

## NOTA CIENTÍFICA

### COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEMENTES DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.) SUBMETIDAS A ESTRESSE SALINO NA GERMINAÇÃO<sup>1</sup>

RODRIGO NASCIMENTO DA SILVA<sup>2</sup>, GISELA LOUREIRO DUARTE<sup>3</sup>, NEI FERNANDES LOPES<sup>4</sup>,  
DARIO MUNT DE MORAES<sup>5</sup>, ANA LÚCIA DE ALMEIDA PEREIRA<sup>6</sup>

**RESUMO** – O objetivo do experimento foi determinar algumas alterações bioquímicas de sementes de duas cultivares de trigo (BRS 177 e BRS 179) sob influência de diferentes níveis de sal (zero, 15, 30, 45 e 60mM NaCl) no processo de germinação. O ensaio foi realizado para avaliar alterações na atividade da  $\alpha$ -amilase e nos teores de amido, açúcares redutores, carboidratos solúveis totais e proteínas causadas pelo estresse salino. A atividade da  $\alpha$ -amilase e os teores carboidratos solúveis totais, açúcares redutores e proteínas são reduzidos, porém o conteúdo de amido aumenta com o incremento da salinidade, em ambas cultivares de trigo. Em todas as concentrações de NaCl, os componentes químicos nas sementes da cultivar BRS 179 são maiores do que os da cv. BRS 177, mostrando ser a BRS 179 mais tolerante à salinidade.

Termos para indexação: *Triticum aestivum* L.,  $\alpha$ -amilase, amido, açúcares, proteínas, alterações bioquímicas, sal.

#### CHEMICAL COMPOSITION OF WHEAT (*Triticum aestivum* L.) SEEDS SUBMITTED TO SALINE STRESS

**ABSTRACT** – The objective of the experiment was to determine some biochemical changes in two wheat cultivars (BRS 177 and BRA 179) under the influence of different salt levels ( zero, 15, 30, 45, and 60mM NaCl). The experiment was carried out to evaluate the effect of saline stress on  $\alpha$ -amylase activity and starch, sugar reducers, total soluble carbohydrates and protein contents. The  $\alpha$ -amylase activity and the contents of total soluble carbohydrates, sugar reducers and proteins decreased but starch content increased with the increase in salinity for both cultivars. At all NaCl concentrations, the chemical components in the seeds of the BRS 179 cultivar were higher than the ones of the BRS 177 cultivar, showing that the BRS 179 cultivar is more tolerant to salinity.

Index terms: *Triticum aestivum* L.,  $\alpha$ -amylase, starch, sugars, proteins, biochemical changes, salt.

<sup>1</sup>Submetido em 01/02/2006. Aceito para publicação em 20/11/2007. Parte da dissertação de mestrado apresentado à UFPEL/RS do primeiro autor.

<sup>2</sup>Químico, M.S. of. Titular da Secretaria Estadual de Educação/RS. Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia/Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal 354, 96010-900, Pelotas/RS, e-mail: digohn@ig.com.br

<sup>3</sup>Bióloga, M.S. Prof<sup>a</sup>. Titular do Centro Federal de Educação Tecnológica

de Pelotas/RS, Caixa Postal 354, Pça. 20 de setembro 455, 960000-000, Pelotas/RS, e-mail: giseladuarte@gmail.com.br.

<sup>4,5</sup>Eng<sup>o</sup>.Agr<sup>o</sup>, Prof. do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia/Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal 354, 96010-900. Pelotas/RS, e-mail: neilopes@ufpel.edu.br

<sup>6</sup>Bióloga, M.S. Prof<sup>a</sup>. Titular da Secretaria Municipal de Educação. Caixa Postal 354, Pça. 20 de setembro 455, 960000-000, Pelotas/RS, e-mail: biol.analucia@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

O aproveitamento de algumas áreas como as de regiões áridas e semi-áridas esbarra em alguns obstáculos como a salinidade e o potencial de sodicidade da água, utilizada na irrigação, cuja finalidade é proporcionar umidade adequada para o crescimento e o desenvolvimento das plantas, visando aumentar a produtividade e, conseqüentemente, reduzir os efeitos da estiagem (Ribeiro et al., 2001).

