

DETERIORAÇÃO DE SEMENTES

Julio Marcos Filho
Tecnologia de Sementes
Depto. Produção Vegetal
USP / ESALQ



Sementes maduras não conseguem preservar indefinidamente as suas funções vitais. Inevitavelmente, seres vivos envelhecem e morrem.

Idade cronológica x Idade biológica ou fisiológica

DETERIORAÇÃO

Série de alterações fisiológicas, físicas, bioquímicas, com início a partir da maturidade fisiológica, em ritmo progressivo, determinando a queda do potencial de desempenho e culminando com a morte da semente



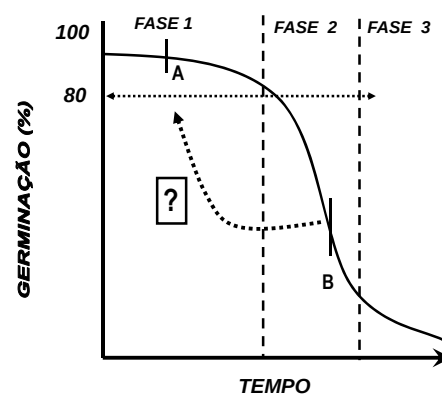
AUGE DO POTENCIAL FISIOLÓGICO → MATURIDADE
Manejo pós-maturidade

DETERIORAÇÃO

Intensidade e velocidade variáveis de acordo com a espécie, cultivar, lotes do mesmo cultivar, sementes do mesmo lote e partes da mesma semente

FORTE INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, LONGEVIDADE NATURAL, GRAU DE UMIDADE, PRÁTICAS DE MANEJO

Processo inevitável? Contínuo? Irreversível ?



Curva de perda da viabilidade da semente (POWELL, 1986)

DETERIORAÇÃO

Desequilíbrio funcional de tecidos ativos de organismos vivos, acarretando inativação gradual do metabolismo e das funções vitais.



Dificuldades para elucidar o processo e suas conseqüências:

Deterioração tem especificidades que impedem generalização
semeadura x armazenamento
injúrias mecânicas x envelhecimento

Variações metodológicas na pesquisa:
envelhecimento natural x artificial

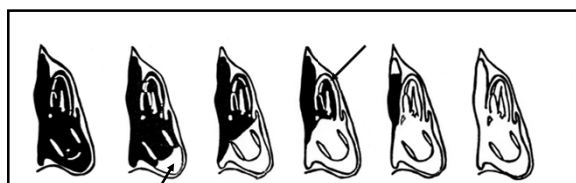
Influência de fatores bióticos e abióticos

Regiões específicas da semente não deterioram com a mesma velocidade : endosperma x embrião



Reserva	Semente	Endosperma	Embrião
Amido	74	88	09
Lipídios	04	< 1.0	31
Proteínas	08	07	19

Composição porcentual de reservas armazenadas em diferentes partes de sementes de milho, cv Iowa 939 (Bewley & Black, 1985)

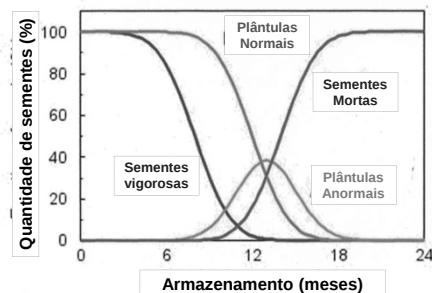
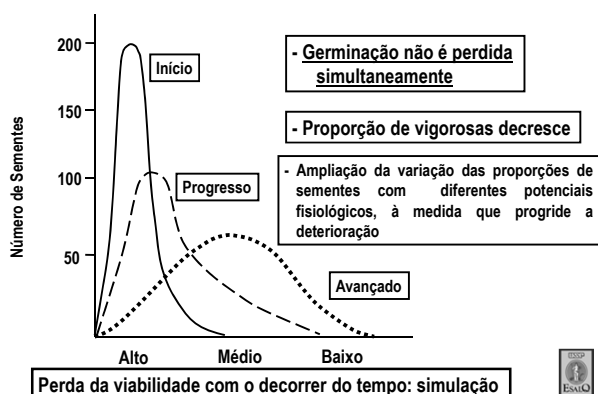


