

ATIVIDADE DA ENZIMA ENDO- β -MANANASE EM DIFERENTES PARTES DE SEMENTE DE CAFÉ, ANTES E APÓS A GERMINAÇÃO¹

Débora Pereira de Matos², Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa³, Flávia Carvalho Santos⁴, Wilder de Souza Silva⁵, Cristiane Carvalho Pereira⁶

¹ Trabalho realizado com apoio da Embrapa Café, UFLA, CNPq e FAPEMIG

² Graduanda em Agronomia, Bolsista CNPq, DAG/UFLA, deboradematosp@yahoo.com.br

³ Pesquisadora Embrapa Café, DAG/UFLA, sttelaveiga@dag.ufla.br

⁴ Pós-doutoranda, Setor de Sementes, DAG/UFLA, flavinha.agronomia@dag.ufla.br

⁵ Laboratorista, Setor de Sementes, DAG/UFLA, wilderssilva@yahoo.com.br

⁶ Graduanda em Agronomia, Bolsista PIVIC, DAG/UFLA, cris.c.pereira@hotmail.com

RESUMO: Há evidência de que a presença do endocarpo (pergaminho) na semente de café impede a absorção de água e O₂, exercendo influência na sua germinação. Os mananos são compostos de reserva detectados em sementes de várias espécies incluindo o café, e a presença de atividade de endo- β -mananase tem sido correlacionada com a restrição mecânica para a protrusão da radícula. Objetivou-se neste trabalho determinar a atividade da enzima endo- β -mananase em sementes de café antes e após a germinação e em diferentes partes da semente. Parte dos frutos de *Coffea arabica* L., no estágio cereja, foi submetida imediatamente à secagem (processamento natural), parte foi despulpada por fermentação em água (processamento despulpado) e outra parte foi despulpada e desmucilada mecanicamente (processamento desmucilado), antes da secagem. As sementes foram secadas até atingirem a umidade de 12 % (base úmida), por meio de dois métodos de secagem, lenta à sombra e rápida em secador mecânico. Para a determinação da atividade da enzima endo- β -mananase, foram utilizadas sementes secas e sementes germinadas (no nono dia do teste de germinação). As sementes secas e as germinadas, foram divididas em região de embrião (endosperma cap), endosperma (resto do endosperma) e semente inteira. Realizou-se a eletroforese da enzima endo- β -mananase em gel de agarose, segundo protocolo sugerido por Silva, 1998. Conclui-se que há diferenças na atividade da enzima endo- β -mananase quando se utiliza diferentes partes de semente de café, a atividade da enzima endo- β -mananase em sementes de café secas é inferior à de sementes germinadas, sementes de café com menor qualidade fisiológica apresentam maior atividade da enzima endo- β -mananase determinada após a germinação, a determinação da atividade da enzima endo- β -mananase em sementes secas e não germinadas não permite a diferenciação de diferentes níveis de qualidade fisiológica.

Palavras chave: *Coffea arabica* L., processamento, metabolismo da germinação.

ENDO- β -MANANASE ACTIVITY IN DIFFERENT PARTS OF THE COFFEE SEEDS, BEFORE AND AFTER THE GERMINATION PROCESSES

ABSTRACT: There is evidence that the presence of endocarp (parchment) in coffee seeds can prevent the water and O₂ absorption, having some influence in germination. Mannans are reserve compounds which were detected in several species, including coffee, and the presence of endo- β -mannanase has been related to the mechanical restriction to the radicle protrusion. The objective in this work was to determine the activity of the enzyme endo- β -mannanase in coffee seeds before and after germination and in different parts of the seed. Part of the *Coffea arabica* L. fruits, in the cherry stage, was submitted immediately to drying (natural process), part was pulped by fermentation in water (pulped process) and another part was pulped and mechanically demucilated (demucilated process), before drying. The seeds were dried until reaching 12% humidity (humid base), via two drying methods, slow drying in the shade in a mechanical drier. To determine the activity of the enzyme endo- β -mannanase were used dry and germinated seeds (in the ninth day of germination). The dry and germinated seeds were divided in embryo region (endosperm cap), endosperm (rest of endosperm) and while seed. Electrophoresis of the enzyme endo- β -mannanase was performed in an agarose gel, according to the protocol suggested by Silva, 1998. It is concluded that there are differences in the activity of the enzyme endo- β -mannanase when different parts of the coffee seed were used, the activity of endo- β -mannanase in dry coffee seeds is inferior to the activity in germinated seeds, coffee seeds with lower physiological quality showed higher activity of the enzyme endo- β -mannanase determined after germination, the determination of the activity of the enzyme endo- β -mannanase in dry coffee seeds doesn't allow the differentiation of different levels of physiological levels.

