

NOTA CIENTÍFICA

ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS DURANTE A EMBEBIÇÃO DE SEMENTES DE BARAÚNA (*Schinopsis brasiliensis* Engl.)¹

BÁRBARA FRANÇA DANTAS², FRANKLIM SALES DE JESUS SOARES³, ALDENIR ALVES LÚCIO⁴, CARLOS ALBERTO ARAGÃO⁵

RESUMO –*Schinopsis brasiliensis* Engl. é uma espécie nativa da caatinga de grande potencial econômico. A germinação das suas sementes compreende uma série de processos, que começa com a embebição de água e termina com a emergência da plântula através do tegumento. Pouco se conhece, no entanto, sobre a velocidade de embebição e metabolismo germinativo desta espécie. O objetivo deste trabalho foi obter a curva de embebição e avaliar as alterações bioquímicas que ocorrem nas sementes de baraúna durante a germinação. As sementes foram separadas em três repetições de 10 sementes e submetidas à embebição por até 200 horas. Foram avaliados o volume de água embebida pelas sementes, os teores de açúcar solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), amido e proteínas de reserva. Pela curva de embebição das sementes de baraúna pode ser observado um modelo trifásico, onde a fase (F) I é completada em 48h e a FIII tem início após 152h de embebição, com protrusão da raiz. Os teores de AR e AST nas sementes aumentam durante a embebição, enquanto os teores de amido diminuíram após a FII. Os teores de albuminas, globulinas e prolaminas permaneceram constantes durante as FI e FII e diminuíram após a protrusão da raiz e os teores de glutelinas foram praticamente nulos durante a germinação de sementes de baraúna.

Termos para indexação: metabolismo, germinação, mobilização de reservas, caatinga

BIOCHEMICAL CHANGES DURING IMBIBITION OF *Schinopsis brasiliensis* Engl. SEEDS

ABSTRACT - *Schinopsis brasiliensis* Engl. is a species native to the Caatinga biome, with great economic potential. Seed germination consists of a series of processes, which start with water uptake and end with the seedling axis emergence through the seed tegument. Little is known about imbibition speed and germination metabolism of *Schinopsis brasiliensis*. Thus the aim of this study was to obtain the imbibition curve and evaluate the biochemical alterations which occur during *Schinopsis brasiliensis* germination. The seeds were divided in three replications of 10 seeds and subjected to water imbibition for 200 hours. The volume of water uptake, total soluble sugars (AST), reducing sugars (AR), starch and reserve proteins were evaluated. The imbibition curve of *Schinopsis brasiliensis* showed a triphasic pattern, in which phase (F) I was completed in 48h and FIII started after 152h, with radicle protrusion. The seed contents of AR and AST increased during germination, while starch content decreased. Albumins, globulins and prolamines were constant during FII and FII

¹Submetido em 05/03/2007. Aceito para publicação em 18/01/2008.

²Pesquisadora, Embrapa Semi-Árido. Laboratório de Sementes e Fisiologia Vegetal, Embrapa Semi-Árido, CP23, CEP56302-970, Petrolina-PE. Email: barbara@cpatsa.embrapa.br . ³Engenheiro Agrônomo, Mestrando, UFBA,

Cruz das Almas - BA. ⁴Graduanda em Biologia, FFPP, UPE, Petrolina-PE.

⁵Professor Adjunto, DTCS, UNEB, Campus III, Juazeiro - BA. Email: carlosaragao@hotmail.com

and decreased after radicle protrusion while glutelines were practically inexistent in baraúna seeds.

Index terms: metabolism, germination, reserve mobilization, Caatinga

INTRODUÇÃO

A região de Caatinga tem cerca de 800 mil km², totalizando 11% do território nacional e 70% do território nordestino, (IPEF, 2000), abrangendo os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Sergipe, Alagoas, Bahia, sul e leste do Piauí e norte de Minas Gerais (Lima, 1996).

