

Atividade da enzima polifenoloxidase durante o processo de desenvolvimento e secagem de sementes de sorgo

Tanismare Tatiana de Almeida Silva¹, Heloisa Oliveira dos Santos¹, Sophia Mangussi Franchi Dutra¹ e João Almir Oliveira¹

¹Universidade Federal de Lavras- UFLA. Email: sophiamfd@gmail.com

RESUMO - O momento ideal para a colheita é baseado no acompanhamento do desenvolvimento das sementes considerando modificações como tamanho, umidade, matéria seca, germinação e vigor. Objetivou-se, nesta pesquisa, avaliar as alterações bioquímicas, física e fisiológica ocorridas durante o desenvolvimento das sementes de sorgo com diferentes concentrações de tanino. Foram utilizadas sementes das cultivares BR 305 e BR 310, colhidas em sete estádios de desenvolvimento (100, 103, 107, 113, 119, 121, 127 DAS). As sementes colhidas em cada época foram divididas em dois lotes, sendo um submetido à secagem em estufa de circulação de ar a 35°C, até que atingissem a umidade de 12% e o outro lote não foi submetido à secagem. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por meio dos testes de germinação, condutividade elétrica e enzima polifenoloxidase. Pelos resultados, pode-se observar efeito benéfico da secagem na germinação, quando as sementes têm maiores teores de água. Nas sementes sem secagem, a porcentagem de dormência é maior quando comparada à das sementes secadas. Para a cultivar BR 305, a secagem favoreceu a concentração da enzima em sementes colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento. O mesmo ocorreu para a BR 310, em sementes colhidas aos 100, 103 e 119 dias.

Palavras-chave: Sorgo, qualidade de sementes, marcadores bioquímicos.

Introdução

O acompanhamento das sementes durante o desenvolvimento é feito por meio de modificações, como tamanho, teor de água, conteúdo de matéria seca, germinação e vigor. Em vários trabalhos, realizados com maturação de sementes de diversas espécies, o conteúdo de matéria seca tem sido considerado como o melhor e mais seguro indicativo de que as sementes atingiram a maturidade fisiológica (Dias, 2001).

A secagem pode causar injúrias no sistema de membrana, desencadeando mecanismos enzimáticos, com alterações nos constituintes celulares. O comprometimento da estrutura celular facilita o contato da enzima polifenoloxidase, exclusiva de plastídeos, com compostos fenólicos, armazenados preferencialmente nos vacúolos, tornando inevitável a oxidação de fenóis que, convertidos a quinonas, podem reagir com proteínas, inclusive a própria polifenoloxidase, explicando sua menor atividade (Amorim e Josephson, 1975).

Além das alterações enzimáticas durante o desenvolvimento, a redução do conteúdo de água mantém o embrião com metabolismo mínimo, sendo ativado com a reidratação. Nesse

caso, quando todos os fatores ambientais são favoráveis à germinação e mesmo assim ela não ocorre, essas sementes são consideradas dormentes.

Em sementes de sorgo (*Sorghum vulgare*), a dormência secundária pode ser induzida, com o avanço da secagem sob temperatura de 46°C-48°C, reduzindo sua umidade para cerca de 7%. Segundo Marcos Filho (2005), a inibição da germinação pode ser provocada por substâncias presentes na cobertura ou na parte interna das sementes, que bloqueiam o metabolismo preparatório para a germinação ou impedem o livre acesso do oxigênio ao embrião ou a liberação de gás carbônico. São conhecidos vários tipos de inibidores da germinação, como taninos, ácidos fenólicos, aldeídos e alcaloides.

Na ausência de informações precisas, as alternativas disponíveis para determinar a época ou o ponto mais favorável para a colheita consistem na avaliação do grau de umidade e utilização de características morfológicas de partes da planta. Dessa maneira, objetivou-se, com a realização desta pesquisa, avaliar as alterações bioquímicas, física e fisiológica ocorridas durante o desenvolvimento das sementes de sorgo.

Material e Métodos

As análises foram conduzidas no Laboratório Central de Análise de Sementes e Laboratório de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A semeadura foi realizada, em dezembro de 2007, na área experimental do Departamento de Agricultura (UFLA), onde predomina o solo do tipo Latossolo Vermelho Escuro. As correções de fertilidade e pH do solo seguiram as recomendações da 5ª aproximação (Ribeiro et al., 1999).

