

Dra. Maria Izabel Gallão

Ecologia da germinação

- **Ecofisiologia** → ciência experimental que visa descrever os mecanismos fisiológicos que determinam o que se observa na ecologia (Lambers et al., 1998).

Formação das sementes

- **Embriogênese** → processo que inicia o desenvolvimento vegetal → transforma uma célula única chamada **zigoto** em uma planta multicelular, microscópica, embrionária.
- **Embrião** completo tem o corpo básico de uma planta madura e muitos tipos de tecidos do adulto, embora presentes de forma rudimentar.

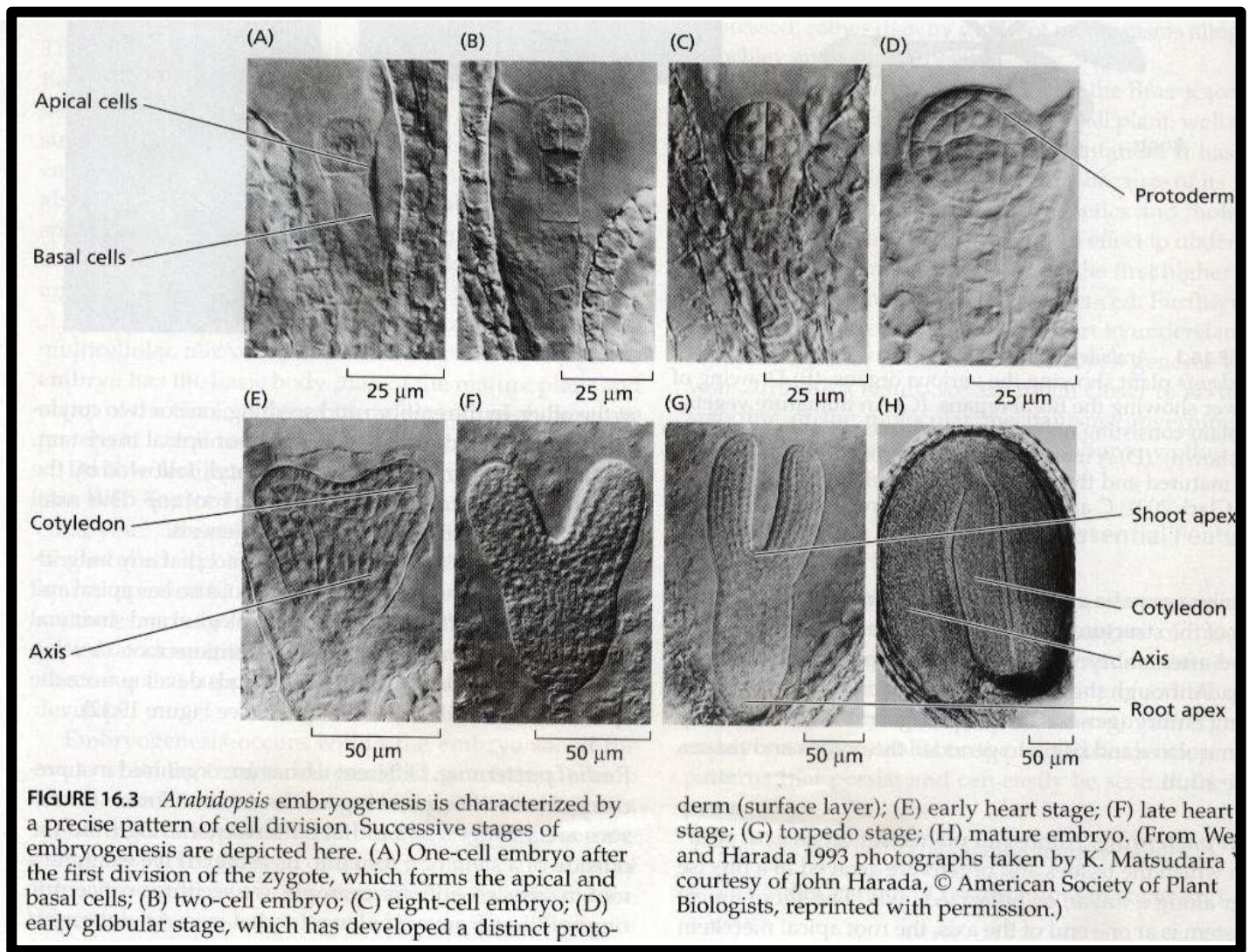
- **Dupla fecundação** → é uma característica única das plantas com flores → segunda fecundação → outro gameta une-se aos dois núcleos polares para formar um núcleo triploíde → desenvolvimento do **endosperma**.
- A embriogênese e o desenvolvimento do endosperma ocorrem em paralelo ao desenvolvimento da semente, sendo o embrião parte da semente.
- O endosperma pode também ser parte da semente madura → algumas espécies desaparece antes de ser completado o desenvolvimento da semente.

- A embriogênese estabelece os dois padrões básicos de desenvolvimento que persistem e podem ser facilmente identificados na planta adulta:
 - 1- o padrão apical-basal de desenvolvimento axial → meristema apical da parte área e raiz;
 - 2- o padrão radial de tecidos encontrado nas partes áreas e raízes → organização dos tecidos no interior dos órgãos vegetais → epiderme, córtex cilindro vascular.

Estádios da embriogênese (*Arabidopsis*)

- **Estádio globular** → após a primeira divisão zigótica, a célula apical inicia uma série altamente ordenada de divisões, gerando embrião globular (D);
- **Estádio de coração** → forma-se por meio de rápidas divisões celulares em duas regiões em cada lado do futuro ápice da parte aérea → projeções que dará origem mais tarde aos cotilédones (E e F);

- **Estádio torpedo** → forma-se como resultado do alongamento celular ao longo do eixo de embrião em desenvolvimento posterior dos cotilédones (G);
- **Estádio de maturação** → ao final da embriogênese, o embrião e a semente perdem água e tornam-se metabolicamente quiescentes ao entrarem em dormência (H).