A proporção relativa dos constituintes químicos, contudo, pode variar de acordo com a manipulação genética, práticas agrônômicas, manejo pós-colheita e de armazenamento, idade da semente e tratamento no processo aplicado na preparação das sementes para o consumo humano. É influenciada, ainda, pelas condições do ambiente a que foram submetidas as plantas que as originaram (Carvalho & Nakagawa, 1988). Também, a salinidade pode alterar ou afetar significativamente a composição química das sementes, prejudicando ou dificultando a germinação, a qual depende principalmente das substâncias de reserva.

A semente apresenta composição química bastante variável, assim como os demais órgãos da planta. A semente, por ser um órgão formado ao final do ciclo vital da planta, caracteriza-se por apresentar, basicamente, dois grupos de componentes químicos: os que ocorrem normalmente como constituintes em todos os tecidos da planta e os que são materiais de reserva. Tais componentes originam-se de elementos acumulados em outras partes da planta que, por translocação, são enviados a esse órgão, ou fotossintetizados, por ocasião da formação e do desenvolvimento da semente (Carvalho & Nakagawa, 1988).

O conhecimento da composição química é de interesse prático da tecnologia de semente, pois tanto o vigor como o potencial de armazenamento de semente são influenciados pelo teor dos compostos presentes (Sinclair & Wit, 1975). Outro aspecto importante diz respeito à influência da composição química da semente no gasto das plantas em energia para produzi-las (Sinclair & Wit, 1975).

Os hidratos de carbono são, quantitativamente, os componentes mais importantes nos cereais, constituindo aproximadamente 83 % da matéria seca total da semente de trigo, cevada, centeio, milho, sorgo e arroz e cerca de 79% na aveia. Nos cereais, o principal hidrato de carbono é o amido, constituindo aproximadamente 65 % da semente de trigo e 79 % do seu endosperma (Dantas & Marinho, 2002)

O amido, no endosperma da semente, é hidrolisado pela  $\alpha$ -amilase, causando a produção de maltose, substrato solúvel, disponível para o desenvolvimento do embrião. A  $\alpha$ -amilase é uma das enzimas hidrolíticas mais proeminentes

na semente, o qual tem sua síntese “de novo” induzida pela giberelina na camada de aleurona, cerca de um dia após a absorção de água (Bewley & Black, 1978)

Outro importante componente químico é a proteína, encontrada em todos os tecidos da semente, em maiores concentrações no embrião.

A composição química da semente durante o processo germinativo pode ser alterada conforme as condições ambientais, a que a semente é submetida. O trabalho teve por objetivo identificar algumas alterações bioquímicas oriundas da ação da salinidade na germinação de sementes de trigo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas.

Sementes de trigo das cultivares BRS 177 e BRS 179 foram embebidas por uma hora em soluções de cloreto de sódio, nas concentrações de zero; 15; 30; 45 e 60 mM. Posteriormente, as sementes foram submetidas à germinação em papel substrato marca germitest umedecido com água destilada, na proporção 2,5 vezes a sua massa inicial, e mantidas em germinador à temperatura controlada de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Os efeitos da salinidade sobre a atividade total da  $\alpha$ -amilase e os teores de amido, carboidratos solúveis totais, açúcares redutores e proteínas foram determinados nos tempos zero, quatro e oito dias após a germinação (DAG), usando cinco sementes para o tempo zero e cinco plântulas para quatro e oito DAG.

A determinação da atividade total da  $\alpha$ -amilase foi efetuada em extratos, segundo a metodologia específica, e a leitura das amostras em espectrofotômetro a 620nm (AOAC, 1965) e os resultados expressos em mg de amido hidrolisado  $\cdot \text{g}^{-1}$  de semente  $\cdot \text{min}^{-1}$ .

