

FELIPE DIOGO BORGIO

Efeito modulatório de galactomananas exógenas sobre a germinação e posterior crescimento e desenvolvimento de plântulas de cenoura (*Daucus carota* L.)

Curitiba

2009

FELIPE DIOGO BORGÓ

Efeito modulatório de galactomananas exógenas sobre a germinação e posterior crescimento e desenvolvimento de plântulas de cenoura (*Daucus carota* L.)

Trabalho de conclusão de curso apresentado à disciplina Estágio I e II em Botânica como requisito parcial à conclusão do curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Aducto B. de Pereira Netto

Curitiba
2009

AGRADECIMENTOS

Agradeço as pessoas que sempre estiveram do meu lado nesta caminhada, principalmente ao meu pai Hamilton, a minha mãe Marilene e a meus irmãos Hamilton e Leonardo, e minha querida Natália, que em meios a conversas e discussões me ensinaram os caminhos da vida;

Agradecimento também aos colegas do curso de biologia e em especial ao meu orientador professor Aducto B. de Pereira Netto por conseguir fazer-me conciliar estudo e trabalho;

A professora Joana Léa Meira Silveira pelo material cedido na confecção dos experimentos;

A Deus por ter me concedido o Dom da Vida e,

Não deixando de agradecer o leitor, na expectativa de que o trabalho realizado possa agregar-lhe conhecimento.

*“Sonho que se sonha só, é só um sonho!...
Mas sonho que se sonha junto, é realidade...”*

Raul Seixas

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação da ação de hidrolases α -galactosidases e endo- β -manases e β -manosidase sobre galactomanana.	5
Figura 2 - Esquema da montagem do experimento.....	12
Figura 3 - Desenho do início da protusão da radícula	13
Figura 4 - método utilizado para auferir comprimento das plantas.....	13
Figura 5 Efeito de galactomanana sobre o percentual de germinação de sementes de cenoura.	14
Figura 6 Comparação entre percentual de crescimento da radícula em relação ao crescimento do grupo controle	16
Figura 7 Comparação de percentual de crescimento da parte aérea em relação ao grupo controle	19
Figura 8 Comparação entre percentual de crescimento total da plântula em relação ao grupo controle	21
Figura 9 Comparação de percentual de crescimento da parte aérea em relação ao grupo controle	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Efeito da galactomanana sobre germinação de sementes.... 15

LISTA DE ABREVIATURAS

ATPases – enzimas que catalisam a hidrólise do ATP (adenosina trifosfato)

Gal – galactose

Man – manose

Man:Gal – relação Manose:Galactose

nM – nanomolar

XET – xilogucana:xiloglucosil transferase em ação transglicosilase

XTH – xilogucana:xiloglucosil transferase

RESUMO

Devido às características fisiológicas e composição química da parede celular e considerando a importância fisiológica das galactomananas na composição de sementes, objetivou-se verificar o efeito de polissacarídeos exógenos (galactomananas) no padrão de germinação e desenvolvimento de plântulas de cenoura (*Daucus carota* L.). Foram feitos testes com sementes de cenoura germinadas na presença de diferentes concentrações de galactomananas oriundas de 4 distintas espécies vegetais com relações manose:galactoses díspares, sendo as espécies guapuruvu (*Schizolobium parahyba*) que possui relação Man:Gal (~3:1), alfarroba (*Ceratonia siliqua*) que possui relação Man:Gal (~3,7:1), bracatinga (*Mimosa scabrella*) com relação Man:Gal (~1,1:1) e guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) com relação (~1,7:1). Foram avaliadas as taxas de germinação das sementes, durante um período de 10 dias. Após 10 dias, foram avaliados o comprimento da radícula, o comprimento da parte aérea, o comprimento total da plântula, e também a formação de radículas secundárias. As galactomananas oriundas de diferentes extratos vegetais mostraram-se capazes de alterar o padrão de germinação de sementes de cenoura. Onde foi observado alongamento da radícula na ordem de 63% maior que o grupo controle, nos ensaios com extratos de sementes de bracatinga, nos mesmos ensaios para a parte aérea o crescimento foi de 30% maior que o controle, quando observado o tamanho total da planta o aumento foi de 41% na taxa de crescimento, as outras fontes, também mostraram em algum momento, capacidade de alterar o padrão de crescimento da planta. Sendo que estes resultados foram provavelmente devido as diferentes relações manose:galactose presente entre os diferentes polissacarídeos testados,

