



Mecanismos de tolerância à dessecação em sementes: Uma revisão

Martha Freire da Silva

Instituição: Universidade Estadual de Maringá - Campus Regional de Umuarama

Cleverton Timóteo de Assunção

Instituição: Universidade Estadual de Maringá - Campus Regional de Umuarama

Lucas Barbosa de Castro Rosmaninho

Instituição: Universidade Federal de Viçosa

Victor Hugo Borsuk Damião

Instituição: Universidade Estadual de Maringá - Campus Regional de Umuarama

Heloísa Rocha do Nascimento

Instituição: Universidade Federal de Viçosa

Nátally Emanuely dos Santos

Instituição: Universidade Estadual de Maringá - Campus Regional de Umuarama

Samyra Alves Condé

Instituição: Universidade Federal de Viçosa

Lorena de Oliveira Moura

Instituição: Universidade Federal de Viçosa

RESUMO

A tolerância à dessecação em sementes é de extrema importância para a longevidade, disseminação e perpetuação das espécies vegetais. Na produção agrícola, ela permite a redução do teor de água no final do processo de maturação, que culmina com o repouso metabólico, preservando a qualidade das sementes no armazenamento. Vários estudos têm sido realizados para entender os mecanismos que levam à tolerância a secagem que as sementes ortodoxas apresentam. Entretanto nem todos foram ainda muito bem elucidados. Assim, este trabalho teve por objetivo compilar as informações publicadas a respeito desta temática, iniciando, pela compreensão do desenvolvimento das sementes, do comportamento fisiológico, da caracterização dos parâmetros associados à maturação, para, então compreender os mecanismos associados à tolerância à dessecação em sementes. Os trabalhos publicados apontam que vários são os mecanismos de tolerância que permitem a desidratação e reidratação dos tecidos das sementes, sem que haja colapso celular. Dentre estes, destaca-se a ação do ácido abscísico e da proteína DOG1, as proteínas LEA e de choque térmico, a ação de oligossacarídeos e do estado vítrio e o complexo de defesa antioxidativo das sementes. Além disso, há a regulação epigenética da expressão genética através da metilação do DNA, modificações pós-traducionais de histonas e a remodelação da cromatina.

Palavras-chave: Sementes ortodoxas, Proteínas LEA, Enzimas antioxidativas.

1 INTRODUÇÃO

A tolerância à dessecação de sementes tem sido relatada em sementes de plantas cultivadas em



ambientes secos, enquanto a sensibilidade à desidratação é mais comumente encontrada em espécies que evoluíram em ambientes úmidos (ANGELOVICI et al., 2010). Do ponto de vista evolutivo, a transição da sensibilidade para a resistência à dessecação marca uma importante fase da conquista da terra pelas plantas (FRANCHI et al., 2011; SMOLIKOVA et al., 2021).

A tolerância das sementes à dessecação pode ser definida como a capacidade de recuperar as funções biológicas após desidratação, sendo esta desidratação máxima, um ponto crítico característico para cada espécie (BLACK et al., 2002; OLIVER et al., 2020). A capacidade de tolerar a dessecação é adquirida logo após a primeira fase da maturação, antes mesmo do início do processo natural de secagem, e parece ser iniciado por fatores maternos, e não diretamente através de sinais ambientais (BEWLEY et al., 2013).

Os mecanismos de tolerância à dessecação em sementes são fortemente conectados a programas de regulação da própria maturação (ANGELOVICI et al., 2010). Quanto mais mecanismos de proteção dispostos para a célula durante o processo de desidratação, maior será a integridade da informação genética e menor será a demanda por transcritos de DNA para a síntese “de novo” de constituintes de membranas, organelas e citoesqueleto (MASETTO et al., 2008).

A longevidade e viabilidade de sementes que não apresentam mecanismos de tolerância à dessecação são muito curtas. Por outro lado, as sementes que apresentam estes mecanismos podem ser armazenadas por longo período, sem perder a viabilidade (KIJAK; RATAJCZAK, 2020).

Desta forma, a tolerância à dessecação está associada a uma estratégia de adaptação que permite a sobrevivência da semente durante o armazenamento, assegura o desenvolvimento da planta apenas quando as condições do meio são favoráveis, permitindo a disseminação e perpetuação da espécie (OLIVER et al., 2020).

