

EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO EM SEMENTES DE CAFÉ SUBMETIDAS A DIFERENTES MÉTODOS DE SECAGEM

HO Santos, EM Pereira, GJ Frota, TL Ribeiro, MH Carvalho, EVR Von Pinho – Universidade Federal de Lavras/UFLA.

Sementes quando submetidas à secagem, reagem a esse estresse, podendo ocorrer uma transição, silenciamento ou atenuação da expressão de vários genes relacionados a esse estresse.

Pesquisas aprofundadas e análises de expressão de genes intimamente relacionados com mecanismos de defesa antioxidantes, a exemplo das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxirredoxinas (PRX), durante os processos de secagem de sementes de café, são fundamentais para o desenvolvimento e avaliação de tecnologias de secagem que possam ser transferidas ao produtor, com benefícios diretos para o setor cafeeiro.

Considerando a necessidade de uma estratégia que viabilize a conservação das sementes de café, bem como o entendimento do comportamento destas sementes diante do processo de secagem, a atual pesquisa foi proposta a fim de investigar os mecanismos e as diferenças fisiológicas e moleculares envolvidas na sensibilidade à dessecação e sua relação com a qualidade fisiológica de sementes de café secadas de forma lenta e rápida com diferentes teores de água.

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório Central de Sementes da Universidade Federal de Lavras, na cidade de Lavras. Foram utilizadas sementes de *C. arabica* cultivar Catuaí Amarelo, no estágio de maturação cereja, colhidas em lavoura da Fundação Procafé, em Varginha-MG. Após a colheita os frutos foram descascados mecanicamente, e as sementes desmuciladas por fermentação em água e pré-secadas à sombra para a retirada da água superficial. As sementes de café foram secadas em ambientes com temperatura e umidades relativas controladas até atingirem diferentes teores de água. Foram realizados dois tipos de secagem, rápida e lenta, utilizando-se caixas de acrílico do tipo gerbox, devidamente lacradas.

Para a secagem rápida as sementes foram acondicionadas em recipiente hermético, contendo 80 gramas de sílica gel ativada. Na secagem lenta foram usadas soluções salinas saturadas capazes de manter a umidade relativa interna estável, utilizou-se cloreto de lítio a 5%, sendo que após 105 horas, e consequente estabilização da umidade, a mesma foi trocada pelo cloreto de magnésio. Os recipientes foram acondicionados em câmaras do tipo B.O.D, sob temperatura de 25°C.

O teste de germinação realizado com quatro repetições de 25 sementes sem o pergaminho. Estas foram colocadas para germinar em folhas de papel do tipo germitest, umedecidas com água em quantidade igual a 2,5 vezes o peso do papel seco. As sementes foram mantidas em germinador, regulado à temperatura de 25°C e a porcentagem de plântulas normais foi avaliada após 30 dias.

Foi avaliada a expressão de genes relacionados ao estresse oxidativo (CAT3, SOD e 1 CYS PRX) em sementes de cultivar de café arábica Catuaí amarelo. As sementes foram submetidas a secagem lenta e rápida e os transcritos foram avaliados em diferentes teores de água (30%, 20%, 10%, 5% e o controle com 38%) utilizando a técnica de PCR em tempo real. Em relação à variável, plântulas normais aos 30 dias de germinação, pode-se observar diferença significativa entre os fatores secagem e teor de água das sementes (Tabela 1). Quando a secagem foi rápida observou-se maior porcentagem de plântulas normais fortes em sementes secadas até 30 e 20% de teor de água. Porém quando as sementes foram secadas até 10% de teor de água maior vigor foi verificado na secagem lenta (24%), uma diferença significativa quando comparado com apenas 3% de plântulas normais fortes observadas na secagem rápida. Os valores de plântulas normais fortes de sementes submetidas à secagem rápida e lenta comparados aos observados em sementes não submetidas à secagem (controle) variaram muito. Em sementes submetidas à secagem rápida até 30% de teor de água foi observado maior vigor em relação ao observado em sementes não submetidas à secagem (controle). No entanto, neste mesmo método de secagem menor vigor foi observado em sementes secadas até 10% de teor de água.

