

Dormência: germinação em pré- colheita

*Osmar Rodrigues, Agostinho Dirceu
Didonet, Mauro Cesar CelaroTeixeira*

A origem da dormência encontra-se na fase de desenvolvimento da semente. Em determinado momento, o desenvolvimento do embrião é alterado pela desidratação. Nesse momento a semente pode estar dormente (dormência primária) ou não dormente. As sementes dormentes não germinam, mesmo que as condições requeridas para tal estejam presentes. As sementes não dormentes germinam, se tais condições forem atingidas. Em algumas espécies, somente água é requerida; em outras, luz, condições específicas de solo e variação de temperatura diurna são também requeridas. Se esses fatores não estão presentes, a germinação é passivamente inibida (pseudo dormência). Após prolongada inibição, a semente pode gradualmente entrar em processo de dormência (dormência secundária).

Normalmente a dormência primária pode ser quebrada por regimes de temperatura, por secamento (pós-maturação) ou por embebição das sementes (estratificação). A estratificação pode também quebrar a dormência secundária (KARSSSEN, 1995). Bouwmeester & Karssen (1993) observaram que, ci-

culos de dormência podem ocorrer em condições de campo, associados com mudanças de temperatura.

Chuvas excessivas e flutuações de temperatura nos estádios mais avançados do desenvolvimento de grãos causam a quebra da dormência das sementes e o desencadeamento do processo de germinação em pré-colheita, comumente chamada “germinação na espiga” (preharvest sprouting-PHS). Esse processo caracteriza-se pela ação conjunta de enzimas proteolíticas e amilolíticas, causando desordem de natureza bioquímica dos grãos com reflexos negativos na qualidade da farinha (McGRATE et al., 1981; NODA et al., 1994; STONE & NICOLAS, 1995b). Além de afetar diretamente a qualidade industrial, a germinação pré-colheita acima de níveis mínimos, devido ao aumento na atividade da alfa-amilase, tem como consequência uma diminuição na funcionalidade geral do grão de trigo (McGRATE et al., 1981). O maior tempo de dormência em trigo é uma característica varietal desejada que pode reduzir os problemas de germinação na espiga. Tal característica pode ser modificada pelo ambiente. Alta temperatura, baixa umidade e fotoperíodo longo durante o desenvolvimento do grão reduzem o nível de dormência em grãos maduros (STRAND, 1989).

As alfa-amilases existem em formas múltiplas ou isoenzimas e podem ser divididas em dois grupos em função do seu PI (Ponto isoelétrico de carga). O primeiro, caracterizado como grupo de PI baixo ou isoenzimas verdes (presente em trigo imaturo) é termolábil. O segundo, representado pela alfa-amilase malte de alto PI ou isoenzimas germinadas (presente em trigo germinado) é termoestável. Ambas alfa-amilases, podem ser distinguíveis por diferenças funcionais e tempo-

rais específicas. A alfa-amilase malte atua nos grânulos intactos de amido, degradando-os até carboidratos de alto peso molecular e oligossacarídios, enquanto a alfa-amilase verde ataca essas moléculas, produzindo dissacarídeos e monossacarídeos (NISHIKAWA & WATANABE, 1988). A alfa-amilase malte ocorre no início da germinação, e a verde é encontrada e atua nas etapas subseqüentes ao início da germinação e no pericarpo da semente em desenvolvimento. Ambas as amilases são sintetizadas por ativação pelo ácido giberélico, com início logo após a antese (cerca de 14 dias), atingindo o máximo quando as sementes adquirem seu volume final. Já a inibição das amilases é efetuada pelo ácido abscísico, que tem seu ponto de máxima inibição logo após a semente ter atingido seu volume final para que, dessa forma, possa evitar o início do processo de degradação do amido quando a semente ainda possui altos teores de umidade (NISHIKAWA & WATANABE, 1988).

Hagberg (1960, 1961) e Perten (1964) desenvolveram um método simples e rápido para determinar a atividade da Alfa-amilase (Falling Number=FN). Após, esse método tornou-se padrão internacional da AACCC (American Association of Cereal Chemistry) e da ICC (International Association of Cereal Science and Technology) e, atualmente é usado no controle de qualidade de grão. Grãos com baixo Falling Number (FN) devido a alta atividade da Alfa-amilase causam substancial perda econômica devido a baixa qualidade do produto final. Tal prejuízo, atualmente é muito mais expressivo, principalmente devido a alta demanda e automação da atual indústria de produção de alimentos derivados do trigo.