Os carboidratos solúveis totais e os açúcares redutores em 0,5 g de sementes ou plântulas foram determinados pelo método da antrona (Clegg, 1956). Do resíduo dos centrifugados, após a extração dos açúcares, foi quantificado o amido pelo método descrito por McCready *et al.* (1950). As proteínas solúveis foram dosadas pela metodologia descrita por Bradford (1976).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial ( $2 \times 3 \times 5$ ), sendo duas cultivares, três épocas de determinação e cinco concentrações salinas, com três repetições. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade, e depois submeteu-se à análise de regressão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade total da  $\alpha$ -amilase diminuiu significativamente ( $P \leq 0,05$ ) com o incremento da concentração salina, para ambas as cultivares, independentemente do tempo de determinação. Entretanto, a maior atividade enzimática ocorreu aos quatro dias, em virtude da síntese “de novo” da  $\alpha$ -amilase, e a menor aos oito dias após a germinação, possivelmente devido ao esgotamento das reservas de amido no endosperma das sementes (Figura 1).

O estresse salino retarda a síntese e a atividade enzimática da  $\alpha$ -amilase, ocorrendo síntese “de novo” dessa enzima, ao

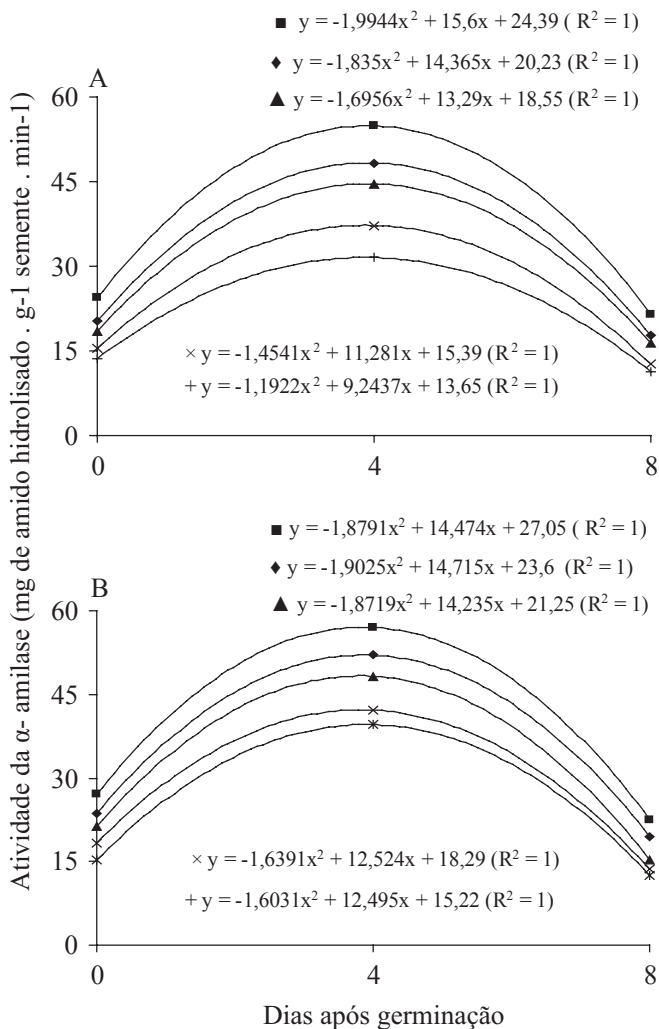


FIGURA 1. Atividade de  $\alpha$ -amilase nas cultivares de trigo BRS 177 (A) e BRS 179 (B), em função do aumento da concentração salina, sendo zero (■), 15(◆), 30(▲), 45(×) e 60 (+) mM de NaCl) determinadas aos zero, quatro e oito dias após a germinação.

longo da germinação e do desenvolvimento da plântula. Em sementes de feijão corda, a síntese da  $\alpha$ -amilase é retardada pela salinidade quando comparada à testemunha (Neto et al., 1998).

