

## SEMENTES RECALCITRANTES

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



## INTRODUÇÃO

### Longevidade:

Período em que a semente permanece viva, quando conservada sob as condições ambientais mais favoráveis para a espécie e cultivar (Barton, 1961)

Evolução do conhecimento → tolerância à dessecação

sementes ortodoxas (75-80%) X sementes recalcitrantes (10-15%)

Recalcitrância: sementes incapazes de sobreviver ao armazenamento em ambientes relativamente secos (Roberts, 1973)



## INTRODUÇÃO

Recalcitrância: sementes não sofrem secagem drástica durante a maturação e são sensíveis a injúrias durante a dessecação (Roberts, 1973)

- Incapazes de sobreviver ao armazenamento em ambientes relativamente secos
- Tolerância a baixas temperaturas (< 15°C)



## Sementes Recalcitrantes x Ortodoxas

*Cipro Neto*



Ortodoxo: que segue rigorosamente os ensinamentos de uma religião, opinião ou ideia política, científica, etc.

Recalcitrante: teimoso, obstinado, rebelde, que não obedece a regras normais, difícil de controlar



### Sementes Recalcitrantes x Ortodoxas

*Cipro Neto*



Ortodoxo: que segue rigorosamente os ensinamentos de uma religião, opinião ou ideia política, científica, etc.

Recalcitrante: teimoso, obstinado, rebelde que não obedece a regras normais, difícil de controlar



### Sementes Recalcitrantes x Ortodoxas

*Cipro Neto*



Ortodoxo: Padrão , etc.

Recalcitrante: Exceção



### Sementes Recalcitrantes x Ortodoxas

*Cipro Neto*



Ortodoxo: Padrão ??? etc.

Recalcitrante: Exceção ???



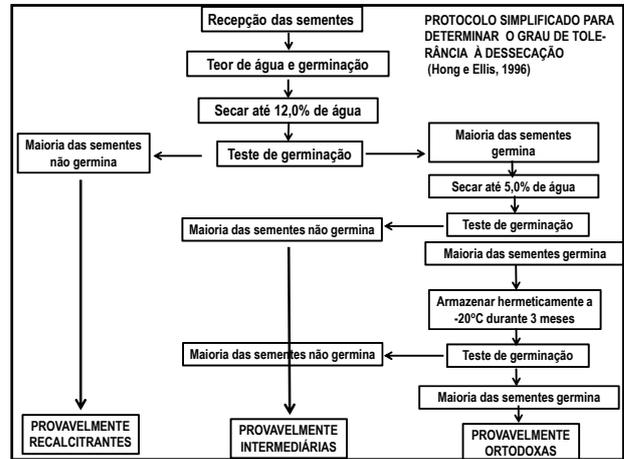
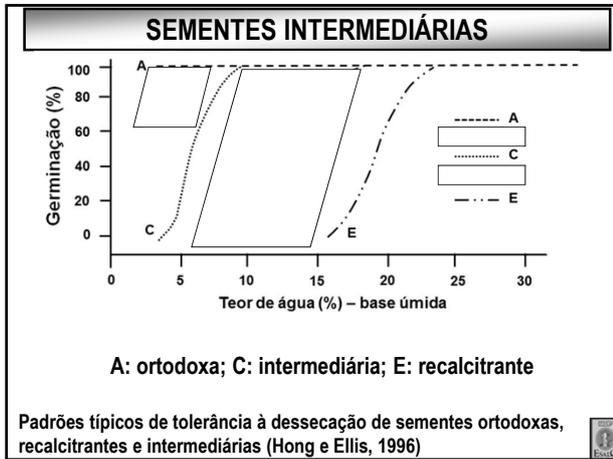
### SEMENTES INTERMEDIÁRIAS

Classificação considerando apenas as ortodoxas e as recalcitrantes não se revelou completamente satisfatória (Ellis et al., 1990)

Café → conservação sob ampla variação do teor de água, suportando nível de desidratação mais intenso que as recalcitrantes típicas, mas menos tolerante que as ortodoxas.

