

QUANTIFICAÇÃO DE LÍPIDIOS EM SEMENTES DE PAU-BRASIL ARMAZENADO POR 720 DIAS EM TEMPERATURAS SUB-ZERO

Rafael Fonsêca Zanotti¹; Ludymila Brandão Motta¹; Juliana Iura de Oliveira Mello²; Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol¹

¹Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Av. Fernando Ferrari 514, Campus Universitário Alvor Queiroz de Araújo, CEP 29075-910, Vitória, ES. E-mail: fael_zanotti@yahoo.com.br

²Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica de São Paulo, Av. Miguel Stéfano, CEP 28015620, São Paulo, SP.

Resumo- Esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo quantificar a concentração de lipídios em sementes de pau-brasil armazenadas por 720 dias em freezer (-18°C) e nitrogênio líquido (-196°C). Sementes recém-moídas e desidratadas até 8,7% de teor água foram armazenadas nas temperaturas testadas. Após o armazenamento foi realizado teste de germinação com contagem diária para obter a porcentagem e o tempo de germinação. Além disso, foi realizada a extração e quantificação dos lipídios do eixo e cotilédones das sementes armazenadas. Não ocorreram diferenças bioquímicas e fisiológicas entre as temperaturas de armazenamento para todos os parâmetros avaliados.

Palavras-chave: Sementes, Pau-brasil, Lipídios, Armazenamento, Conservação.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

A população de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), árvore símbolo nacional conforme Lei 6.607 de 07/12/1978 (BRASIL, 1992), era amplamente distribuída do Rio Grande do Norte ao Rio de Janeiro (ALMEIDA, 2000). Desde a época da colonização, o pau brasil vem sendo intensamente explorado e, na atualidade, é encontrado em alguns fragmentos da Mata Atlântica dos Estados de Pernambuco, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo e Espírito Santo (ALMEIDA, 2000). A intensa exploração dessa arbórea levou à sua inclusão na lista de espécies brasileiras ameaçadas de extinção (BRASIL, 1992; IEMA, 2005).

A irregularidade de sua frutificação e a baixa longevidade de suas sementes dificulta a produção de mudas em larga escala. Uma vez ocorrida a deiscência de seus frutos secos, as sementes perdem o poder germinativo em até 90 dias após a colheita quando armazenadas à temperatura ambiente (BARBEDO *et al.*, 2002; HELLMANN *et al.*, 2006). Em virtude da perda rápida de sua umidade, Barbedo *et al.* (2002) caracterizaram as sementes do pau brasil do tipo ortodoxas.

Além disso, as sementes são indivíduos independentes da planta mãe, podendo se

desenvolver em outro local com suas próprias reservas nutritivas, armazenadas principalmente na forma de carboidratos, lipídeos e proteínas. Tais reservas são consumidas durante a manutenção e o desenvolvimento do embrião até a formação de uma plântula capacitada a se manter de forma autotrófica, ou seja, capaz de retirar do ambiente os nutrientes necessários para seu estabelecimento e desenvolvimento (BUCKERIDGE *et al.* 2004).

As principais substâncias de reserva nas sementes são carboidratos, proteínas e lipídios. A proporção dessa composição pode variar de espécie para espécie e até entre espécies de uma mesma família (BORGES e RENA, 1993). Interações macromoleculares e metabólicas entre carboidratos, lipídios e proteínas, que podem ser afetados pela temperatura, estão entre as possíveis causas da integridade estrutural e fisiológica das sementes de pau-brasil durante o armazenamento. Esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de quantificar a porcentagem de germinação e a concentração de lipídios de sementes de pau-brasil armazenadas por 720 dias em freezer (-18°C) e nitrogênio líquido (-196°C).

Metodologia

Material biológico e desenho experimental:

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória, Espírito Santo, Brasil. As sementes de pau-brasil recém colhidas foram fornecidas pela Fundação Pau-Brasil (Pernambuco).

Para os testes de germinação foram utilizadas 100 sementes divididas em 4 placas de Petri forradas com 2 folhas de papel filtro saturadas de água destilada e colocadas para germinar em câmaras B.O.D sob luz e isoterma de 25°C conforme Mello & Barbedo (2007). Aos 730 dias de armazenamento foi aplicado o fungicida Nistatina 0,2% (SILVA & AGUIAR, 2004) nas placas de Petri para controlar a contaminação fúngica.