A salinidade afetou negativamente e de maneira significativa ( $P \leq 0,05$ ) a degradação do amido das sementes de trigo, nas duas cultivares (Figura 2). Comparando a atividade da  $\alpha$ -amilase descrita anteriormente (Figura 1) com o teor de amido (Figura 2), à medida que aumentou a salinidade, o teor de amido aumentou, devido à diminuição da atividade dessa enzima. Os teores de amido foram reduzidos ao longo do tempo (zero, quatro e oito dias), sendo degradados em função da aceleração metabólica e da formação de novas estruturas da plântula.

Os teores de carboidratos solúveis totais foram significativamente ( $P \leq 0,05$ ) maiores na cultivar de trigo

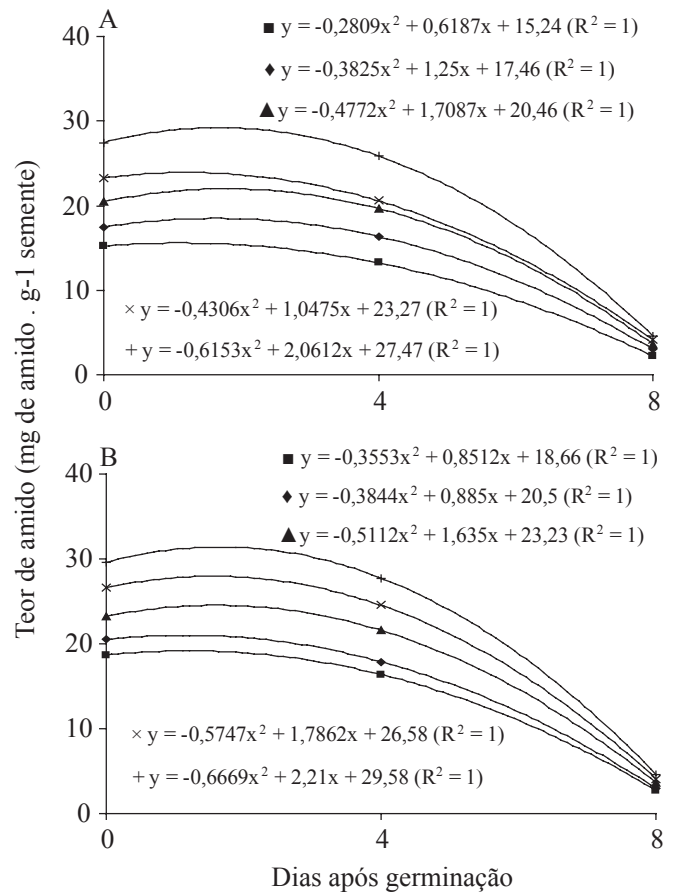


FIGURA 2. Teores de amido nas cultivares BRS 177 (A) e BRS 179 (B), em função do aumento da concentração salina, sendo zero (■), 15(◆), 30(▲), 45(×) e 60 (+) mM de NaCl) determinadas aos zero, quatro e oito dias após a germinação.