Apesar de sua importância biológica e das ameaças à sua integridade, somente 3,56% da Caatinga está protegida como Unidades de Conservação federais, sendo apenas 0,87% em unidades de uso indireto, como parques nacionais, reservas biológicas e estações (The Nature Conservancy do Brasil & Associação CAATINGA, 2000). Como consequência da degradação ambiental e da falta de preservação, muito já se perdeu em biodiversidade da Caatinga. A legislação Brasileira, através das Portarias do IBAMA nº 83 (26/09/91) e nº. 37-N (3/04/1992), lista várias espécies da flora e fauna da Caatinga, como ameaçadas de extinção, sendo que entre elas encontra-se a *Schinopsis brasiliensis* Engl., vulgarmente conhecida como baraúna ou braúna, como uma espécie vulnerável.

Essa espécie pertence à família Anacardiaceae, ocorrendo na Caatinga desde a Bahia até a Paraíba. Apresenta porte arbóreo, podendo atingir até 12 m de altura, e 20 a 60 cm de diâmetro, com ramos providos de espinhosos. As folhas são compostas, imparipinadas, de cor verde escuras na parte superior e pálidas na inferior (Braga, 1979). A madeira desta espécie é considerada especial para obras internas, carpintaria, moendas, esteios, pilões, postes, vigas e dormentes.

O conhecimento de como os fatores ambientais influenciam a germinação das sementes é de extrema importância. Assim, eles poderão ser controlados e manipulados de forma a aperfeiçoar a porcentagem, velocidade e uniformidade de germinação, resultando na produção de mudas mais vigorosas para plantio e minimização dos gastos (Nassif et al., 2005), contribuindo para a preservação da espécie.

De uma maneira geral, durante a formação da semente, observa-se inicialmente, um acúmulo de açúcares tais como sacarose, frutose e glicose, bem como, compostos nitrogenados como aminoácidos e amidas. Estas substâncias drenadas da planta mãe são os principais metabólitos para a formação dos tecidos da semente e das substâncias de reserva que serão acumulados para fornecimento de energia

e substâncias básicas para o desenvolvimento do processo de germinação. Desta forma, à medida que a semente vai se desenvolvendo há uma diminuição na quantidade destas substâncias mais simples e, ao mesmo tempo, um acúmulo de moléculas maiores e mais complexas como as proteínas, amido, lipídios, celulose, etc. (Guimarães, 1999). Durante a germinação essas substâncias são mobilizadas para a produção de energia e de novas moléculas para o crescimento e desenvolvimento das plântulas (Bewley e Black, 1985).

A absorção de água pelas sementes é o primeiro passo da germinação, sem o qual este processo não pode ocorrer. A reativação do metabolismo conhecida por fase I é caracterizada pelo rápido aumento da respiração, proporcional ao aumento da hidratação dos tecidos das sementes. Na indução do crescimento, dita fase II, atividade respiratória se estabiliza. A terceira fase, na qual a absorção da água tende a aumentar ocorre um segundo aumento na atividade respiratória, que se associa a maior disponibilidade de oxigênio, como consequência da ruptura da testa produzida pela emergência da radícula e o crescimento da plântula (Guimarães, 1999). Iniciada a germinação das sementes ocorre a ativação da síntese protéica, a formação de enzimas hidrolíticas que produzem a mobilização das reservas.

Este trabalho teve como objetivo obter a curva de embebição das sementes de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.), assim como avaliar as alterações bioquímicas das sementes que ocorrem durante processo de germinação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes e Fisiologia Vegetal na Embrapa Semi-Árido, em Petrolina-PE. As sementes de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) foram despontadas e separadas em 4 repetições de 10 sementes, para cada tempo de embebição, sendo eles, 1, 2, 4 horas, a cada 4 horas até o período de 96 horas, e a cada 8 horas até o total de 200 horas. As sementes foram colocadas em gerbox sobre duas camadas de papel germitest, embebido com 15mL de água destilada. Antes e após os tempos de embebição, as sementes foram pesadas. Após a segunda pesagem as sementes foram congeladas a -20°C, até extração de açúcares e proteínas de reserva.

Para extração dos açúcares solúveis e insolúveis, as sementes foram maceradas em água destilada na proporção

de 10:1 (p:v) e a solução foi centrifugada a 4500xg por 15 minutos. O sobrenadante foi armazenado em freezer -20°C até análises de açúcares redutores (AR) e açúcares solúveis totais (AST). O precipitado, material insolúvel em água, foi utilizado para extração perclórica de amido (Allen et al., 1977).