Vários estudos têm sido realizados para entender os mecanismos que levam à tolerância natural à secagem que a maioria das espécies apresenta. Entretanto nem todos foram ainda muito bem elucidados. Assim, este trabalho tem por objetivo compilar as informações publicadas a respeito desta temática, iniciando, pela compreensão do desenvolvimento das sementes, do comportamento fisiológico, da caracterização dos parâmetros associados à maturação, para, então compreender os mecanismos associados à tolerância à dessecação em sementes.

2 DESENVOLVIMENTO DAS SEMENTES

2.1 COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DAS SEMENTES

O comportamento fisiológico das sementes foi inicialmente estudado por Roberts et al. (1973), que classificou as sementes como ortodoxas ou recalcitrantes, de acordo com o tipo de comportamento que as sementes apresentavam durante o desenvolvimento e armazenamento. Mais tarde, em 1990, Ellis et al., introduziu o conceito de intermediárias àquelas sementes que apresentavam comportamento intermediário



entre ortodoxas e recalcitrantes.

As sementes ortodoxas são aquelas que podem ser secas a níveis inferiores a 7% de água e toleram armazenamento a baixas temperaturas (KIJAK; RATAJCZAK, 2020). São conhecidas como tolerantes à dessecação, por tolerarem os efeitos imediatos da perda severa de água (WALTERS et al., 2000). Há relatos de que estas espécies dependem da redução na quantidade de água dos seus tecidos para redirecionar seu metabolismo para a germinação (MARCOS-FILHO, 2015).

Por outro lado, as sementes recalcitrantes não apresentam tolerância à dessecação e os danos da secagem podem levar à perda total de viabilidade (MARCOS-FILHO, 2015). Além desse fato, sementes recalcitrantes não suportam o armazenamento sob temperaturas muito baixas, podendo perder a viabilidade, conforme a espécie, em temperatura de 10 a 15 °C, não tolerando o congelamento (MARCOS-FILHO, 2015). Dessa forma, a longevidade de sementes recalcitrantes, mesmo em condições favoráveis de armazenamento, ainda é bastante curta. Por este motivo, a conservação pós-colheita destas sementes segue sendo um entrave para a produção agrícola.

Em relação às alterações fisiológicas ocorridas durante a maturação, as sementes ortodoxas e recalcitrantes apresentam distintos padrões, principalmente evidenciado na etapa final do desenvolvimento. Ao final da maturação das sementes, dois tipos de comportamentos podem ser observados quanto ao teor de água das sementes. Nas ortodoxas, há uma rápida redução no teor de água, levando a uma redução do metabolismo celular e ao estado de quiescência das sementes. O metabolismo só é reativado quando houver disponibilidade de recursos favoráveis ao desenvolvimento do embrião (BEWLEY et al., 2013).

Nas sementes recalcitrantes, não há processo de secagem no final do processo de maturação das sementes. Estas possuem elevado teor de água ao se desprenderem da planta-mãe e morrem quando seu grau de umidade é reduzido a valores abaixo do seu nível crítico. Uma vez que as sementes nesta fase já estão completamente formadas, inicia-se o processo germinativo, o que algumas vezes ocorre ainda na planta-mãe (BARBEDO; MARCOS FILHO, 1998).

Esta diferença entre ortodoxas e recalcitrantes, evidente no final do processo de maturação, ocorre principalmente devido a presença de diversos mecanismos de tolerância a dessecação existentes em ortodoxas e que não estão presentes ou eficientemente atuantes nas recalcitrantes.

Os mecanismos de tolerância a dessecação em ortodoxas são adquiridos durante o processo de desenvolvimento e maturação das sementes.

2.2 DESENVOLVIMENTO DAS SEMENTES E AQUISIÇÃO DE MECANISMOS DE TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO EM ORTODOXAS

