertical e minúscula (atividade da enzima) na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Condutividade elétrica ($\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$) de sementes de maracujá redondo amarelo (*Passiflora alata* Dryander) submetidas aos tratamentos sem envelhecimento acelerado (EA), 24 e 48 horas de EA, com 3, 6 e 24 horas de embebição

Tratamento	3 horas	6 horas	24 horas
Sem EA	498,0 cB*	779,3 bB	1442,3 aB
EA – 24 h	529,0 bA	779,0 bA	1417,3 aA
EA – 48 h	1238,0 cB	1112,5 bB	1806,8 aB
CV (%)	8,31	5,42	7,08

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (tratamento) na vertical e minúscula (condutividade elétrica) na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Principais resultados das análises da variação e testes de significância para as variáveis atividade da enzima α -amilase e condutividade elétrica.

Fonte de variação	GL	Atividade		Condutividade	
		QM	Prob.>F	QM	Prob.>F
Tratamento	2	228.016,67	<0,0001	91,39	<0,0001
Tempo	2	4.738.702,44	<0,0001	220,16	<0,0001
Trat. x Tempo	4	208.211,10	<0,0001	6,17	<0,0001
Resíduo	27	47.632,50		16,55	
Média geral		1.281,24		10,67	
CV (%)		3,28		7,34	