região da radícula

Das & Sen Mandi (1992) → sementes de trigo



MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO



MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Manifestações Fisiológicas

REDUÇÃO DA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO
 DECLÍNIO DA VELOCIDADE DE CRESCIMENTO
 REDUÇÃO DO CRESCIMENTO
 MENOR RESISTÊNCIA A ESTRESSES DO AMBIENTE DURANTE A GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DA PLÂNTULA
 REDUÇÃO DO POTENCIAL DE ARMAZENAMENTO
 REDUÇÃO DA RESISTÊNCIA À AÇÃO DE MICRORGANISMOS
 REDUÇÃO DA PERCENTAGEM DE EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS EM CAMPO

MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

MAIOR ESPECIFICIDADE DAS CONDIÇÕES DE AMBIENTE PARA A GERMINAÇÃO
 DESUNIFORMIDADE NO DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS
 AUMENTO DA TAXA DE ANORMALIDADE DE PLÂNTULAS
 REDUÇÃO DA PERCENTAGEM DE GERMINAÇÃO
 FORMAÇÃO DE PLANTAS ESTÉREIS
 REDUÇÃO DA PRODUÇÃO (DIRETA OU INDIRETA ?)
 PERDA DO PODER GERMINATIVO

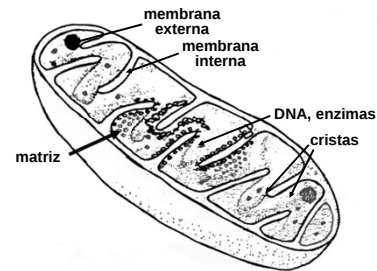
MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Manifestações Bioquímicas

1. Respiração e Síntese de ATP

- Queda da taxa respiratória
declínio tomada O_2 ou aumento liberação CO_2
- Menor síntese de ATP
- Acréscimo da liberação de etanol e de aldeídos voláteis: produtos tóxicos originados da respiração anaeróbica

RESULTADOS DE ALTERAÇÕES EM MITOCÔNDRIOS



Número, velocidade de formação, estrutura, eficiência

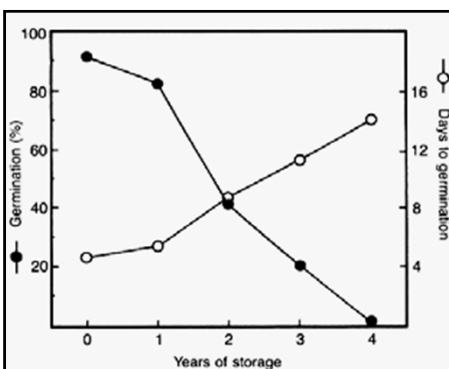


Figure 12. Decreased speed of germination as a function of aging. The average lag time to the start of germination for Norway spruce seeds (*Picea abies*) was determined in a laboratory germinator. Data of Lipkin (1927).

Velocidade de germinação relacionada ao envelhecimento da semente e eficiência dos mitocôndrios

EVENTOS	EVIDÊNCIA	POSSÍVEIS CAUSAS
Atividade respiratória	- Declínio tomada e consumo de O_2 - Aumento liberação CO_2 - Alterações ultraestruturais: liberação exsudatos - Produção de ATP - Metabolismo respiratório: declínio da atividade de enzimas desmolíticas - Número, atividade e integridade de mitocôndrios	- Danos às membranas de mitocôndrios - Formação lenta de novos mitocôndrios - Menor disponibilidade de substrato para respiração - Danos a enzimas respiratórias - Metabólitos tóxicos: etanol, aldeídos - Ineficiência de mecanismos de reparo

MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Manifestações Bioquímicas

2. Sistemas enzimáticos (hidro e desmolíticas)

- Alterações na estrutura, síntese e atividade de enzimas

- INATIVAÇÃO PROGRESSIVA OU ACRÉSCIMO DA ATIVIDADE
- REDUÇÃO OU PARALISAÇÃO DA SÍNTESE
- MENOR ATIVIDADE DE ENZIMAS RESPIRATÓRIAS
- SÍNTESE “de novo” TORNA-SE ERRÁTICA
- MENOR EFICIÊNCIA NOS MECANISMOS DE REPARO



2. Sistemas enzimáticos (hidro e desmolíticas)

DECRÉSCIMO NA ATIVIDADE: menor mobilização de nutrientes ou deficiência de mecanismos de proteção

AMILASE (α e β)

MALATO DESIDROGENASE (MDH): produção de ATP (ciclo de Krebs)

ALCOOL DESIDROGENASE (ADH): remoção de acetaldeído (tóxico) durante a respiração anaeróbica

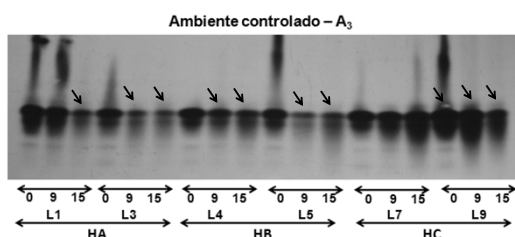
ESTERASES: prevenção da peroxidação

SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD): primeira linha de defesa contra ataque de radicais livres

CATALASE: proteção contra ataque de radicais livres



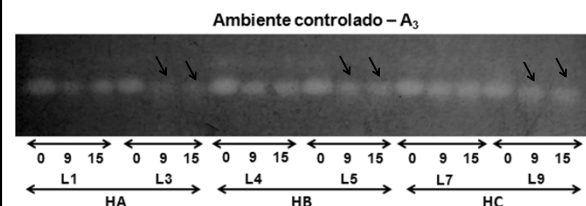
ADH (álcool desidrogenase)



Atua diretamente na respiração. A atividade (eficiência) diminui com o progresso da deterioração (bandas mais escuras); assim, há tendência para formação de maior quantidade de acetaldeído e atividade da enzima deveria ser alta para tentar reduzir a quantidade desse composto (como é o caso do híbrido C, que foi o de pior desempenho).
Timóteo (2011)



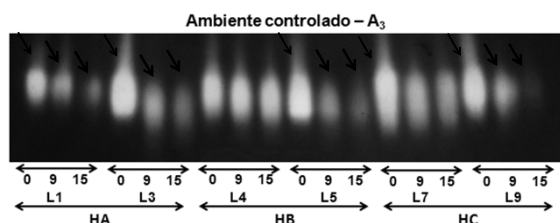
SOD (superóxido dismutase)



Se a atividade da SOD for baixa, isto pode indicar que as sementes estão mais sujeitas ao ataque de radicais livres (bandas indicadas pelas setas brancas). Essas bandas correspondem aos lotes mais deteriorados. Assim, aos 9 e 15 meses de armazenamento, as sementes estão mais deterioradas e sujeitas ao ataque dos radicais livres (Timóteo, 2011).



CAT (catalase)



A catalase (CAT) atua desativação do radical livre (H₂O₂). A alta atividade da catalase (0 mês de armazenamento → **setas brancas**) vai diminuindo com o decorrer do tempo (**setas amarelas**). As sementes mais deterioradas são mais sujeitas ao ataque de radicais livres, devido à redução atividade da CAT, fato demonstrado pela menor intensidade das bandas nesses períodos (Timóteo, 2011)

MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Manifestações Bioquímicas

3. Metabolismo de Reservas

CARBOIDRATOS

- Decréscimos teores açúcares totais e solúveis: limitação da disponibilidade de substratos para a respiração
- Menor proteção à integridade das membranas
- Menor capacidade de utilização de carboidratos

EVENTOS	EVIDÊNCIA	POSSÍVEIS CAUSAS
Alterações no metabolismo de reservas CARBOIDRATOS	- Ação de fungos - Acréscimo taxa respiratória - Menor capacidade de utilização de carboidratos - Aumento da liberação de exsudatos - Velocidade de germinação	- Decréscimo teores de açúcares totais - Decréscimo teores de açúcares solúveis - Acréscimo teores de açúcares redutores - Ação de amilases - Menor quantidade de rafinose e estaquiose

MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Manifestações Bioquímicas

3. Metabolismo de Reservas

LIPÍDIOS

- Instabilidade química é uma das principais causas
- Hidrólise de lipídios de reserva: lipases
- Degeneração de fosfolipídios de membranas
- Peroxidação de lipídios (lipoxigenases)
- Autoxidação de lipídios

MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

LIPÍDIOS

Peroxidação

Ocorre nos lipídios armazenados e nas membranas

Reações são aceleradas pela lipoxigenase e ocorrem quando G.U. $\geq 14\%$

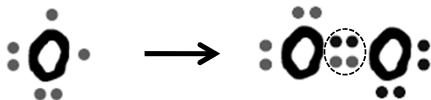
Formação de radicais livres e produtos tóxicos



MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Autoxidação

Seqüência de reações não catalisadas por enzimas, quando o G.U. $\leq 6\%$, a partir da ação do oxigênio sobre ácidos graxos insaturados, resultando na liberação de radicais livres.



O átomo de Oxigênio possui 6 **eletrons externos**: forma dois pares naturalmente e "procura" complementar os outros dois pares

O gás **oxigênio (O₂)** compartilha dois pares (uma ligação dupla) de elétrons com outro átomo de oxigênio



MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Radical livre: átomo ou grupo de átomos com um elétron não pareado, produzido por autoxidação ou via enzimas oxidativas. As cadeias de ácidos graxos oxidam-se espontaneamente, produzindo radicais altamente reativos

A partir da formação do primeiro, reação em cadeia

- Anion superóxido (O₂⁻), Peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radicais hidroxil (OH)





• Que são radicais livres?

- Um átomo ou molécula que possui um elétron não pareado
- Um elétron não pareado em um átomo ou molécula "carrega" maior quantidade de energia que um elétron pareado



MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Ações de Radicais Livres

Cadeia de reações, promovendo alterações na estrutura e funções de moléculas

Comprometimento das funções biológicas de proteínas (enzimas), lipídios (membranas) e ácidos nucleicos

Clivagem de proteínas, de ácidos nucleicos, resultando em produtos de baixo peso molecular

Comprometimento sério da atividade de mitocôndrios

ACELERAÇÃO DO PROCESSO DE DETERIORAÇÃO



EVENTOS	EVIDÊNCIA	POSSÍVEIS CAUSAS
Alterações no metabolismo de reservas LIPÍDIOS	- Liberação de exsudatos - Alterações em mitocôndrios - Redução taxa respiratória - Aumento ácidos graxos livres - Formação radicais livres - Danos a proteínas, enzimas, ácidos nucleicos - Formação aldeídos tóxicos - Formação hidropéroxídeos	- Peroxidação de lipídios das membranas - Ineficiência de mecanismos de reparo - Autoxidação: ácidos graxos insaturados (sementes secas) - Peroxidação: ácidos graxos hidrocarbonados/lipoxigenases - Redução níveis α-tocoferol (antioxidante)



MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Manifestações Bioquímicas

3. Metabolismo de Reservas

PROTEÍNAS

Decréscimo na síntese de proteínas

Queda dos teores de proteínas solúveis

Acréscimos nos teores de aminoácidos

Desnaturação de proteínas



EVENTOS	EVIDÊNCIA	POSSÍVEIS CAUSAS
Alterações em ENZIMAS e PROTEÍNAS	- Alterações na estrutura de enzimas - Inativação progressiva de enzimas - Síntese de proteínas - Metabolismo de RNA, DNA - Menores teores de proteínas solúveis	- Danos por radicais livres - Menor síntese de proteínas - Perda de compartimentalização - Desorganização de membranas: ação de fosfolipases

MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Manifestações Bioquímicas

4. Taxas de síntese

Intensidade e eficiência

EVENTOS	EVIDÊNCIA	POSSÍVEIS CAUSAS
Alterações em taxas de síntese	- Menor capacidade de utilização das reservas	- Desorganização das membranas - Declínio da atividade de componentes citoplasmáticos - Redução da produção de ATP