Menor tolerância à dessecação: recalcitrantes e intermediárias





### CARACTERÍSTICAS GERAIS DE SEMENTES RECALCITRANTES

- **HABITAT:** plantas ocorrem em *habitats* que permitem o rápido estabelecimento das plantas  
Característica é muito comum em espécies arbóreas
- **TEOR DE ÁGUA:** geralmente  $\geq 50\%$ ;  
Liberadas em estado hidratado, com intervalos regulares, em ambientes úmidos e com temperaturas relativamente elevadas; germinação relativamente rápida.
- **EXEMPLOS:** cacau, ingá, seringueira, coco, carvalho, guaraná, manga, nêspera, dendê, *Araucaria*, ipê, abacate, macadâmia, pitanga, jaboticaba

### CARACTERÍSTICAS GERAIS DE SEMENTES RECALCITRANTES

- **MORFOLOGIA DAS SEMENTES:**
  - geralmente, sementes graúdas, com embriões pequenos;
  - secagem menos drástica durante a maturação;
  - ausência de repouso pós-maturidade, sob condições naturais.

Perdem água mais lentamente que as ortodoxas:  
> variação entre indivíduos  
tamanho das sementes

## CARACTERÍSTICAS GERAIS DE SEMENTES RECALCITRANTES

### - MORFOLOGIA DAS SEMENTES:

Ampla proporção entre os volumes do tecido de reserva / eixo embrionário

Em várias espécies, sementes protegidas por mucilagem, no interior do fruto.



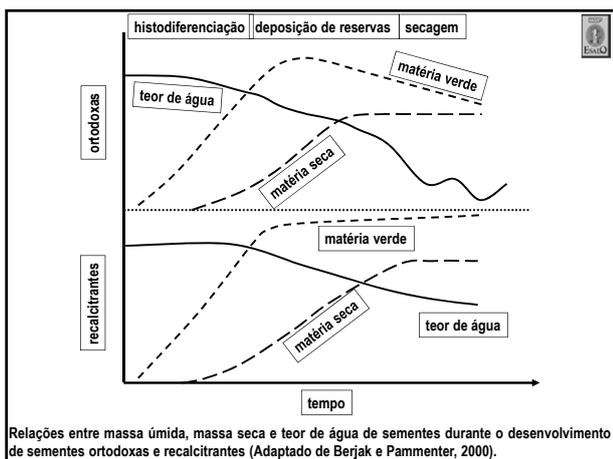
## CARACTERÍSTICAS GERAIS DE SEMENTES RECALCITRANTES

### - DESENVOLVIMENTO E MATURAÇÃO

Etapas: divisão celular, expansão celular, acúmulo matéria seca, dessecação

Dessecação é etapa marcante no desenvolvimento das ortodoxas. E nas recalcitrantes?

Normalmente, não há transição evidente entre o final da maturação e o início da germinação



## CARACTERÍSTICAS GERAIS DE SEMENTES RECALCITRANTES

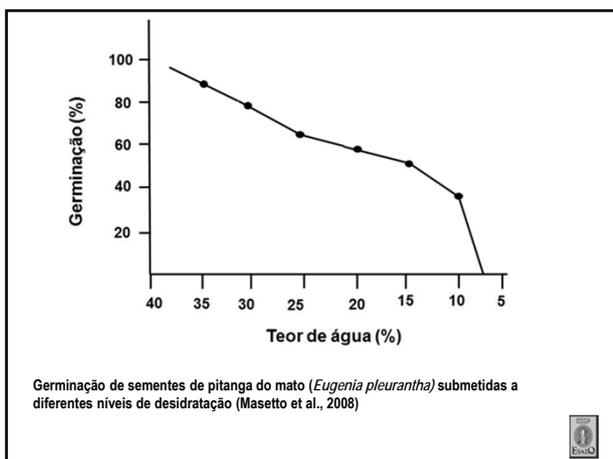
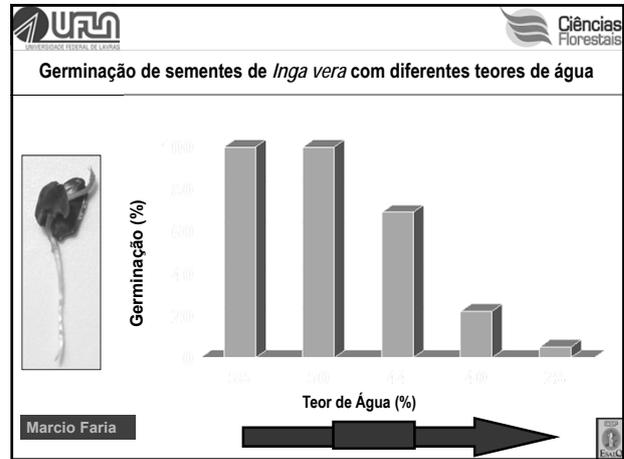
Longevidade da espécie geralmente depende mais do hábito de crescimento da planta matriz