Tabela 1 Porcentagem média de plântulas normais fortes de *C. arabica* L. aos 30 dias após semeadura, oriundas de sementes submetidas à secagem lenta, rápida e sem secagem (Controle) com diferentes teores de água.

Secagem	Plântulas normais fortes (%)			
	30%	20%	10%	5%
Lenta	31bA	20bB γ	24aAB	0aC γ
Rápida	51aA γ	36aB	3bC γ	0aC γ
Controle	29			
CV (%)	17,99			

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. γ Médias diferem da testemunha, no nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett

A expressão do gene *cat3* foi maior em sementes submetidas à secagem rápida. Observou-se também maior expressão em sementes com maiores teores de água e diferença significativa entre as duas velocidades de secagem testadas, sendo que os tratamentos submetidos a secagem rápida também apresentaram maior expressão (Figura 1).

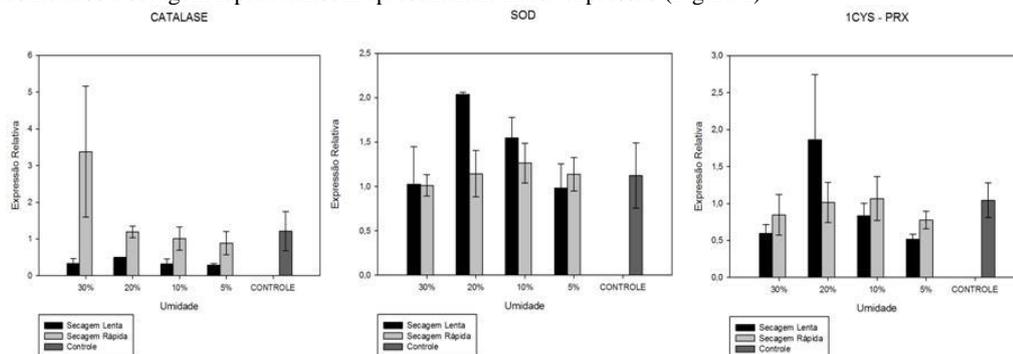


Figura 1 Perfil de expressão relativa dos genes *cat3*, *SOD* e *1Cys-PRX* em sementes submetidas a secagem lenta e rápida com diferentes teores de água, e em sementes não submetidas a secagem (controle). Os níveis dos transcritos são representados como uma razão (expressão relativa) do

valor absoluto da expressão do gene alvo pelo valor absoluto da expressão dos genes normalizadores *24S* e *GPDH*. Os valores de expressão das sementes submetidas a secagem foram plotados tendo os valores de expressão encontrados em sementes frescas como referência. Os dados são médias de três amostras biológicas.

Na expressão relativa do gene que codifica a enzima superóxido dismutase, observa-se maior expressão em sementes submetidas à secagem lenta até 20 e 10% de teor de água, em relação à observada em sementes submetidas à secagem rápida. No entanto não houve diferença significativa em sementes submetidas à secagem lenta e rápida quando as sementes foram secadas até 30% e 5% de teor de água. De uma maneira geral a expressão deste gene em sementes não submetidas à secagem (controle) foi mais similar à observada em sementes submetidas à secagem rápida.

Todos os genes avaliados apresentaram diferenças na expressão dos transcritos relacionados ao processo de secagem e ao teor de água. A expressão do gene *cat3* foi maior em sementes submetidas à secagem rápida e com maiores teores de água. Já a SOD apresentou maior expressão em sementes submetidas à secagem lenta até 20 e 10% de teor de água, em relação à observada em sementes submetidas à secagem rápida. Para o gene *CysPrx*, maior expressão foi observada em sementes submetidas à secagem lenta a 20% de teor de água.

Nota-se, portanto que enzimas envolvidas no estresse oxidativo possuem padrões de expressão alterados pelo processo de secagem e teores de água das sementes.