O solo foi preparado de maneira convencional, de acordo com recomendações para a cultura. Cada tratamento foi constituído de 4 parcelas, compostas de 6 linhas de 5 m, com espaçamento de 0,5 m entre linhas e 12 plantas por metro linear, totalizando 30 m². A área útil de cada parcela foi constituída pelas 4 linhas centrais.

A colheita das sementes foi realizada em diferentes épocas. A primeira colheita foi realizada quando as sementes atingiram o estágio 7, conforme descrito por Varderlip e Reeves (1972), caracterizado pelo grão leitoso, com umidade aproximada de 48%. As demais colheitas foram realizadas quando estas atingiram aproximadamente 43%, 40%, 35%, 30%, 25% e 20% de grau de umidade, o que correspondeu a 100, 103, 107, 113, 119, 121 e 127 dias após a semeadura. As panículas foram colhidas e as sementes debulhadas manualmente. Parte dessas sementes foi seca em estufa de circulação de ar, com temperatura de 35°C, até atingir 12% de grau de umidade e a outra parte não foi submetida à secagem.

A qualidade das sementes foi avaliada pelos testes de germinação, condutividade elétrica de massa e análise enzimática. No teste de germinação, o substrato para semeadura foi o papel do tipo “Germitest”, umedecido com água destilada, em quantidade de 2,5 vezes o peso seco do papel. As sementes foram colocadas em germinador regulado, à temperatura de 25°C e a avaliação realizada aos 4 e aos 10 dias após a semeadura. Na realização do teste de condutividade elétrica de massa, as sementes foram pesadas e colocadas em copos plásticos, contendo 75 ml de água deionizada. Após 24 horas de embebição, a 25°C, foi realizada a leitura, com auxílio de um condutivímetro de massa e os resultados expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$, de acordo com metodologia descrita por Krzyzanowski et al. (1999).

A determinação da atividade da enzima polifenoloxidase foi realizada de acordo com o método descrito por Draetta e Lima (1976), em que as sementes de sorgo foram previamente moídas, em moinho refrigerado, a 4°C, adicionando-se nitrogênio líquido. A cada 5 g de amostra, foram adicionados 40 mL da solução tampão de fosfato de potássio 0,1 M pH 6,0 e homogeneizando-se em vórtex, por 5 minutos. Em seguida, as amostras foram filtradas em papel de filtro Whatman nº 1, a vácuo. Na determinação desta enzima, foi utilizado extrato da amostra sem o DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanina) como branco e realizada a curva padrão. A leitura da atividade da enzima polifenoloxidase foi realizada em espectrofotômetro Schumaz e os resultados expressos em U/min/g.

Resultados e Discussão

Foram observadas interações significativas dos fatores secagem e estágio de desenvolvimento para ambos os lotes, para todos os testes realizados.

Pelos resultados dos testes de germinação (Figura 1), em sementes não submetidas à secagem, no lote com alta concentração de tanino (BR 305), observou-se redução nos valores de germinação a partir dos 107 e até 119 dias, com aumento aos 121 dias.

Na Figura 2 observa-se que, a partir dos 107 dias, para as sementes sem secagem do lote BR 310, foram registrados os maiores valores de lixiviação medidos pelo teste de condutividade elétrica. Comportamento inverso foi demonstrado pelas sementes secas. Já para o lote BR 305, não houve grandes variações para as sementes que receberam ou não a secagem. De modo geral, verifica-se redução nos valores da condutividade, ao longo do desenvolvimento.

Com o avanço dos estádios de maturação ocorre à organização estrutural das membranas celulares, o que explica a redução nos valores de condutividade elétrica. A secagem

natural ou artificial promove a estruturação de membranas, no entanto, para o lote com baixo tanino (BR 310), a secagem artificial parece ser menos danosa para o sistema de membranas do que a natural.

Em relação à enzima polifenoloxidase (Figura 3), a atividade foi maior em sementes do lote com baixa concentração de tanino (BR 310), aos 100 e aos 103 dias após a semeadura, naquelas sementes submetidas à secagem. Logo após o terceiro estágio de maturação, no entanto, observou-se inversão nessa tendência, com maior atividade da enzima nas sementes que não foram submetidas à secagem.