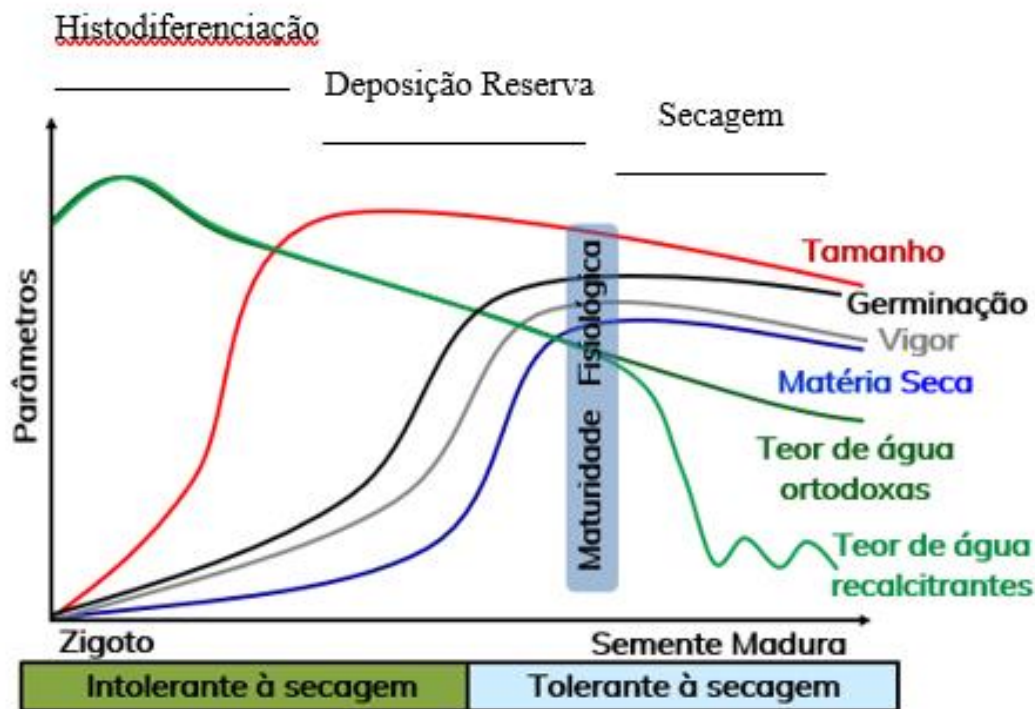
O processo de maturação das semente pode ser dividido convencionalmente em três fases: histodiferenciação; expansão celular e deposição de reservas; e secagem (Figura 1).



A primeira fase é caracterizada pelo elevado teor de água, onde há um rápido crescimento inicial devido às intensas divisões celulares. Esta fase é conhecida como fase da histodiferenciação, pois é nesta fase que os tecidos do embrião estão se diferenciando (CASTRO et al., 2004). Após este crescimento inicial, ocorre a segunda fase, com expansão, aumento do tamanho das células e deposição de reservas, que serão utilizadas durante o processo de germinação para que o embrião obtenha energia necessária para retomar seu crescimento. Com o decorrer da maturação, há o acúmulo gradativo das reservas. Os açúcares simples, como monossacarídeos, vão se complexando, formando oligo e polissarídeos, que podem ser armazenados como amido, celulose ou hemicelulose, além de reservas de outras naturezas, como óleos, proteínas e demais compostos, sendo a composição química das sementes variável de acordo com o genótipo, cultivar e ambiente de produção (BEWLEY et al., 2013).

Enquanto o acúmulo de reservas vai aumentando, o teor de água vai caindo, pois, além de existir uma menor demanda de água, após a proliferação celular, os compostos vão se acumulando e ocupando os espaços das células antes preenchidos por água. Quando a semente atinge o máximo de matéria seca, diz-se que atingiu o ponto de maturidade fisiológico. A partir deste ponto, desencadeia a secagem, onde as sementes passam por um período pré-programado de redução no seu teor de água (CASTRO et al, 2004). Na pós-maturidade, a secagem muito rápida pode levar as sementes a um colapso. Assim, este período de desidratação lenta, com as sementes ainda na planta mãe, tem grande importância na formação de sementes mais tolerantes. Esta dessecação gradual permite o desenrolar natural do metabolismo de formação da semente e de proteínas para resistir às consequências da desidratação (MARCOS-FILHO, 2015). Assim, esta etapa é essencial para permitir a atuação de mecanismos protetores que conferem maior tolerância aos desequilíbrios celulares provocados pela desidratação.

Figura 1. Processo de maturação das sementes. Desenvolvimento do zigoto à semente madura, identificando as modificações dos principais parâmetros tecnológicos associados às fases de maturação.