D → Estádio Globular

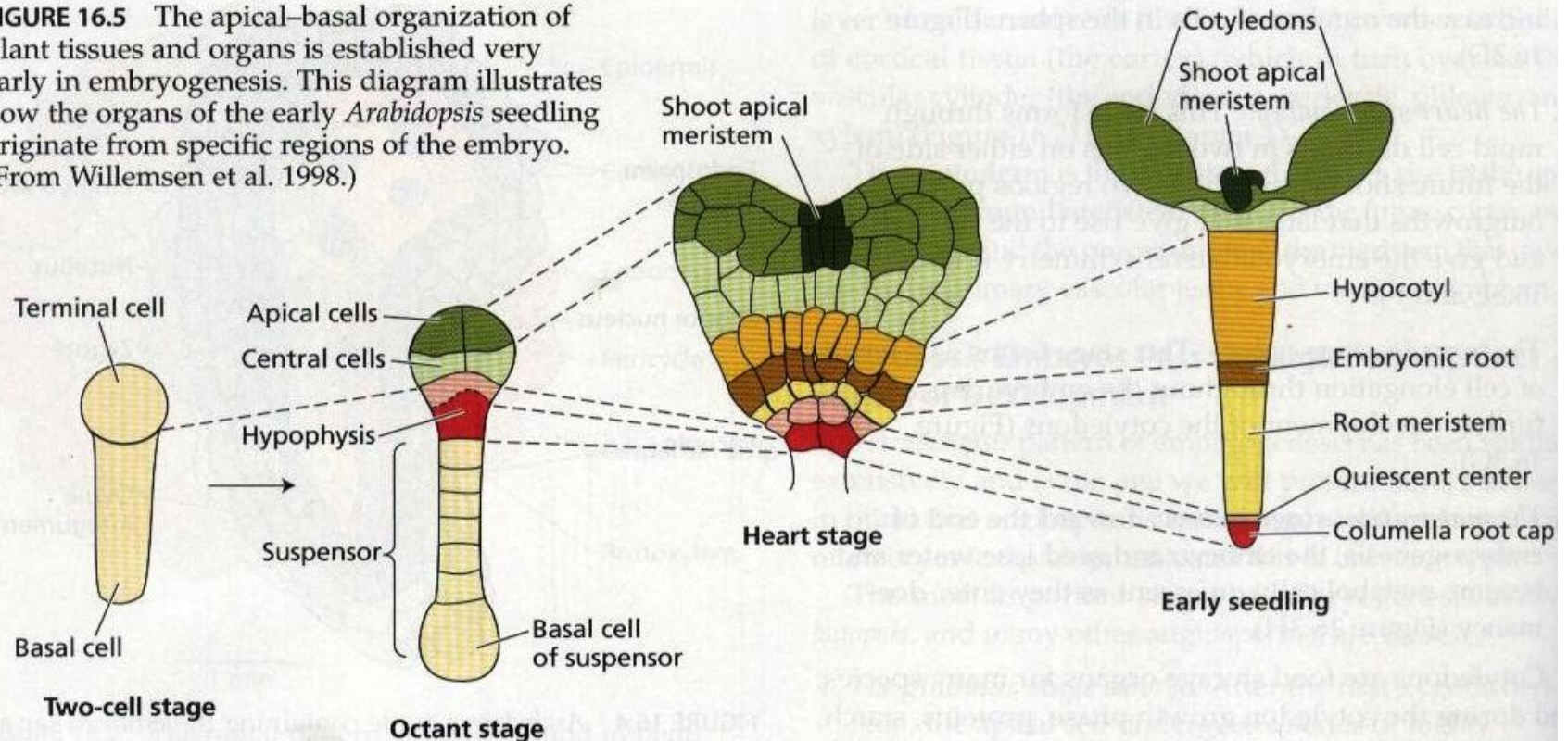
E e F → Estádio de coração

G → Estádio de torpedo

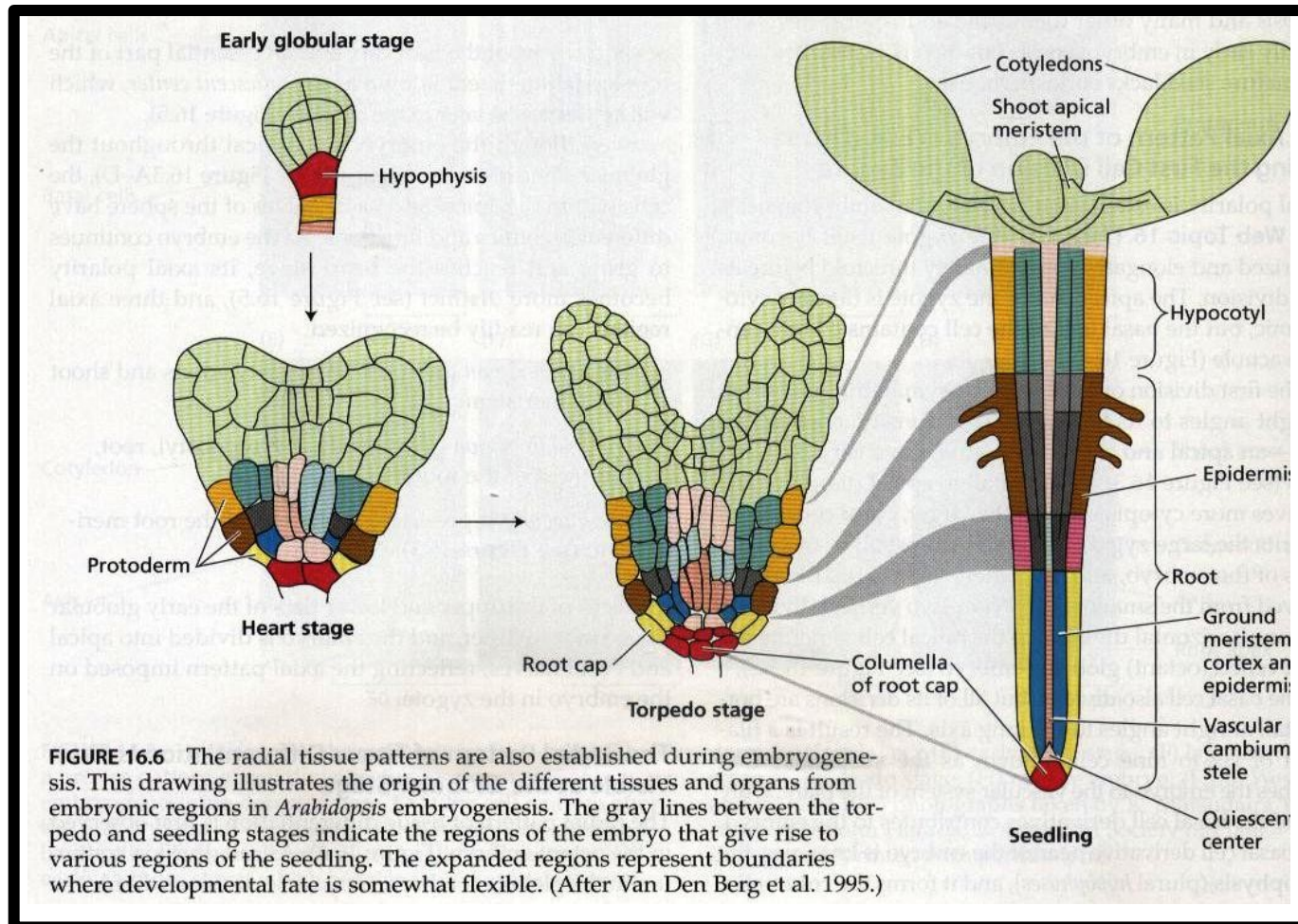
H → Estádio de maturação

- Organização apical-basal de tecidos e órgãos vegetais é estabelecido bem cedo na embriogênese.

FIGURE 16.5 The apical-basal organization of plant tissues and organs is established very early in embryogenesis. This diagram illustrates how the organs of the early *Arabidopsis* seedling originate from specific regions of the embryo. (From Willemsen et al. 1998.)



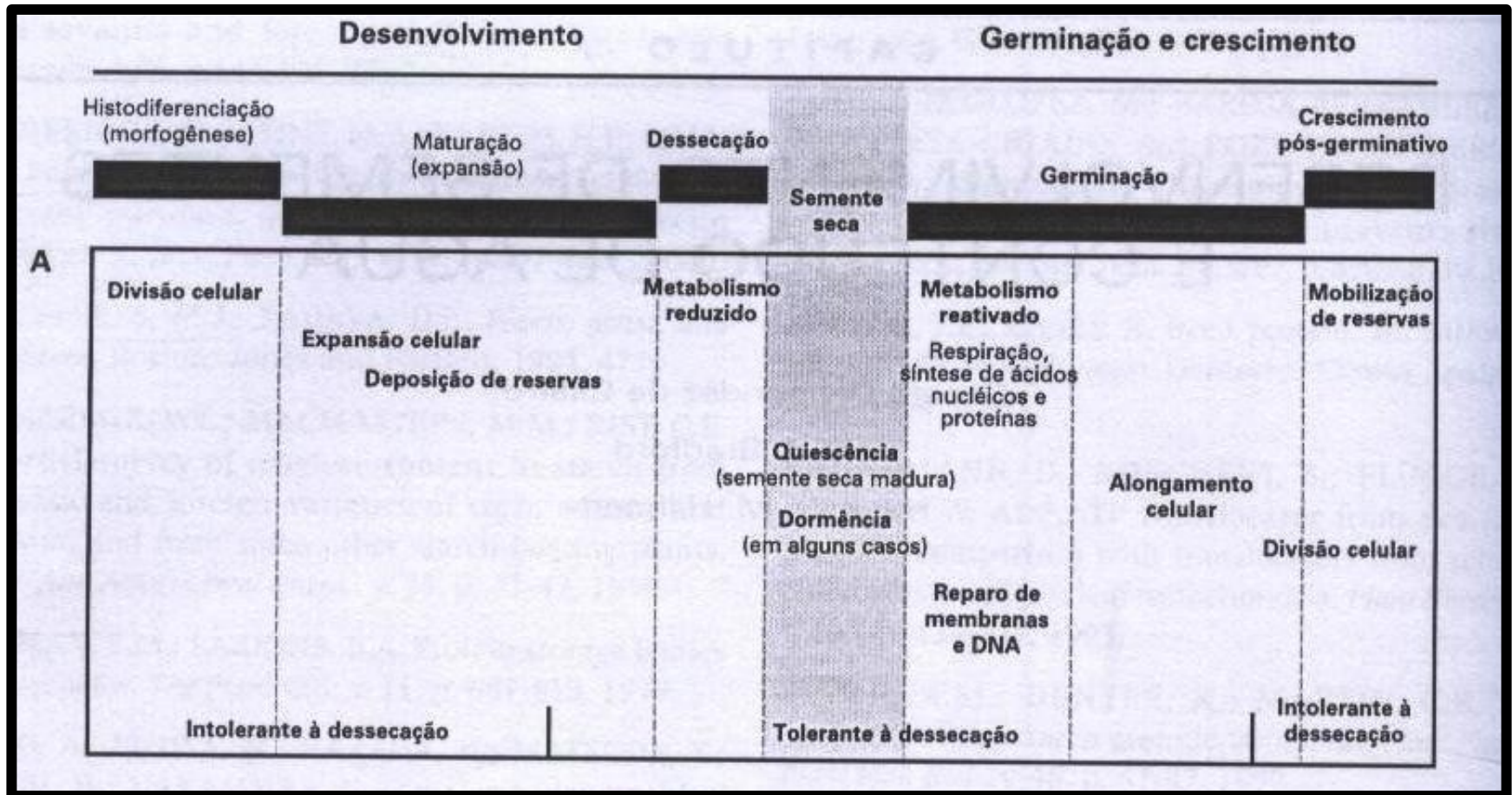
- Os padrões radiais também são estabelecidos durante a embriogênese.
- O desenho ilustra a origem dos tecidos e órgãos a partir de regiões embrionárias



Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água

- Ciclo de vida em plantas superiores → desenvolvimento de uma semente → germinação → desenvolvimento pós germinativo → crescimento da planta.
- Estes períodos são marcados por eventos fisiológicos específicos → mudanças no peso fresco → no peso seco → conteúdo de água → além de padrões distintos de expressão de genes representados pelo acúmulo de RNAm específicos.

- Ciclo celular, eventos metabólicos e de reparo e períodos em que a semente (embrião) é intolerante ou tolerante à dessecação.



- Água → importante em todos esses processos → na medida em que a semente muda de um estado metabolicamente ativo para um estado inativo após a maturação → por efeito da dessecação → retornando depois ao estado metabolicamente ativo durante a germinação.

Fases do desenvolvimento de sementes

- Fases de desenvolvimento da maioria das sementes:
 - Primeira fase caracterizada pelo crescimento inicial devido à divisão celular e a um aumento rápido no peso fresco da semente inteira e no conteúdo de água
 - Nessa fase, a água representa a maior parte do peso fresco da semente.
 - Nesta etapa a histodiferenciação e a morfogênese da semente acontecem a medida que o zigoto unicelular se submete a divisões mitóticas extensivas, e as células resultantes se diferenciam para dar forma ao plano básico do corpo do embrião (eixo embrionário e os cotilédones).

- A divisão das células acaba relativamente cedo no desenvolvimento da semente.
- Depois disso a uma fase intermediária de maturação, na qual a semente aumenta de tamanho devido, principalmente, à expansão da células e à deposição de reservas (proteínas, lipídeos e carboidratos) inicialmente nos tecidos de armazenamento (nos cotilédones e endosperma).
- Durante essa fase, os vacúolos diminuem de tamanho à medida que os compostos de armazenamento se acumulam e o peso seco aumenta.

- Finalmente, o desenvolvimento da maioria das sementes termina com uma fase pré-programada da secagem de maturação ou dessecação.
- Esta diminuição no conteúdo de água resulta em uma redução no metabolismo da semente, e o embrião passa para um estado de metabolismo mínimo ou estado quiescentes.
- Nesse estado desidratado, a semente pode sobreviver aos estresses ambientais e, a menos que esteja dormente, recomeçará a atividade metabólica, o crescimento e o desenvolvimento quando as circunstâncias condutoras à germinação e ao crescimento forem fornecidas.