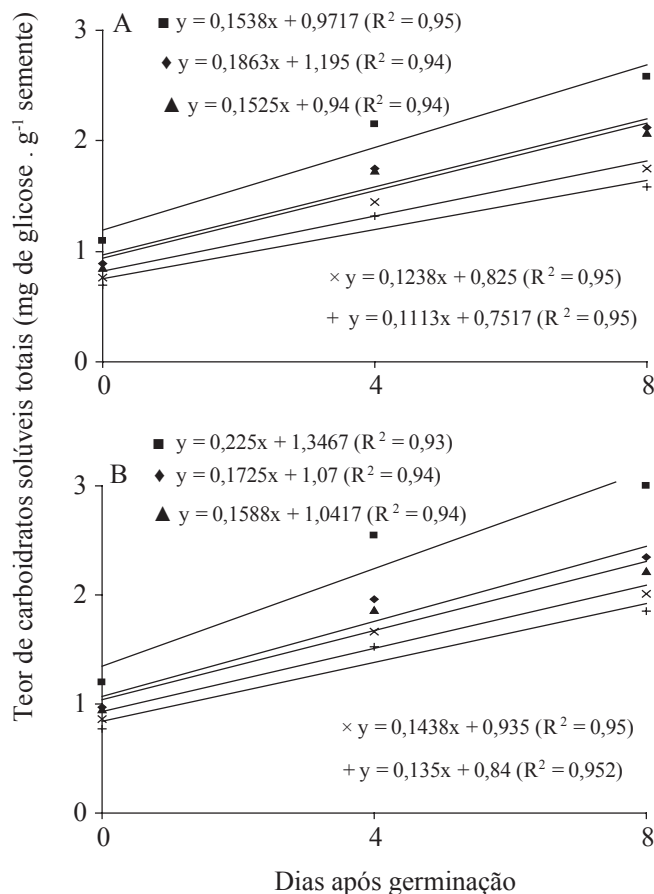
BRS 179 do que na BRS 177 (Figura 3), em todos os tempos de determinação, havendo uma relação linear com altos coeficientes ( $R^2 \geq 0,94$ ). Porém, ambos os genótipos tiveram decréscimos nesses teores, conforme o incremento nas concentrações salinas. Entretanto, nos níveis de 15 e 30 mM de NaCl, não foram detectadas diferenças significativas nos teores de carboidratos solúveis totais, no tempo zero para o genótipo BRS 179 e aos oito DAG no BRS 177. As alterações dos níveis de carboidratos analisados podem ser resultado de um mecanismo da planta para regular a perda de água, em resposta ao acúmulo de sais no citoplasma (Greenway & Munns, 1980) aumentando, desse modo, a atividade de enzimas de lise, o que pode provocar modificações no processo respiratório.

Em cultivares de feijão e de batata, foram encontrados resultados similares, sugerindo que a biossíntese de

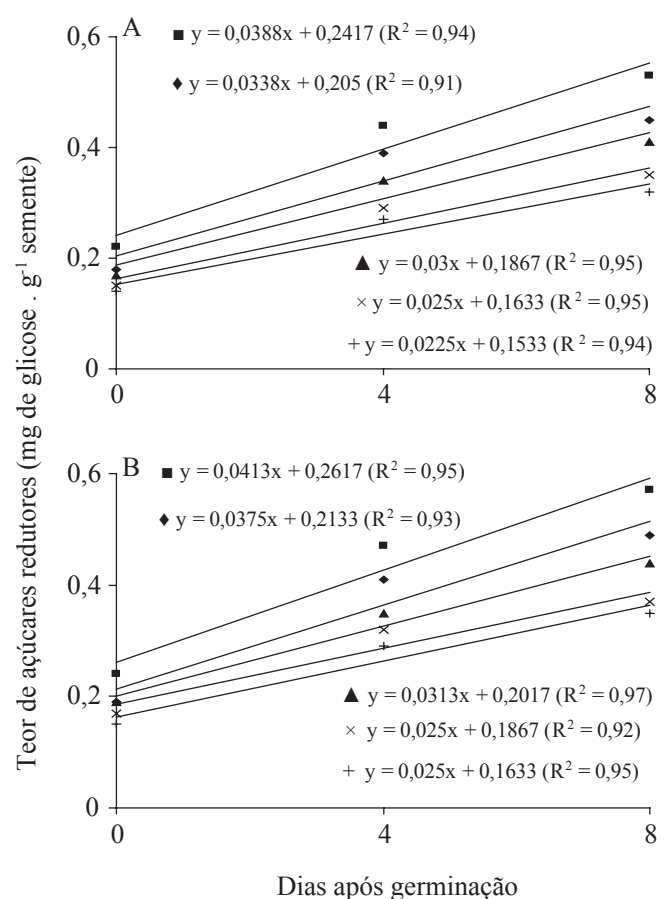
carboidratos ou sua translocação na planta podem ser inibidas pela ação do sal (Wignarajah et al., 1975; Sasilaka & Prasad, 1994).

Tecidos injuriados por sal mostram aumentos consideráveis na hidrólise de proteínas (Melander & Horvath, 1977) ou por fermento em tubérculos de batata incrementam a atividade da RNAase e a taxa respiratória (Borchert, 1978), além de promover modificações nos níveis de carboidratos, os quais, se somados, alteram o processo normal de crescimento e desenvolvimento.