É também importante ressaltar que quando a desidratação ocorre, o citoplasma condensa e componentes intracelulares tornar-se mais lotados, proporcionando um ambiente passível de varias interações indesejáveis, que podem resultar em agregação e desnaturação de proteínas e até fusão da organela (MANFRE et al., 2009). Assim, os mecanismos de tolerância à dessecação surgem como uma necessidade para que as sementes possam se desenvolver normalmente.

A semente passa a tolerar a desidratacao quando a maior parte das reservas já foi depositada, correspondendo ao início da redução dos níveis de ácido abscísico (ABA) (KIJAK; RATAJCZAK, 2020). Os principais reguladores da maturação e tolerância à dessecação são o ácido abscísico e a proteína DOG1, que controla a rede de fatores de transcrição, representada por LEC1, LEC2, FUS3, ABI3, ABI5, AGL67, PLATZ1, PLATZ2 (SMOLIKOVA et al., 2021). Esta rede é complementada pela regulação epigenética da expressão genética através da metilação do DNA, modificações pós-traducionais de histonas e remodelação da cromatina. Nessa situação, cessa a síntese de proteínas de reserva e inicia a formação de enzimas e a síntese de proteínas associadas à germinação (SMOLIKOVA et al., 2021).

Esses finos mecanismos reguladores permitem que as sementes ortodoxas mantenham a tolerância à dessecação durante todo o período de germinação até o estágio de protrusão da radícula. Este momento, em que as sementes perdem a tolerância à dessecação, é crítico para todo o processo de desenvolvimento da semente (SMOLIKOVA et al., 2021).

A dessecação prematura afeta a síntese de proteínas bem como a de enzimas essenciais ao



desenvolvimento e a germinação. Desta forma, a remoção das sementes da planta e a sua secagem rápida podem determinar a perda completa da viabilidade, mesmo em ortodoxas (MARCOS-FILHO, 2015).

Há evidências de que a secagem durante a maturação é também condicionada a um preparo para a germinação, caracterizado por um padrão de inversão no processo metabólico. A semente reduz gradativamente as atividades de síntese e se prepara para germinar (MARCOS-FILHO, 2015). Este processo de dessecação de sementes para se preparar para a germinação é caracterizado por várias alterações nos processos de transcrição, pós-transcricional e metabólicos. Alguns dos processos de transcrição e metabólicos associados à germinação já começam durante a dessecação de sementes, enquanto outros são iniciados durante a germinação (ANGELOVICI et al., 2010).

Durante a pós-maturação, a semente mantém baixo o nível de atividade metabólica, o que preserva sua viabilidade. Além disso, durante este período, existe uma redução de inibidores de germinação, alterações das membranas e degradação de proteínas que melhora o vigor da germinação (ANGELOVICI et al., 2010).

A dessecação das sementes é provavelmente regulamentada pelo jogo de equilíbrio hormonal, a sinalização de açúcar e remodelagem da cromatina (ANGELOVICI et al., 2010).

A aquisição da tolerância à dessecação em sementes ortodoxas está associada a vários processos celulares. Os principais mecanismos incluem o acúmulo de dissacarídeos e oligossacarídeos, a embriogênese final com abundantes proteínas do grupo LEA, proteínas de choque térmico, a ativação das defesas antioxidantes, mudanças na estrutura física da célula, e um aumento gradual e contínuo na densidade de substâncias (ANGELOVICI et al., 2010).

Também tem sido sugerido que a variabilidade na tolerância à dessecação entre diferentes espécies de plantas é atribuída à estrutura física da matriz interna da semente (vitrificação), que aparentemente está envolvida à interações entre a proteína e os complexos de açúcar, ácidos orgânicos e aminoácidos (ANGELOVICI et al., 2010). Além disso, Wang et al. (2012) ressalta ainda a importância das mitocôndrias no processo de dessecação/reidratação e o papel do Ca^{2+} na estrutura e função das membranas das mitocôndrias para tolerar a dessecação. Assim, a capacidade de recuperar a integridade da mitocôndria e respiração é extremamente importante para que todos os demais mecanismos de tolerância a dessecação sejam ativados.

As proteínas LEA são hidrofílicas, altamente estáveis, não se desnatura pelo aquecimento. Estas proteínas têm diferentes modos de ação, mas sempre tendo em vista a proteção contra efeitos de dessecação. Há evidências de que o ácido abscísico (ABA) esteja envolvido nos efeitos do estresse hídrico de tecidos vegetais tais como a expressão dos genes LEA (GUIMARÃES et al., 2006; SMOLIKOVA et al., 2021).