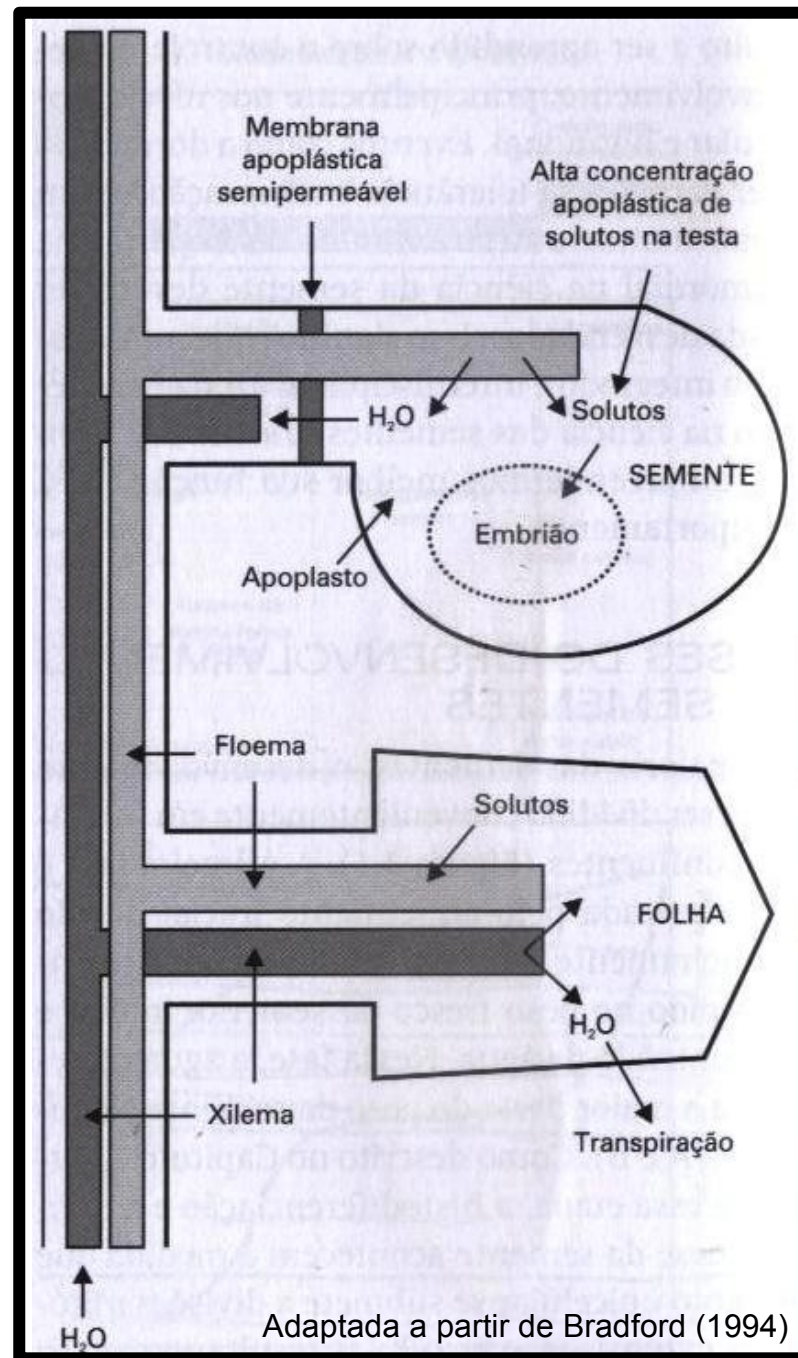
- As sementes são dependentes de outras partes da planta como fontes de matéria-prima para o crescimento e o acúmulo de reservas.
- As folhas são a fonte primária de açúcares produzidos por meio da fotossíntese.
- Somada à fotossíntese, a remobilização de carboidratos e particularmente de aminoácidos (que contém nitrogênio) de outras partes da planta também pode contribuir para o crescimento da semente.
- Nutrientes minerais são absorvidos pelas raízes e transportados principalmente pelo xilema para os brotos e a folhas.
- Nesses locais, entretanto, tais nutrientes são transferidos para a seiva do floema e redistribuídos até a semente em desenvolvimento.

- Todos esses processos são inteiramente dependentes da água e estão em balanço com a sua disponibilidade e com os mecanismos e rotas de absorção e circulação da água dentro da planta.
- Com base em todos estes processos biológicos, a água é essencial como carreador de nutrientes, assim como para todos os processos metabólicos no desenvolvimento da semente.
- Consequentemente a água e os nutrientes se movem da planta-mãe para a semente por um processo metabolicamente ativo.

-tanto a água quanto o soluto são transportados como seiva para a semente via floema.

-o descarregamento do floema ocorre no tegumento da semente, e os solutos são então translocados e absorvidos pelo embrião (e/ou endosperma) a partir do apoplasto.

-O excesso de água é redistribuído para a planta via xilema, passando por uma membrana apoplástica semipermeável que retém os solutos.



Adaptada a partir de Bradford (1994)

- O transporte do xilema para a semente é muito limitado, visto que a semente inclusa no fruto geralmente não transpira e, conseqüentemente não extrai água do xilema.
- De fato, há evidências indicando que o floema descarrega mais água na semente do que é transpirado, e que a água realmente recircula das sementes em desenvolvimento de volta para a planta por meio do xilema.
- Sugere-se que a recirculação da água de volta para a planta também seja parte do mecanismo e da rota da perda de água das sementes nos estágios mais tardios do desenvolvimento, durante o período da secagem de maturação ou dessecação.

- A composição do fluido do floema varia, mas a sacarose é o principal açúcar transportado na maioria das plantas.
- **Monocotiledôneas** → sacarose → glicose e frutose → invertase → floema → ressintetizada após absorção pelo embrião ou endosperma.
- **Dicotiledônea** → sacarose → não é quebrada.

- Nitrogênio → aminoácido
- Nutrientes → floema → alguns casos conjugados a proteínas específicas → ex. acúmulo e transporte de ferro → ferritina

- Fatores que reduzem a fotossíntese → estresse hídrico, o sombreamento ou a desfoliação → podem diminuir drasticamente o sucesso no vingamento das sementes.
- Estresses ambientais durante o florescimento e o desenvolvimento inicial da semente podem ter efeitos drásticos no rendimento potencial da planta por induzirem o aborto de sementes imaturas.

- Embora muito do interesse humano por sementes esteja associado, do ponto de vista nutricional, à sua composição, a finalidade biológica de um sementes é germinar e estabelecer uma nova planta.
- O desenvolvimento da capacidade germinativa e, na maioria dos casos, a habilidade em manter essa capacidade após a dessecação e a dispersão são aspectos importantes da maturação de sementes.
- O último componente da qualidade da semente a se desenvolver é a habilidade de sobrevivência prolongada no estado seco, ou longevidade no armazenamento.

Acúmulo de reservas

- A maior parte do material bibliográfico sobre compostos de reserva de sementes se relaciona a grupos extremamente restritos de espécies vegetais de importância agronômica, tais como:
 - Milho
 - Trigo
 - Arroz
 - Feijão
 - Ervilha
 - Etc.

- Sementes de outras espécies como o tomate e o alface → extensivamente estudadas → aumentar o conhecimento da fisiologia de sua germinação e desenvolvimento.
- O conhecimento dos mecanismos de acúmulo e mobilização de reservas é fundamental para a obtenção de plantas de maior vigor.

- Com o desenvolvimento da biotecnologia, o interesse na composição química das reservas das sementes tem aumentado.
- Tal interesse se dá não por seu teor nutritivo, mas por apresentarem propriedades físico-químicas especiais, formando soluções altamente viscosas, sendo, por isso, úteis como aditivos na confecção de alimentos industrializados.
- Meio ambiente → tornou-se relevante conhecer aspectos da composição química e da fisiologia das sementes de espécies nativas das florestas brasileiras → informações podem auxiliar na produção de mudas de alta qualidade → recuperação de área degradadas por atividades agrícolas e industriais.

Principais compostos de reservas de sementes

- As reservas de sementes tem basicamente duas funções:
 - Manutenção do embrião;
 - Desenvolvimento do embrião até a formação de uma plântula que apresente a capacidade de se manter de forma autotrófica.

- As reservas podem funcionar como **fonte de energia** para manter processos metabólicos em funcionamento e/ou como **fonte de matéria** para a produção de tecidos vegetais que irão constituir a plântula.
- Em geral, os compostos acumulados nas sementes podem servir aos dois fins, pois os compostos de carbono normalmente acumulados em sementes (carboidratos, lipídios e proteínas) podem ser utilizados tanto para produzir energia como para construir fisicamente as células.

Quadro 2.1 Principais compostos de reserva e as características relevantes para as suas funções nas sementes

Composto de reserva	Função principal como reserva	Fase de utilização	Funções secundárias	Outras características
SACAROSE E SÉRIE RAFINÓSICA	Fonte de carbono	Germinação	Manutenção da integridade de membranas	Reserva de uso rápido para produção de energia
AMIDO	Fonte de carbono	Desenvolvimento da plântula	—	Alto empacotamento e menor solubilidade
POLISSACARÍDEOS DE PAREDE CELULAR	Fonte de carbono	Desenvolvimento da plântula	Controle da embebição e propriedades mecânicas de cotilédones	Alto empacotamento e maior solubilidade
LIPÍDEOS	Fonte de carbono	Germinação e desenvolvimento da plântula	—	Insolúvel em água, mas produz mais energia por molécula
PROTEÍNAS	Fonte de carbono e nitrogênio	Germinação e desenvolvimento da plântula	—	Alto empacotamento, já possui aminoácidos que podem ser transportados diretamente
FITINA	Fonte de minerais	Germinação e desenvolvimento da plântula	—	Reserva essencial altamente empacotada

- Principais compostos de reserva de sementes e sua distribuição por função

- Substâncias armazenadas em grande quantidade:
 - Carboidratos e lipídeos → fonte de energia e carbono para a germinação da sementes e o desenvolvimento das plântulas
 - Proteínas → armazenar principalmente nitrogênio e enxofre, essenciais para síntese de proteínas, ácidos nucleicos e compostos secundários da plântula em crescimento.

