

# Mobilização de reservas das sementes de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) após a germinação

Patrícia Lima do Nascimento<sup>1</sup>, James de Melo Mesquita<sup>2</sup>, Edy Sousa de Brito<sup>3</sup> e Maria Izabel Gallão<sup>4</sup>

## Introdução

As Mimosoideae constituem uma menor sub-família das Leguminosae, com cerca de 50-60 gêneros e mais de 2.000 espécies distribuídas nos trópicos, subtropicos e regiões de clima temperado [1]. Angico (*Anadenanthera colubrina*) é uma espécie arbórea com utilização muito diversificada: extração de tanino, uso na medicina popular, fabricação de móveis, forragens das folhas, ornamentação e carvão [2]. As Angiospermas apresentam diferentes estratégias de adaptação aos seus respectivos ambientes, entre as quais se encontram os acúmulos de certos compostos de reserva em suas sementes. [3]. Estas substâncias são mobilizadas após a germinação e durante o desenvolvimento das plântulas os seus produtos de degradação são usados para diferentes propósitos, tais como a geração de energia e a produção de matéria-prima (proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lipídeos) para a construção de novos tecidos e células [4]. Devido a importância da preservação de espécies nativas, o presente trabalho teve como objetivo estudar os componentes de reserva das sementes do angico e a mobilização destas substâncias após a protusão da radícula.

## Material e métodos

### Material vegetal

Os frutos do angico foram coletados por Araújo F.S. s/n no Município de Três Irmãos, Novo Oriente/Ceará. As sementes obtidas foram colocadas em água a 60°C para quebra de dormência e em seguida dispostas em placas, com papel de filtro umedecido com água comum, para germinar. Após protusão da radícula as amostras foram retiradas de acordo com o tamanho da raiz. T1 para início de protusão (1 a 2 mm), T2 de 3 a 5 mm, T3, com de 6 a 10 mm, T4 com de 11 a 15 mm e T5 de 16 a 20 mm.

### Microscopia de luz

Em todas as sementes foram feitos cortes transversais e fixadas em solução de paraformaldeído à 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 e glutaraldeído 1% [5] por 24 horas. Logo após fixar, o material foi submetido à desidratação em bateria crescente de etanol e incluído em resina (Historesin Embedding Kit – Jung). Foram feitos cortes seriados de 5 µm em micrótomo automático Leica RM 2065. Os cortes obtidos foram submetidos às seguintes colorações citoquímicas: a) Azul

de Toluidina 0,025% pH 4,0 como corante metacromático para detectar radical aniônico [6]; b) Xylidine Ponceau 0,1% pH 2,5 para detectar radical catiônico total [7]; c) Reação do PAS (Periodic Acid-Schiff) para polissacarídeos neutros [8].

### Análises químicas

Foram realizadas análises químicas nas sementes secas para as determinações de proteínas segundo o método de Bradford [9], açúcares solúveis segundo Miller [10] e oligossacarídeos e amido pelo método da Antrona segundo Yemm e Willis [11].

## Resultados e Discussão

As sementes do angico são marrom-avermelhadas, até escuras, brilhantes, com diâmetro entre um e dois centímetros e achatadas [12]. O tegumento da semente apresenta uma camada de células em paliçada e logo abaixo os esclereídeos (Fig. 1A). Serrato-Valenti e colaboradores [13] observaram no tegumento de sementes secas de algaroba a presença de uma camada hidrofóbica. Estes autores atribuíram a essa camada a resistência e a impermeabilidade da semente. A presença de um tegumento resistente é uma característica de espécies que apresentam resistência para germinar, no caso do angico está quebra da dormência foi obtida com água quente a 60 °C. O Azul de Toluidina (AT) é um corante catiônico que apresenta afinidade por substratos aniônicos. A coloração esverdeada das paredes celulares das células da paliçada (Fig. 1A) se deve ao fato da pouca disponibilidade de pectina devido à deposição de lignina nessas paredes celulares, o que confere resistência ao tegumento das sementes de angico. As células do cotilédone apresentam parede celular mais fina e coloração arroxeada (Fig. 1B) e ao contrário do tegumento possuem disponibilidade maior de pectina para se ligar a esse corante. A reação do PAS revelou a presença de celulose e hemicelulose nas paredes celulares e polissacarídeos no citoplasma das amostras de T1 a T5 (Fig. 1C e 1D). A presença no citoplasma de um material inespecífico, reagindo com o reativo de Schiff em T1, com características globulares, provavelmente sejam glicoproteínas e não amido, uma vez que a reação do lugol não foi positiva para este polissacarídeo. Na Tab. 1 observa-se o aumento do amido e a reação positiva do lugol em T5 confirma a presença deste polissacarídeo. A produção do amido nos cotilédones a

1. Aluno do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Ceará. Av. Mister Hull, s/n – Pici – CEP: 60455-760.

2. Aluno do Curso de Química Industrial da Universidade Federal do Ceará. Av. Mister Hull, s/n – Pici – CEP: 60455-760.

3. Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical. R Dra Sara Mesquita, 2270, Pici, CEP 60511 110, Fortaleza, CE, Brazil

4. Professor Adjunto do Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. Av. Mister Hull, s/n – Pici – CEP: 60455-760, Bloco 906. E-mail: edybel@ufc.br.