A sensibilidade à dessecação se relaciona à inabilidade de preservar a estruturação do sistema de membranas, quando o teor de água das sementes atinge valores inferiores a determinados limites

### - CATEGORIAS DE SEMENTES RECALCITRANTES



Tipos de Recalcitrância		
Mínima	Moderada	Alta
Maior tolerância à perda de água	Tolerância moderada à desidratação	Pouco tolerante à dessecação
Germinação lenta, em ausência de quantidade adicional de água	Velocidade média de germinação em ausência de água adicional	Germinação rápida em ausência de água adicional
Maior tolerância a baixas temperaturas	Maioria das espécies é sensível a baixas temperaturas	Sensível a baixas temperaturas
Distribuição subtropical/temperada Exemplos: <i>Quercus</i> , <i>Araucaria</i>	Distribuição tropical Exemplos: <i>Theobroma</i> , <i>Hevea</i>	Florestas tropicais e terras úmidas Exemplo: <i>Avicennia marina</i>
<b>Características de sementes de acordo com o grau de recalcitrância (Farrant et al., 1988).</b>		



**TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO**

**Seca:** qualquer nível de disponibilidade de água suficientemente baixo para afetar negativamente o desempenho de plantas

**Tolerância à seca:** capacidade de enfrentar disponibilidade sub-ótima de água, mas não tão baixa a ponto de caracterizar secagem completa até atingir o ponto de equilíbrio com a umidade relativa do ar

**Mecanismos de tolerância a seca:** manter teores mínimos de água nas células (Ex.: estômatos)

## TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

### Definição:

Capacidade de sobrevivência sob ausência quase que completa de água<sup>(\*)</sup> e recuperação das funções vitais após hidratação

(\*) Convenção: 50% U.R. ar, a 20°C ( $\pm$  10% água  $\approx$  - 94 MPa)

Pode ser considerada como equivalente ao menor teor de água até o qual o tecido pode ser desidratado sem causar a perda da viabilidade



## TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

Há variação no grau de tolerância à dessecação, desde as tipicamente ortodoxas até as acentuadamente recalcitrantes. Esse grau de tolerância representa a diferença mais evidente entre esses tipos de sementes

**IMPORTANTE: MANUTENÇÃO DA TURGIDEZ CELULAR**



## Com a remoção de água:

Alterações físicas

Alterações químicas

Alterações fisiológicas



## Com a remoção de água:

### - Alterações físicas

- espaços ocupados pela água (vacúolos, citoplasma, membranas)
- desintegração de microtúbulos e microfilamentos do citoesqueleto (degradação da estrutura/arquitetura e sistema de suporte da célula)

Desidratação excessiva de recalcitrantes : perda da capacidade de regeneração do citoesqueleto



## Com a remoção de água:

### - Alterações químicas

- reações deletérias facilitadas
- oxidações
- ataques a moléculas (membranas)



## Com a remoção de água:

### - Alterações fisiológicas

- atividade metabólica
- (des)diferenciação celular



## TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

### SEMENTES ORTODOXAS

Podem sofrer secagem até atingir baixo teor de água, sem a ocorrência de danos ao metabolismo.

