

Atividade Amilolítica e Qualidade Fisiológica de Sementes Armazenadas de Milho Super Doce Tratadas com Ácido Giberélico

XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 01 a 05 de setembro de 2002 - Florianópolis - SC

C.A. ARAGÃO, B.F. DANTAS, E. ALVES, A.C. CATANEO, C. CAVARIANI e J. NAKAGAWA.

Embrapa Semi-Árido BR428, km 152, C.P. 23, Petrolina-PE, CEP 56300-970
barbara@cpatsa.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Com a expansão de mercado de milho doce no Brasil é necessária uma maior preocupação com a qualidade fisiológica das sementes empregadas. Além disso, é importante entender as alterações metabólicas que levam a sua deterioração durante o armazenamento.

Por conterem elevados teores de açúcares solúveis no endosperma, associados à presença de pericarpo tenro, as sementes de milho doce apresentam rápida perda da viabilidade, devido ao baixo teor de reservas no endosperma, acarretando em baixa uniformidade do 'stand'. Esses fatores que tem levado a adoção da germinação destas sementes para 70% e 75%, respectivamente para sementes fiscalizadas e certificadas, em vez de 85%, para ambas classes do milho comum no estado de São Paulo (CESM, 1999).

Técnicas que induzem a maior germinação e qualidade fisiológica são fatores importantes para aumentar o potencial de desempenho das sementes e, por conseguinte, a uniformidade das plantas em condições de campo. A embebição de sementes em substrato contendo solução com substâncias promotoras de crescimento consiste em uma técnica bastante conhecida há vários anos. Tem sido demonstrado que os efeitos benéficos deste tratamento permanece, mesmo após a secagem das sementes (Rosseto et al., 2000).

O uso de reguladores de crescimento na fase de germinação melhora o desempenho das plântulas, acelerando a velocidade de emergência e realçando o potencial das sementes de várias espécies. O uso de compostos químicos biologicamente ativos, como reguladores de crescimento, podem cessar ou diminuir o impacto de fatores adversos na qualidade e desempenho das sementes (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1985). O uso de giberelinas na fase de germinação pode melhorar a performance de sementes de várias espécies, principalmente sob condições adversas (Cunha & Casali, 1989).

Segundo Salisbury & Ross (1991), na maioria das espécies, as giberelinas atuam no alongamento celular, fazendo com que a raiz primária rompa os tecidos que restringem o seu crescimento, como o endosperma, o tegumento da semente ou estruturas do fruto.

Em sementes de alfaca, colocadas para germinar em condições de escuro a 20°C, o ácido giberélico estimulou a germinação das mesmas, quando submetidas a concentrações de 25; 50; 100 e 200mg.L⁻¹ (Cunha & Casali, 1989).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do ácido giberélico na germinação de sementes armazenadas de milho super doce no vigor de plântulas e as alterações fisiológicas e bioquímicas decorrentes dos tratamentos.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado nos Laboratórios de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal/FCA e de Bioquímica de Plantas do Departamento de Química e Bioquímica/IB da Universidade Estadual Paulista de Botucatu, entre os meses de julho e setembro de 2001. Foram utilizadas sementes de milho super doce da Cultivar DO-04, retidas em peneiras 22. Essas sementes foram provenientes da safra 1999/2000, as quais foram tratadas com fungicida e inseticida, acondicionadas em sacos de papel e em seguida armazenadas em câmara seca (40% UR), durante oito meses.