Palavras chaves: galactomanana, germinação, parede celular.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO.....	3
2.1	PAREDE CELULAR.....	3
2.2	GERMINAÇÃO	3
2.3	ESTRUTURA QUÍMICA DAS GALACTOMANANAS.....	4
2.4	IMPORTANCIA FISIOLÓGICA DAS GALACTOMANANAS	6
2.5	APLICAÇÕES COMERCIAIS DE GALACTOMANANAS	7
2.6	FONTES VEGETAIS DOS POLISSACARÍDEOS EM ESTUDO	8
2.7	<i>DAUCUS CAROTA</i>	11
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1	MATERIAL VEGETAL	12
3.2	OBTENÇÃO DAS GALACTOMANANAS.....	12
3.3	TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA	12
4	RESULTADOS.....	14
4.1	EFEITO DAS GALACTOMANANAS SOBRE AS TAXAS DE GERMINAÇÃO	14
4.2	EFEITO DAS GALACTOMANANAS SOBRE O ALONGAMENTO DA RADÍCULA.....	16
4.3	EFEITO DAS GALACTOMANANAS SOBRE O ALONGAMENTO DA PARTE AÉREA.....	17
4.4	EFEITO DAS GALACTOMANANAS SOBRE O COMPRIMENTO TOTAL DA PLÂNTULA	20
4.5	EFEITO DAS GALACTOMANANAS SOBRE O ALONGAMENTO DE RADÍCULAS SECUNDÁRIAS .	21
5	DISCUSSÃO	24
6	CONCLUSÕES	26
	REFERÊNCIAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

As galactomananas ocorrem tipicamente na parede celular das células do endosperma de sementes de plantas pertencentes à família Fabaceae, anteriormente denominadas como Leguminosae, porém estão presentes também em espécies de outras famílias, como Asteraceae (Compositae), Convolvulaceae, Annonaceae, Malvaceae, Arecaceae (Palmae) e Apiaceae (Umbelliferae) (BUCKERIDGE *et al.*, 2000). Algumas espécies das fabaceas foram intensamente estudadas, devido a quantidade de polissacarídeos – galactomananas – presentes na parede celular, pelo fato destes serem amplamente utilizados comercialmente na indústria de cosméticos, farmacêutica, alimentícia e na indústria de papel e celulose dentre outras.

As galactomananas consistem de uma cadeia linear, formado por unidades de manose unidas entre si por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$, com ramificações simples de unidades de galactose, unidas por ligações do tipo $\alpha(1\rightarrow6)$ (DEA e MORRISON, 1975). A proporção de Manose:Galactose (Man:Gal) varia entre as diferentes fontes botânicas estudadas sendo esta relação utilizada como ferramenta taxonômica (BUCKERIDGE *et al.*, 1995). O grau de substituição de galactose varia de 20 a aproximadamente 100%, sendo que uma relação alta na proporção Man:Gal está relacionada a um táxon mais plesiomórfico, com características mais basais, enquanto que uma relação menor de manose sugere espécies mais avançadas evolutivamente (BUCKERIDGE *et al.*, 1995).

Considerando a importância fisiológica das galactomananas, como embebição e proteção viu-se a possibilidade de testar se aplicações exógenas deste polissacarídeo extraídos de quatro espécies vegetais, duas nativas do Brasil *Schizolobium parahyba* (guapuruvu), *Mimosa scabrella* (bracatinga) e duas espécie explorada economicamente como fonte de galactomanana, *Ceratonia siliqua*, popularmente conhecida como alfarroba, e *Cyamopsis tetragonolobus* conhecida como guar, Tendo em vista que o mecanismo responsável pela expansão da parede celular vegetal não está completamente elucidado (VAN SANDT *et al.*, 2007), investigamos a possibilidade de galactomananas exógenas, oriundas de guapuruvu, alfarroba, bracatinga e guar serem capazes de modificar os padrões de germinação e posterior desenvolvimento e crescimento de plântulas de cenoura (*Daucus carota* L.)

Neste sentido as aplicações destes polissacarídeos nos possibilitaram testar a influência das aplicações exógenas sobre a taxa de germinação das sementes de cenoura, a influência sobre, o alongamento radicular, o alongamento da parte aérea, e

do comprimento total da plântula, como também e crescimento de radículas secundárias.

2 REVISÃO

2.1 Parede Celular

As células vegetais são envolvidas por uma matriz extracelular que consiste de uma altamente organizada e complexa rede de carboidratos, proteínas, lignina entre outros. Dentre as muitas funções da parede celular da planta, esta atua como barreira contra patógenos, define o crescimento e desenvolvimento e fornecimento de força e flexibilidade que permitem as plantas o crescimento e a respostas às condições variáveis do ambiente (VORWERK, SOMERVILLE e SOMERVILLE, 2004). Celulose, pectinas e glucanas são os principais constituintes da parede celular da planta.

Variações na composição da parede celular e arquitetura são variáveis que definem as condições do meio onde as plantas são encontradas (JOHANSSON *et al.*, 2004).

O tamanho, forma, e às vezes até mesmo a função de uma célula vegetal é considerada de acordo com sua definição pela estrutura e propriedades da sua parede celular (JOHANSSON *et al.*, 2004). Os modelos de parede celular, mais recentes, propõem que a parede celular seja uma matriz complexa e espessa com diferentes papéis fisiológicos, formada de dois, ou muitas vezes, três domínios estruturalmente independentes, mas que interagem entre si (CARPITA e GIBEAUT, 1993). O primeiro domínio é formado por celulose e hemicelulose, o segundo por pectinas e o terceiro por proteínas.

O terceiro domínio consiste de proteínas estruturais e enzimas que possuem significativa importância na mobilização dos carboidratos de reserva de parede (CARPITA e MCCANN, 2000). Outro domínio, ou até o mesmo, pode conter uma maior quantidade de polissacarídeos podendo ser interpretado como possíveis variações dos modelos propostos (BUCKERIDGE *et al.*, 2000).