Deposição de compostos de reserva

- **Carboidratos**

Principais carboidratos que atuam como reserva em sementes :

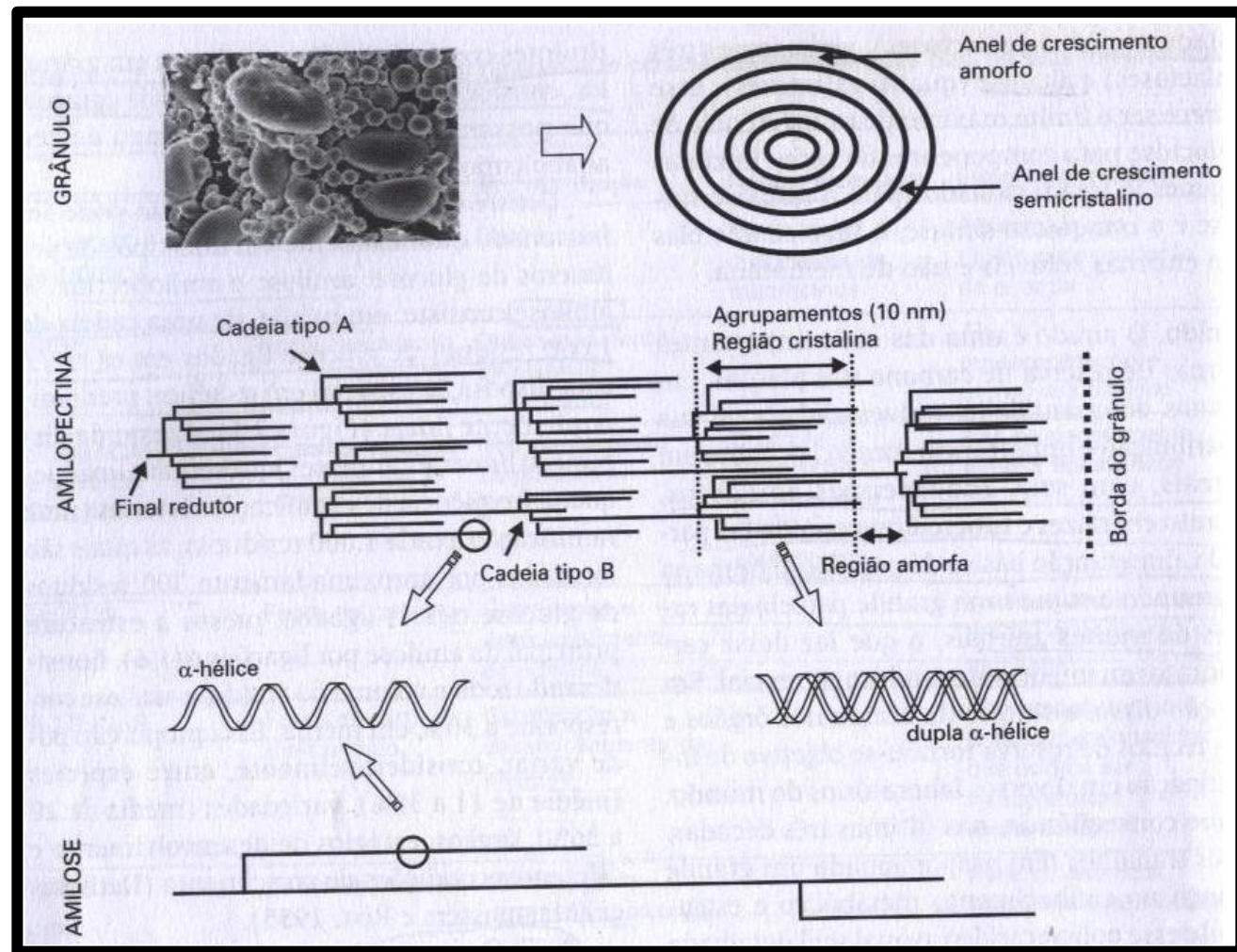
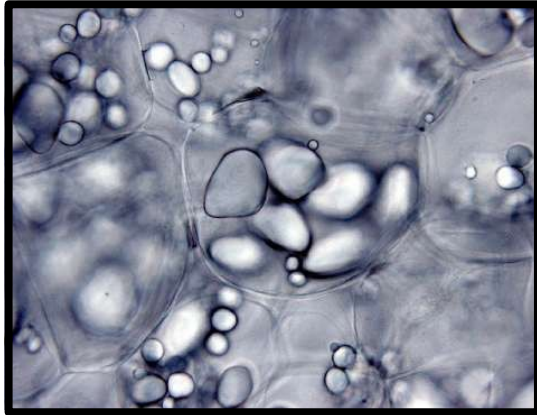
- Sacarose
- Oligossacarídeos da série rafinósica
- Amido
- Polissacarídeos de parede celular

Sacarose e oligossacarídeos da série rafinósica

- Em sementes ortodoxas, o período de enchimento do grão é sucedido por um período característico de secagem.
- A sacarose principal composto de transporte até a semente em desenvolvimento, pode ser acumulada em quantidades apreciáveis ao final do processo.
- Utilizados no início da germinação → principal função → propriedade das sementes ortodoxas de estabilizarem suas membranas e, com isso, poderem permanecer secas por um longo período → manter a capacidade germinativa.
- Essa hipótese encontra suporte no fato de haver uma tendência maior de acúmulo de oligossacarídeos da série rafinósica em sementes ortodoxas em relação às recalcitrantes.

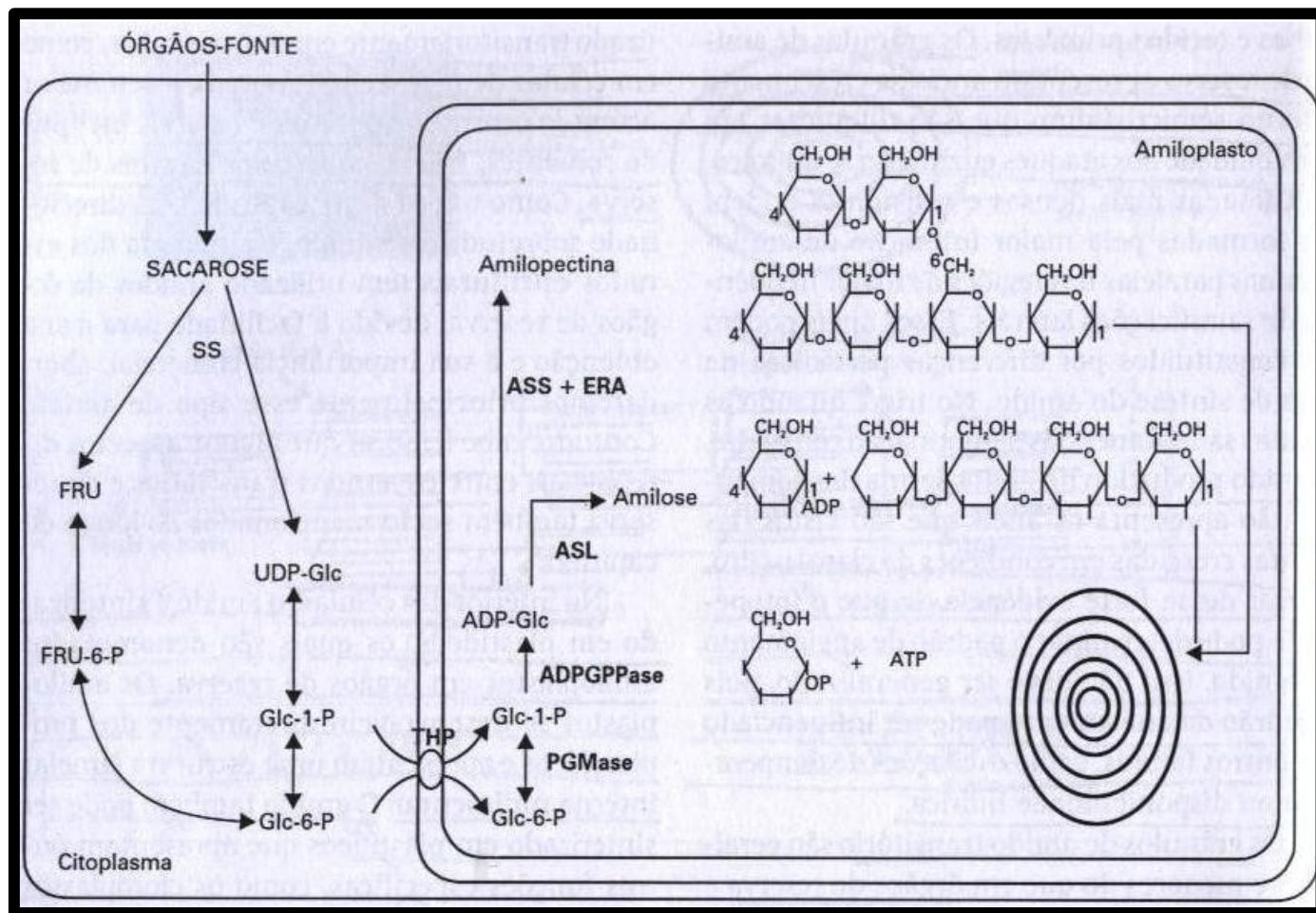
Amido

- Reserva de carbono mais importante nas plantas → quantidade → universalidade de sua distribuição → importância comercial → alimentação básica na população humana e animal.

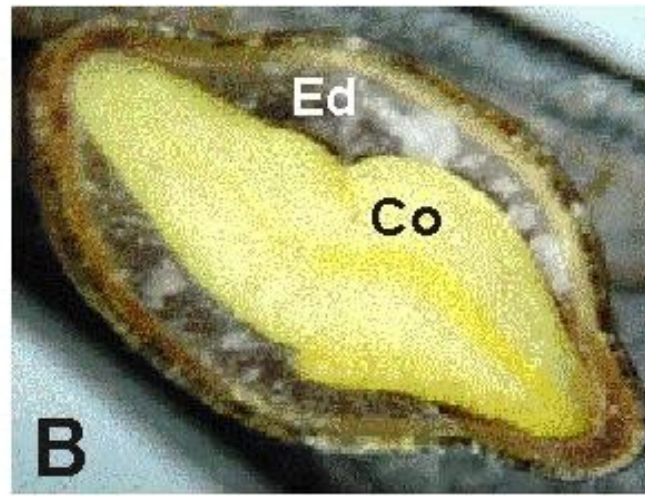
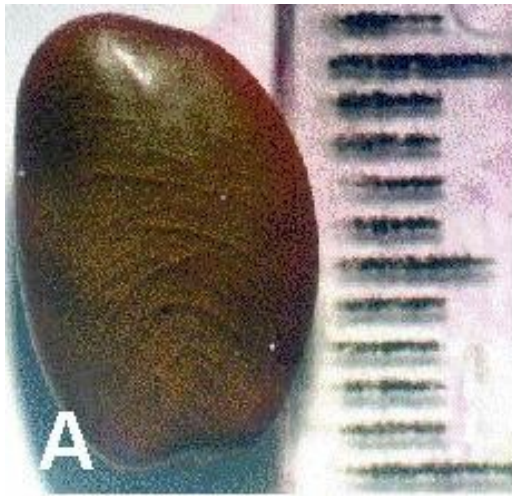


-Detalhe dos grânulos de amido e de seus constiuintes (amilopectina e amilose).

