

Lignina e a Dormência em Sementes de Três Espécies de Leguminosas Florestais da Mata Atlântica

Tattiane Gomes Costa¹, Ana Helena de Souza Dias¹,
Tatiana de Felice Elias², Tiago Böer Breier³, Heber dos Santos Abreu⁴

¹Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ

²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ

³Departamento de Silvicultura, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ

⁴Departamento de Produtos Florestais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ

RESUMO

A relação entre a presença de lignina e a dormência de sementes foi avaliada para três espécies de leguminosas arbóreas ocorrentes na Mata Atlântica. As espécies estudadas foram: *Cassia grandis* L.f., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. Os procedimentos anatômicos indicaram presença de lignina nas células paliádicas da exotesta, nos osteoescleréides e nas células parenquimáticas da mesotesta. Valores elevados do conteúdo de lignina corresponderam à baixa taxa de dormência. Apesar de a lignina ser uma substância hidrofóbica, a presença no tegumento das sementes permite maior fluxo de líquidos diretamente relacionados com a ocorrência de lignina.

Palavras-chave: semente, lignina, dormência.

Lignin and Dormancy in Seeds of Three Legumes Species of Atlantic Forest

ABSTRACT

The relationship between the presence of lignin and seed dormancy was evaluated in three legume tree species occurring in the Atlantic forest. The species studied were: *Cassia grandis* L.f., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan and *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. The anatomical procedures indicated the presence of lignin in the palisade cells of the exotesta, in the osteosclereids and in the parenchymatic cells of the mesotesta. The high values of lignin content corresponded to the low rate of dormancy. Although lignin is a hydrophobic substance its presence in the integument of the seeds allows a higher flux of liquids directly related to the occurrence of lignin.

Keywords: seed, lignin, dormancy.

1. INTRODUÇÃO

A lignina corresponde a um grupo de substâncias da parede celular encontrada nas plantas vasculares com grande importância na sustentação e condução da água. No processo de lignificação, a lignina substitui a água na parede e se liga aos polissacarídeos celulósicos, não celulósicos e proteínas. A lignina apresenta grande importância no processo evolutivo das plantas vasculares, permitindo o fluxo de água e nutrientes através dos traqueídeos e vasos condutores (Liyama et al., 1994).

Quando presente nas sementes, a lignina é geralmente encontrada no tegumento e exerce função de proteção ao dano mecânico. Em eventos dispersivos de endozocoria, a lignina pode proteger o embrião durante o processo dispersivo como descrito para sementes da palmeira *Jessenia bataua* (Mart.) Burret dispersada por ungulados da Amazônia (Bodmer, 1991).

Aplicações práticas desta resistência oferecida pela lignina na proteção do embrião das sementes são amplamente estudadas para sementes de soja, *Glycine max* (L.) Merr., em que o dano mecânico é o principal fator que reduz a qualidade das sementes durante a colheita e o manejo, sendo que o aumento da quantidade de lignina nas sementes dos diferentes cultivares pode contribuir para uma maior resistência ao dano mecânico (Alvarez et al., 1997; Panobianco et al., 1999; Krzyzanowski et al., 2001; Capeleti et al., 2005). Em experimentos realizados com soja, foi detectado que cultivares com maior teor de lignina apresentaram melhor qualidade fisiológica e menor velocidade de absorção de água (Santos et al., 2007).

A composição química da semente sob o contexto de ocorrência de substâncias com caráter de proteção física, como a lignina, entre outras substâncias, tem sido pouco estudada. A impermeabilidade à água pode ser causada pela deposição de substâncias químicas no tegumento das sementes, sendo que as possíveis substâncias encontradas na cobertura das sementes são: suberina, lignina, cutina, taninos, pectinas, além de derivados de quinina (Rolston, 1978; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1982).

A relação entre a presença de lignina e a dormência tegumentar de sementes ainda é pouco conhecida.

Entre as sementes de leguminosas arbóreas utilizadas na recuperação de áreas degradadas é relativamente comum a presença de dormência tegumentar, o que constitui um problema para o produtor de mudas, agricultores, e para os projetos de recuperação, tendo em vista que a dormência dificulta a germinação (Popinigis, 1985).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a ocorrência da lignina nas sementes, local de deposição e o seu papel na dormência de sementes de três espécies arbóreas de leguminosas (Fabaceae), que ocorrem na Mata Atlântica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho comparou sementes de três espécies de leguminosas arbóreas (Fabaceae) que ocorrem na Mata Atlântica quanto à dormência tegumentar e sua relação com os teores e local de deposição da lignina.