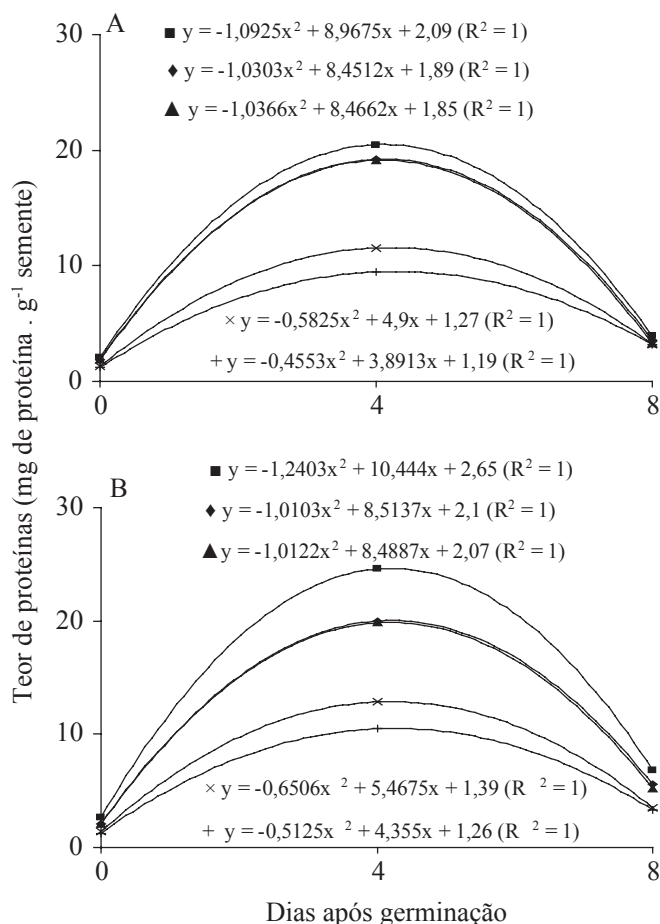
O incremento na concentração de NaCl afetou os teores de açúcares redutores nas cultivares de trigo (Figura 4). Houve também uma relação linear entre o decréscimo nos teores de açúcares, quando comparado com os dias após a germinação, com altos coeficientes ( $R^2 \geq 0,92$ ). Plantas de mandioca crescidas em concentrações maiores ou iguais a 75



**FIGURA 3.** Teores de carboidratos solúveis totais nas cultivares BRS 177 (A) e BRS 179 (B), em função do aumento da concentração salina, sendo zero (■), 15(♦), 30(▲), 45(×) e 60 (+) mM de NaCl) determinadas aos zero, quatro e oito dias após a germinação.



**FIGURA 4.** Teores de açúcares redutores nas cultivares BRS 177 (A) e BRS 179 (B), em função do aumento da concentração salina, sendo zero (■), 15(♦), 30(▲), 45(×) e 60 (+) mM de NaCl) determinadas aos zero, quatro e oito dias após a germinação.



**FIGURA 5. Teores de proteínas nas cultivares BRS 177 (A) e BRS 179 (B), em função do aumento da concentração salina, sendo zero (■), 15(◆), 30(▲), 45(×) e 60 (+) mM de NaCl determinadas aos zero, quatro e oito dias após a germinação.**

mM de NaCl, durante o período experimental, diminuem os teores de açúcares redutores (Lima et al, 1997).

Houve redução significativa ( $P \leq 0,05$ ) no teor protéico das sementes de trigo das cvs. BRS 177 e BRS 179, com incremento na concentração salina (Figura 5). Nas duas cultivares, no entanto, ocorreu grande aumento no teor de proteínas aos quatro dias, em virtude da síntese “de novo” de  $\alpha$ -amilase (Figura 1), RN<sub>ase</sub> e proteases, diminuindo esse teor aos oito DAG, devido ao esgotamento nos teores de amido (Figura 2), porém, com valores ainda maiores do que a quantidade protéica obtida aos zero dias após a germinação. A capacidade de o embrião sintetizar novas proteínas durante a germinação é diminuída quando o nível de hidratação diminui: os tecidos não crescem e o modelo de

síntese protéica e ácido nucléicos muda significativamente (Dell’Áquila & Spada, 1992).