2.2 Germinação

A germinação pode ser dividida em três fases: embebição, aumento da atividade metabólica e iniciação do alongamento e crescimento do eixo embrionário, que resulta na protrusão da radícula (BEWLEY e BLACK 1994). O processo de germinação inclui diversos eventos como embebição, reativação do metabolismo, aumento na atividade

respiratória, síntese de proteínas e ácidos nucléicos, hidratação das proteínas, mudanças estruturais subcelulares e alongamento celular. Que de modo integrado transformam a semente com baixo teor de água e metabolismo reduzido, em uma semente com metabolismo vigoroso, culminando no crescimento do embrião (BEWLEY & BLACK 1994).

A etapa de hidratação é limitante aos vários outros processos fisiológicos que ocorrem na semente germinante, porém, em alguns casos são necessárias mudanças no tegumento para que ocorra a embebição, a fim de permitir a entrada da água, que causa a expansão do embrião e do endosperma, rompendo o tegumento e facilitando o processo de germinação (RAVEN *et al.*, 1999).

Galactomananas eventualmente presentes no endosperma podem ser degradadas em mano-oligossacarídeos que podem ser em parte transportados para os cotilédones, onde serão catabolizados por enzimas hidrolíticas (BEWLEY e BLACK 1994). A ação destas enzimas varia conforme a quantidade e arranjo das galactoses presentes nas galactomananas das sementes. Em sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) que possuem pequena quantidade de galactose na galactomanana presente em seu endosperma, a α -galactosidase só pode retirar galactose do produto resultante da ação da endo- β -mananase (LEUNG e BEWLEY 1983). Nestas sementes, e em *Trigonella foenum-graecum* a atividade da endo- β -mananase, que ocorre principalmente na região do endosperma, próximo ao eixo embrionário, não é detectada antes da germinação, começando a agir, no entanto, imediatamente após a protrusão da radícula (DIRK *et al.*, 1995).

A camada de aleurona tem sido sugerida como suposta responsável pela síntese de enzimas hidrolíticas utilizadas para a degradação da galactomanana no endosperma, como verificado em sementes de *Trigonella foenum-graecum* (REID 1985 apud BUCKERIDGE *et al.* 2000).

2.3 Estrutura Química das Galactomananas

As galactomananas são polissacarídeos que, dentre outras funções fisiológicas, atuam como reserva de energia no endosperma das sementes. Estes polissacarídeos são compostos por uma cadeia linear de manose unidas por ligações glicosídicas, $\beta(1\rightarrow4)$, com ramificações simples de resíduos de galactose, com ligações

do tipo $\alpha(1\rightarrow6)$ (DEA e MORRISON, 1975). A proporção de Manose:Galactose (Man:Gal) pode ser utilizada como característica taxonômica (BUCKERIDGE,1995)

A mobilização das galactomananas é mediada por três enzimas hidrolíticas: a α -galactosidase, responsável pela quebra das ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ existentes entre as unidades de galactose e manose (EC 3.2.1.22), a endo- β -mananase, também conhecida como β -1,4-manano-endo-hidrolase (EC 3.2.1.78) que atua sobre as ligações do tipo $\beta(1\rightarrow4)$ existentes entre as unidades de manose da cadeia principal, reduzindo a manana a oligossacarídeos, e a exo- β -manosidase, também conhecida como β -manosidase (EC 3.2.1.25), específica para a quebra das ligações $\beta(1\rightarrow4)$ entre as unidades de manose dos oligossacarídeos provenientes da ação da endo- β -mananase, liberando manoses livres (Figura 1)(REID e MEIER 1972)

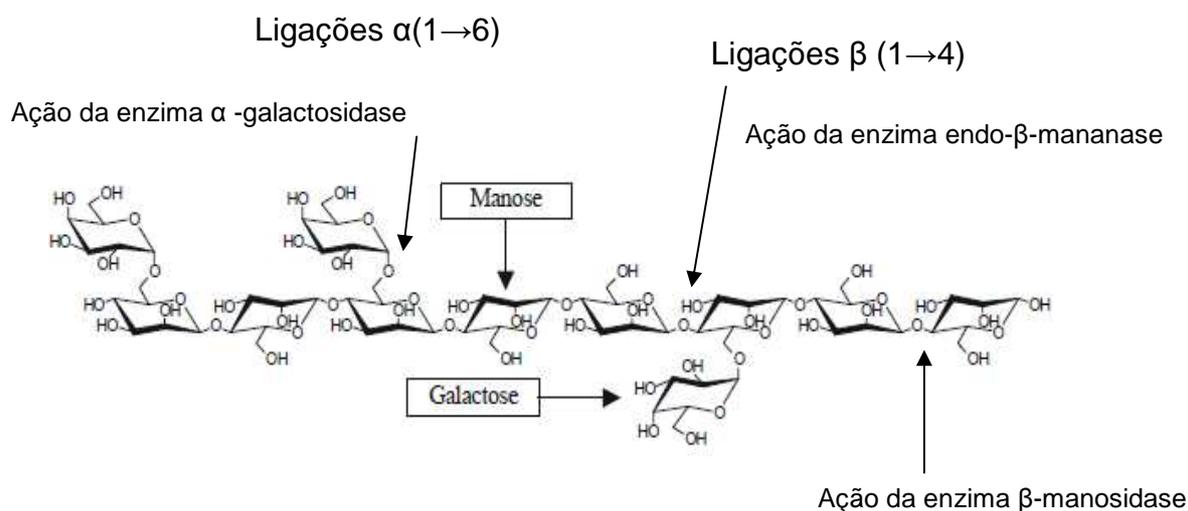


Figura 1 - Representação da ação de hidrolases α -galactosidases e endo- β -manases e β -manosidase sobre galactomanana.