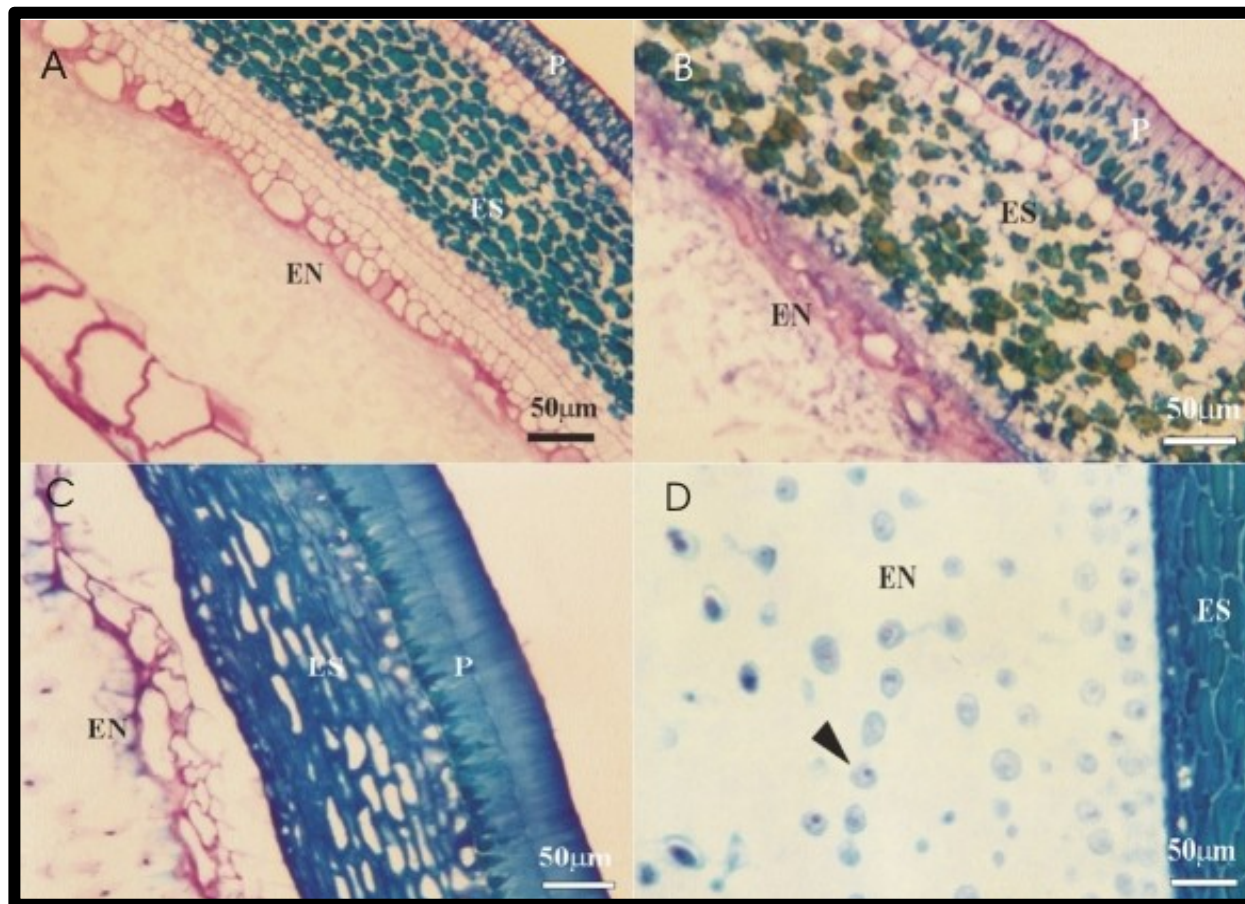
- **Biossíntese** → é sintetizado nas folhas, durante o dia, a partir da fixação fotossintética de carbono, sendo mobilizado para outros tecidos (em crescimento ou de reserva) à noite.
- O maior acúmulo ocorre nos órgãos de reserva, incluindo sementes, frutos, tubérculos e raízes de reserva.
- Amiloplastos → local no interior das células onde o amido é sintetizado.
- Em tecidos de reserva, como as sementes, a proporção de amido sintetizada está diretamente relacionada com a disponibilidade de carbono proveniente de outras partes da planta (folha, caule, colmos, frutos, etc.)



- Representação esquemática do fluxo de carbono para os amiloplastos → síntese de amilose e amilopectina.
- A sacarose proveniente dos órgãos-fonte (folha) é quebrada, principalmente pela enzima *sacarose sintase* (SS), originando frutose e glicose.



- Semente seca de Juca; A) semente inteira; B) semente cortada transversalmente; C) cortes transversais corados com Azul de Toluidina pH 4,0.



- **Figure 5:** Cross sections of *C. Pulcherrima* seeds stained with Toluidine Blue . A) 25 th daf; B) 29th daf; C) 39th daf; D) 49th daf. (Palisade layer); Es (Sclereid); En (Endosperm). . ► core proteic.

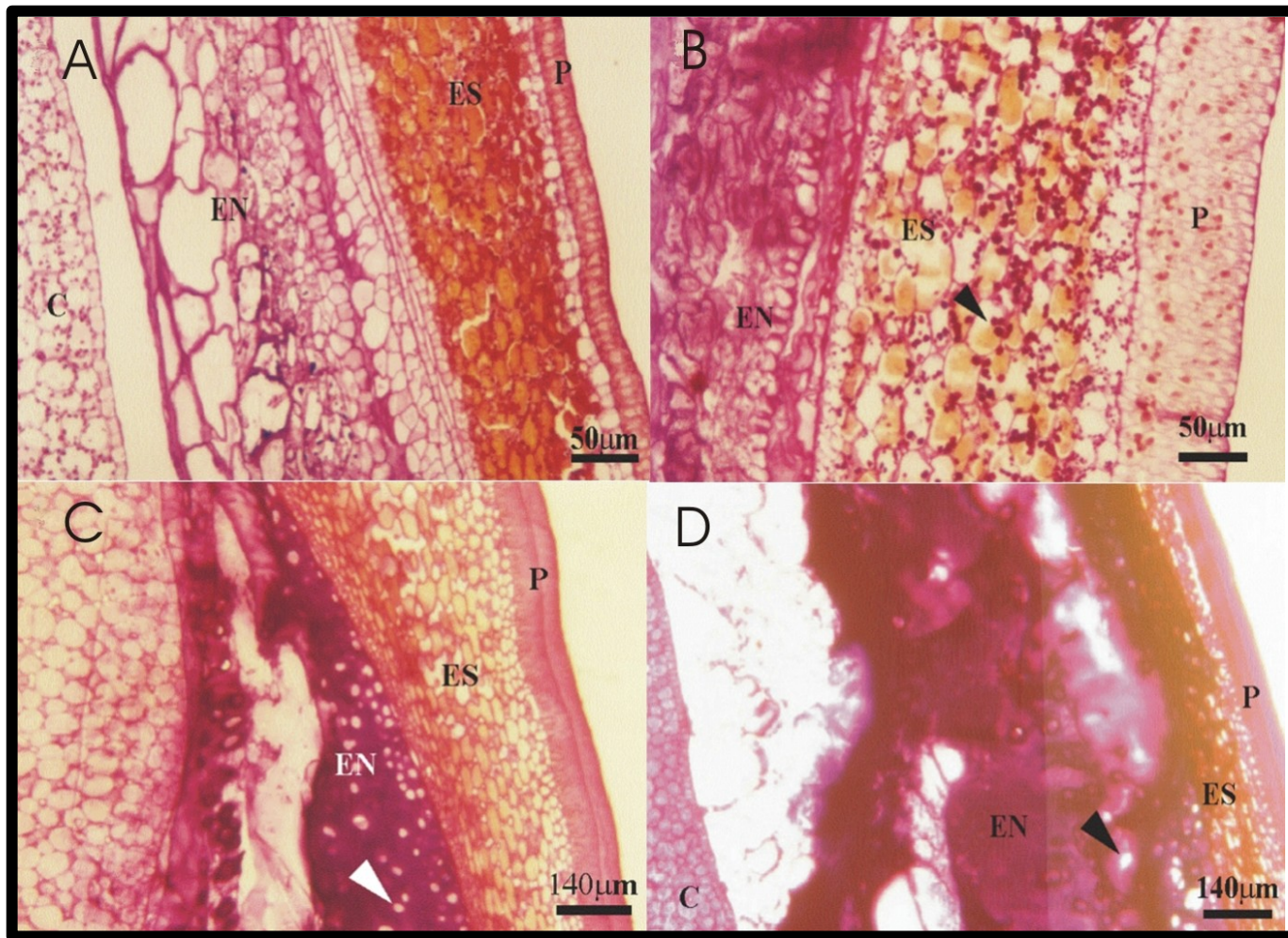
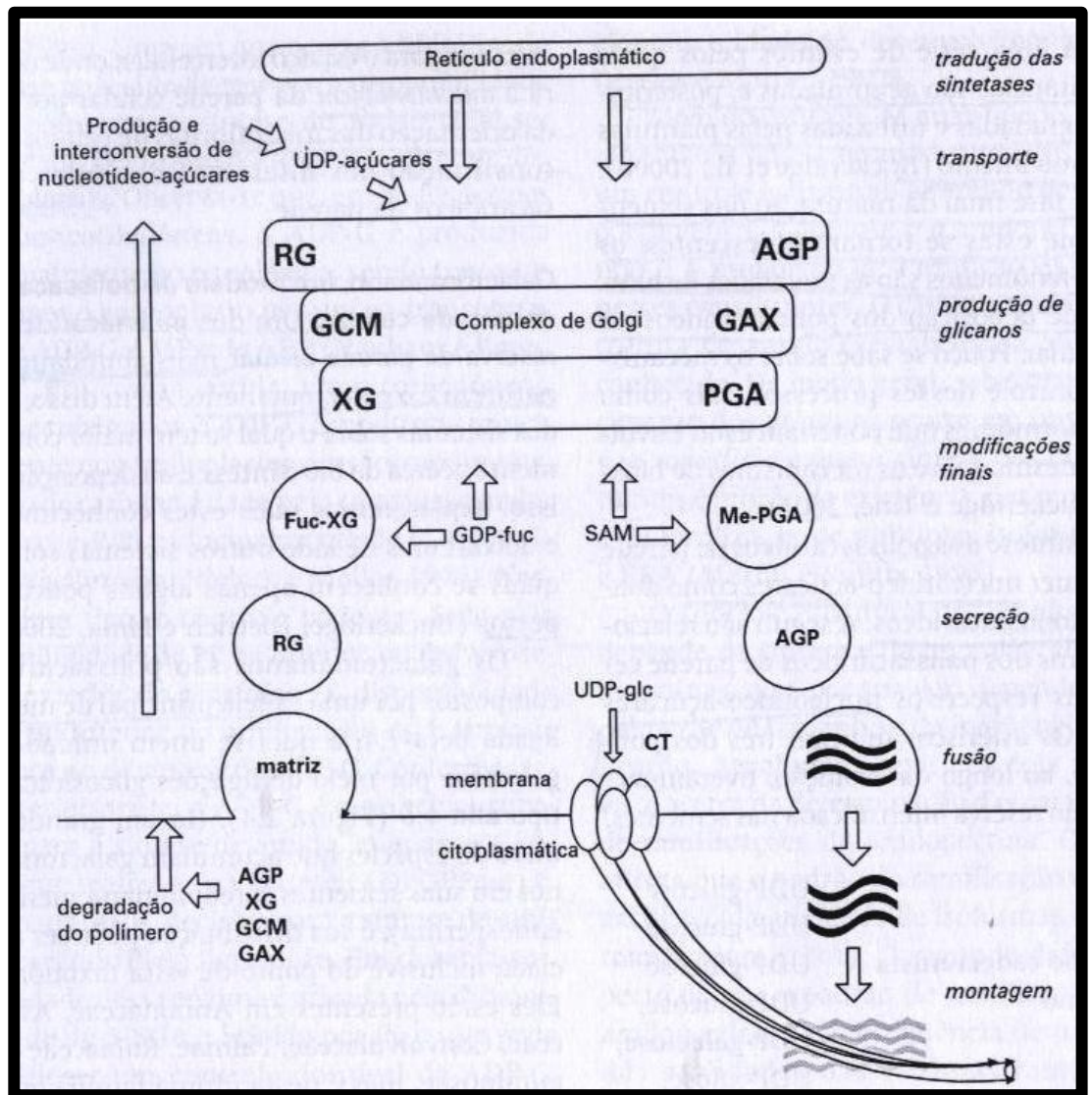