No entanto, para o lote com alta concentração de tanino (BR 305), menor atividade foi observada em sementes submetidas à secagem, independente do estágio de desenvolvimento. Para as sementes sem secagem, houve aumento na atividade da enzima ao longo do desenvolvimento, sendo mais acentuado a partir dos 107 dias, com o máximo valor de atividade aos 127 dias.

A redução da atividade da enzima polifenoloxidase em sementes secas do lote BR 310 coincide com menores valores de condutividade elétrica. Isso demonstra que, com a manutenção da estrutura da membrana das sementes, reduz-se a presença dessa enzima, que se mantém compartimentalizada nos plastídeos. Segundo Amorim e Josephson (1975), o comprometimento da estrutura celular facilita o contato da enzima polifenoloxidase com compostos fenólicos, armazenados preferencialmente nos vacúolos, tornando inevitável a oxidação de fenóis que, convertidos a quinonas, reagem com proteínas, inclusive a polifenoloxidase, explicando sua menor atividade.

Existem, na literatura, muitas controvérsias em relação à atividade dessa enzima. Murata *et al.* (1995) observaram decréscimo na atividade específica da PPO durante o amadurecimento de frutos de maçã 'Fuji'. Em outros frutos, têm-se registrado incrementos que, segundo Mowlah e Itoo (1982), podem estar associados à queda no teor de polifenóis. Outra questão para a diferença na atividade dessa enzima pode ser o excesso de produto formado, o que pode reduzir a atividade. Essas diferenças podem, ainda, estar ligadas ao processo de extração e detecção da atividade dessa enzima e, até mesmo, ao processo de determinação dos compostos fenólicos.

Conclusão

Houve maiores atividades da enzima polifenoloxidase em sementes da cultivar com baixa concentração de tanino e submetidas à secagem.

Literatura Citada

DIAS DCF (2001) Maturação de sementes. *Seed News*. 5: 22-24.

AMORIM HV, JOSEPHSON RV (1975) Water-soluble protein and non-protein components of brasilian green coffes beans. *Journal of Food Science*. 40: 1179-1185

Marcos FILHO J (2005) *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Fealq. Piracicaba, Brasil. 495 pp.

RIBEIRO AC, GUIMARÃES PTG, ALVAREZ VVH (1999) *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em minas gerais: 5ª aproximação*. UFV. Viçosa, Brasil. 359 pp.

KRZYZANOWSKI FC, VIEIRA RD, FRANÇA NETO JB (1999) *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Abrates. Londrina, Brasil. 219 pp.

DRAETTA IS, LIMA DC (1976) Isolamento e caracterização das polifenoloxidasas do café. *Coletânea do Intituto de Tecnologia de Alimentos*. 7: 13-28.

MOWLAH G, ITOO S (1982) Quantitative changes in guava polyphenols and the polyphenoloxidase (ppo) at different stages of maturation, ripening and storage. *Journal of the Japanese Society of Food Science and Technology*. 29: 413-417.

MURATA M, TSURUTANI M, TOMITA M, HOMMA S, KANEKO K (1995) Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43: 1115-1121.