Fonte: M. S. BUCKERIDGE, M. A. S. TINÉ, H. P. SANTOS e D. U. LIMA, Rev. Bras. de Fisiologia Vegetal, Edição Especial, p.137-162, 2000 (adaptado)

Como substância de reserva, este polissacarídeo é diferente do amido, pois além da função de reserva também desempenha papel importante nas relações hídricas e no estabelecimento da rigidez na parede celular, uma vez que as galactomananas contribuem para que haja forte coesão entre as moléculas constituintes da parede celular (BUCKERIDGE, SANTOS e TINÉ, 2000).

2.4 Importancia Fisiológica das Galactomananas

As funções de reserva e embebição parecem estar associadas quase que exclusivamente com espécies da família Fabacea, enquanto que em outras famílias (não-leguminosas) a função de dureza e proteção do embrião é mais evidente (BUCKERIDGE *et al.*, 2000).

As galactomananas de reserva de parede celular são relativamente inertes do ponto de vista químico, além de apresentarem diferentes graus de solubilidade em água. Essas características tornam possível a existência de um “compartimento celular” (a parede celular) que permite o fluxo de água com grau de liberdade considerável (BIELESKI, 1993).

Esta diferença de solubilidade está diretamente relacionada com o grau de ramificação do polissacarídeo, o grau de ramificação das mananas define suas relações estrutura-função e a razão Man:Gal é, ainda, responsável por muitas das propriedades desse polímero, incluindo sua solubilidade e grau de interação com moléculas de celulose na estrutura da parede celular (BUCKERIDGE e DIETRICH, 1996).

A substituição de unidades de D-manose por grupos de D-galactose resulta em um aumento na capacidade de hidratação e solubilidade das galactomananas (DEA e MORRISON, 1975)

Um menor grau de ramificação do polissacarídeo tem sido associado a função de proteção do embrião, enquanto que galactomananas mais ramificadas são mais solúveis e apresentam participação maior em funções fisiológicas, como as relações hídricas (BUCKERIDGE *et al.*, 2000). Nos primeiros estádios da germinação, as galactomananas contribuem para a absorção de água e sua posterior distribuição ao redor do embrião. O endosperma embebido protege o embrião contra perda de água através de um efeito conhecido como “tampão de água”, durante períodos de seca pós-embebição (REID e BEWLEY, 1979).

Durante a germinação e crescimento da plântula, reservas do cotilédone são degradadas e seus produtos translocados para os pontos de crescimento do embrião e da plântula em desenvolvimento, onde são usados como fonte de carbono e energia para vários processos metabólicos (KANDLER e HOPF, 1980).

McCleary e Matheson, (1976) realizaram estudos sobre o destino dos produtos da mobilização da galactomanana de guar e detectaram, no endosperma, atividade das

enzimas fosfomanoisomerase e fosfoglucoisomerase e sugeriram que estas enzimas são, provavelmente, responsáveis pela epimerização da manose em glucose, a qual seria usada na síntese de sacarose no endosperma. Nestes estudos, os autores forneceram manose e galactose marcadas radioativamente a embriões da planta guar em crescimento e demonstraram que os produtos da mobilização da galactomanana são usados em vários processos bioquímicos, durante a germinação e crescimento da plântula

Dois tipos diferentes de enzimas envolvidas na biossíntese de galactomananas foram identificadas: uma GDP-manose dependente de manosiltransferase, (EC 2.4.1.32) a UDP-galactose-dependente de galactosiltransferase (Edwards *et al.*, 1989) A “sintase manana” polimeriza a espinha dorsal de polissacarídeos, e a “galactosiltransferase galactomanana” adiciona unidades de galactose na espinha dorsal (REID *et al.*, 1995). Edwards e colaboradores, (1989) sugeriram que primeiramente ocorre uma galactosilação da espinha dorsal de manose e posteriormente uma degradação pela ação da enzima α -galactosidase (EC 3.2.1.22). Visto que os níveis de α -galactosidase aumentam em proporção inversa aos níveis de manosil e galactosiltransferase.