Key words: *Coffea arabica* L., processing, germination metabolism.

INTRODUÇÃO

Os frutos de café são constituídos de pericarpo e semente. O pericarpo é dividido em exocarpo, mesocarpo e endocarpo, denominados casca, polpa e pergaminho respectivamente. Já a semente é constituída do embrião, endosperma e espermoderma (película prateada).

Sementes de café apresentam germinação lenta e desuniforme, sendo que a causa destas características ainda não está totalmente esclarecida. No entanto, há evidência de que a presença do endocarpo (pergaminho) na semente impede a absorção de água e O₂, exercendo influência na sua germinação (Bendanã, 1952; Válio, 1980). Além disso, a reduzida velocidade de germinação das sementes de café está também pode estar relacionada com baixos teores de substâncias semelhantes ao ácido giberélico (Válio, 1976). Outras possibilidades, segundo Vieira (1991), é que os compostos fenólicos são também possíveis inibidores da germinação de sementes, além do espermoderma também ser um dos fatores que podem contribuir para a lenta germinação das sementes (Pereira, 2002).

Mananos como compostos de reserva já foram detectados em sementes de várias espécies incluindo o café (Wolfron *et al.*, 1961), sendo que em todas elas já foi observada a presença de atividade de endo-β-mananase e sua presença tem sido correlacionada com a restrição mecânica para a protrusão da radícula.

De acordo com Veiga (2007), a determinação da enzima endo-β-mananase é feita em sementes secas, e, tendo em vista que o pico de atividade dessa enzima na germinação ocorre próximo à protrusão radicular (8-9 dias) no endosperma cap (Silva, 1998), o objetivo neste trabalho foi determinar a atividade da enzima endo-β-mananase em sementes de café antes e após a germinação e em diferentes partes da semente.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório Central de Análises de Sementes, no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras.

Foram utilizados frutos de *Coffea arabica* L, no estágio cereja, oriundos da Fazenda Experimental da EPAMIG, em Machado, MG. Parte dos frutos selecionados foi submetida imediatamente à secagem (processamento natural), parte foi despulpada por fermentação em água (processamento despulpado) e outra parte foi despulpada e desmucilada mecanicamente (processamento desmucilado), antes da secagem.

As sementes foram secadas até atingirem a umidade de 12 % (base úmida), por meio de dois métodos de secagem, lenta à sombra e rápida em secador mecânico.

As sementes foram submetidas ao teste de germinação para a determinação da qualidade fisiológica, por meio de porcentagem de protrusão radicular, de plântulas normais e normais fortes aos trinta dias e de plântulas com folhas cotiledonares abertas aos 45 dias.

Para a determinação da atividade da enzima endo-β-mananase, foram utilizadas sementes secas e sementes germinadas (no nono dia do teste de germinação). As sementes secas e as germinadas, foram divididas em região de embrião (endosperma cap), endosperma (resto do endosperma) e semente inteira. Essas amostras foram então maceradas em cadinho, na presença de PVP e nitrogênio líquido, sendo liofilizadas por 24h. Todas as amostras foram armazenadas à temperatura de -86°C até a determinação da atividade da enzima. Realizou-se a eletroforese da enzima endo-β-mananase em gel de agarose, sendo que o protocolo de extração seguido foi o sugerido por Silva, 1998. A revelação foi realizada de acordo com Silva *et al.*, 2004 e a quantificação de acordo com Dowie, Hilhorst e Bewley, 1994.