MANIFESTAÇÕES DA DETERIORAÇÃO

Manifestações Bioquímicas

5. Cromossomos e Ácidos Nucleicos

Degradação de DNA e de RNA-m

Rupturas em cromossomos

Alterações nucleares e abortamento de grãos de pólen

Ineficiência de mecanismos de reparo

Viabilidade (%)	DNA (mg/g m.s.)	RNA (mg/g m.s.)
95	10,2	46,4
64	9,7	43,0
00	3,1	43,7

Relações entre viabilidade da semente e concentrações de DNA e RNA de sementes de centeio
(Adaptado de Osborne et al., 1980/81)



Cultivar	Depósito		Câmara Fria	
	Germinação (%)	DNA (μg/mg m.s.)	Germinação (%)	DNA (μg/mg m.s.)
Pennyrile	0	1,64 ^(†)	90	4,38
Corsica	0	1,33	88	4,10
Stafford	0	3,35	94	6,40
Essex	0	3,62	92	4,58
Pharaoh	0	3,03	68	3,98

(†) Médias de três épocas.

Germinação (%) e concentrações de DNA (μg/mg m.s.) extraído de sementes de cinco cultivares de soja armazenados em depósito normal e em câmara fria e seca (10°C e 50% U.R), após a embebição durante 24 horas (Marcos Filho, McDonald, TeKrony e Zhang 1997).

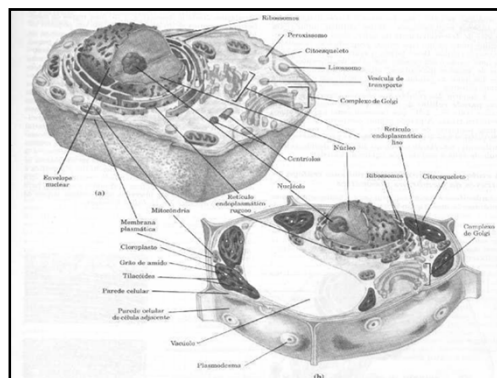


EVENTOS	EVIDÊNCIA	POSSÍVEIS CAUSAS
Danos genéticos	- Mutações	Degradação DNA
	- Aberrações cromossômicas durante a divisão celular: rupturas	Autólise (autodigestão)
	- Alterações ultraestruturais: fragmentação	Danos por hidrólise
	- Síntese de DNA e RNA	Perda capacidade do sistema de reparo de DNA
	- Alterações na transcrição e tradução	Ativação DNases
	- Redução síntese enzimas e proteínas	
	- Redução atividade de enzimas	
	- Redução DNA de alto peso molecular	