2.5 Aplicações Comerciais de Galactomananas

As aplicações comerciais das galactomananas podem ser vistas nas mais diversas áreas, a exemplo da indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética, dentre outras. Os principais usos das galactomananas na indústria alimentícia encontra-se em produtos derivados do leite, como espessante; em sobremesas, como substitutos de gordura; e em particular, em sorvetes, onde impedem a formação de cristais de gelo. Galactomananas também são utilizadas em geléias, produtos em pó (sobremesas e pudins), panificação (misturas para bolo e glacê), temperos, molhos, sopas, alimentos enlatados e congelados, nos quais melhoram a textura e aparência destes alimentos, além de aumentarem sua resistência a variações de temperatura (SANFORD e BAIRD, 1983, apud BENTO, 2008)

Estudos indicam que as galactomananas podem ser potencialmente utilizadas em produtos dietéticos, uma vez que aumentam a viscosidade do bolo alimentar e alteram o pH, diminuindo a digestão e absorção de carboidratos, tornando assim mais difícil a

absorção no intestino delgado (MERCÉ *et al.*, 2001). Na indústria de cosméticos, as galactomananas são utilizadas como espessante e estabilizante em cremes e loções (NISHINARI, ZHANG, IKEDA, 2000).

Já na indústria de papel e celulose, as galactomananas são utilizadas para a melhoria das propriedades mecânicas do papel (LIMA, OLIVEIRA, BUCKERIDGE, 2003).

2.6 Fontes Vegetais dos Polissacarídeos em Estudo

2.6.1 *Ceratonia siliqua*

A alfarroba (*Ceratonia siliqua*) é uma espécie arbustiva que apresenta cerca de 10 a 20m de altura, é uma árvore dióica, de flores pequenas, imperfeitas, reunidas em inflorescências racimiformes. Originária da região mediterrânica posteriormente levada pelos árabes para o Norte de África, Espanha e Portugal. Tendo nesta região expressão ecológica e econômica muito importante, foi a pioneira na extração de galactomananas (BATLLE e TOUS, 1997)

A semente de alfarroba possui elevada concentração de carboidratos (45%), quantidades apreciáveis de proteína (3%), e baixos níveis de gordura (0,6%) (AVALLONE 1997).

Possui relação Man:Gal de (~3,7:1) (DA CUNHA *et al.*, 2009). Esta relação pode variar de acordo com a extração do material e local onde foi coletado tanto para alfarroba como para todas as outras fontes vegetais.

2.6.1.1 *Classificação taxonomica*

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Fabales

Família: Fabaceae

Subfamília: Caesalpinioideae

Gênero: *Ceratonia*

2.6.2 *Mimosa scabrella*

Mimosa scabrella é uma espécie da família Fabaceae, conhecida popularmente como bracatinga, possui aplicação comercial na utilização da madeira a bracatinga para lenha e construção civil, além de artesanato, devido ao seu rápido crescimento, com florescimento a partir de oito meses de idade, e em média com árvores de 3 metros de altura, apresenta como característica morfológica tronco geralmente reto e pouco ramificado sendo uma árvore perenifólia, com 4 a 18m de altura e 20 a 30cm de diâmetro. A semente possui forma irregular, de coloração escura, quase preta, lustrosa, com 6mm de comprimento e 3 mm de largura (BAGGIO *et al.*, 1986).

A semente segundo Ganter, (1988) possui relação Man:Gal de (~1,1:1).

2.6.2.1 *Classificação taxonômica*

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Fabales

Família: Fabaceae

Subfamília: Caesalpinioideae

Gênero: *Mimosa*

2.6.3 *Schizolobium parahyba*

Conhecida popularmente como guapuruvu possui grande importância econômica. De acordo com Lorenzi (2002), a madeira é bastante utilizada na confecção de painéis, portas, brinquedos e caixas devido a durabilidade. A espécie desempenha, ainda, papel de destaque em programas para o reflorestamento misto de áreas degradadas visando à preservação permanente, devido principalmente ao seu rápido crescimento no campo, possui média de altura em torno de 25 metros.

O fruto de *S. parahyba* possui um peculiar padrão de dispersão. Após a abertura das valvas, é exposta uma parte do pericarpo, que envolve a semente e desempenha a função de ala. Segundo Barroso *et al.*, (1999), a parte responsável pela dispersão da semente é o endocarpo. A semente possui uma viabilidade em armazenamento muito longa podendo durar vários anos.

Tendo uma relação Man:Gal de (~3:1) (BENTO, 2008)

2.6.3.1 Classificação taxonômica

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Fabales

Família: Fabaceae

Subfamília: Caesalpinioideae

Gênero: *Schizolobium*

2.6.4 *Cyamopsis tetragonolobus*

Na década de 40, devido à carência de goma alfarroba, a planta guar (*C tetragonolobus*), originária do Paquistão, foi aclimatada nos Estados Unidos. Desde então, a produção de sua goma ultrapassa à de alfarroba, sendo hoje a principal fonte mundial de galactomanana com aplicação na indústria têxtil, alimentícia, farmacêutica, de papel e celulose entre outras (GOLDSTEIN, ALTER, e SEAMAN, 1973).

Tendo uma relação Man:Gal de (~1,7:1) (SRIVASTAVA e KAPOOR, 2005).