Os resultados das avaliações fisiológicas e da atividade da enzima endo-β-mananase foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do teste de Scott Knot, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se pelos resultados que há diferenças na atividade da enzima endo-β-mananase, quando esta atividade é determinada antes e após a germinação (Figuras 1 e 3). Observa-se que, após a protrusão da radícula, quando as sementes são consideradas germinadas, a atividade da enzima é notadamente superior à atividade nas sementes secas. Observou-se também, que as sementes secadas mais lentamente apresentam melhor qualidade fisiológica do que àquelas secadas em secador, mais rapidamente (dados não apresentados).

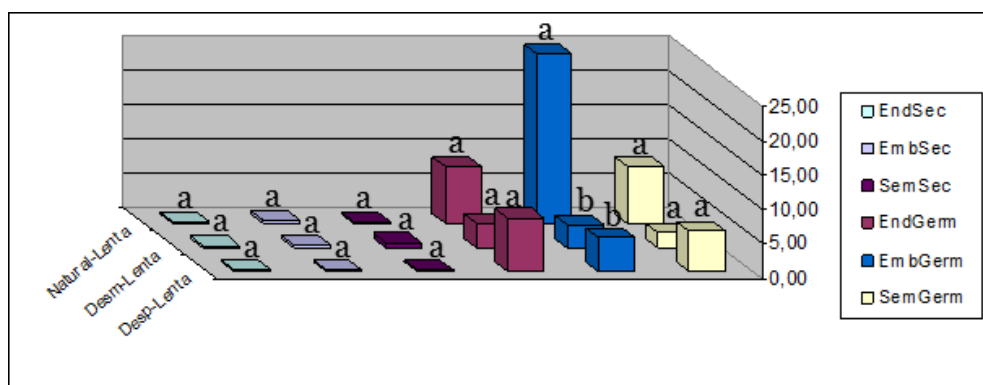
Houve diferenças significativas entre os métodos de processamentos das sementes, nas avaliações de vigor das sementes secadas lentamente, pelos resultados de porcentagem de plântulas normais fortes e plântulas com folhas cotiledonares abertas aos 45 dias (Figura 2). Já para as sementes secadas em secador (secagem rápida) houve diferenças significativas entre os métodos de processamentos, em todas as variáveis de avaliação da qualidade fisiológica (Figura 4).

Observa-se que a atividade da enzima endo-β-mananase nas partes de sementes germinadas foi superior às de sementes secas. Nos tratamentos onde se utilizou sementes secas, seja no embrião (endosperma cap), no endosperma ou na semente inteira) não foi possível diferenciar o lotes de sementes, com diferentes qualidades fisiológicas, em função dos diferentes tipos de processamento pós-colheita.

Houve maior atividade da enzima no embrião de sementes germinadas, provenientes do processamento natural, do que nas sementes submetidas aos processamentos desmucilado e despulpado (Figura 1).

Após germinação, a atividade da enzima em sementes inteiras e em endospermas não apresentou diferenças significativas entre os diferentes tipos de processamento (Figura 1). Silva (2002) mostrou que a localização da atividade da enzima endo- β -mananase se dá primeiramente no endosperma cap e posteriormente no restante do endosperma. O mesmo autor observou que após a protrusão radicular ocorre também um aumento na atividade da enzima no endosperma.