As espécies estudadas pertencem à família Fabaceae, sendo uma espécie da subfamília Caesapinoideae: *Cassia grandis* L.f. e duas espécies da subfamília Mimosoideae: *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. Os testes de germinação foram realizados no Laboratório de Biologia Reprodutiva e Conservação de Espécies Arbóreas – LACON, Departamento de Silvicultura, e as análises químicas no Laboratório de Química da Madeira do Departamento de Produtos Florestais do Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.

2.1. Dormência tegumentar

Testes de germinação foram realizados com o objetivo de avaliar a taxa de dormência das sementes e dois tratamentos foram implantados: tratamento com escarificação mecânica e tratamento sem escarificação mecânica. A taxa de dormência foi calculada pela divisão entre o resultado do tratamento com escarificação pelo resultado do tratamento sem escarificação. Para cada tratamento, foram realizadas quatro repetições de 25 sementes. Para avaliar os resultados dos tratamentos, foi realizado o teste do Qui-quadrado com auxílio do programa Bioestat 5.0.

A escarificação mecânica foi realizada com o uso de lixa de madeira em que o tegumento das sementes

foi escarificado no lado oposto ao embrião até a exposição do endosperma. A espécie *Anadenanthera macrocarpa* conhecidamente não apresenta dormência tegumentar, contudo foi submetida aos mesmos tratamentos já que o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de lignina e sua relação com a dormência.

Após a superação de dormência, foram conduzidos testes de germinação em caixas do tipo gerbox e germinadora do modelo Mangesdorf com luz constante e temperatura de 30 °C e duração de três a quatro semanas. O substrato utilizado nos testes foi papel germitest autoclavado, exceto para *Anadenanthera macrocarpa*, na qual foi utilizada areia autoclavada. O experimento foi acompanhado com avaliações frequentes da necessidade de adição de água no gerbox. As contagens foram realizadas a cada sete dias e o conceito de germinação utilizado foi o botânico, que considera germinadas todas as sementes que embebem água e emitem radícula.

2.2. Teor de lignina

As sementes foram moídas em um moinho do tipo Willey e o pó obtido foi homogeneizado a um tamanho equivalente a 48 mesh em um homogeneizador vibratório e, em seguida, pré-extraído com solventes na seguinte escala elutrográfica de polaridade crescente: ciclohexano, acetato de etila, metanol e água, sendo posteriormente tratado com pepsina.

A extração de proteína do material livre de extrativos foi feita com o método de preparação do material lignocelulósico livre de proteína, que consiste em pesar um grama de material livre de extrativos e colocar em um erlenmeyer de 250 mL, contendo 40 mL de solução de pepsina (1% em ácido clorídrico 0,1 N). O material foi mantido em banho-

maria a 40 °C por 13 horas e, posteriormente, filtrado sob vácuo em um funil de placa sinterizada.

O material sólido foi lavado, utilizando 48 mL de água quente bidesionizada e 12,8 mL de ácido sulfúrico (5%), por duas vezes. Em seguida, a amostra foi transferida para um balão de vidro contendo 240 mL de ácido sulfúrico (5%) e colocada em refluxo por uma hora, sendo, posteriormente, filtrada utilizando um funil de placa sinterizada e lavada com 48 mL de água bidesionizada quente por duas vezes.

Por fim, foram realizadas mais duas lavagens com 32 mL de etanol e duas lavagens com 24 mL de éter (Abreu et al., 2006).

Com auxílio de um microscópio ótico com sistema de fotomicrografia digital e *software* para captura de imagem (AnalySIS getIT), foram obtidas imagens dos materiais analisados no Laboratório de Anatomia e Qualidade da Madeira do Departamento de Produtos Florestais, Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Dormência tegumentar

Na maioria dos casos, as sementes viáveis que não absorvem água e, portanto, não germinam em um ambiente aparentemente favorável são conhecidas como impermeáveis ou duras. Esta dormência ocorre devido aos aspectos físicos externos e é especialmente comum em sementes de espécies da família Fabaceae (Rolston, 1978). Os resultados obtidos nos testes de germinação são apresentados na Tabela 1, com os tratamentos sem escarificação mecânica e com escarificação mecânica e a relação entre eles expressada através da taxa de dormência.