Os teores de AR nas sementes foram quantificados utilizando o reagente DNS (ácido dinitrosalicílico), baseado em curva de referência de glicose (Miller, 1959) e os teores de AST e amido foram quantificados de acordo com Morris (1948) e Yemm e Willis (1954), utilizando-se o reagente antrona e curva de referência a partir de concentrações conhecidas de glicose.

Para a extração seqüencial das proteínas de reserva, as sementes foram maceradas em 10mL do primeiro extrator (H₂O destilada). Após incubação a 25°C, durante 30 minutos, as amostras foram centrifugadas a 3000xg durante 20 minutos. O sobrenadante foi, então, coletado e o precipitado ressuscitado com o mesmo volume inicial do mesmo extrator, repetindo por mais duas vezes a incubação, centrifugação e coleta do sobrenadante. Após as três coletas de 10mL obteve-se a fração de albuminas. O resíduo da extração da fração albumina foi submetido à extração da

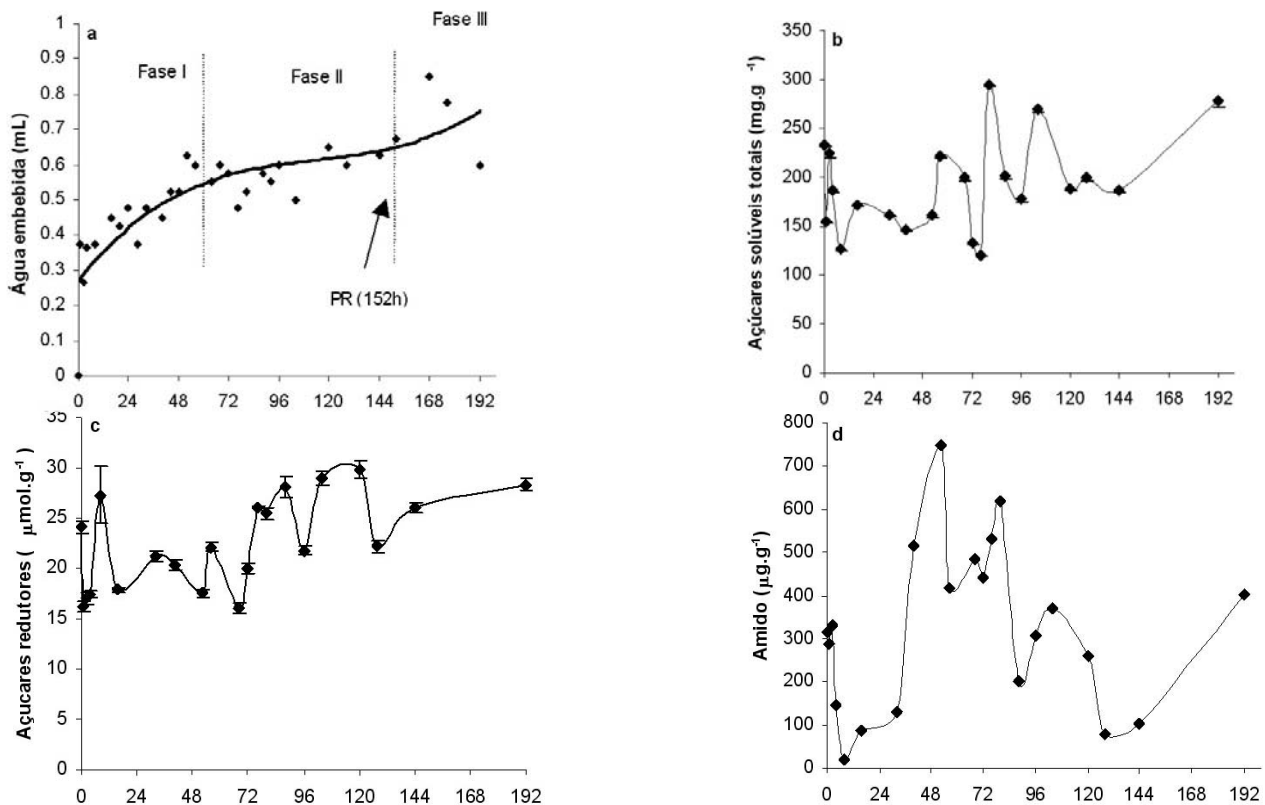
fração globulina de forma semelhante utilizando, como extrator, NaCl (1%). O mesmo ocorreu para as extrações de prolamina e glutelina, utilizando os extratores etanol (70%) e NaOH (0,1mol L⁻¹), respectivamente (Aragão et al., 2003). A quantificação das proteínas foi feita pelo método de Bradford (1976), utilizando o reagente Comassie Blue G-250. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 595nm e comparadas com a curva de referência obtida com concentrações conhecidas de soro-albumina bovina - BSA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes estudadas neste trabalho apresentaram uma média de 9% de teor de água antes de serem submetidas à embebição.