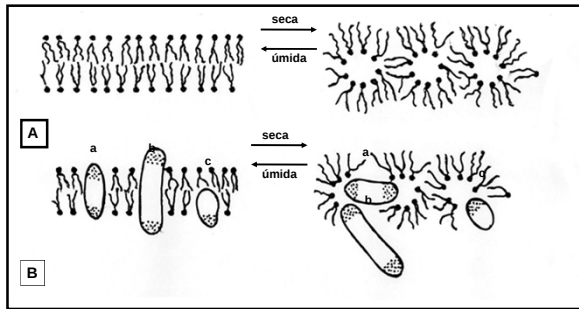
Manifestações Bioquímicas

6. Sistemas de Membranas



Manifestações Bioquímicas

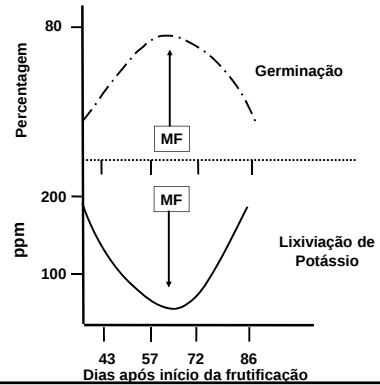
Sistemas de Membranas



A → orientação dos fosfolípidios; B → orientação de fosfolípidios e de proteínas

Manifestações Bioquímicas

6. Sistemas de Membranas



Manifestações Bioquímicas

6. Sistemas de Membranas

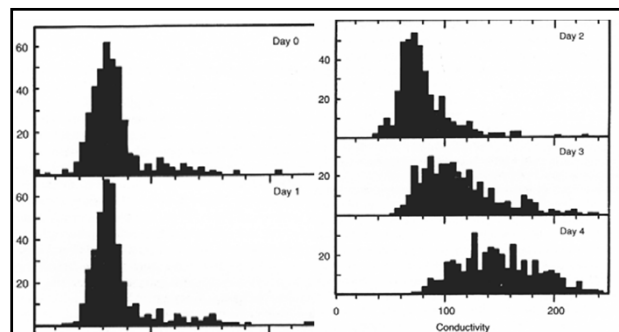
Perda da integridade → menor permeabilidade seletiva

Perda da compartimentalização celular

Liberação de exsudados

Danos principais provocados por peroxidação

Ineficiência de mecanismos de reparo

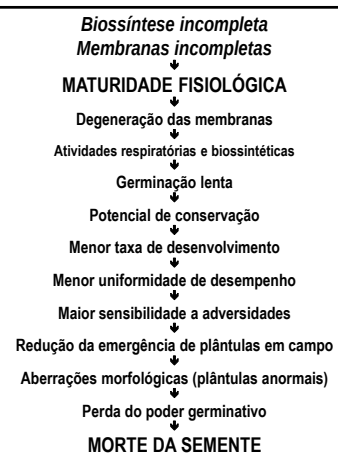


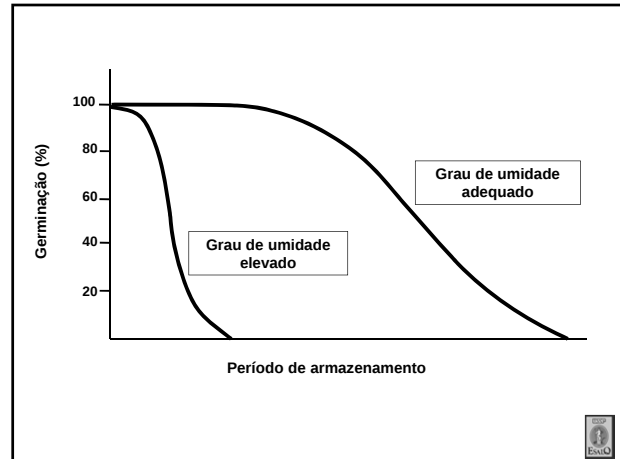
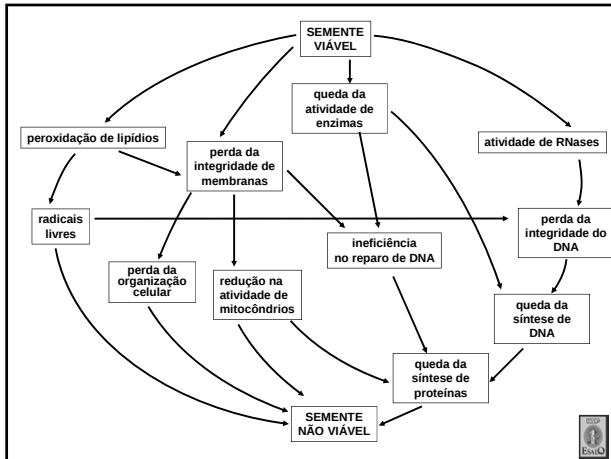
Leakage of electrolytes from soybean seeds following accelerated aging (McDonald and Wilson, 1980, J. Seed Technol. 5:56-66).