Tabela 1. Percentual de germinação de sementes de espécies florestais sem escarificação mecânica, com escarificação mecânica e taxa de dormência.

Table 1. Percentage of germination of forest species without mechanical scarification, with mechanical scarification and rate of dormancy.

Espécie	Sem escarif. (%)	Com escarif. (%)	Taxa (%)
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan	27	31	1,2
<i>Cassia grandis</i> L.f.	19	73	3,8
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	2	55	27,5

Como padrão geral, fica evidente que as sementes com escarificação mecânica apresentaram um percentual de germinação maior em relação às sementes não escarificadas ($X^2 = 91,534$; $p < 0,001$). Contudo, essa relação foi variável conforme a espécie, evidenciando um gradiente desde espécies com dormência tegumentar intensa como *Enterolobium contortisiliquum* que apresentou a maior taxa de dormência (27,5%) e espécies com inexpressiva taxa de dormência tegumentar como *Anadenanthera macrocarpa* (1,2%).

3.2. Teor de lignina

Na Tabela 2, são apresentados os resultados do percentual de perda de massa e teores médios de lignina encontrados nas sementes estudadas. As sementes de *Cassia grandis* apresentaram a maior percentagem de perda de massa (78,1%), sendo que o material após seco em estufa a 60 °C formou uma película transparente, indicando que esta espécie possui provavelmente grande quantidade de pectina.

Os teores de lignina encontrados foram: *Anadenanthera macrocarpa* (18,9%), *Cassia grandis* (10,0%) e *Enterolobium contortisiliquum* (8,1%). Sabendo que *A. macrocarpa* é a espécie que apresenta o tegumento menos rígido, fica evidente que não é comparável a quantidade de lignina presente com a rigidez do tegumento para espécies diferentes. Em pesquisas realizadas para variedades diferentes de uma mesma espécie como a soja (*Glycine max*), o teor de lignina no tegumento refletiu a rigidez das diferentes variedades (Alvarez et al., 1997; Panobianco et al., 1999; Krzyzanowski et al., 2001; Palagi, 2004; Capeleti et al., 2005; Prete et al., 2007).

Os autores Brillouet & Riochet (1983) consideram que as sementes do gênero *Lupinus* (Fabaceae) de modo geral apresentam pouca quantidade de lignina. Alves (1989) encontrou em sementes de *Clitoria ternatea* L. (Fabaceae) 6,9% de lignina. Já para espécies com sementes oleaginosas,

Theander et al. (1977) encontraram teores variáveis de lignina nas sementes de três cultivares de *Brassica campestris* L. (36,1, 17,8 e 7,9%) e para *Sinapis alba* L. (7,9%), ambas da família Brassicaceae.

3.3. Sítio de deposição da lignina nas sementes

O estudo anatômico do tegumento das sementes das espécies estudadas apresentou a seguinte sequência estrutural: uma cutícula superficial, uma linha lúcida, uma camada de células paliçádica, uma camada de osteoesclereídeos, uma camada de células parenquimáticas e uma cutícula interna que divide o tegumento do endosperma.

Em *Anadenanthera macrocarpa*, a lignina foi localizada em grande quantidade nas células paliçádicas da exotesta também conhecida como macrosclereídeos e em menor concentração nos osteoesclereídeos (Figura 1). Nas sementes de *Enterolobium contortisiliquum*, a lignina foi localizada nas células parenquimáticas da mesotesta (Figura 2). Em *Cassia grandis*, a lignina foi localizada

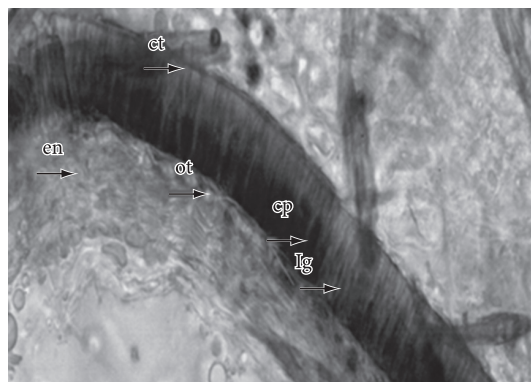


Figura 1. Corte transversal do tegumento da semente de *Anadenanthera macrocarpa*. Com aumento de 200x. Cutícula (ct); células paliçádicas (cp); endosperma (en); osteoesclereídeos (ot); e lignina (lg).