2.6.4.1 Classificação taxonômica

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Fabales

Família: Fabaceae

Gênero: *Cyamopsis*

2.7 *Daucus carota*

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma olerícola pertencente à família Apiaceae, originária da Europa e Ásia, que ocupa lugar de destaque entre as hortaliças cultivadas no centro-sul brasileiro, principalmente entre as hortaliças, cujas raízes são consumidas. No florescimento, a cenoura emite a haste floral principal, contendo no ápice uma inflorescência central, denominada primária ou de primeira ordem, que se ramifica dando origem a umbrelas secundárias, terciárias e quaternárias (Filgueira, 2000).

2.7.1 *Classificação taxonômica*

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Apiales

Família: Apiaceae

Gênero: *Daucus*

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

Foram utilizadas sementes de cenoura (*Daucus carota* L), variedade Brasília, obtidas comercialmente.

3.2 Obtenção das Galactomananas

As galactomananas são de 4 fontes diferente sendo guapuruvu (*Schizolobium parahyba*) e bracinga (*Mimosa scabrella*) isoladas e purificadas a partir de sementes e alfarroba (*Ceratonia siliqua*), e guar (*Cyamopsis tetragonolobus*), obtidas comercialmente, da empresa Sigma Chemicals Ltda, com lotes #104k0080 e #125k0091, respectivamente. Todas as galactomananas foram fornecidas pelo Laboratório de Bioquímica de Carboidratos Vegetais do departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR, por intermédio da Prof.^a Joana Léa Meira Silveira.

3.3 Testes de Atividade Biológica

Sementes de cenoura foram cultivadas em placas de Petri às quais foram adicionadas uma camada dupla de papel de filtro. Dez (10) ml de soluções de galactomananas (0, 2, 10, 50, 100, 500 e 1000nM) extraídas a partir de sementes de *S. parahyba*, *C. siliqua*, *C. tetragonolobus* e *M. scabrella*, foram pipetadas sobre o papel de filtro. Vinte e cinco (25) sementes foram semeadas sobre o papel de filtro em cada placa de Petri (duas placas de Petri para cada concentração de galactomanana) (Figura 2). As placas foram fechadas com filme de PVC e mantidas em sala de ambiente controlado, sob a temperatura média de $24,3^{\circ} \pm 2,2$ °C e densidade de fluxo de fótons de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de $40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

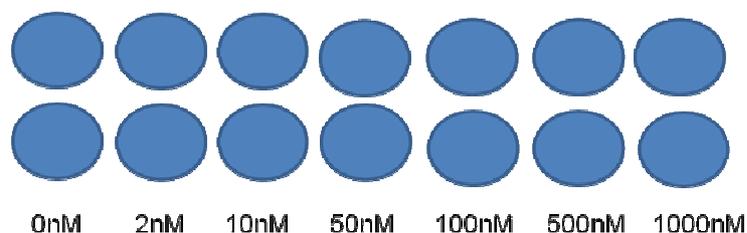


Figura 2 - Esquema da montagem do experimento

Duas repetições para cada polissacarídeo (bracinga, guapuruvu, guar e alfarroba) sendo 25 sementes para cada placa

Durante um período de 10 dias foi avaliada a taxa de germinação, entendida como taxa de protusão da radícula (Figura 3), depois da quebra do tegumento. Após o período de 10 dias a contar da semente, foram medidos o comprimento total da plântula, que compreende o início da radícula até a parte onde começa a inserção foliar. O comprimento da radícula, que foi estipulado como do início da radícula até a final dos pelos radiculares ainda esbranquiçadas pela ausência de clorofila, e medido também a parte aérea que compreende o final da parte esbranquiçada pela ausência de clorofila até o início da inserção foliar (Figura 4)

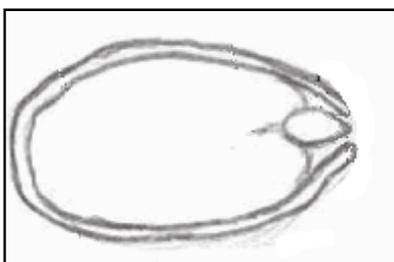


Figura 3 - Desenho do início da protusão da radícula

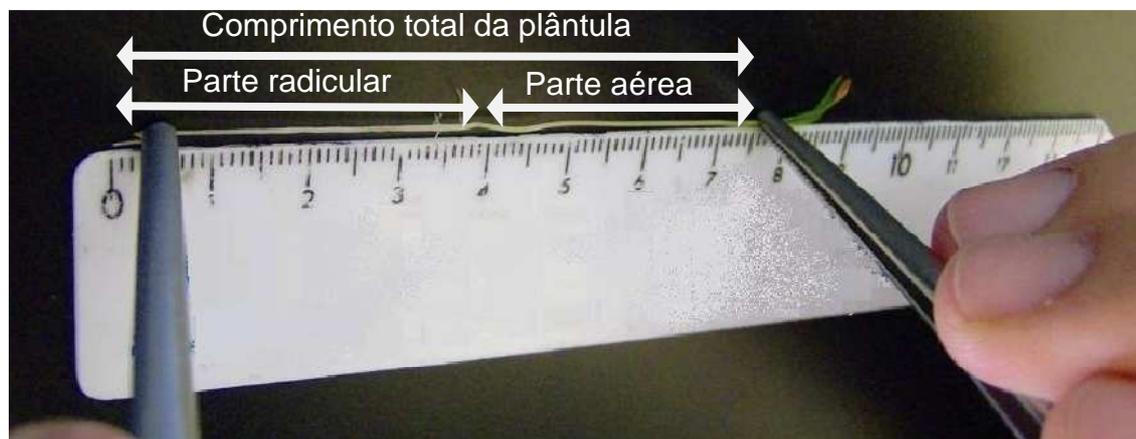


Figura 4 - método utilizado para auferir comprimento das plantas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando adequado, a teste de Tukey.