Para as sementes de baraúna, a fase (F) I se caracterizou por uma rápida absorção de água até o período de 48 horas. A FII iniciou-se com 56 horas de embebição e foi até 144 horas, sendo uma fase mais lenta que a anterior, e logo em seguida iniciou-se a FIII (152 horas) quando 12,5% das sementes apresentaram visivelmente o crescimento do eixo embrionário (figura 1a).

FIGURA 1. Curva de embebição (a), Teor de açúcares solúveis totais(b), açúcares redutores (c) e amido (d) em sementes de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.). PR= protrusão da raiz.



As sementes estudadas neste trabalho apresentaram uma média de 9% de teor de água antes de serem submetidas a embebição.

Vários autores verificaram o modelo trifásico da germinação em sementes de espécies nativas da caatinga e do cerrado, como *Caesalpinia pyramidalis* (Dantas et al., 2006) e *Protium widgrenii* (Seiffert, 2002).

Os teores dos açúcares solúveis (AST e AR) aumentaram nas sementes baráúna durante todo o processo germinativo (figura 1b, c). Por outro lado, o teor de amido diminui nas sementes a partir da FII da embebição (figura 1d).

Quanto às modificações metabólicas durante a embebição, em geral, há na literatura com resultados conflitantes quanto ao comportamento das sementes. Durante a embebição, sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F. Macbr. apresentam aumento dos teores de manose e arabinose (açúcares redutores) no tegumentos e de manose e glicose nos embriões (Pontes et al., 2002); sementes de *P. widgrenii* mantiveram o teor de AR constante (Seiffert, 2002) e do teor de AR nas sementes de *C.pyramidalis* apresentou grande variação (Dantas et al., 2006).

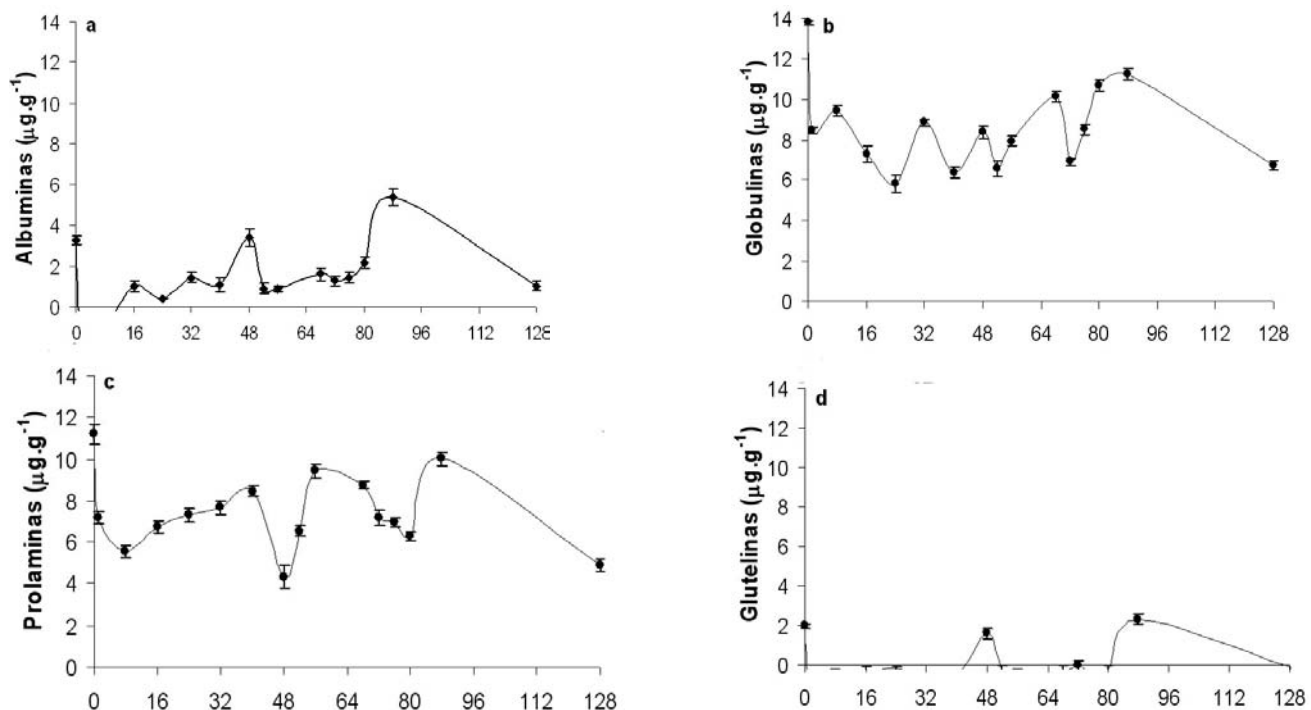
Sementes de *A. leiocarpa* apresentam aumento no teor de amido nos cotilédones (Pontes et al., 2002), enquanto que sementes de *C. pyramidalis* apresentaram diminuição no teor deste açúcar a partir do final da fase I (Dantas et al., 2006).