Figure 4: Cross sections of *C. Pulcherrima* seeds stained with PAS .
 A) 25 th daf; B) 29 th daf; C) 49th daf; D) Quiescent seeds. P(palisade layer); Es (Sclereid); En (Endosperm); C cotyledon. ► core proteic.

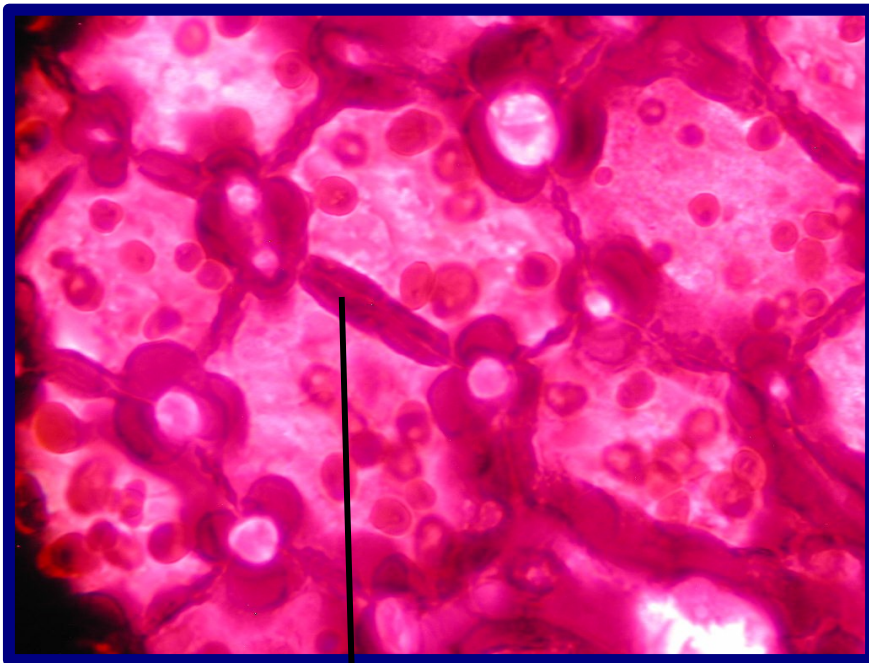
Polissacarídeos de reserva de parede celular

- Durante a fase final de maturação das sementes, os principais fenômenos são as atividades de biossíntese e de deposição dos polissacarídeos na parede celular.
- As enzimas de biossíntese traduzidas no Retículo Endoplasmático Rugoso são transportadas para o Complexo de Golgi, onde a maioria das reações de síntese ocorre.

AGP – arabinogalactano-proteína
 XG – Xiloglucano
 PGA – Ácido poligalacturônico
 GCM – Glucanos de cadeia mista
 RG – Ramnogalacturonano
 CT – sítio de catálise
 GAX - glucuronoarabinoxilano



Visão geral do processo e da localização da biossíntese de polissacarídeos de parede celular.