4 RESULTADOS

4.1 Efeito das Galactomananas Sobre as Taxas de Germinação

O início do processo de protusão da radícula foi observado a partir do segundo dia após a semeadura para todos os polissacarídeos testados.

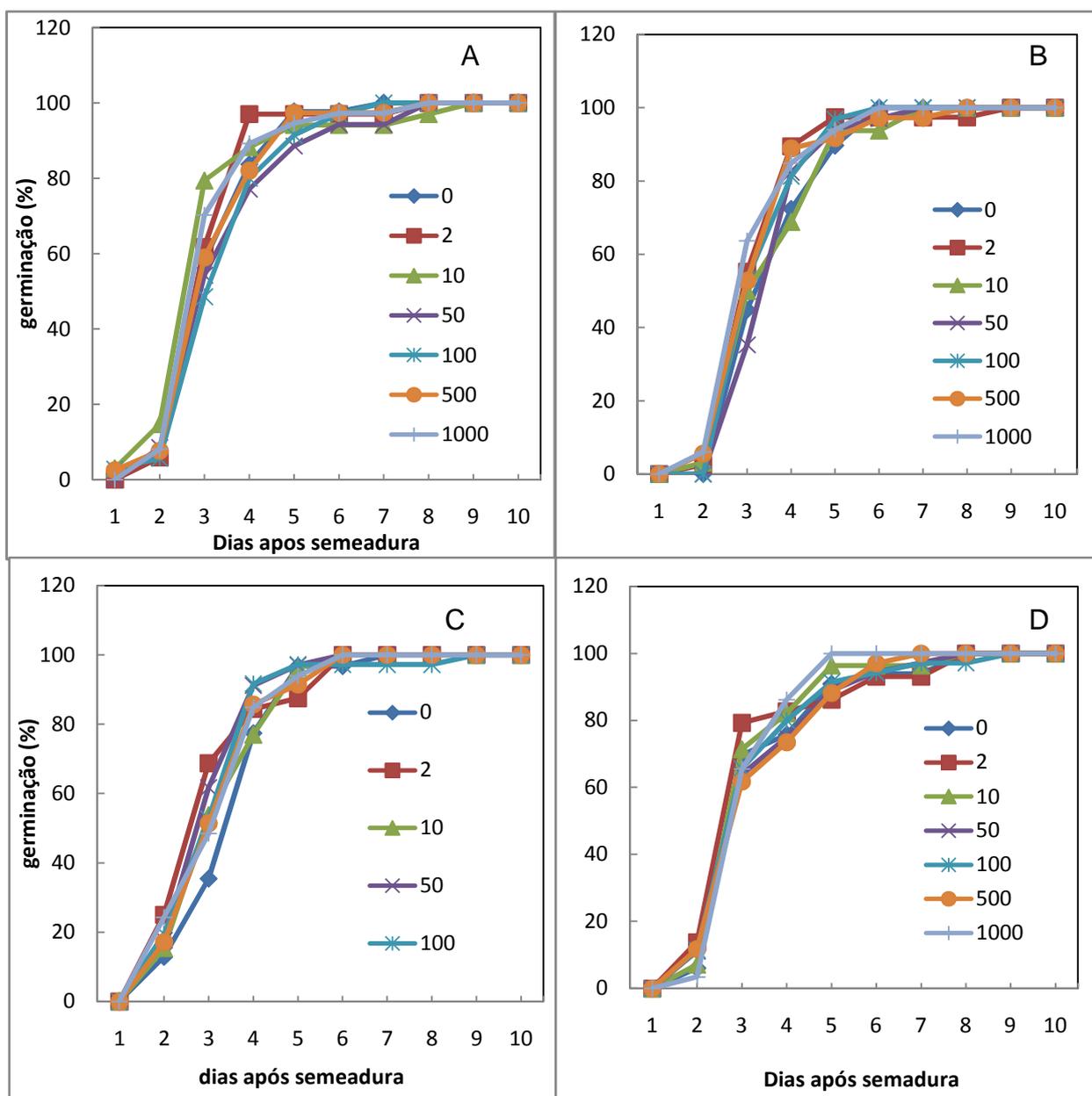


Figura 5 Efeito de galactomanana sobre o percentual de germinação de sementes de cenoura.

(A) tratamentos com extratos de alfarroba, (B) galactomananas extraídas de sementes de guapuruvu, (C) galactomananas extraídas de sementes de bracinga e (D) tratamento com extratos guar.

Para o tratamento contendo galactomananas com origem em sementes de alfarroba, até o terceiro dia, uma maior taxa de germinação foi observada para sementes crescidas na presença de 10nM de galactomanana. Já a partir do quinto dia as taxas estavam próximas.