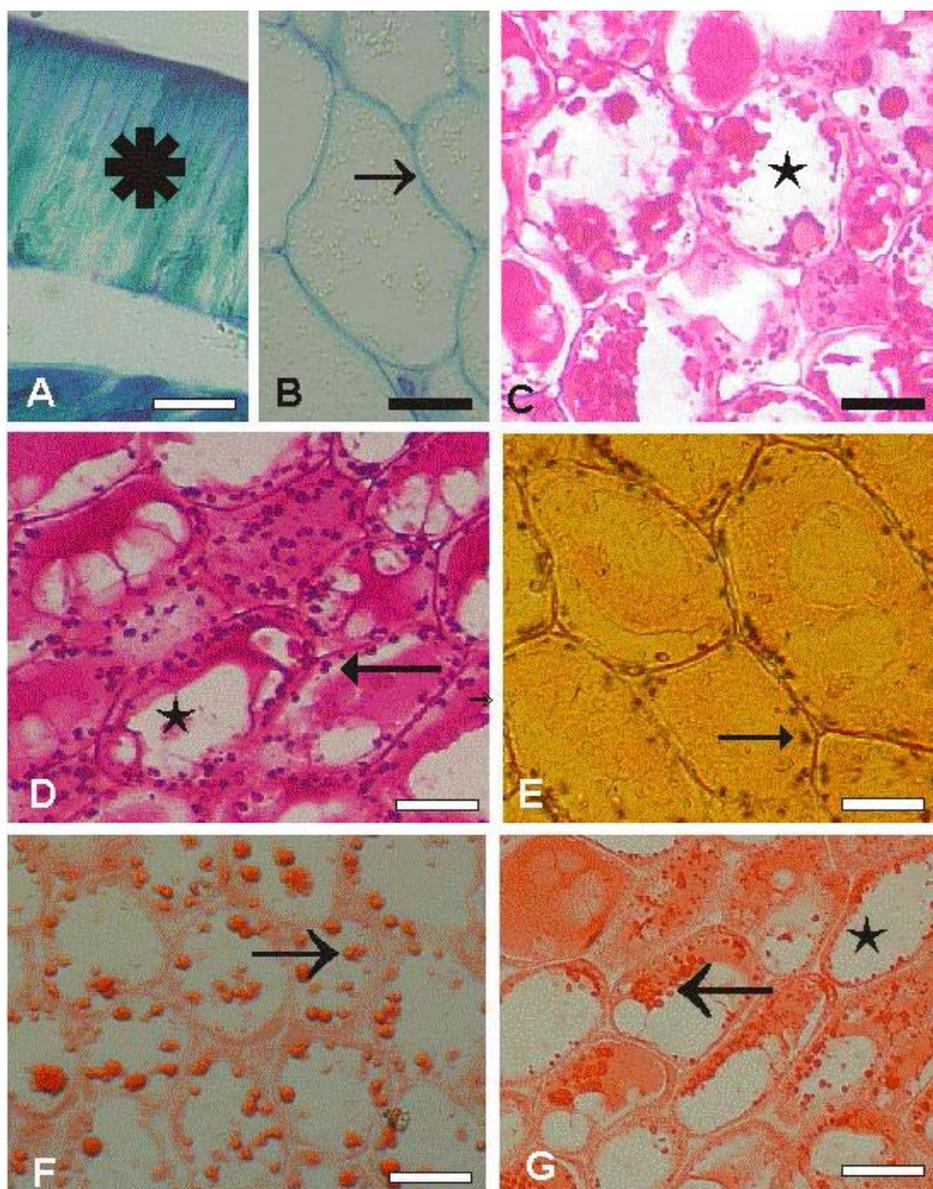
partir de T1 até T5 pode ser via glucogênese ou fotossíntese [14]. A produção de amido também foi observada em *Sesbania marginata* [15]. Os autores sugerem que uma produção transitória do amido seria devido à degradação de galactomananos presentes no endosperma dessas sementes. O Xylidine Ponceau (XP) revelou em T1 e T5 a presença de material protéico no citoplasma (Fig. 1F e 1G). Em T1 foi observado a presença de corpos protéicos, enquanto que em T5 observou-se a presença de um material granuloso. Na tabela 1 observa-se a diminuição da proteína após a germinação. Como descrito em outras espécies como soja [16] e ervilha [17] a fragmentação desses corpos protéicos podem indicar a mobilização da proteína após a germinação, possivelmente estas moléculas sejam utilizadas pelas células para o desenvolvimento da plântula. A presença de espaços vazios no citoplasma observado em todos os tempos sugere a presença de lipídeos que foram perdidos durante o procedimento de preparação para análise microscópica, semelhante ao observado em sementes de moringa [18]. As sementes do angico apresentam como principal componente de reserva amido e proteína. As células do cotilédono utilizam estes componentes após a germinação para o estabelecimento da plântula.