EVENTOS	EVIDÊNCIA	POSSÍVEIS CAUSAS
Danos às membranas	- Redução atividade de mitocôndrios - Redução taxas de síntese - Alterações na condutividade - Alterações ultraestruturais - Composição das membranas	- Redução da eficiência dos mecanismos de reparo - Peroxidação de lipídios - Secagem - Redução rafinose, estaquiose - Redução α-tocoferol - Formação e ação de radicais livres - Danos por hidrólise enzimática

EVENTOS	EVIDÊNCIA	POSSÍVEIS CAUSAS
Alterações hormonais	- Alterações na sensibilidade à ação hormonal	- Desorganização do metabolismo - Danos às membranas e menor resposta à ação hormonal
Metabólitos tóxicos	- Detecção direta	- Produtos primários ou secundários de reações químicas durante a deterioração - Menor eficiência do sistema de desintoxicação
Microrganismos	- Detecção direta - Inoculação	- Elevação do grau de umidade e/ou temperatura

SEQUÊNCIA DA DETERIORAÇÃO



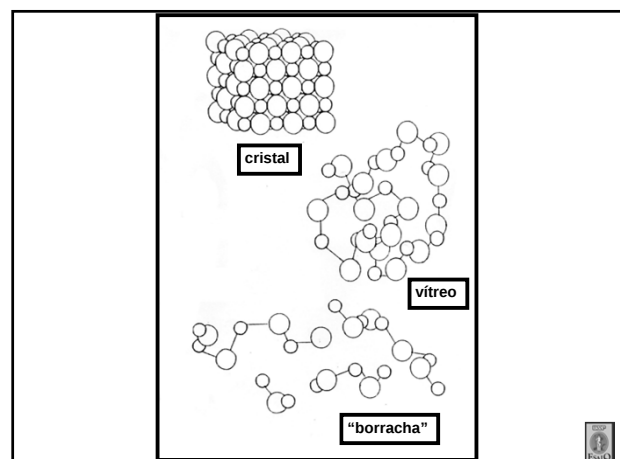


O ESTADO VÍTREO

Como é possível a sobrevivência e conservação das funções vitais em organismos que toleram a dessecação?

Vitrificação é o processo através do qual a água sofre uma transição para um estado amorfo, de consistência rígida. O citoplasma assume a consistência de um líquido com alta viscosidade, suficiente para impedir ou dificultar reações químicas → garantia da estabilidade celular

Importante: presença de proteínas LEA, açúcares (rafinose, estaquiase)



O ESTADO VÍTREO

Queda da temperatura ou secagem → maior concentração da solução celular: estabilidade e tolerância à dessecação

Consistência → barra de chocolate ou “pirulito” sólida, mas com propriedades físicas de um líquido

Fase líquida → barra de chocolate “derretida”: adição de água ou elevação da temperatura → maior atividade celular → deterioração



O ESTADO VÍTREO

Soja: G.U. < 9,0%; Milho: G.U. < 10,0%

Envelhecimento → perda gradual da habilidade das células vivas manterem o citoplasma vitrificado

O ESTADO VÍTREO

FORMAÇÃO

- Desidratação e/ou queda da temperatura
- Presença de rafinose, estaquiose
- Presença de proteínas LEA
- Manutenção das membranas no estado “cristalino líquido”
- Sementes recalcitrantes?



FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE E A INTENSIDADE DE DETERIORAÇÃO

- Condição inicial das sementes



FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE E A INTENSIDADE DE DETERIORAÇÃO

- Condições climáticas na maturação



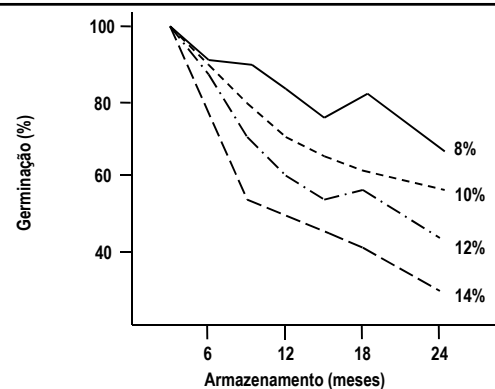
FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE E A INTENSIDADE DE DETERIORAÇÃO