## CONCLUSÕES

A atividade da  $\alpha$ -amilase e os teores carboidratos solúveis totais, açúcares redutores e proteínas são reduzidos, enquanto o teor de amido aumenta com o incremento da salinidade para as duas cultivares de trigo. As sementes da cultivar BRS 179 são mais tolerantes ao sal do que as da BRS 177, durante a germinação, ocorrendo menores alterações na sua composição química.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, **Official methods of analysis**. 10. ed. Washington: Editorial Board, 1965. 909p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Development, germination and growth. Berlin: Springer Verlag, 1978, v.1, 306 p.
- BORCHERT, R. Time course and spatial distribution of phenylalanine ammonia lyase and peroxidase activities in wounded potato tuber tissue. **Plant Physiology**, Rockville, v.62, n.4, p.789-793, 1978.
- BRADFORD, M.M.A Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding. **Analytical Biochemistry**, Dordrecht, v.20, n.72, p. 249-254, 1976.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.
- CLEGG, K. M. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v.7, n.23, p.40-44, 1956.
- DANTAS, J.P.; MARINHO, F.J.L. Avaliação de genótipos de Caupi sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande v.6, n.3, p.425-430, 2002.
- DELL’AQUILA, A; SPADA, P. Regulation of protein, synthesis in germinating wheat embryos under polyethylene glycol. **Annals of Botany**, London, **69**: p.167-171, 1992.
- GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. **Plant Physiology**, Rockwille, v.31, n. 1, p.149-190, 1980.
- LIMA, M. G. S. ; LOPES, N. F. ; BACARIN, M. A. ;



- MENDES, C. R. Concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz sob estresse salino. **Bragantia**, Campinas, 2004.
- MADISON, J.T.; THOMPSON, J.F.; MUENSTER, A.M.E. Deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, protein and uncombined amino acid content of legume seeds during embryogeny. **Annals of Botany**, London, v. 40, n. 168, p. 745-756, 1976.
- McCREADY, R.M.; GUGGOLZ, J.; WENS, H.S. Determination of starch and amylase in vegetables. **Analytical Chemistry**, London, v.10, n. 22, p. 1156-1158, 1950.
- MELANDER, W.; HORVATH, C. Salt effects on hydrophobic interactions in precipitation and chromatography of proteins: an interpretation of lyotropic series. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v.183, n.1, p.200-215, 1977.
- OLIVEIRA NETO, O.B.; DAMASCENO, A.T.; CAMPOS, F.A.P.; GOMES FILHO, E.; ENEAS FILHO, J.; PRISCO, J.T. Effect of NaCl-salinity on the expression of a cotyledonary  $\alpha$ -amylase from *Vigna unguiculata*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 97-100, 1998.
- RIBEIRO, M.C.C.; MARQUES, M.B.; FILHO, J.A. Efeito da salinidade na germinação de sementes de quatro cultivares de girassol. **Revista Brasileira de Sementes**, 23: n°1, p.281-284, 2001.
- SASILAKA, D.P.P.; PRASAD, P.V.D. Salinity effects on in vitro performance of some cultivars of potato. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, n. 1, v.1, p.1-6, 1994.
- SCANDALIOS, J.G. Isoenzymes in development and differentiation. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo alto, v.25, p.225-258, 1974
- TORRES, S. B.; VIEIRA, E.L.; FILHO, J. M. Efeitos da salinidade na germinação e no desenvolvimento de plântulas de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.22, n.2, p.39-44, 2000.
- WIGNARAJAH, K.; JENNINGS, D.H.; HANDLEY, J.F. The effect of salinity on growth of *Phaseolus vulgaris* L.: II. Effect on internal solute concentration. **Annals of Botany**, London, v.39, n.8, p.1039-1055, 1975.
- SINCLAIR, T.R. & WIT, C.T. Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. **Science**, 189: 565-567, 1975.