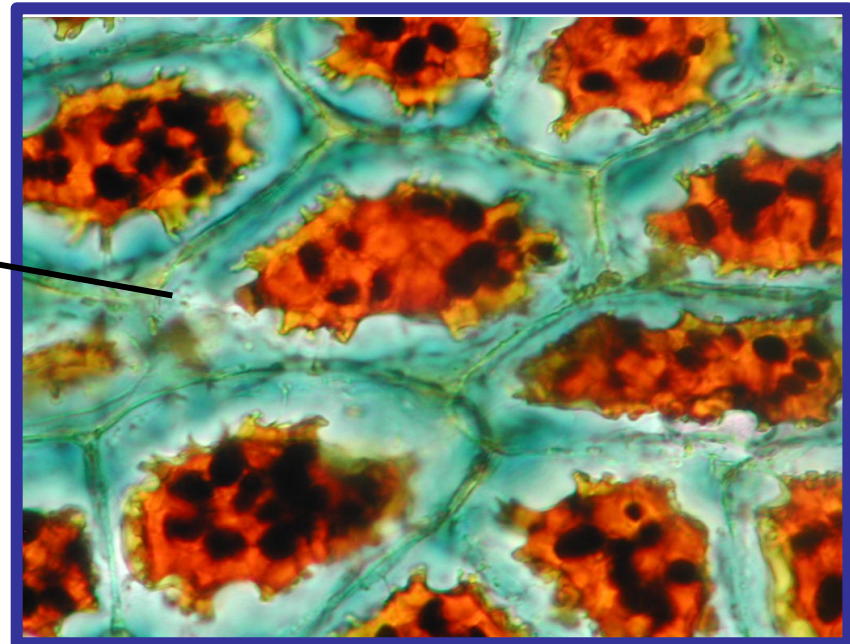


Células cotiledonares de
semente de *Mucuna sloanei*

Reação do PAS

Parede celular - xiloglucano

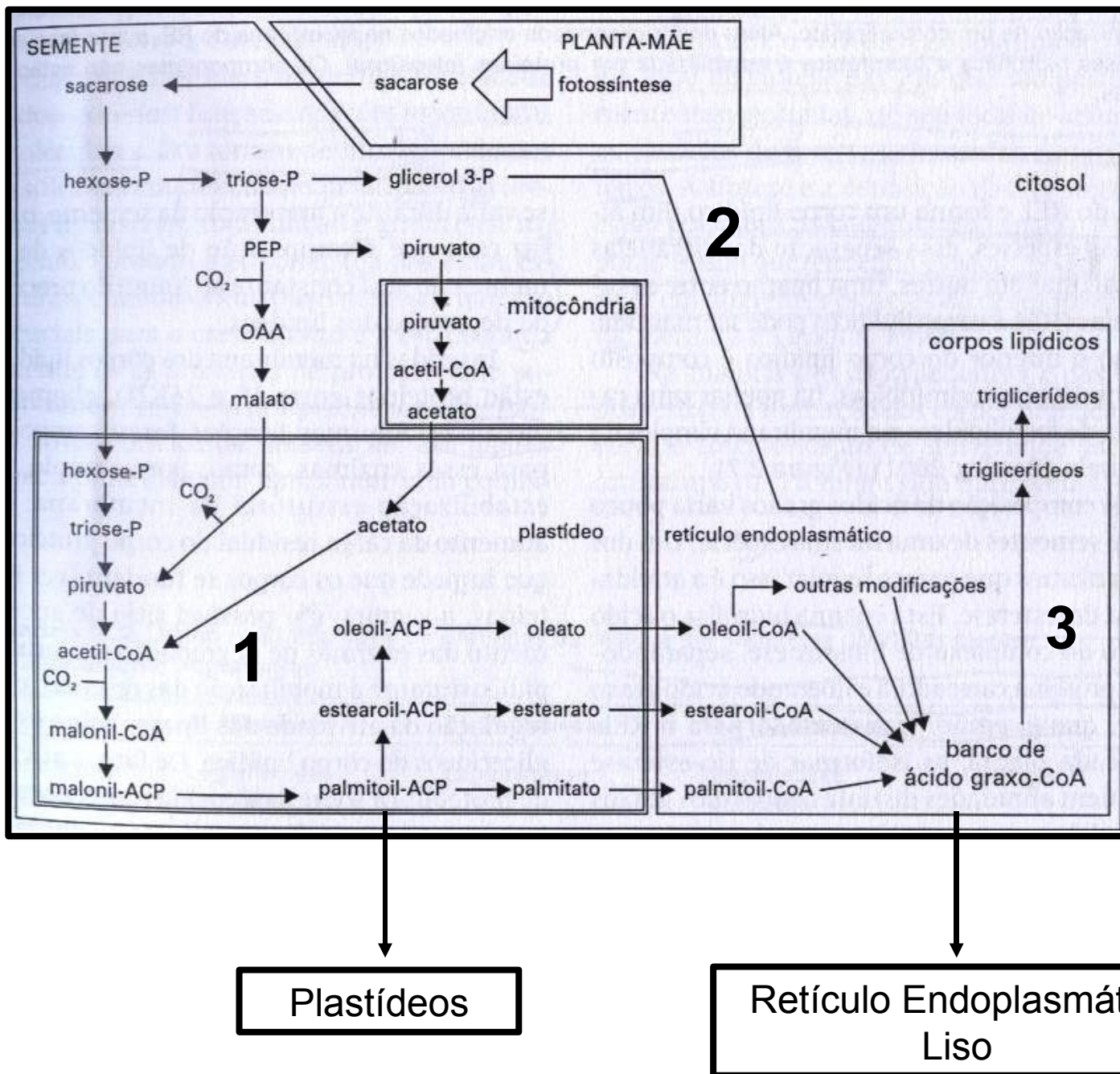
Reação com Lugol

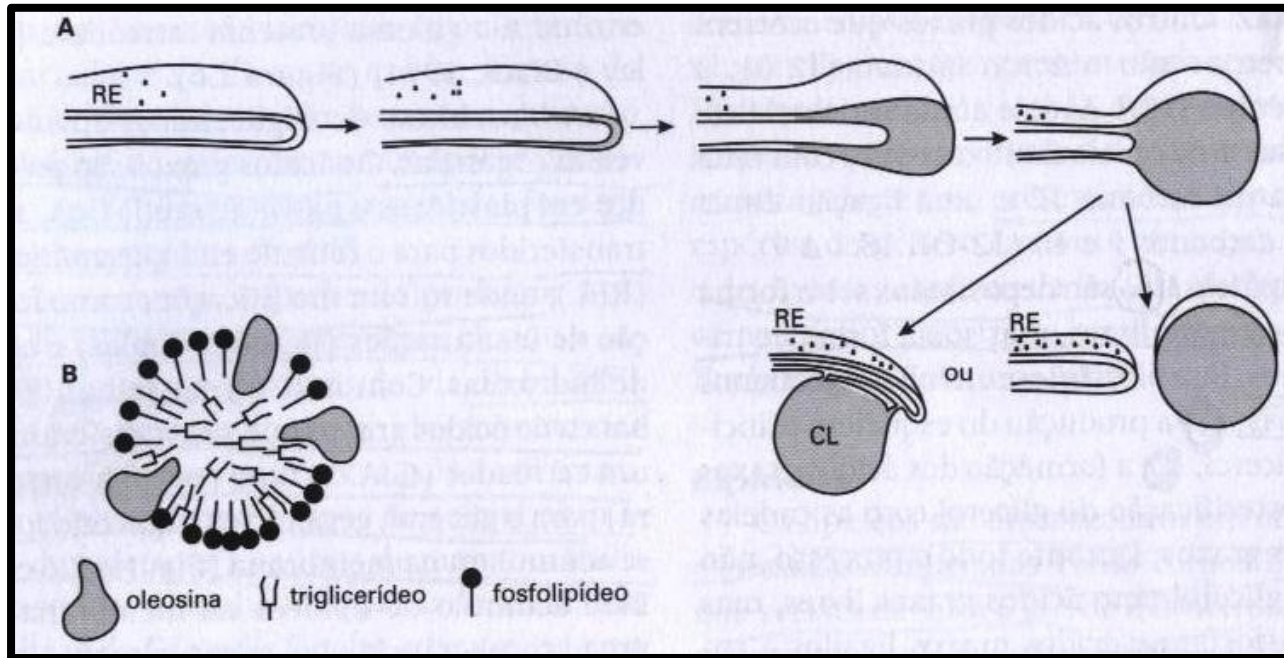


- Os polissacarídeos de reserva de parede celular em solução aquosa apresenta alta viscosidade e, por isso, funcionam como espessantes em diversos produtos alimentícios industrializados.
- Na dieta humana são importantes fibras alimentares, pois evitam o excesso de absorção de gorduras e açúcares, interferindo assim em importantes doenças, como a hipercolesterolemia e o diabetes.

Lipídeos

- São armazenados em organelas específicas conhecidas como corpos lipídicos, que variam de 0,2 a 6 μm de diâmetro.
- São depositados na forma de triglicerídeos.
- Formação envolve três etapas:
 - 1- formação dos ácidos graxos;
 - 2- produção do esqueleto principal de glicerol;
 - 3- esterificação do glicerol com as cadeias de ácidos graxos.

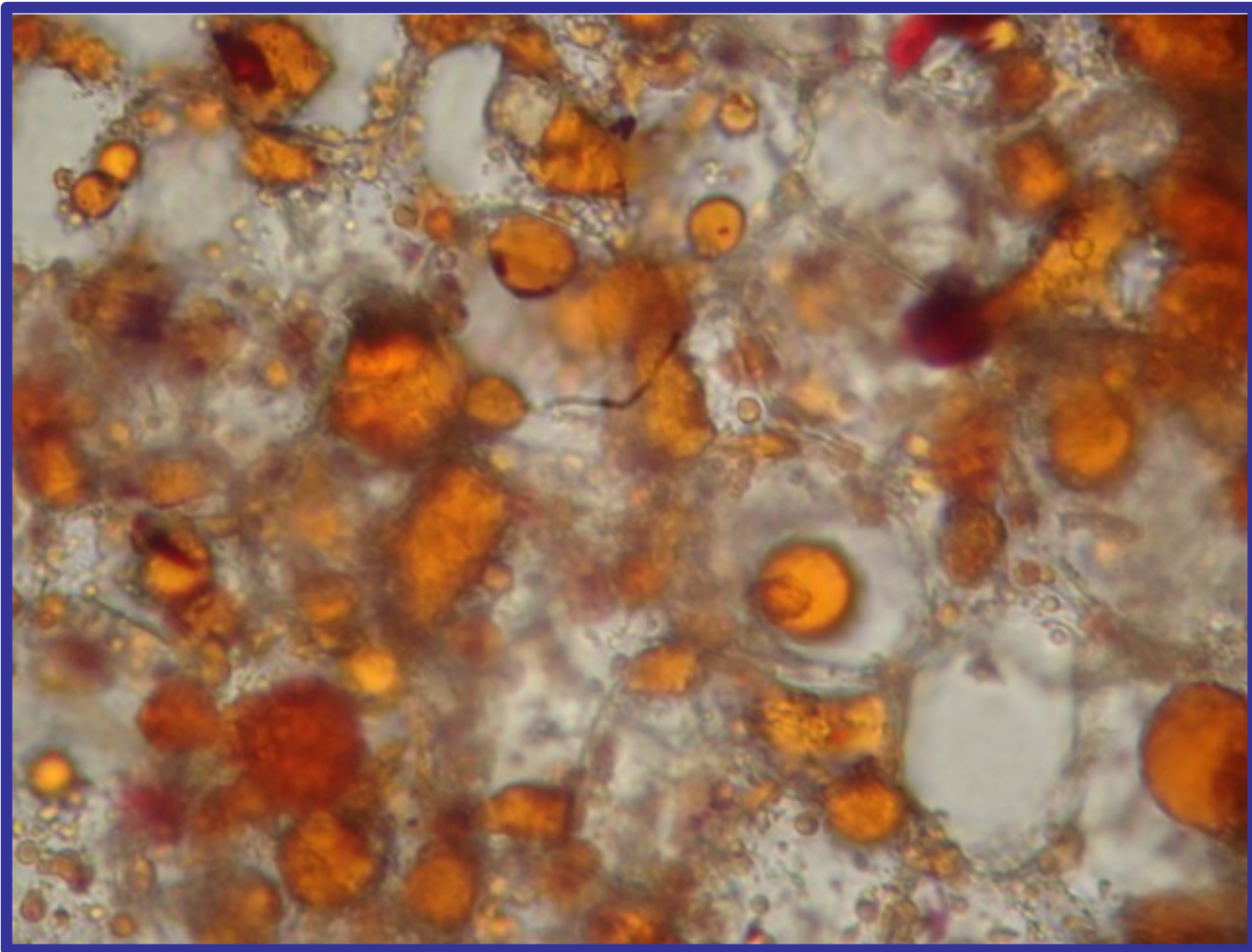




Formação dos corpos lipídicos (CP) a partir de Retículo Endoplasmático Liso .

B) Os triglicerídeos são acumulados nas membranas do Retículo (cinza) e formam uma protuberância que eventualmente se estaca e forma uma outra organela: corpo lipídico que pode ou não estar ligado ao RE original.

C) Esquema mostrando a organização do corpo lipídico; oleosinas são proteínas que estabiliza o corpo lipídico.



Células cotiledonares de semente de moringa coradas com Sudan

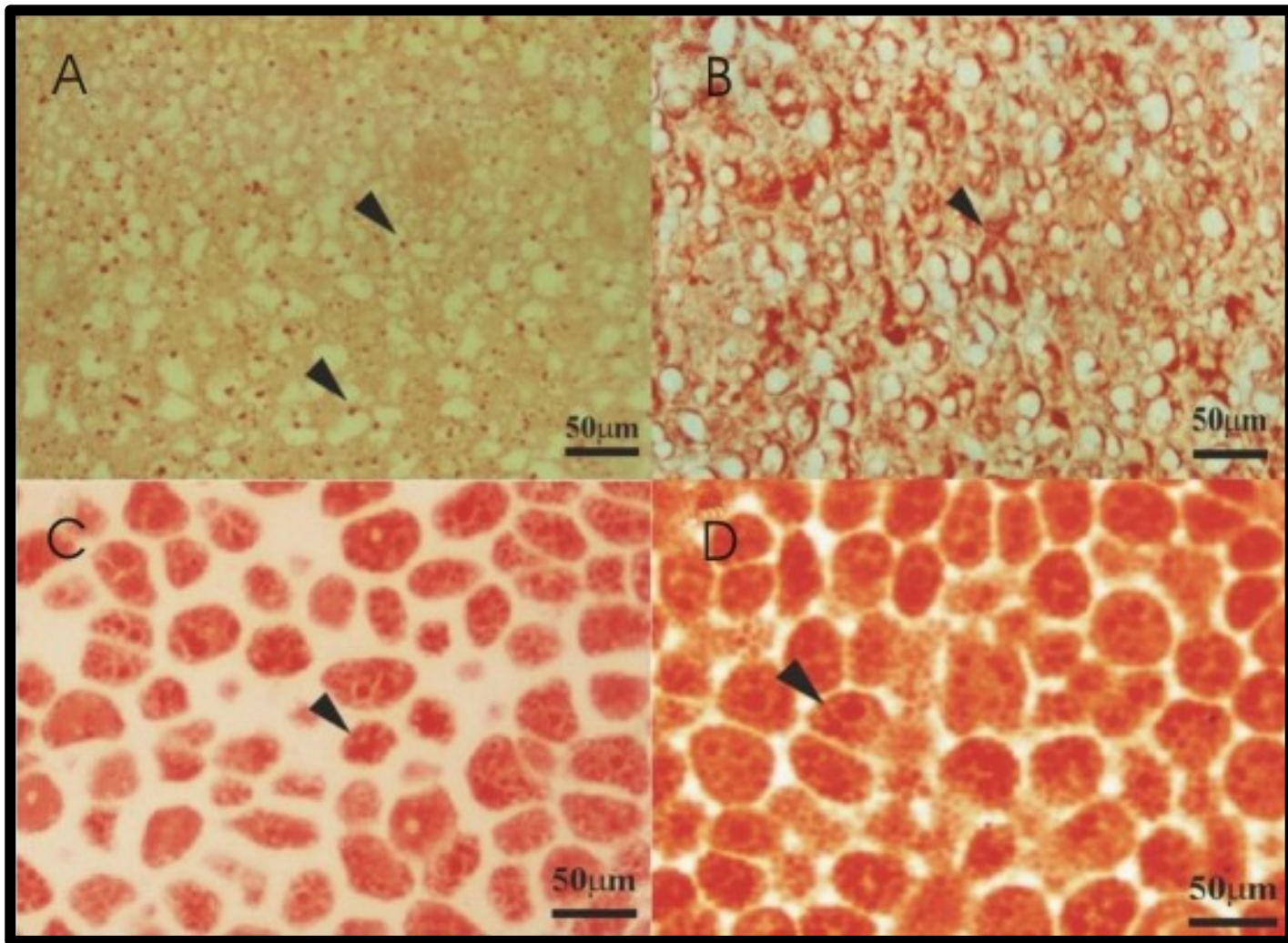
- Oleosinas → são proteínas que estão inseridas nas membranas dos corpos lipídicos.
- Funções propostas para as oleosinas:
 - 1- estabilização estrutural da membrana;
 - 2- aumento da carga residual do corpo protéico, o que impede que os corpos se fundam;
 - 3- possível sítio de ancoramento das enzimas de degradação no corpo lipídico durante a mobilização das reservas;
 - 4- regulação das atividades das lipases sobre os triglicerídeos do corpo lipídico.