Extração e quantificação de lipídios:

Sementes de cada tratamento foram submetidas à secagem forçada a 60 °C durante 30 min e depois mantidas em dessecador contendo sílica gel, até atingirem massa constante. A seguir foram pulverizadas em moinho de bola por, aproximadamente, cinco minutos. Amostras de sementes pulverizadas foram envoltas em papel de filtro, previamente lavado com clorofórmio, e tratadas com n-hexano em extrator Soxhlet por quatro horas. O solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o resíduo transferido para um frasco, lavando-se o balão com pequeno volume de n-hexano. As amostras foram secas sob fluxo contínuo de nitrogênio e mantidas em dessecador contendo sílica gel até obter massa constante, quando foram calculados os rendimentos das extrações.

Análise estatística: Aplicou-se a análise de variância (ANOVA) em 5% de significância, seguida do teste de TUKEY, quando necessário, utilizando o programa estatístico ASSITAT 5.0.

Resultados

A porcentagem e o tempo de germinação não diferiram significativamente entre as duas temperaturas de armazenamento sendo 70% e 78 % as porcentagens de germinação das sementes submetidas ao armazenamento em freezer e nitrogênio líquido, respectivamente (Tabela 1).

A porcentagem de lipídios por matéria seca (Tabela 2) não apresentou diferenças significativas após 730 dias de armazenamento entre as temperaturas negativas. Porém os cotilédones apresentaram maiores porcentagens (16% MS) em relação aos eixos (12,5% MS).

Tabela 1. Porcentagem e tempo de germinação de sementes de pau-brasil armazenado em freezer e nitrogênio líquido por 730 dias.

Germinação	Armazenamento	
	Freezer	N. liquido
Porcentagem	70A	78A
Tempo (dias)	2,8A	2,7A

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Tabela 2. Porcentagem de lipídios em relação massa seca (%MS) de cotilédones e eixo embrionário de sementes de pau-brasil armazenadas por 730 dias à -18°C e -196°C.

Estrutura	Armazenamento	
	Freezer	N. liquido
Cotilédones	16aA	16aA
Eixo	13bA	12bA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Discussão

Os métodos de armazenamento não diferiram entre si em todos os parâmetros avaliados. As porcentagens de germinação obtidas são possíveis devido às sementes de *C. echinata* serem consideradas ortodoxas, ou seja, toleram desidratação e podem ser armazenadas sob baixas temperaturas por um longo período.

Diferenças foram encontradas apenas entre as estruturas das sementes, pela distribuição diferenciada de lipídios entre cotilédones e eixo embrionários.

Segundo Mello (2008), em experimento com pau-brasil, apresentou porcentagens de lipídios nos cotilédones (17,6%) próximos aos valores deste trabalho enquanto os valores dos lipídios nos eixos embrionários (7,0%) foram inferiores em relação a este experimento. Essas diferenças de valores podem ser causadas pela variação genética e/ou ambiental, pois as sementes utilizadas por Mello (2008) foram colhidas em um arboreto em São Paulo e enquanto no presente as sementes são provenientes de uma população de Pernambuco.

Sementes de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. apresentaram cerca de 50% de lipídios

(CORTE, 2006), diferentemente das sementes de *Caesalpinia echinata* que apresentam em média 14% de lipídios mostrando que espécies pertencentes à mesma família apresentam diferente composição de reservas.

Diferentes temperaturas sub-zero de armazenamento também podem apresentar efeitos divergentes. REIS e CUNHA (1997) destacam que para *Anadenanthera peregrina* L. armazenada em freezer e nitrogênio líquido, a espécie apresentou melhor viabilidade para sementes desidratadas e armazenadas em nitrogênio líquido.

Corte et al. (2006) encontraram cerca de 50% de lipídios em relação ao peso de matéria seca dos cotilédones de sementes de *Caesalpinia peltophoroides*. Os principais materiais de reserva em sementes de girassol também são estocados nos cotilédones, tendo entre 22 e 36% do seu peso de matéria seca constituído por lipídios (SOROKIN, 1967). *Dalbergia miscolobium* Benth. apresenta 32% de lipídio e pequena proporção de amido (2,4 a 4,7%) nos cotilédones (SILVA et al., 1998).

A concentração de lipídios no eixo embrionário também pode ser destacada pelos trabalhos realizados por Silva et al. (1998), que observaram a importância dos lipídios de reserva no eixo embrionário, nos estádios iniciais da germinação. Pontes et al. (2002) conclui ainda que as necessidades de substâncias energéticas e estruturais físicas em *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F. Macbr. (GARAPA) são supridas por lipídios do próprio eixo embrionário. Isso deve-se ao fato dos lipídios não serem utilizados na síntese de amido e nem se acumularem no eixo embrionário como açúcares solúveis ou redutores.