Baixo FN é geralmente associado a Germinação na Espiga, contudo esta associação pode não significar uma relação de

causa e efeito. Nesse sentido, parece existir um consenso entre os cientistas da existência de várias causas adiconais de baixo FN (MARES & MRVA, 2008). Entre essas, o consenso aponta para “Alfa amilase de maturação tardia” (LMA=Late Maturity alfa-amylase) (MARES & MRVA, 1993), também conhecida como alfa-amilase prematura (PMAA) (GALE et al., 1987) ou alfa amilase retida no pericarpo. A LMA ou PMAA é a alfa-amilase (*Isoenzima de alto PI controlada pelo gene Amy-1 localizado no grupo de cromossomas 6A, 6B e 6D*) sintetizada durante o estágio tardio do desenvolvimento dos grãos de trigo, na ausência de germinação na espiga, resultando em grãos maduros com alta alfa-amilase e baixo FN. A LMA parece ser um defeito genético e limitada a genótipos específicos (MARES & GALE, 1990) e, sua expressão ocorre em alguns ambientes ou quando a cultivar é exposta a tratamento de baixa temperatura. Ainda, evidências apontam que a produção de LMA é controlada mais pelo endosperma, do que pelo tecido embrionário (MARES & MRVA, 1993).

O acompanhamento na atividade de alfa-amilase durante o desenvolvimento dos grãos, permitiu verificar a existência de um novo momento de síntese da enzima, coincidindo com o início do processo de desidratação dos grãos, quando o teor de umidade foi de 35-40%. Trabalho descrito com a cultivar mexicana Lerma-52 (Mentana*3/Kenya 324) que mantém baixo FN (267s) revelou que a fonte LMA provém da cultivar recorrente Mentana, pois Kenya 324 mantém muito alto FN. Cabe destacar que Mentana também é um dos pais da cultivar Frontana (Fronteira/Mentana) lançada em 1940, considerada como a principal base genética de tolerância à germinação na espiga, do germoplasma nacional (BASSOI et al., 2006; FRANCO et al., 2009). A LMA deve causar preocupação em

toda a cadeia produtiva do trigo, mas principalmente, na indústria de trigo, pois:

- a) os grãos não apresentam sinais físicos de “danos”;
- b) pela quase inexistência de previsibilidade de sua ocorrência e;
- c) essa fonte de LMA (Lerma 52) tem sido usada extensivamente pelos melhoristas do CIMMYT no México, no desenvolvimento/distribuição de germoplasma ao redor do mundo. Finalmente LMA é completamente independente da Germinação na Espiga e pode se expressar em genótipos tolerantes a germinação na espiga ou dormente (GALE et al., 1990).

A dormência não parece ser a única causa da resistência à germinação na espiga. Derera & Noll (1978) apontam outros elementos e mecanismos que induzem resistência a germinação na espiga. Dentre eles fatores fisiológicos e climáticos são considerados de grande importância. Entre estes podemos citar:

- a) características da palha das espigas;
- b) interrupção do desenvolvimento normal do grão por ataque de doenças e pragas (LADO et al., 1974);
- c) efeito da fertilização nitrogenada na produção de alfa-amilase (CIHA & GOLDSTEIN, 1983);
- d) reduzida capacidade dos grãos de absorverem água (KING & CHADIN, 1983);
- e) remoção de inibidores localizados no pericarpo dos grãos no fim do crescimento dos grãos (EVANS et al., 1975);

- f) maior sensibilidade ao ácido giberélico, induzida por seca (NICHOLLS, 1979);
- g) altas temperaturas no período de enchimento dos grãos (STONE & NICOLAS, 1996a) e;
- h) efeito generalizado nas relações rendimento de grãos/proteínas (TERMAN, 1979).

O ácido abscísico (ABA), sintetizado nos tecidos ao redor do embrião ou suplementado pela planta mãe tem sido apontado como mantenedor do metabolismo do embrião em um estado anabólico. Como grande componente de crescimento e de maturação do embrião, o ABA está também associado à promoção da síntese de proteínas de reserva (KERMODE, 1995) e lipídios (SEO & KOSHIBA, 2002). O principal mecanismo de síntese de ABA parece ser derivado do Fanesil Pirofosfato (composto de 15 Carbonos) (Fig. 3), produzido a partir do IPP (Isopentenil-pirofosfato). Carotenóides e isoprenóides são sintetizados a partir do IPP nos plastídios, os quais são derivados da união entre piruvato + 3PGAL (3P Glicerolaldeído) via DXP (1-Desoxi-D-xylulose-5-fosfato), catalisada pela enzima DXS (DXP-sintetase) (Fig. 3). Assim a biossíntese de ABA tem os carotenóides como seus precursores, nos plastídios.