As proteínas de choque térmico auxiliam na estabilização da conformação proteica, favorecendo a tolerância à dessecação em sementes ortodoxas. Nessas sementes também se observa o aumento de sacarose,



rafinose e de estaquiose no início do processo de dessecação (MARCOS-FILHO, 2005). Acredita-se que os açúcares não redutores, como sacarose e polissacarídeos, são menos reativos, e, portanto, componentes protetores da bicamada lipídica das membranas. Sugere-se que a sacarose atua na proteção da estrutura e funcionamento dos fosfolipídeos enquanto os oligossacarídeos da série rafinose e a estaquiose, além de servirem como material de reserva ou formadores de estado vítreo, também executam um papel na proteção de membranas e proteínas colocando-se como substitutos da água retirada na dessecação (GUIMARÃES et al., 2006).

Entretanto não é em todos os estádios que os oligossacarídeos estão atuantes, protegendo as sementes da dessecação. Leduc et al. (2012) constataram baixa proporção de oligossacarídeos em sementes maduras de *C. echinata* e aumento dos teores de carboidratos solúveis pela imersão sementes imaturas (35 e 45 DAA) na solução de PEG. No entanto, apenas as sementes em 45 dias após a antese foram capazes de manter alta porcentagem de germinação depois da secagem.

Os oligossacarídeos protegem as membranas de colapsos pois permite a formação do estado vítreo e do retorno ao estado de gel, quando reidratado. A formação desse estado vítreo em uma forma estável e a acentuada interação desses açúcares com a água são características cruciais da tolerância a dessecação (BEWLEY et al., 2013).

Durante a secagem, danos celulares podem ser causados pela peroxidação de lipídios. Estes, podem ser reduzidos ou prevenidos por mecanismos protetores, envolvendo enzimas removedoras de radicais livres e de peróxidos, como por exemplo, superóxidos dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (PO) (GUIMARÃES, 2006). As SODs são um grupo de metaloenzimas que catalisam a desproporcionalização de radicais superóxidos livres (O_2^-). Estão presentes no citoplasma celular e na matriz mitocondrial. Tem função de catalisar a reação de dismutação de O_2^- para O_2 e H_2O_2 , onde a H_2O_2 é também decomposta pela catalase ou peroxidase. Essa proteção pode também ser realizada por moléculas antioxidantes presentes nas sementes, tais como ticiferius, B-carotenos ou o ácido ascórbico. Os tocoferóis e os B-carotenos bloqueiam a peroxidação de lipídeos e o ácido ascórbico age nos tecidos hidrofílicos (GUIMARÃES, 2006).

Outros mecanismos de proteção à dessecação podem ser direcionados também para o citoplasma, onde protege contra a cristalização de solutos e proteínas. Esta proteção se dá através da vitrificação, ou seja, formação de uma substância líquida de alta viscosidade que não forma cristais e é estável em uma ampla faixa de temperatura. Esta viscosidade diminui a ocorrência das reações químicas, mantendo o pH do meio estável, prevenindo o congelamento e promovendo a tolerância a temperaturas extremas e evitando o colapso das células com a dessecação (GUIMARÃES et al., 2006).

Assim, a tolerância à dessecação parece estar medida por sistemas de proteção que previnem danos letais para os diferentes componentes celulares, incluindo membranas, proteínas e citoplasma. Há acúmulo de açúcares reduzidos que estabilizam membranas e proteínas em condições secas e promovem a formação



de fase vítrea no citoplasma. Há a capacidade para prevenir, tolerar ou reparar um ataque de radicais livres durante a dessecação e ainda uma eficiente defesa através das proteínas LEA que são induzidas por ABA.

Os mecanismos por trás da tolerância à dessecação são ativados no estágio tardio de maturação das sementes e estão associados ao acúmulo de proteínas abundantes em embriogênese tardia (LEA), pequenas proteínas de choque térmico (sHSP), oligossacarídeos não redutores e antioxidantes de diferentes naturezas químicas (SMOLIKOVA et al., 2021).