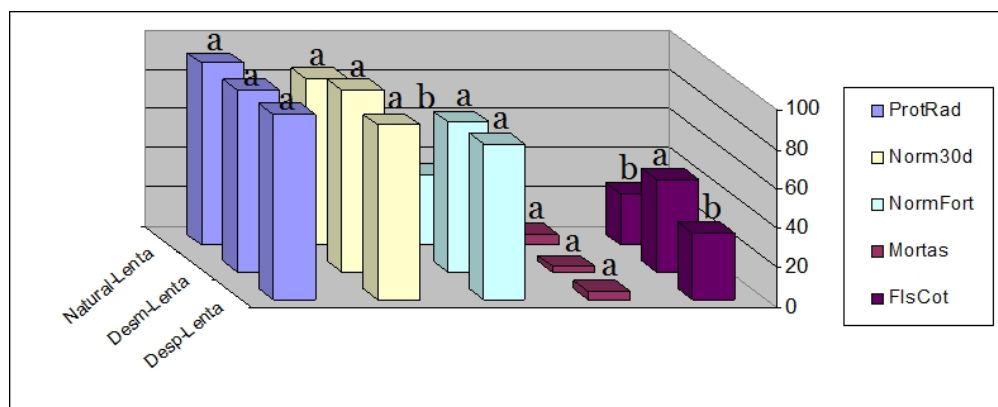
Figura 1. Atividade da enzima endo- β -mananase antes da germinação (endosperma seco-EndSec), endosperma cap seco (EmbSec) e semente inteira seca (SemSec), e após a germinação (endosperma germinado (EndGerm), endosperma cap germinado (EmbGerm) e semente inteira germinada (Sem Germ), em sementes de café submetidas à secagem lenta, após processamento natural, desmucilado e despulpado.



Médias seguidas de mesma letra não diferenciam os processamentos natural, desmucilado e despulpado, em cada determinação da endo- β -mananase, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

É possível observar maior atividade da enzima endo- β -mananase em sementes submetidas ao processamento natural, as quais apresentaram menor porcentagem de plântulas normais fortes e de folhas cotiledonares (Figura 2).

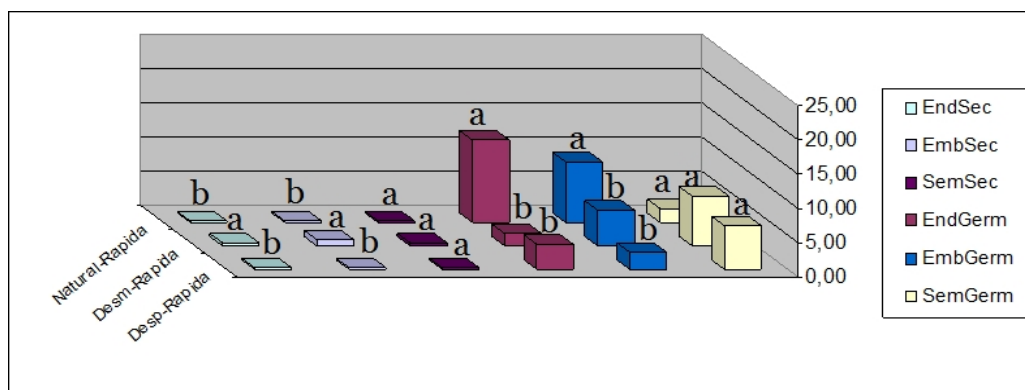
Figura 2: Valores de porcentagem de protrusão radicular (ProtRad), plântulas normais aos 30 dias (Norm30d), normais fortes (NormFort), sementes mortas (Mortas) e folhas cotiledonares (FlsCot) de sementes de café submetidas à secagem lenta, após processamento natural, desmucilado e despulpado,



Médias seguidas de mesma letra não diferenciam os processamentos natural, desmucilado e despulpado, em cada avaliação da qualidade das sementes, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

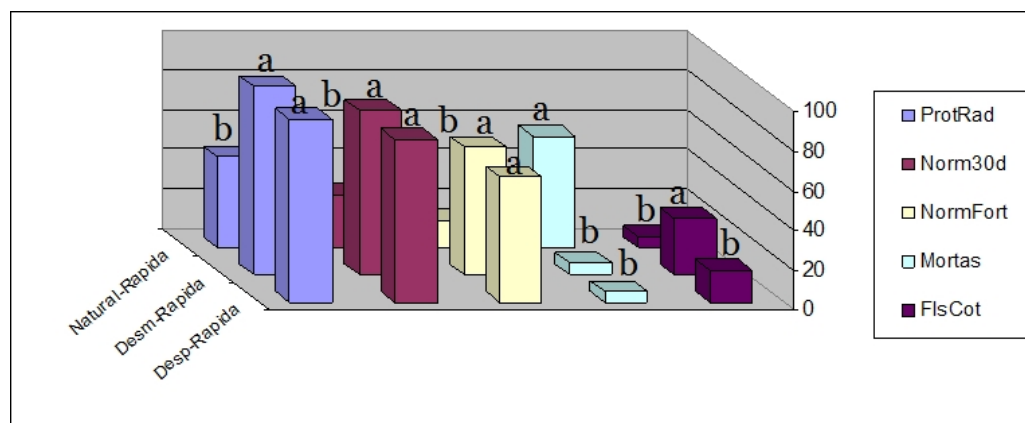
Assim como nas sementes submetidas à secagem lenta, na secagem rápida é possível observar menor atividade da enzima endo- β -mananase antes da germinação do que nas sementes germinadas, sendo que o processamento natural proporcionou sementes de pior qualidade e maior atividade da enzima, principalmente.