Durante o período de embebição Karunagaran & Rao (1991), Pontes et al. (2002), Seiffert (2002) e Dantas et al. (2006) verificaram que os teores de AST diminuem nas sementes de *Macrotyloma uniflorum*, *A. leiocarpa*, *P. widgrenii* e *C. pyramidalis*, respectivamente.

Osborne (1924) classificou as proteínas da semente com base na sua solubilidade em diferentes solventes em: (1) albuminas - proteínas solúveis em água, (2) globulinas - proteínas solúveis em soluções salinas, (3) prolaminas - solúveis em soluções de álcool/água e (4) glutelinas - solúveis em soluções ácidas ou básicas diluídas. De acordo com Shewry *et al.* (1995) as principais proteínas de reserva das sementes são albuminas, globulinas ou prolaminas.

O teor de proteínas de reserva nas sementes de baráúna apresentou uma grande variação durante as primeiras horas de embebição (figura 2). Os teores iniciais de albuminas, globulinas e prolaminas nas sementes apresentaram um decréscimo no início do processo de embebição. Estes se mantiveram oscilando em um mesmo nível até o final da FII, 128h (figura 2a, b, c). As sementes de baráúna apresentaram teores muito baixos de glutelinas, sendo de $2\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (figura 2d). Dentre as proteínas de reserva das sementes, as globulinas foram as que apresentaram maiores concentrações nas sementes, sendo de 13,8 e $6,7\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ no início e final do processo germinativo, respectivamente (Figura 2d).

FIGURA 2. Teor de proteínas de reserva, (a) albuminas, (b) globulinas, (c) prolaminas e (d) glutelinas, durante os diferentes tempos de embebição de sementes de baráúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.).



Pontes et al (2002) e Seiffert (2002) quantificaram apenas as proteínas totais em sementes de *A. leiocarpa* e *P. widgrenii*. Essas autoras verificaram que ocorre aumento no teor de proteínas totais nas sementes durante o processo de embebição que ocorre devido à indução da biossíntese de enzimas hidrolíticas. Neste trabalho a variação inicial dos teores de albumina pode ser explicada pela reidratação e biossíntese de proteínas funcionais (enzimas), no entanto, ao contrário de sementes de sementes de *A. leiocarpa* e *P. widgrenii* as proteínas foram metabolizadas durante o processo de germinação. Suda e Giorgini (2000) verificaram que o teor de albumina de sementes de amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla* L.) se mantém constante até 72 horas após o início da embebição e diminui após isso, o teor de glutelinas decresce após 48 horas e o teor de globulinas tem queda constante durante a embebição das sementes. Dantas et al. (2006) verificaram em sementes de *C. pyramidalis* uma queda constante nos teores de albuminas durante todo o processo de embebição e aumentos dos teores de globulinas e prolaminas durante a FII. Pode-se observar, a partir das informações obtidas da literatura e deste experimento que a concentração das diferentes proteínas de reserva varia de acordo com a espécie.