Figure 1. Cross section of the seed coat of *Anadenanthera macrocarpa* (200x). Cuticle (ct); palisade cells (cp), endosperm (en); osteosclereids (T) and lignin (lg).

Tabela 2. Percentual de perda de massa e teores médios de lignina de sementes de espécies florestais.

Table 2. Percentage of mass loss and average content of lignin of seeds of forest species.

Espécie	Perda de massa (%)	Lignina (%)
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan	58,8	18,9
<i>Cassia grandis</i> L.f.	77,0	10,0
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	55,9	8,1

em pequena concentração nas células paliçádicas da exotesta e nos osteoesclereídeos (Figura 3). As duas espécies com menores taxas de dormência, *A. macrocarpa* e *C. grandis*, apresentaram os mesmos sítios de deposição de lignina no tegumento, células paliçádicas e osteoesclereídeos. Contudo, embora ambas tenham apresentado as menores taxas de dormência, comparações diretas não podem ser realizadas já que *A. macrocarpa* não possui dormência e *C. grandis* apresenta dormência expressiva (Tabela 1).

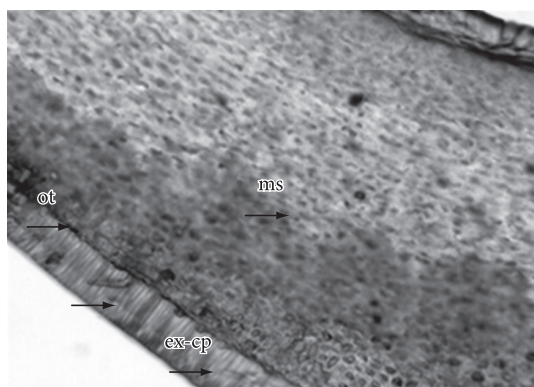


Figura 2. Corte transversal do tegumento da semente de *Enterolobium contortisiliquum*. Com aumento de 100x. Exotesta (ex); células paliçádicas (cp); osteoesclereídeos (ot); e mesotesta (ms).

Figure 2. Cross section of the seed coat of *Enterolobium contortisiliquum* (100x). Exotesta (ex); palisade cells (cp); osteosclereids (T) and mesotesta (ms).

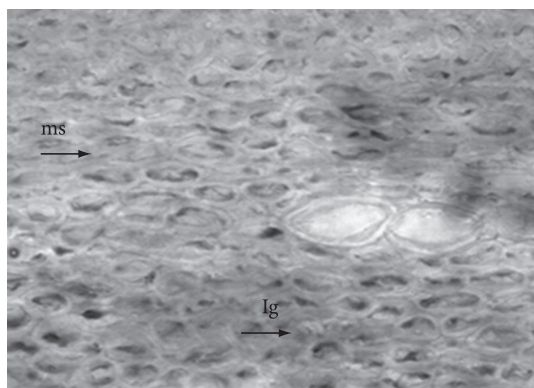


Figura 3. Corte transversal do tegumento da semente de *Cassia grandis*. Corte com aumento de 200x. Lignina (lg); e mesotesta (ms).

Figure 3. Cross section of the seed coat of *Cassia grandis*. (200x). Lignin (lg) and mesotesta (ms).

Em trabalho realizado com a espécie arbórea *Grevillea linearifolia* Druce (Proteaceae), foram identificadas barreiras tegumentares que impedem a difusão e penetração de substâncias com grande peso molecular (Briggs & Morris, 2008). A suberina foi identificada nas paredes secundárias das células da exotesta e mesotesta e esteve ausente nas paredes primárias. A difusão do corante ocorreu através da lamela média e paredes primárias das células suberizadas, sendo que nas células com ausência de suberina a difusão do corante foi impedida (Briggs & Morris, 2008).

Embora tradicionalmente a impermeabilidade à água no tegumento das sementes esteja relacionada com substâncias como cera, lignina, tanino, suberina, pectina e derivados de quinonas (Rolston, 1978), a ausência de suberina pode funcionar como uma barreira para difusão de água (Briggs & Morris, 2008). Do mesmo modo, sugerimos que a presença de lignina permita a difusão de água através do tegumento. A inclusão de métodos para detecção de barreiras tegumentares em futuros trabalhos permitirá elucidar e detalhar o papel da lignina e demais substâncias presentes nos tegumentos, com relação à absorção de água e dormência de sementes.