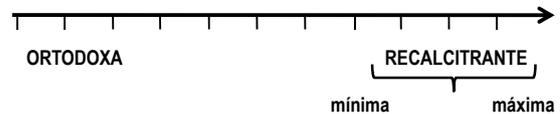
Potencial de armazenamento tem relação inversa com o teor de água das sementes e com a temperatura, dentro de limites

**RECALCITRANTES:** exibem variação relativamente ampla quanto ao teor de água na época de dispersão, tolerância à desidratação, resposta à velocidade de secagem, longevidade e sensibilidade à queda de temperatura



## TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

### SENSIBILIDADE CRESCENTE À DESSECAÇÃO



A gradação sugerida para a classificação da tolerância das sementes à dessecação tem origem na extrema tolerância das ortodoxas até a extrema sensibilidade à dessecação das mais profundas (Berjak e Pammenter, 2000)



### TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

Recalcitrantes → predomina água dos tipos 3 ou 4  
(teor de água entre 20% e 40%)

Talvez por isso, têm menor tolerância ao resfriamento

Geralmente, a tolerância é perdida quando é removida a água congelável, fazendo com que os mecanismos de reparo se tornem inoperantes



### TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

Sementes secas: G.U. < 10% (Walters, 2000)

Para outros,

E.H. com 75% U.R. ar, com 50% U.R. com 15% U.R., ...

LIMITES DE TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO (Roberts, 1999):

Ortodoxas → equilíbrio com 10% U.R.

Intermediárias → equilíbrio com 40 a 50% U.R.

Recalcitrantes → equilíbrio com 90% U.R. (-1,5 a -2 MPa)



### TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

Grau de umidade crítico: limite até o qual os tecidos podem ser desidratados sem a ocorrência de danos irreparáveis.

Grau de umidade “crítico “(?): 25% a 70%, geralmente entre 20 e 35% (equilíbrio com 90% U.R do ar)

Grau de umidade letal: perda completa da viabilidade

**SÃO DOIS PARÂMETROS CONTESTADOS**

porque sofrem a influência de vários fatores



### MECANISMOS DE TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

Organização das membranas

Fases de divisão e expansão celular → INTOLERANTE

Presença e atuação dos sistemas antioxidantes

Acúmulo de moléculas de substâncias protetoras

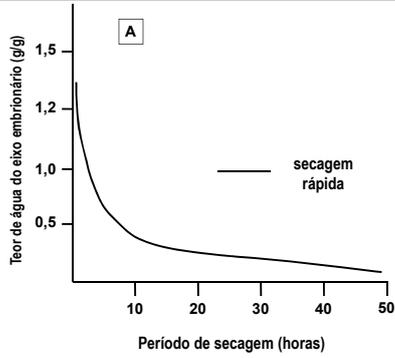
Proteínas do tipo LEA (deidrinas), proteínas de choque térmico, oligossacarídeos (rafinose, estaquiose)

Presença e atuação de mecanismos de reparo

Atuam em membranas, mitocôndrios, proteínas, RNA e sistemas de síntese

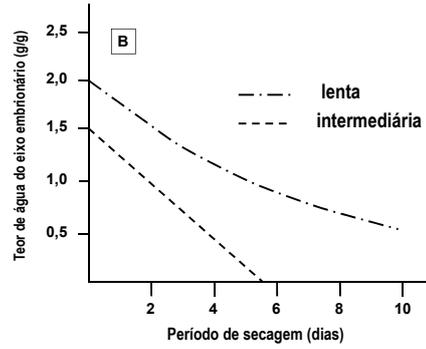


### INFLUÊNCIA DA TAXA (VELOCIDADE) DE SECAGEM

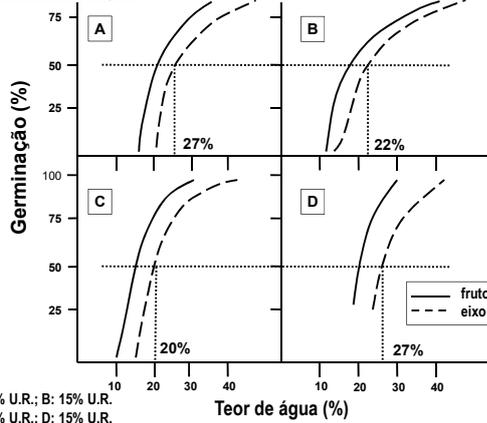


Velocidade de secagem de eixos embrionários de *Ekebergia capensis* (Pammenter et al., 1998)