## Referências

- [1] ELIAS, T.S. 1981. Leguminosae: Mimosoideae. Pp. 143-152. In R.M. Pollhil & P.H.Raven (Eds). *Advances in Legumes Systematic*. Royal Botanic Garden, Kew.
- [2] SAMPAIO, E.V.S.B.; PAREYN, F.G.C.; FIGUEIRÔA, J.M. & SANTOS Jr., A.G. 2005. *Espécies da Flora Nordestina de Importância Econômica Potencial*. Recife. Associação Plantas do Nordeste. 331p.
- [3] BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P. & TINÉ, M.A.S. 2000. Mobilization of storage cell wall polysaccharides in seed. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38:141-156.
- [4] MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. 1989. The germination of seeds. 4 ed. Pergamon Press, McMillan, New York, 270 p.
- [5] KARNOVSKY, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 27:137-138.
- [6] VIDAL, B.C. 1970. Dichroism in collagen bundles stained with xylidine Ponceau 2R. *Annals of Histochemistry*, 15:289-296.
- [7] VIDAL B.C. 1977. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. *Cell Molecular Biology*, 22:45-64.
- [8] MAIA V. 1979. *Técnica histológica*, São Paulo, Atheneu.
- [9] BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- [10] MILLER, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31:426-8.
- [11] YEMN, E.W. & WILLIS, A.J. 1954. The stimulation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. *The Biochemical Journal*, 57:508-14.
- [12] MAIA, G.N. 2004. *Caatinga – árvores e arbustos e suas utilidade*. São Paulo, 413p.
- [13] SERRATO-VALENTI, G.; FERRO, M. & MODENESI, P. 1990. Structural and histochemical changes in palisade cells of *Prosopis juliflora* seed coat in relation to its water permeability. *Annals of Botany*, 65, 529-532.
- [14] SASSAKI, G.M. 1992. Remoção de cotilédones e desenvolvimento inicial de *Dalbergia miscolobium*. *Revista Brasileira de Botânica*, 15, 5-16.
- [15] BUCKERIDGE, M.S. & DIETRICH, S.M.C. 1996. Mobilization of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae-Faboideae). *Plant Science*, 117, 33-43.
- [16] CORTELAZZO, A.L. & VIDAL, B.C. 1991. Soybean seed proteins: detection in situ and mobilization during germination. *Revista Brasileira de Botânica*, 14, 27-33.
- [17] NEVES, V.A & LOURENÇO E.J. 2001. Changes in protein fractions, trypsin inhibitor and proteolytic activity in the cotyledons of germinating chickpea. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 51(3):269-275.
- [18] GALLÃO, M.I.; DAMASCENO, L.F. & BRITO, E.S. 2006. Avaliação química e estrutural da semente de moringa. *Revista Ciência Agronômica*, 37:106-109.

**Tabela 1.** Composição química da semente de angico (*Anadenanthera colubrina*) após a germinação (média  $\pm$  desvio padrão).

	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>T5</i>
Glucose (g/100g)	2.7 $\pm$ 0.2	3.1 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.1
Amido (g/100g)	1.9 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.1	2.4 $\pm$ 0.1	4.1 $\pm$ 0.1	3.5 $\pm$ 0.6
Proteína (g/100g)	13.1 $\pm$ 0.6	12.9 $\pm$ 0.1	14.2 $\pm$ 0.9	15.2 $\pm$ 1.9	5.21 $\pm$ 0.4



**Figura 1.** Cortes transversais de semente de angico após a germinação. A) Estágio pós germinativo T1 corado com AT, paliçada (\*); B) Estágio pós germinativo T1 corado com AT, parede celular (→); C) Estágio pós germinativo T1 submetido à reação do PAS, citoplasma das células cotilédonares (\*); D) Estágio pós germinativo T5, submetido à reação do PAS, citoplasma das células cotilédonares (\*), amido (→); E) Estágio pós germinativo T5 submetido ao Lugol, amido (→); F) Estágio pós germinativo T1 corado com o XP, corpos protéicos (→); G) Estágio pós germinativo T5, corpos protéicos (→), citoplasma das células cotilédonares (\*). Barra 30  $\mu$ m.