Figura 3: Atividade da enzima endo- β -mananase antes da germinação (endosperma seco-EndSec), endosperma cap seco (EmbSec) e semente inteira seca (SemSec), e após a germinação (endosperma germinado (EndGerm), endosperma cap germinado (EmbGerm) e semente inteira germinada (Sem Germ), em sementes de café submetidas à secagem rápida, após processamento natural, desmucilado e despulpado.



Médias seguidas de mesma letra não diferenciam os processamentos natural, desmucilado e despulpado, em cada determinação da endo-β-mananase, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Figura 4: Valores de porcentagem de protrusão radicular (ProtRad), plântulas normais aos 30 dias (Norm30d), normais fortes (NormFort), sementes mortas (Mortas) e folhas cotiledonares (FlsCot) de sementes de café submetidas à secagem rápida, após processamento natural, desmucilado e despulpado



Médias seguidas de mesma letra não diferenciam os processamentos natural, desmucilado e despulpado, em cada avaliação da qualidade das sementes, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

Há diferenças na atividade da enzima endo-β-mananase quando se utiliza diferentes partes de semente de café.

A atividade da enzima endo-β-mananase em sementes de café secas é inferior à de sementes germinadas.

Sementes de café com menor qualidade fisiológica apresentam maior atividade da enzima endo-β-mananase, determinada após a germinação.

A determinação da atividade da enzima endo-β-mananase em sementes secas e não germinadas não permite a diferenciação de diferentes níveis de qualidade fisiológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DA SILVA, EAA. 2002. Coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seed germination: mechanism and regulation. PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands, 20–40.
- PEREIRA, C.E.; VON PINHO, E.V.R.; OLIVEIRA, D.F.; SUZUKI, A.L.P. Determinação de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de café. Revista Brasileira de Sementes, Londrina, v.24, n.1, p.306-311, 2002.
- REID, J.S.G. & MEIER, H. Enzymic activities and galactomannan mobilisation in germinating seeds of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L. *Leguminosae*). Secretion of α-galactosidase and β-mannosidase by the aleurone layer. Planta, 112:301-308, 1973.
- SEILER, A. Galaktomannanabbau in keimenden Johannisbrotssamen (*Ceratonia siliqua* L.). Planta, 134:209-221, 1977.
- VÁLIO, I.F.M. Inhibition of germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo) by the endocarp. Journal of Seed Technology, East Lansing, v.5, n.1, p. 32-39, 1980.
- VÁLIO, I.F.M. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo. Journal of Experimental Botany, Oxford, v.27, n.100, p. 983-991, 1976.
- VEIGA, A. D. et al. Armazenabilidade de sementes de cafeeiro em diferentes estádios de maturação e submetidas a diferentes métodos de secagem. Revista Brasileira de Sementes, Londrina, v. 29, p. 83-91, 2007.

VIEIRA, A.R. Efeitos de compostos fenólicos na dormência de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) e eficiência de tratamentos pré-germinativos. Lavras: ESAL/UFLA, 1991, 58p. (Dissertação Mestrado).

WOLFRON, M.L.; LAVER, M.L. & PATIN, D.L. Carbohydrates of the coffee bean. II. Isolation and characterization of mannan. *Journal of Organic Chemistry*, 26:4533-4531, 1961.