### INFLUÊNCIA DA TAXA (VELOCIDADE) DE SECAGEM

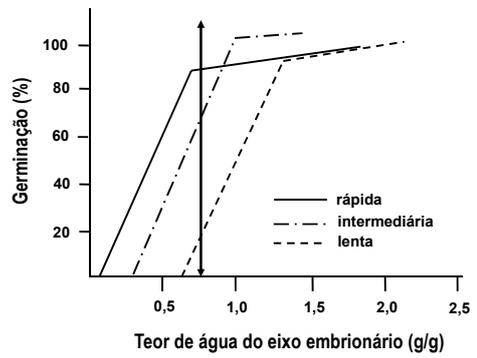


### Rapidez de secagem



A: 45% U.R.; B: 15% U.R.  
C: 35% U.R.; D: 15% U.R.

### Secagem de *Ekebergia capensis*

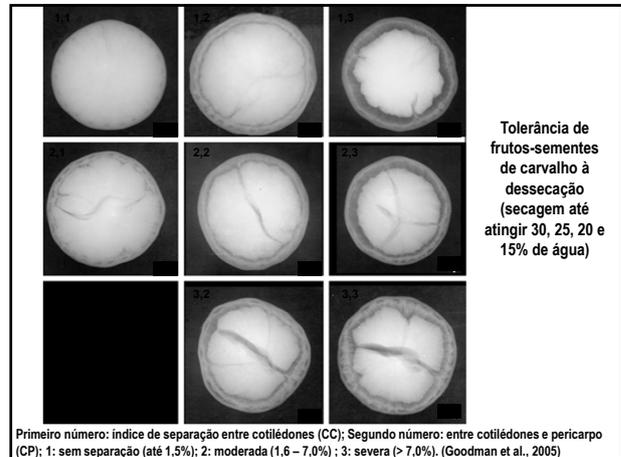


## MECANISMOS DE TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

“Flash drying” :

Permite apenas a secagem mais segura até graus de umidade mais baixos

Como as sementes recalcitrantes são relativamente grandes, a secagem geralmente é lenta. Por esse motivo, tem sido realizada a secagem de embriões excisados.



## ASSOCIAÇÃO COM MICRORGANISMOS

### PROBLEMAS CAUSADOS POR FUNGOS

- Espécies envolvidas: *Aspergillus* and *Penicillium*

- Variações do teor de água



## ASSOCIAÇÃO COM MICRORGANISMOS

	Teor de Água (%)				Germinação (%)					
	0 <sup>(†)</sup>	15	30	45	60	0 <sup>(†)</sup>	15	30	45	60
57,3	58,5	61,4	60,6	60,4	99	67	0	1	0	0
51,4	52,1	53,8	53,7	53,8	100	97	71	69	43	0
45,9	46,5	46,5	46,8	47,5	95	92	56	23	7	0
42,9	43,2	44,7	42,6	46,1	98	87	49	3	0	0
38,6	39,6	39,8	39,2	39,9	89	62	12	1	0	0
32,4	33,1	34,3	32,3	39,1	68	8	0	0	0	0
28,0	28,7	29,1	31,9	30,1	0	0	0	0	0	0

Teores de água e germinação de sementes de *Inga uruensis* submetidas a secagem e armazenadas em condições normais de ambiente por diferentes períodos (Bilia et al., 1999)

(†) Período de armazenamento (dias)



## ARMAZENAMENTO

1. Sementes úmidas ou embebidas (teor de água elevado, mas insuficiente para permitir a germinação)

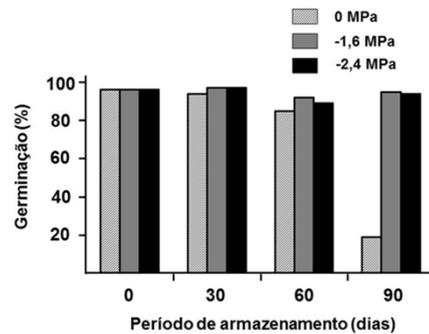
2. Desidratação parcial

Menor período de conservação que para ortodoxas

Teor de água ainda relativamente elevado e uso de embalagens resistentes a trocas de vapor d'água

Exemplos de potencial de armazenamento:

coco (16 meses), carvalho (20 meses), ingá (60 dias), seringueira (6 meses), cacau (8 a 10 semanas)