A mobilização da reserva da semente é normalmente um evento pós-germinativo, acompanhado pela síntese e/ou ativação de enzimas hidrolíticas, entre outras. O acúmulo de ABA durante o desenvolvimento da semente de trigo tem sido apontado como a condição que previne a germinação precoce do embrião e a prematura hidrólise da reserva de amido do endosperma em um grão morfológicamente completo, mas imaturo (KING, 1976).

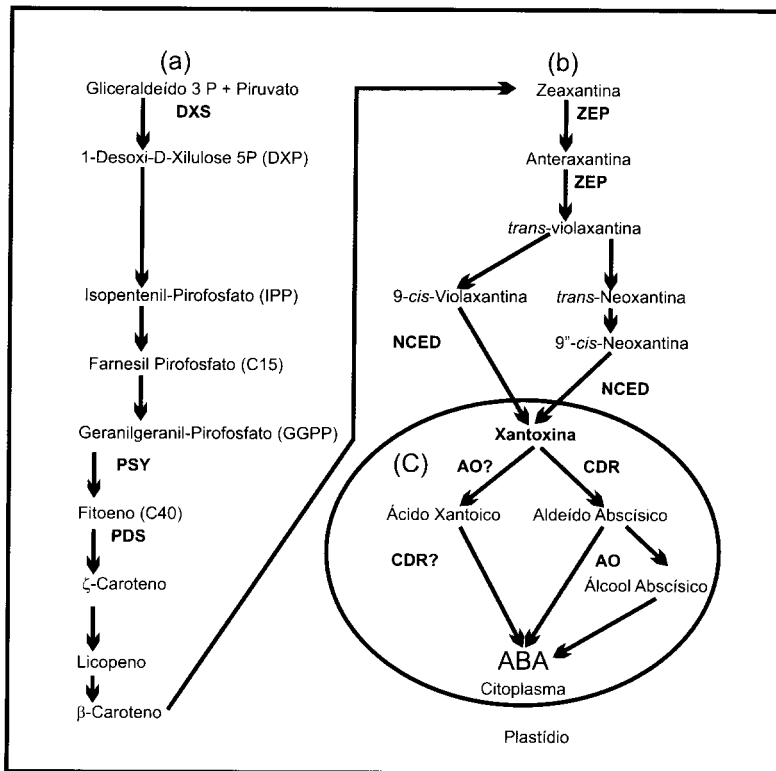


Fig. 3. Rotas de biossíntese de ácido abscísico em plantas (**a**-síntese de precursores de carotenóides em plastídios; **b**-síntese de epoxicarotenóides e sua quebra em plantas; **c**-reações no citoplasma para formação do **ABA**). Enzimas (em negrito) apresentadas na figura com a seguinte abreviação: **AO**(Aldeído oxidase; **DXS**(DXPS-intetase);**PSY**(Fitoeno-sintetase);**PDS**(Fitoeno-desaturase); **ZEP** (Zeaxantina-epoxidase);**NCED** (9-*cis*-epoxicarotenóide-dioxigenase);**CDR** (Cadeia Curta-desidrogenase/reductase).

Fonte: Adaptada de Seo & Koshiba, 2002.

A mobilização do amido do endosperma em cereais é iniciada pela alfa-amilase, induzida por ácido giberélico e cuja for-

mação pode ser inibida por ABA (JACOBSEN & CLOSE, 1991). A enzima pode ser produzida pelas células de aleurona e do embrião, embora no embrião seu papel não esteja bem esclarecido. A produção de alfa-amilase no embrião maduro acompanha a sua germinação, mas em embrião imaturo essa relação entre germinação e produção de alfa-amilase não é aparente (CONFORD et al., 1987). Então, a supressão da formação da enzima em semente imatura não é simplesmente devida à ausência do crescimento germinativo. A concentração endógena de ABA no embrião de trigo é suficiente para inibir a produção de alfa-amilase (GARCIA-MAYA et al., 1990). Dessa forma, a produção de alfa-amilase é induzida quando o ABA é perdido ou eliminado do embrião. Por outro lado, quando restaurado novamente o seu nível no embrião, bloqueia completamente a produção de alfa-amilase de alto PI (pH isoeletrico), mas não bloqueia a de PI baixo (GARCIA-MAYA et al., 1990).