4. CONCLUSÕES

As sementes das três espécies estudadas possuem lignina, que são encontradas nas células paliçádicas da camada exotestal, nos osteoesclereídeos e nas células parenquimáticas da mesotesta.

Valores elevados do conteúdo de lignina corresponderam à baixa taxa de dormência. Provavelmente a lignina nas sementes facilita a condução da água, enquanto outras substâncias permitem aumentar o nível dormência. Apesar de a lignina ser uma substância hidrofóbica, a presença no tegumento das sementes permite maior fluxo de líquidos, diretamente relacionados a sua ocorrência.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fabiana Umetsu as sugestões ao manuscrito e ao Prof. João Vicente de Figueiredo Latorraca por ceder o Laboratório de Anatomia e Qualidade da Madeira do Departamento de Produtos Florestais da UFRRJ para realizar os cortes anatômicos.

STATUS DA SUBMISSÃO

Recebido: 31/08/2010

Aceito: 20/01/2011

Resumo publicado online: 25/06/2011

Artigo completo publicado: 30/06/2011

AUTOR(ES) PARA CORRESPONDÊNCIA

Heber dos Santos Abreu

Departamento de Produtos Florestais,
Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro – UFRRJ,
Rod. BR 465, Km 07, CEP 23890-000,
Seropédica, RJ, Brasil
e-mail: abreu@ufrj.br

REFERÊNCIAS

- Abreu HS, Carvalho AM, Monteiro MBO, Pereira RPW, Silva HR, Souza KCA. et al. Métodos de análise em química da madeira. *Série Técnica Floresta e Ambiente* 2006; 1:1-20.
- Alvarez PJC, Krzyzanowski FC, Mandarino JMG, Franca-Neto JB. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. *Seed Science and Technology* 1997; 25(2):209-214.
- Alves AA. Avaliação da composição química e parâmetros nutritivos de sementes de cunhã (*Clitoria ternatea* L.). *Revista Ciência Agronômica* 1989; 20:73-78.
- Bodmer RE. Strategies of seed dispersal and seed predation in Amazonian Ungulates. *Biotropica* 1991; 23(3):255-261.
- Briggs CL, Morris EC. Seed-coat dormancy in *Grevillea linearifolia*: Little change in permeability to an apoplastic tracer after treatment with smoke and heat. *Annals of Botany* 2008; 101:623-632.
- Brillouet JM, Riochet D. Cell wall polysaccharides and lignin in cotyledons and hulls of seeds from various lupin (*Lupinus* L.) species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1983; 34(8):861-868.
- Capeleti I, Ferrarese MLL, Krzyzanowski FC, Ferrarese O. A new procedure for quantification of lignin in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seed coat and their relationship with the resistance to mechanical damage. *Seed Science and Technology* 2005; 33(2):511-515.
- Krzyzanowski FC, Franca-Neto JB, Mandarino JMG, Kaster M. Comparison between two gravimetric methods to determine the lignin content in soybean seed coat. *Seed Science and Technology* 2001; 29(3):619-624.
- Liyama K, Bach-Tuyet TL, Stone BA. Covalent Cross-Links in the Cell Wall. *Plant Physiology* 1994; 104:315-320.
- Mayer AM, Poljakoff-Mayber A. *The Germination of seed*. New York: Pergamon; 1982.
- Panobianco M, Vieira RD, Krzyzanowski FC, Franca-Neto JB. Electrical conductivity of soybean seed and correlation with seed coat lignin content. *Seed Science and Technology* 1999; 27(3):945-949.
- Popinigis F. *Fisiologia da semente*. Brasília: AGIPLAN; 1985.
- Rolston MP. Water impermeable seed dormancy. *The Botanical Review* 1978; 3(44):365-396.
- Santos EL, Póla JN, Barros ASR, Prete CEC. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja com variação na cor do tegumento. *Revista Brasileira de Sementes* 2007; 29(1):20-26.
- Theander O, Aman P, Miksche GE, Yasuda S. Carbohydrates, polyphenols, and lignin in seed hulls of different colors from turnip rapeseed. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 1977; 25(2):270-273.