Germinação de sementes de *Inga vera* armazenadas em equilíbrio com diferentes potenciais hídricos (Andréo et al., 2006)



Material / ambiente	Período de armazenamento (dias)						
	0	30	60	90	120	135	150
Plástico / laboratório	52	56	<u>77</u>	<u>63</u>	<u>62</u>	<u>64</u>	23
Plástico / 10°C	52	22	36	18	15	08	12
Papel multifoliado/ laboratório	52	00	00	00	00	00	00
Papel multifoliado/ 10°C	52	00	00	00	00	00	00

Germinação (%) de sementes de seringueira armazenadas em dois tipos de embalagem, em laboratório e em câmara fria a 10°C (Pereira, 1980).



## ARMAZENAMENTO

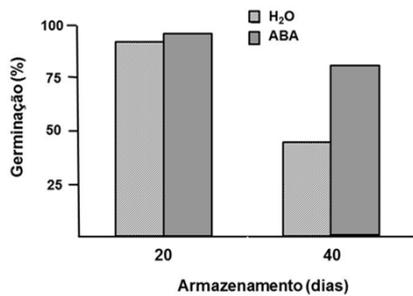
3. Uso de inibidores endógenos ( ABA )

4. Criopreservação (N líquido a - 196°C)

Considerar:

tamanho das sementes, tolerância da espécie à dessecação, tipo de tecido, rapidez da secagem estágio de desenvolvimento da semente





Germinação de sementes de *Inga vera* armazenadas sob influência ou não do tratamento com ácido abscísico (Barbedo e Cicero, 2000)



## Sementes ortodoxas foram e serão recalcitrantes ??

### Sementes ortodoxas foram e serão recalcitrantes ??

Até um determinado estágio, o desenvolvimento das sementes ortodoxas e recalcitrantes segue padrão semelhante

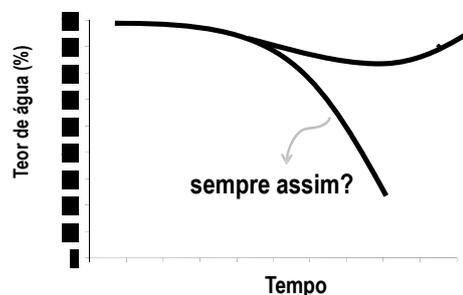
Ao final da maturação, as proteínas LEA e mecanismos antioxidantes tornam-se mais ativos nas ortodoxas.

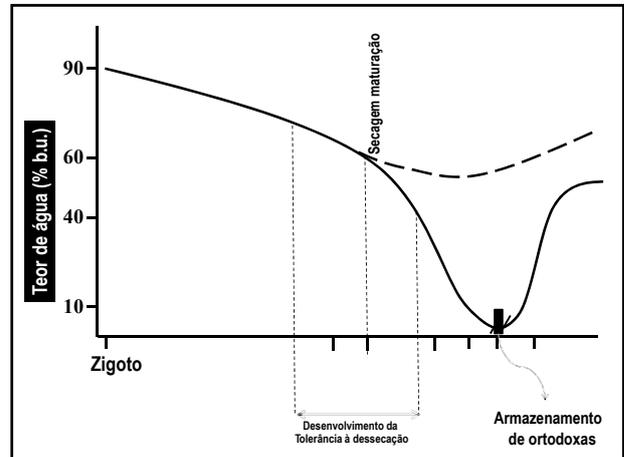
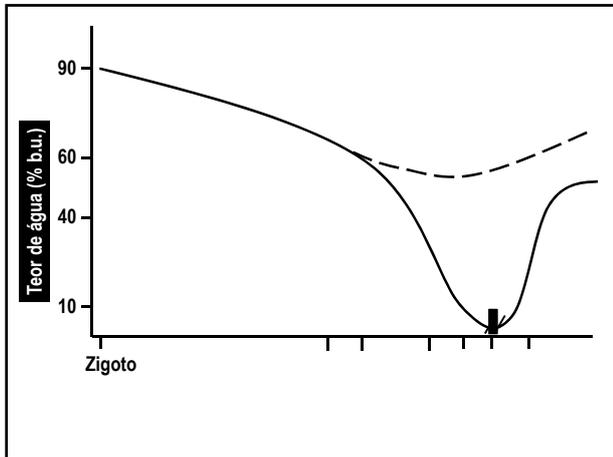
Até que ponto esses eventos finais são importantes para determinar a tolerância à dessecação?