CONCLUSÕES

A germinação das sementes de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) apresenta as três fases de embebição definidas, ocorrendo a protrusão da raiz após 152 horas de embebição.

Quanto à mobilização de reservas durante o processo germinativo, ocorre um aumento no teor de açúcares solúveis simultâneo à diminuição do teor amido nas sementes, indicando que este é uma importante reserva das sementes de baraúna.

Entre as proteínas de reserva, as globulinas são as mais abundantes nas sementes de baraúna, no entanto as albuminas e prolaminas são mobilizadas de forma mais ativa após a protrusão da radícula. As sementes de baraúna praticamente não armazenam glutelinas.

REFERÊNCIAS

ALLEN, S.E.; GRIMSHAW, H.M.; PAKINSON, J.A.; QUARMBY, C. **Chemical analysis of ecological materials**. Oxford: Blackwell Scientific, 1977.

ARAGÃO, C.A.; DANTAS, B.F.; ALVES, E.; CORRÊA,

M.R. Sementes de feijão submetidas a ciclos e períodos de hidratação-secagem. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.59, n.1, p.87-92, 2003.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1985, 367p.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.72, n.5, p.248-254, 1976.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3.ed. Fortaleza: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 1976. 540p.

DANTAS, B.F.; CORREIA, J.S.; MARINHO, L.B.; ARAGÃO, C.A. Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.) **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.221-227, 2008. Nota científica. Disponível em: < www.scielo.br/pdf/rbs/v30n1/a28v30n11.pdf >. Acesso em : 30 mai. 2008.

GUIMARÃES, R.M. **Fisiologia de sementes** – produção e tecnologia de sementes. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 129p. IPEF. Reflorestamento. Disponível em: < <http://www.ipef.com.br> >. Acesso em: 12 jan. 2000.

KARUNAGARAN, D.; RAO, R. Mode and control of starch mobilization during germination of seeds of horse gram. **Plant Science**, Limerick, v.73, n.2, p.155-159, 1991.

LIMA, J.L.S. **Plantas forrageiras das caatingas: usos e potencialidades**. Petrolina: Embrapa Semi-Arido/ PNE/ RBG-KEW, 1996. 44p.

MILLER, G.L. Use dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, n.2, p.426-428, 1959.

MORRIS, D.L. Quantitative determination of carbohydrates with Drywood's anthrone reagent. **Science**, Washington, v.107, n.3, p. 254-255, 1948.

NASSIF, S.M.L.; VIEIRA, I.G.; GELSON, D.F. **Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes**. Disponível em: < <http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp> >. Acesso em: 05 mar. 2005.

OSBORNE, T.B. **The vegetable proteins**. 2 ed. London: Longmans, 1924. 154 p.

PONTES, C.A.; BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; SOARES, C.P.B. Mobilização de reserva em sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F. Macbr. (garapa) durante a embebição. **Revista Árvore**, Viçosa, v.26, n.5, p.593-601, 2002.

SEIFFERT, M. **Alguns aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes e anatomia foliar de *Protium widgrenii* Engler.** 2002. 81f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)- Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2002.

SHEWRY P. R., NAPIER J. A., TATHAM A. S. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. **The Plant Cell** v.7, n. 3, p. 945-950. 1995.

SUDA, C.N.K.; GIORGINI, J.F. Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.12, n.3, p.226-245,

2000.

THE NATURE CONSERVANCY DO BRASIL & ASSOCIAÇÃO CAATINGA. **Unidades de conservação na caatinga.** In: AVALIAÇÃO e identificação de ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade da caatinga. Petrolina – PE, 2000. Disponível em: < <http://biodiversitas.org/caatinga> > . Acesso em: 25 mar. 2001.

YEMM, E.W.; WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, Colchester, v.57, n. 4, p.508-514, 1954.