Proteínas

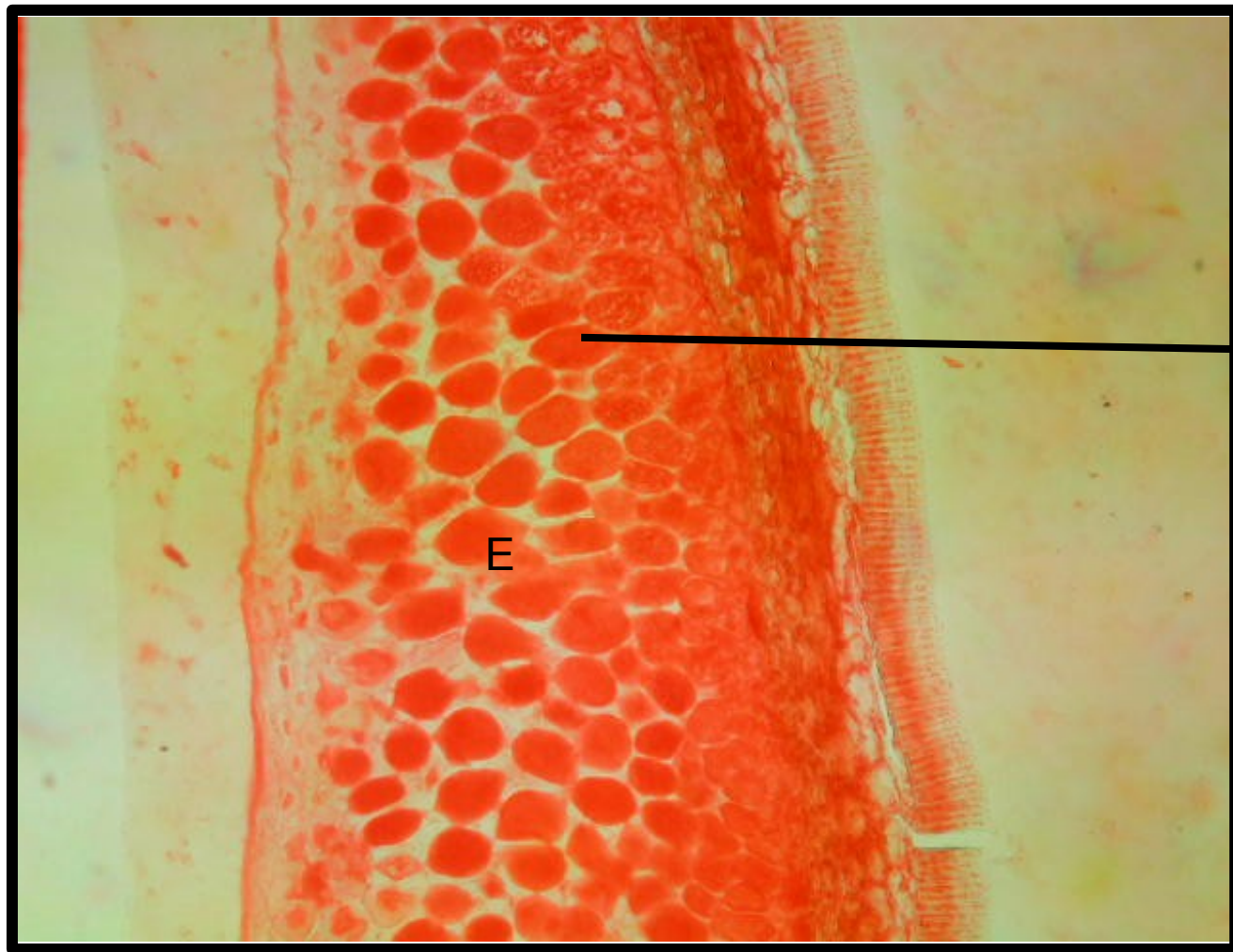
- O principal sistema de classificação das proteínas vegetais é baseado na solubilidade em uma série de solventes:
- **Albuminas** → solúveis em água e coaguláveis por aquecimento → pequena quantidade em sementes;
- **Globulinas** → insolúveis em água e solúveis em soluções salinas → presentes em muitas sementes;
- **Prolaminas** → solúveis em álcool, mas não em água e soluções salinas → presentes em cereais e gramíneas selvagens;
- **Glutelinas** → insolúveis em soluções aquosas neutras ou salinas e em álcool, mas podem ser extraídas em soluções básicas → presentes no trigo, milho e outros cereais.

- Classificação mais moderna se baseia nos critérios de função e relações bioquímicas e moleculares.
- **Função:**
 - A) proteínas de reserva → armazenar nitrogênio, carbono e enxofre;
 - B) Proteínas estruturais e metabólicas → essenciais para o crescimento e a estrutura da semente;
 - C) Proteínas de proteção → resistência a patógenos, invertebrados ou dessecação

- No desenvolvimento das sementes o Retículo Endoplasmático Rugoso é o local de síntese das proteínas de reserva.
- Posteriormente são transportadas até seu local de acúmulo, os vacúolos de reserva → **corpos protéicos**.

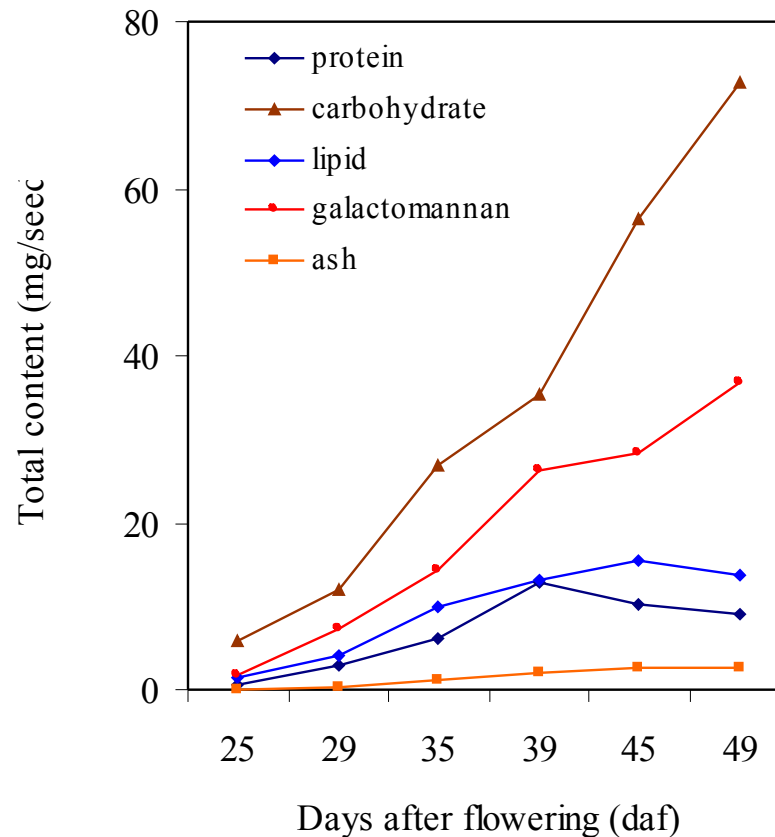


- **Figure 6:** Cross sections of *C. Pulcherrima* cotyledons stained with Xylidine Ponceau pH 2.5. A) 29th daf; B) 39th daf; C) 41th daf; D) Quiescent. seeds. ► protein bodies.



Corpos
protéicos

Corte transversal de sementes de Mororo corados
com Xylidine Ponceau



- Figure 1. Evolution of storage compounds content in developing *C. pulcherrima* seeds.

Conclusões

- Um aspecto importante da bioquímica dos mecanismos de deposição d reservas é que a composição química varia muito pouco, mesmo que a planta mãe encontre variações ambientais significativas.
- Normalmente, tais variações provocam apenas alterações quantitativas, mas mantêm sob controle seus compostos de reserva.

- A característica de manter uma certa rigidez em relação aos mecanismos que determinam a estrutura química dos compostos de reserva parece estar relacionada ao fato de que eles terão que ser mobilizados quando da germinação e do estabelecimento da plântula.
- E como isso ocorre em épocas distintas do período de maturação, a composição e a estrutura química dos compostos de reserva não podem se alterar;
- Se isso ocorresse, eles não poderiam ser mobilizados, uma vez que as enzimas de hidrólise apresentam alta especificidade pelos compostos.

- Parece, portanto, existir uma ligação funcional entre os processos de deposição e de mobilização de reservas de sementes, a qual permite à semente assegurar máxima eficiência em seu estabelecimento no ambiente.

- A compreensão dos mecanismos envolvidos nos controles estrutural e quantitativo dos compostos de reserva por meio de estudos cada vez mais aprofundados sobre a bioquímica, a fisiologia e a ecofisiologia possibilitará a utilização de novas tecnologias para auxiliar a produção de melhores alimentos e uma inserção ecológica mais segura do homem e sua tecnologia na natureza.