As sementes foram colocadas para germinar em rolos de papel toalha, embebidos com GA₃ nas concentrações zero, 50, 100, 150 e 200mgL⁻¹. Amostras das sementes, por repetição, foram submetidas a testes de avaliação de qualidade fisiológica: **germinação** - as sementes foram submetidas ao teste de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Foram utilizadas 200 sementes de cada unidade experimental, em quatro subamostras de 50 sementes, semeadas em papel toalha "germitest" umedecido com quantidade de solução equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato e mantidas em germinador a 25 °C. As avaliações foram feitas aos quatro e sete dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem média de plântulas normais; **primeira contagem da germinação** - realizada quatro dias após a semeadura; **atividade amilolítica** - para os testes bioquímicos foram utilizadas 25 sementes de cada tratamento (zero, 50, 100, 150 e 200mg de GA₃ por L⁻¹, colocadas para germinar em gerbox, sobre duas camadas de papel "germibox" embebidos com a solução de GA, em germinador a temperatura de 25°C. A extração das enzimas amilolíticas, assim como o ensaio de atividade foi realizado conforme método descrito por Gugelmineti et al. (1995). Os endospermas foram macerados com almofariz e pistilo em tampão TRIS-HCl 0,1mol.L⁻¹, pH 7, contendo NaCl 0,1mol.L⁻¹ e CaCl₂ 10mmol.L⁻¹. Essa solução foi centrifugada a 12.000g, 4°C durante 10 minutos, coletando-se o sobrenadante. A atividade de amilases totais e de α-amilase foi medida em um sistema de reação, contendo tampão de reação (Acetato de sódio 50mmol.L⁻¹, pH 5,2 e CaCl₂ 10mmol.L⁻¹) e amido solúvel de batata 2,5% como substrato. Esse sistema de reação foi incubado a 35°C durante 15 minutos. Para inativar as outras amilases, permanecendo apenas a α-amilase, o extrato cru foi mantido a 70°C, durante 15 minutos antes da realização do ensaio. Ao final do ensaio os açúcares redutores foram dosados pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) em espectrofotômetro a 540nm, e a atividade de amilases totais e α-amilase foi expressa em mmol de açúcares redutores produzidos pela degradação de amido, por mg de proteína, por minuto; **determinação da quantidade de proteínas totais** - foi realizada de acordo com o método proposto por Lowry et al. (1951), a partir de curva padrão de BSA (albumina bovina sérica) com leitura em espectrofotômetro a 660nm.

Os efeitos dos fatores estudados nas características avaliadas foram conhecidos mediante análise de regressão, sendo selecionado para expressar o comportamento de cada característica o modelo significativo que apresentou maior coeficiente de determinação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1a, encontram-se os valores médios estimados de germinação, em função das doses de ácido giberélico (GA₃) aplicadas ao papel de germinação. Observa-se que as sementes tratadas com 50 e 100mg.L⁻¹de GA tiveram um ligeiro efeito favorável na germinação, quando comparada ao tratamento testemunha. Esses tratamentos proporcionaram acréscimos na germinação na ordem de 11% e 10%, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Aragão et al. (2000), trabalhando com sementes novas de milho doce com poder germinativo de 75%, padrões da CESH (1999).

À semelhança do que ocorreu com a germinação final das sementes (Figura 1), observa-se novamente que o tratamento de 50mg.L⁻¹de GA₃ foi o que proporcionou maior vigor representado pela primeira contagem do teste de germinação, indicando melhor qualidade fisiológica das sementes (Figura 1b). As sementes de milho doce não tratadas mantiveram em média valores de 36% e 26% de germinação final e primeira contagem do teste de germinação, enquanto que as sementes tratadas com 50 mgL⁻¹ de GA₃ apresentaram, aproximadamente, 40% e 30% de germinação final e primeira contagem, respectivamente. A partir de 100mg.L⁻¹de GA, houve uma queda na germinação e primeira contagem do teste de germinação (Figura 1).