Esses mecanismos também atuam nas recalcitrantes?



## Formação / Maturação





### Sementes ortodoxas foram e serão recalcitrantes ??

A tolerância à dessecação é estabelecida ao final do processo de acúmulo de matéria seca, antes do período de secagem típico da maturação de sementes ortodoxas

Há evidências de que sementes de várias espécies recalcitrantes não completam a fase III de maturação antes de serem dispersadas e que o acúmulo de matéria seca pode prosseguir após a dispersão.



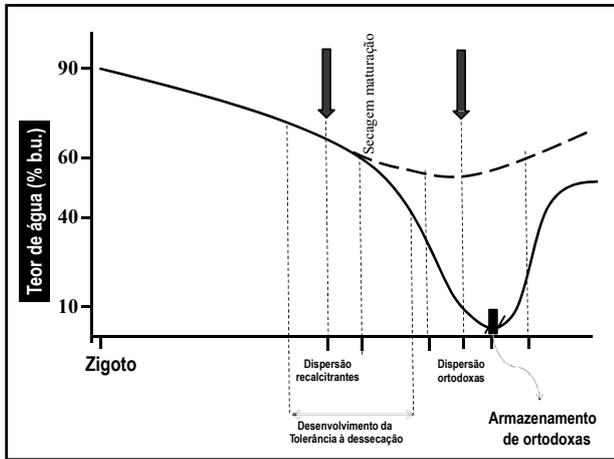
### Sementes ortodoxas foram e serão recalcitrantes ??

Isto pode indicar que a incapacidade de tolerância à dessecação pode estar relacionada à falta de complementação do acúmulo antes da dispersão. Por isso, há dificuldade de identificar, com precisão, o momento da reversão do metabolismo de desenvolvimento para o de germinação, nas recalcitrantes.

Há grande dificuldade para identificação do momento em que as sementes recalcitrantes se desligam fisiologicamente da planta-mãe.

É um desafio ainda não vencido.



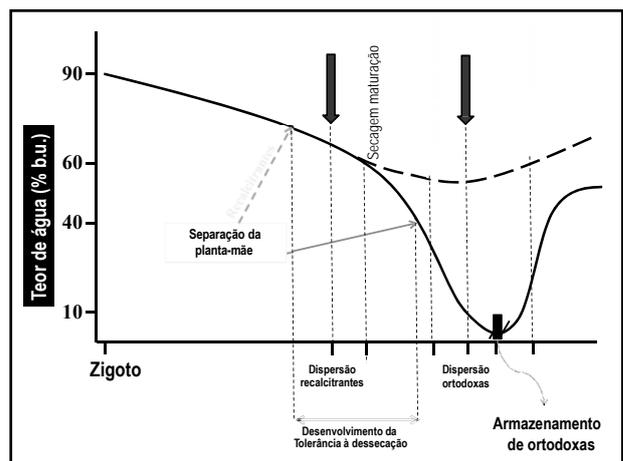
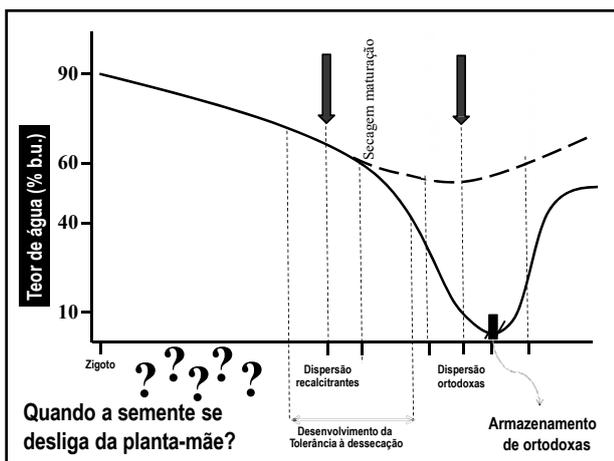