- Momento de colheita



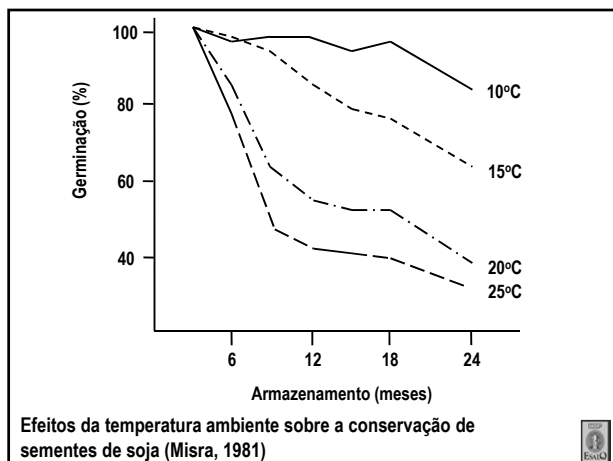
FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE E A INTENSIDADE DE DETERIORAÇÃO

- Injúrias mecânicas
- Secagem da semente
- Beneficiamento
- Condições e período de armazenamento



Efeitos do grau de umidade sobre a conservação de sementes da soja (Misra, 1981)





- Condições e período de armazenamento – Regras de Manejo

a) Variações no grau de umidade das sementes e temperatura

- Redução de 1p.p. no grau de umidade das sementes → período seguro para o armazenamento duplica (graus de umidade entre 5,0% e 14,0%)

G.U. % superior a 14% → desenvolvimento de fungos é acelerado

G.U. % inferior a 5% → autooxidação de lipídios

- Redução de 5 °C → longevidade duplica (válido para o intervalo 0 a 50°C)

- Ambas as reduções → longevidade “quadruplica”

- Condições e período de armazenamento – Regras de Manejo

b) Combinações T° C + U.R. %

- T°C + U.R.% até 80 → seguro para 8 - 10 meses

- T°C + U.R.% até 65 - 70 → seguro para 12 - 18 meses

- T°C + U.R.% até 55 → ideal para 3 - 5 anos (ambiente artificial)

- T°C + U.R.% até 45 → para 5 - 15 anos (ambiente artificial)

Em geral, equilíbrio com umidade relativa menor que 65 - 70% é seguro para o armazenamento de sementes de grandes culturas

FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE E A INTENSIDADE DE DETERIORAÇÃO

- Sanidade

UMIDADE RELATIVA (%)	GRAU DE UMIDADE (%)	FUNGO PREDOMINANTE	TEMPERATURA PARA DESENVOLVIMENTO	
			MÍNIMA	ÓTIMA
50	7 - 8	-----	----	----
65 - 70	10 - 12	<i>A. halophilicus</i>	----	----
70 - 75	12 - 13	<i>A. restrictus</i> <i>A. glaucus</i>	0 a 10	30 - 35
75 - 80	13 - 15	<i>A. candidus</i> <i>A. achraceus</i>	10 a 15	45 - 50
80 - 85	15 - 17	<i>A. flavus</i> <i>Penicillium sp.</i>	10 a 15	40 - 50
85 - 90	17 - 19	<i>Penicillium spp.</i>	- 5 a 0	20 a 25
> 90	> 19	Fungos de campo	Várias	Várias

Desenvolvimento de fungos em sementes de soja, em relação à umidade relativa do ar, grau de umidade das sementes e temperatura (Castor, 1983)

FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE E A INTENSIDADE DE DETERIORAÇÃO

- Tratamento químico

VIGOR	TRATAMENTOS	ARMAZENAMENTO (meses)			
		0	2	6	10
ALTO	INÍCIO ARMAZ.	94	88	84	22
	SEMEADURA	94	82	85	15
	NÃO TRATADA	94	77	74	02
BAIXO	INÍCIO ARMAZ.	91	78	75	26
	SEMEADURA	91	79	77	25
	NÃO TRATADA	91	46	61	01

Efeitos da época do tratamento fungicida (Rhodiauram) sobre a germinação de sementes de soja armazenadas em ambiente normal, durante 10 meses (Adaptado de Carvalho e Jacinto)

FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE E A INTENSIDADE DE DETERIORAÇÃO

- Embalagem