Em sementes de *Pinus edulis* a utilização de reservas de lipídios só foi detectada no eixo embrionário e no megagametófito durante 21 dias, com redução de 80% daquela reserva (Hammer & Murphy, 1994). Por outro lado, Silva et al. (1998) verificaram que os valores de lipídios não alteraram significativamente no eixo embrionário até a protrusão da radícula, enquanto nos cotilédones ocorreu decréscimo significativo quando o eixo embrionário possuía 20 a 50 mm.

Modificações durante o armazenamento na porcentagem de lipídios podem estar relacionado com a peroxidação dos mesmos fazendo com que as concentrações diminuam durante o armazenamento (CORTE, 2010), porém com sementes de pau-brasil não ocorreu diferença significativa entre os dois métodos de armazenamento corroborando como as porcentagem de germinação, que também manteve-se constante.

Conclusão

Não foram detectadas diferenças na porcentagem e no tempo de germinação, assim como na porcentagem de lipídios, em sementes de pau-brasil armazenadas por 730 dias em freezer e nitrogênio líquido.

Referências

- ALMEIDA, D.S. 2000. Recuperação ambiental da Mata Atlântica. Ilheus, BA (Brazil). Editora Editus. 130 p. 2000.
- BARBEDO, C.J.; BILIA, D.A.C. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.F.. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. Revista Brasileira de Botânica, V.25, n.4, p.431-439, 2002.
- BRASIL. 1992 Portaria n. 006/92-N, de 15 de janeiro de 1992. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, v.130, n.16, p.870-872, Seção 1.1992.
- BUCKERIDGE, M.S., AIDAR, M.P.M., SANTOS, H.P., TINÉ, M.A.S. 2004. Acúmulo de reservas. In Germinação: do básico ao aplicado (A.G. Ferreira & F. Borghetti, orgs.). Artmed, Porto Alegre. pp.31-50.2004.
- CORTE VB, BORGES EEL, PONTES CA, LEITE ITA, VENTRELLA MC, MATHIAS AA Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae). Revista Árvore, v.30, n.6, 941-949, 2006.
- CORTE, V.B.; BORGES, E.E.L.; Leite, H. G.; PEREIRA, B.L.C.; GONÇALVES, J.F.C. Estudo enzimático da deterioração de sementes de *Melanoxylon brauna* submetidas ao envelhecimento natural e acelerado. Revista brasileira de sementes v.32 n.1, 2010.
- IEMA. Decreto Nº 1.499-R de 14 de junho de 2005.
- HAMMER, M. F.; MURPHY, J. B. Lipase activity and *in vivo* triacylglycerol utilization during *Pinus edulis* seed germination. **Plant Physiology of Biochemistry**, v. 32, n. 6, p. 861-867, 1994.
- HELLMANN, M. E.; MELLO, J. I.O.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C.L. *et al.* Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil

(*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água inicial. *Revista Brasileira de Botânica*, vol.29, no.1, p.93-101. 2006.

- MELLO, J. I. O. & BARBEDO, C. J. Temperatura, luz e substrato para germinação de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae . Caesalpinioideae). *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.31, n.4, p.645-655.2007.

- MELLO, J. I. O. Compostos de reserva de sementes e suas relações com diferentes níveis de sensibilidade à dessecação e ao congelamento. Dissertação de mestrado, Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo.2008.

- PONTES, A. P. et al. Mobilização de reservas em sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr. (garapa) durante a embebição. *Revista Árvore*, v. 26, n. 5, p. 593-601, 2002.

- REIS, A.M.M.; CUNHA, R. Efeito do congelamento sobre a viabilidade de sementes de *Anadenanthera peregrina*(L.) Speg. com diferentes conteúdos de umidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.32, n.10, p.1-12, 1997.

- SILVA, T.R.G.; CORTELAZZO, A.L.; DIETRICH, S.M.C. Variations in storage compounds during germination and early plantlet growth of *Dalbergia miscolobium*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 10, n. 2, p. 119-124, 1998.

- SILVA, L. M. M. & AGUIAR, I. B. . Efeito dos substratos e temperaturas na germinação de sementes de *Cnidoscylus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm. (Faveleira). *Revista brasileira de sementes*. vol.26, no.1, p.9-14. 2004.

- SOROKIN, H.P. The spherosomes and the reserve fat in plant cells. *American Journal Botany*, v. 54, n. 8, p. 1008-1016, 1967.