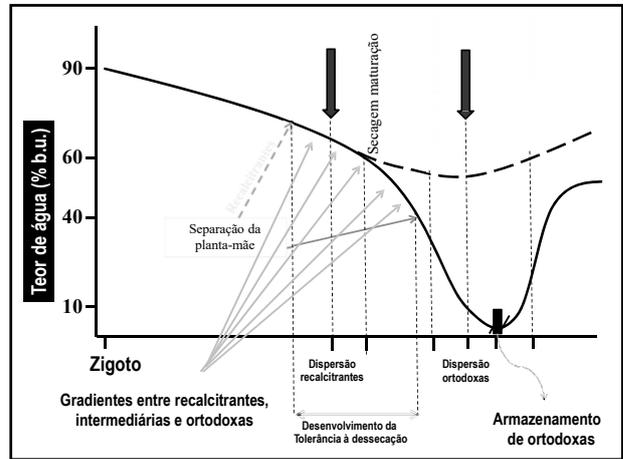
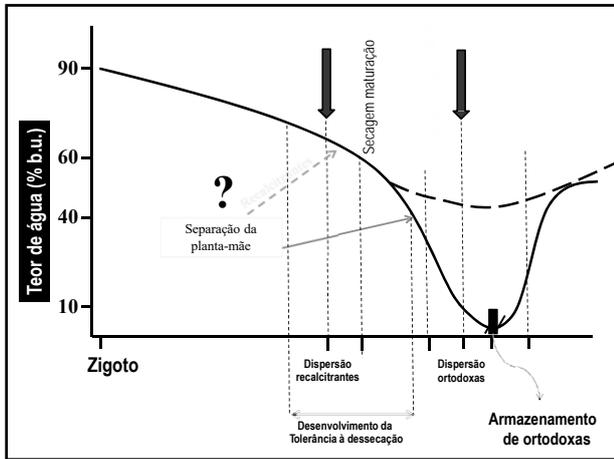
### Sementes ortodoxas foram e serão recalcitrantes ??

Literatura documenta que sementes de várias espécies são dispersadas com teor de água superior a 60% e desenvolvem habilidade para germinar antes que adquirem capacidade para tolerar a dessecação.

Assim, essas sementes podem estar ainda imaturas quando são separadas da planta-mãe

Assim, quanto maior o período entre a separação de sementes recalcitrantes da planta-mãe, em comparação às ortodoxas, maior seria o grau de recalcitrância





### Sementes ortodoxas foram e serão recalcitrantes ??

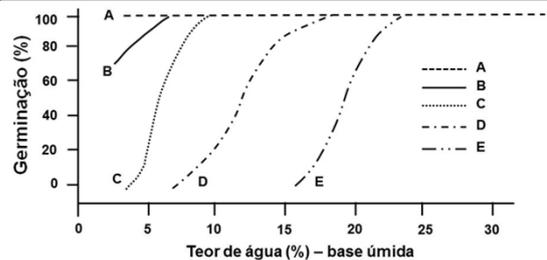
Esse conjunto de fatos importantes serviram de base para que Barbedo et al (2013) tenham proposto a hipótese de que **SEMENTES RECALCITRANTES SERIAM SEMENTES ORTODOXAS QUE NÃO COMPLETARAM A MATURAÇÃO.**

O GRAU DE RECALCITRÂNCIA DEPENDERIA DO NÍVEL DE PROGRESSO DO PROCESSO DE MATURAÇÃO E DA CAPACIDADE DE GERMINAÇÃO ATINGIDOS ANTES DA SEPARAÇÃO NATURAL PLANTA/SEMENTE.

Alternativa: ampliar o período de maturação, mantendo as sementes ligadas fisiologicamente à planta



### SEMENTES INTERMEDIÁRIAS



A: ortodoxa; C: intermediária; E: recalcitrante; B e D, ortodoxa e intermediária, respectivamente, quando colhidas prematura ou tardiamente e mostram menor tolerância à dessecação que as típicas dessas duas categorias

Padrões típicos de tolerância à dessecação de sementes ortodoxas, recalcitrantes e intermediárias (Hong e Ellis, 1996)