É certo que todos os componentes da tolerância à dessecação são de extremamente importância e que a tolerância é adquirida por meio destes mecanismos atuando em conjunto e em sinergia.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tolerância a dessecação em sementes é de extrema importância para a longevidade, disseminação e perpetuação das espécies vegetais. Na produção agrícola, ela permite a redução do teor de água no final do processo de maturação, que culmina com o repouso metabólico, preservando a qualidade das sementes no armazenamento.

Vários são os mecanismos de tolerância que permitem a desidratação e reidratação dos tecidos das sementes, sem que haja colapso celular. Dentre estes, destaca-se a ação do ácido abscísico e da proteína DOG1, as proteínas LEA e de choque térmico, a ação de oligossacarídeos e do estado vítreo e o complexo de defesa antioxidativo das sementes. Além disso, há a regulação epigenética da expressão genética através da metilação do DNA, modificações pós-traducionais de histonas e a remodelação da cromatina.



REFERÊNCIAS

ANGELOVICI, R.; Galili, G.; FERNIE, A. R.; FAIT, A. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. *Trends in Plant Science*, v. 15, n. 4, p. 211-218, 2010.

BARBEDO, C.J. ; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. *Acta Botanica Brasilica*, v. 12, n.2, p. 145-164, 1998.

BEWLEY, J. D., BRADFORD, K. J.; HILHORSTE H. W. M.; NONOGAMI, H. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy* 3.ed. New York: Springer, 2013, 406p.

BLACK, M.; OBENDORF, R. L.; PRITCHARD, H. W. Damage and tolerance in retrospect and prospect. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). *Desiccation and survival in plants: drying without dying*. Wallingford: CABI, 2002. p. 367-382.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs.) *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.51-68.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. *Journal Experimental Botany*, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.

FRANCHI, G. G.; PIOTTTO, B.; NEPI, M.; BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M.; PACINI, E. Pollen and seed desiccation tolerance in relation to degree of developmental arrest, dispersal, and survival. *Journal of Experimental Botany*, p. 1-15, 2011.

GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, A. R. Aspectos fisiológicos de sementes. *Informe Agropecuário*, v. 27, n. 232, p. 40-50, 2006.

KIJAK, H.; RATAJCZAK, E. What Do We Know About the Genetic Basis of Seed Desiccation Tolerance and Longevity? *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, e3612, 2020.

LEDUC, S. N. M; SILVA, J. P. N; GASPAR, M; BARBEDO, C. J.; RIBEIRO, C. L. F. Non-structural carbohydrates of immature seeds of *Caesalpinia echinata* (Leguminosae) are involved in the induction of desiccation tolerance. *Australian Journal of Botany*, v. 60, n. 1, p. 42-48, 2012.

MANFRE, A.J., LAHATTE, G.A., CLIMER, C.R. E MARCOTTE, W.R., Jr. Seed dehydration and the establishment of desiccation tolerance during seed maturation is altered in the *Arabidopsis thaliana* mutant *atem6-1*. *Plant Cell Physiology*, v. 50, n.2, p. 243 –253, 2009

MARCOS-FILHO, J. M. F. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Londrina: Abrates, 2015. 660p.

MASETTO, T. E.; FARIA, J. M. R.; DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. da. Desiccation tolerance and DNA integrity in *Eugenia pleurantha* O. Berg. (myrtaceae) seeds. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 30, n. 2, p.51-56, 2008.

OLIVER, M. J; FARRANT, J. M; HILHORST, H. W. M.; MUNDREE, S.; WILLIAMS, B.; BEWLEY, J. D. Desiccation Tolerance: Avoiding Cellular Damage During Drying and Rehydration. *Annual Review of Plant Biology*, v. 71, n.1, p. 435 -460, 2020.



ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*, v. 12, p. 499-514, 1973.

SMOLIKOVA, G.; LEONOVA, T.; VASHURINA, N.; FROLOV, A.; MEDVEDEV, S. Desiccation Tolerance as the Basis of Long-Term Seed Viability. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 1, p. 1 - 24, 2021.

WALTERS, C. Levels of recalcitrance in seeds. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.12, p. 7-21, 2000.

WANG, W-Q.; CHENGA, H-Y; MØLLERA, I. M.; SONG, S-Q. The role of recovery of mitochondrial structure and function in desiccation tolerance of pea seeds. *Physiologia Plantarum*, v. 144, n. 1, p. 20-34, 2012.