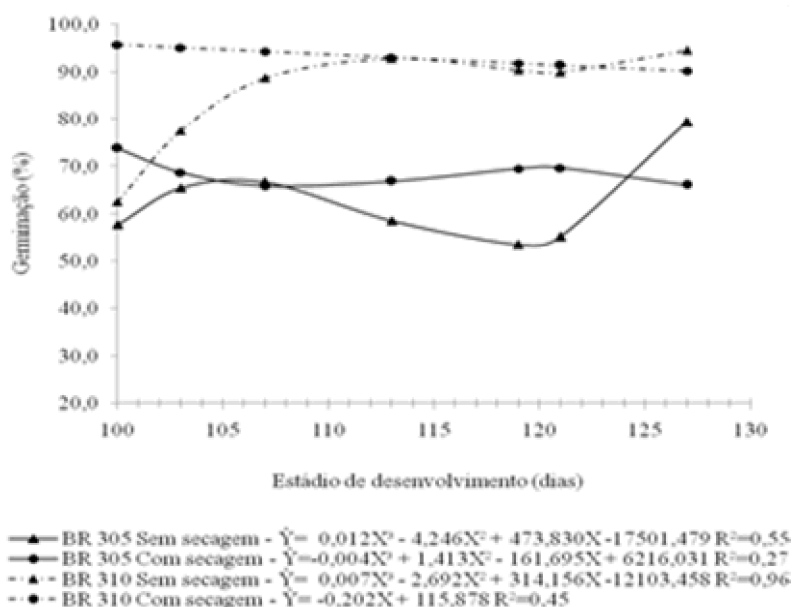


FIGURA 1. Porcentagem de germinação de sementes de sorgo das cultivares BR 305 e BR 310, colhidas aos 100, 103, 107, 113, 119, 121 e 127 dias após sementeira e submetidas ou não à secagem.

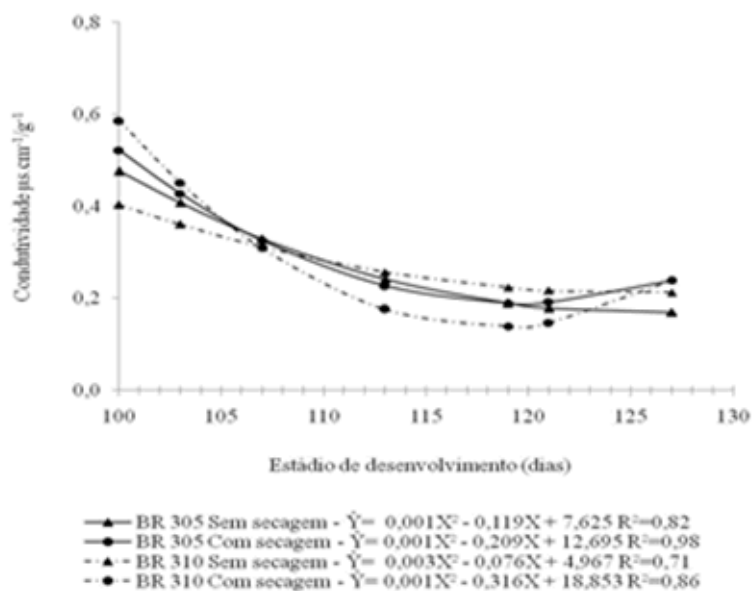


FIGURA 2. Condutividade elétrica de sementes de sorgo das cultivares BR 305 e BR 310, colhidas aos 100, 103, 107, 113, 119, 121 e 127 dias após sementeira e submetidas ou não à secagem

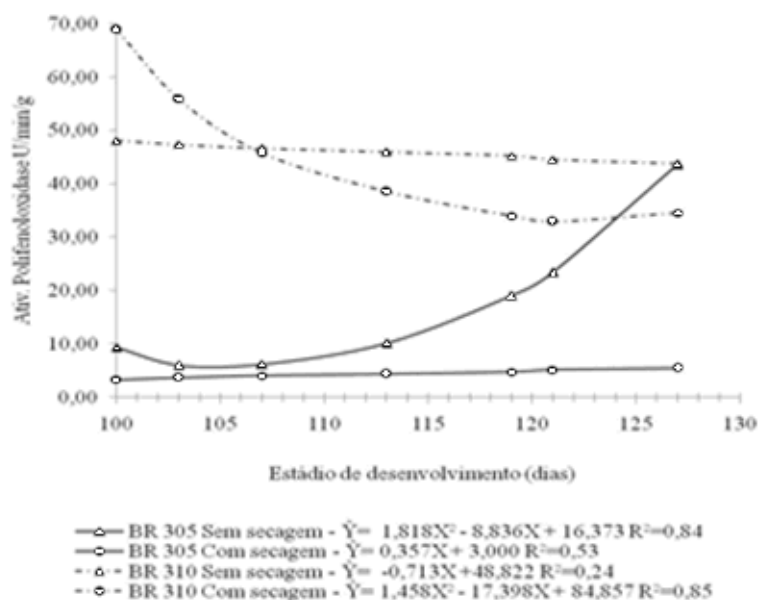


FIGURA 3. Atividade da polifenoloxidase (U/min/g) de sementes de sorgo das cultivares BR 305 e BR 310, colhidas aos 100, 103, 107, 113, 119, 121 e 127 dias após sementeira e submetidas ou não à secagem.