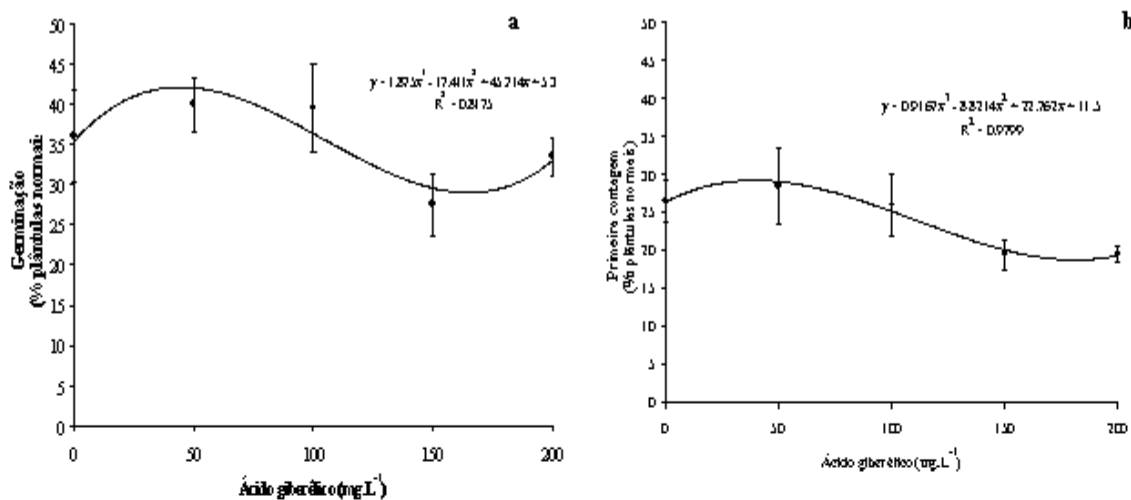
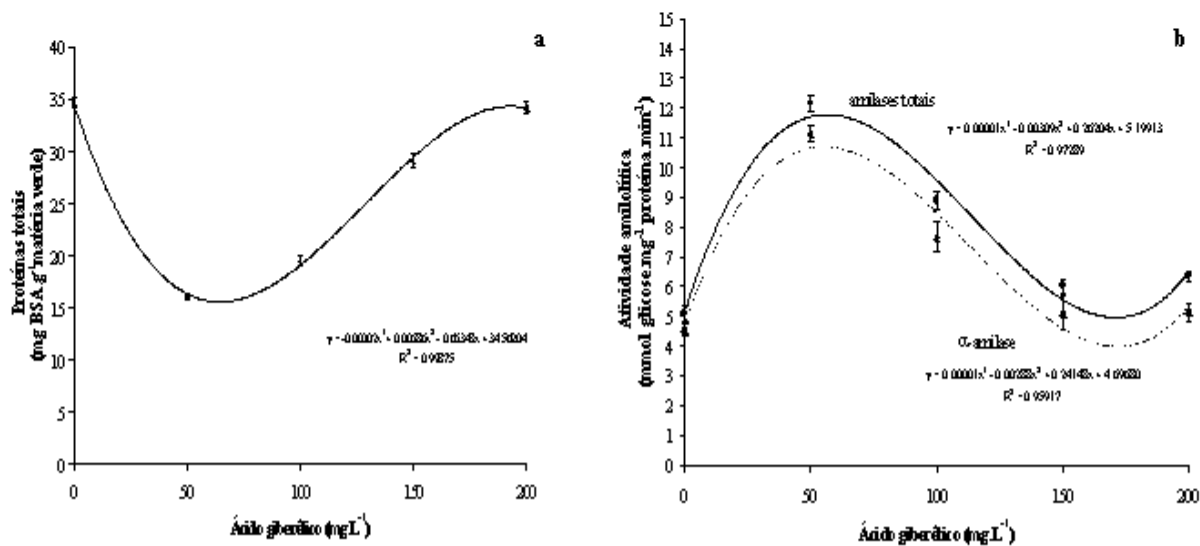


FIG. 1. Resultados médios de (a) germinação e da (b) primeira contagem da germinação de sementes (% armazenadas de milho super doce, submetidas a doses crescentes de ácido giberélico.