Gale et al.(1983), propuseram que o lento secamento do grão de trigo entre 40% e 20% do conteúdo de umidade, aumenta prematuramente a produção de alfa-amilase e que um aumento no suplemento de nitrogênio para o trigo pode reduzir sua atividade no grão (KETTLEWEL & COOPER, 1993). O mecanismo desse processo não está claro; é possível que esse efeito seja decorrente do efeito do nitrogênio no retardamento da senescência foliar, impedindo que o grão entre em maturação mais cedo, o que implicaria na quebra imediata da dormência e a consequente germinação na espiga.

A síntese de alfa-amilase parece ocorrer ao redor dos 35 dias após a antese, a menos que seja inibida pelo alto nível de ABA. Síntese precoce de alfa-amilase pode ser causada por um defeito no metabolismo do ABA, resultando na iniciação

da germinação na espiga. O subsequente rápido decréscimo no conteúdo de água das sementes paralisa esse processo (NISHIKAWA & WATANABE, 1988). Similar correlação existe entre o nível de ABA e a produção de alfa-amilase no tecido de aleurona de grão de trigo em desenvolvimento (BEWLEY & BLACK, 1994).

A quantidade de ABA no embrião de sementes de trigo suscetível à germinação na espiga é somente 25% menor do que a de cultivar resistente. Entretanto, existe uma grande diferença entre a sensibilidade dessas cultivares ao ABA. Essa diferença é particularmente evidente no período de secamento na maturação da semente, onde o embrião da cultivar suscetível perde a sensibilidade ao ABA quando a semente entra no estágio de dessecação, ao contrário da resistente, que não perde a sensibilidade (WALKER-SIMMONS, 1987).

Fatores de ambiente durante o desenvolvimento da semente são também importantes no estabelecimento da intensidade da dormência (REDDY et al., 1985). Aumento de dormência ocorre em grãos formados sob temperaturas baixas (15 °C) e é correlacionado com a elevada sensibilidade do embrião ao ABA na maturação, na ausência de qualquer diferença aparente no nível do ABA no embrião. Alto nível de dormência também é expresso em ambientes mais quentes e também depende da sensibilidade ao ABA (WALKER-SIMMONS, 1988).

Esse aumento da resposta do embrião de sementes dormentes ao ABA fornece um possível mecanismo para a dormência e vislumbra a possibilidade da existência de uma proteína de dormência. Nesse sentido, uma abundante proteína hidrofílica

(proteínas tipo LEA="late embryogenesis abundant") exibindo regulação temporal durante o desenvolvimento da semente poderia estar envolvida. Essa proteína, tem sido relacionada com tolerância a dessecação (KERMODE, 1995). Assim, o embrião de sementes dormentes em resposta ao ABA, poderia causar aumento da produção de proteína LEA provocando auto-stress osmótico, capaz de sequestrar água e restringir a germinação (MORRIS, et al., 1991).

A mobilização das reservas das sementes pelo embrião, é realizada via giberelina (GA), a qual é transportada do embrião para as células de aleurona. Nestas células (vivas), em resposta ao GA há síntese de alfa-amilase e outras enzimas necessária para hidrólise das reservas do endosperma. Por outro lado, o ABA bloqueia a transcrição do gene indutor de GA e, conseqüentemente, a produção de enzimas. Ainda, diretamente, o ABA tem sido apontado como responsável pelo estímulo a produção de uma proteína específica inibidora de alfa-amilase. O GA libera a dormência, promove a germinação e neutraliza o efeito inibitório do ABA. Etileno e BR (Brassinosteróides) também neutraliza o efeito inibitório do ABA na germinação de sementes, mas na maioria das espécies eles parecem agir após a dormência ter sido liberada pelo GA (KUCERA et al., 2005)

O potencial de germinação na espiga e a dormência de trigo, como pôde ser visto, são influenciados pelo ambiente, pelos estádios de desenvolvimento e pelas práticas de manejo, principalmente adubação nitrogenada. Nesse sentido, estudos devem ser desenvolvidos, para compreensão da interação desses fatores na atividade da alfa-amilase e no conteúdo de umidade dos grãos das principais cultivares de trigo em recomendação, principalmente no Sul do Brasil. Essas infor-

mações poderão servir também como base para o desenvolvimento de sistemas de alerta para redução de riscos, principalmente em regiões onde o momento da maturação e colheita de trigo coincide com grande incidência de chuvas e temperaturas elevadas.