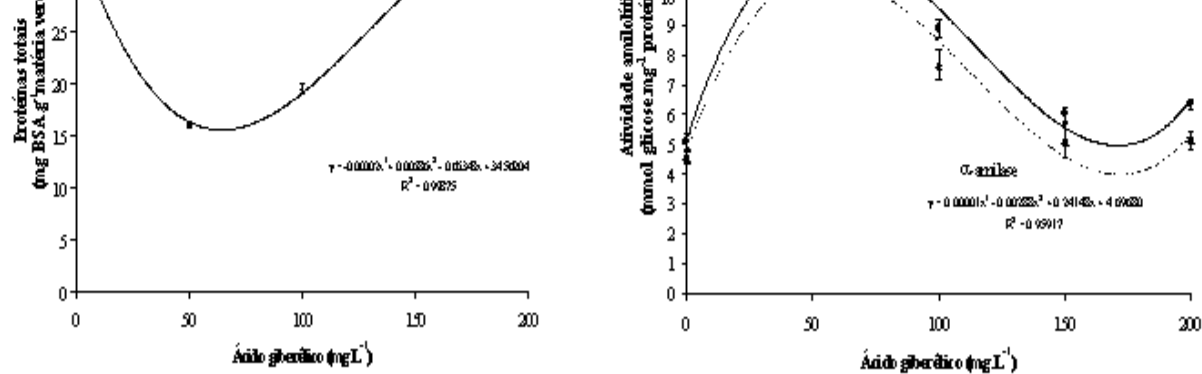


FIG. 2. Teor de (a) proteínas totais e (b) atividade de amilases totais e α -amilase sementes armazenadas de milho super doce, submetidas a doses crescentes de ácido giberélico.

Verifica-se um decréscimo nos teores de proteínas totais nos tratamentos com 50, 100 e 150 mg L⁻¹ de GA₃, respectivamente (Figura 2a). O baixo teor de proteínas totais pode ser explicado pela degradação das proteínas de reserva existentes nas sementes quiescentes, disponibilizando aminoácidos para a síntese de novas proteínas, sendo elas de função estrutural ou enzimática (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1985). Analisando-se a Figura 2b, confirma-se que o GA₃ induz à síntese das enzimas de degradação de reservas, pela atividade da α -amilase, já que ocorre uma síntese de 'novo' dessa enzima durante a germinação. Por outro lado observa-se na mesma Figura que o GA₃ induz o aumento da atividade de outras amilases. A alta degradação de proteínas de reserva associada à alta atividade de α -amilase (Figura 2), proporcionou um aumento da germinação e vigor das sementes tratadas com 50 mg L⁻¹ de GA₃ (Figura 1).

Pode-se concluir, portanto, que as sementes submetidas à pré-embebição em solução de 50 mg L⁻¹ de ácido giberélico, apresentaram maior germinação e vigor, menor teor de proteínas totais e maior atividade amilolítica.

REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, C.A.; LIMA, M.W.P.; MORAIS, O.M.; NEVES, M.B.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; BOARO, C.F.S. & NAKAGAWA, J. Efeito de fitorreguladores na germinação de sementes e no vigor de plântulas de milho doce. In: REUNIÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS DO LAGEADO, 7, Botucatu. **Resumos**. Botucatu: UNESP/FCA, 2000. p.15.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de Sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- CESM/SP-COMISSÃO ESTADUAL DE SEMENTES E MUDAS DE SÃO PAULO. 1999. **Padrões de sementes de grandes culturas**. 1999-2000. Campinas: CEM/SP, s.p.
- CUNHA, R. & CASALI, W.D. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento sobre a germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Brasileira de Fisiologia vegetal**, Brasília, v.1, n.2, p.121-132, 1989.
- GUGELMINETTI, L.; YAMAGUCHI, J. PERATA, P. & ALPI, A. Amilolytic activities in cereal seeds under aerobic and anaerobic conditions. **Plant Physiology**. v.109, n.1, p.1069-1076. 1995.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L. & RANDAL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda. V.193, p.265-275, 1951.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of plants**. 4ed. Oxford: Pergamon Press 1978. 270p.

ROSSETO, C.A.V.; CONEGLIAN, R.C.C.; NAKAGAWA, J.; SHIMIZU, M.K. & MARIN, V.A. Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand) em função de tratamento pré-germinativo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22,n.1, p.247-252, 2000.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C.W. **Plant Physiology**. Belmont: Wadsworth, 1991. 682p.

XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 01 a 05 de setembro de 2002 - Florianópolis - SC