A taxa de germinação para tratamentos feitos a partir de extratos de guapuruvu, teve melhor resultado para a concentração de 1000nM até o terceiro dia com um percentual de germinação neste dia de 64%(Figura 5B)

Para tratamentos com galactomanana extraída de bracatinga, a taxa de germinação para o controle foi de 35% no 3º dia, enquanto que para todos os tratamentos onde foi empregada a galactomanana o percentual de germinação mostrou-se acima de 48% (Figura 5C).

Fonte Vegetal	ALFARROBA				GUAPURUVU				BRACATINGA				GUAR			
Dias (nM)	2	3	4	5	2	3	4	5	2	3	4	5	2	3	4	5
0	7	58	84	98	0	45	72	90	13	35	77	97	6	70	76	91
2	6	62	97	97	3	55	89	97	25	69	84	88	14	79	83	86
10	15	79	88	94	3	50	69	94	15	54	77	96	7	71	82	96
50	9	54	77	89	0	35	82	94	18	62	91	97	11	64	75	89
100	6	49	80	91	0	53	81	97	19	53	92	97	11	66	80	91
500	8	59	82	97	6	53	89	92	17	51	86	91	12	62	74	88
1000	8	70	89	95	6	64	85	94	24	48	85	94	3	66	86	100

Tabela 1 Efeito da galactomanana sobre germinação de sementes

Tabela comparativa sobre porcentagem de germinação entre 2º e 5º dia.

Para o tratamento contendo galactomananas com origem em sementes de guar, no segundo dia, a concentração que induziu maior taxa de germinação foi a de 2nM (13,8%) e manteve-se mais alta até o 3º dia. Já no quarto dia o melhor resultado foi visto para a concentração de 1000nM, com 86,2% de germinação (Figura 5D).

4.2 Efeito das Galactomananas Sobre o Alongamento da Radícula

Quando comparado o comprimento das radículas, após os 10 dias, verificamos que para aplicações de polissacarídeos com origem de sementes de alfarroba, não houve diferença significativa, como pode ser visto na Figura 6, e o mesmo ocorreu para sementes tratadas com extratos de guar.

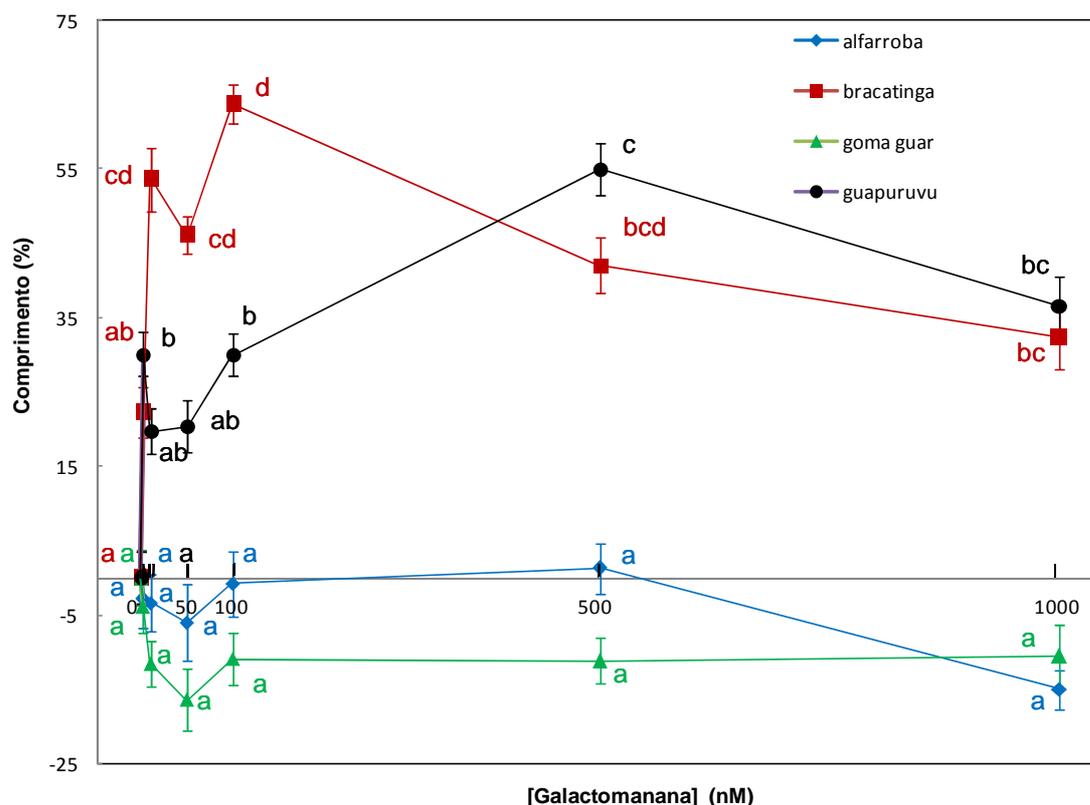


Figura 6 Comparação entre percentual de crescimento da radícula em relação ao crescimento do grupo controle

Letras iguais sobre os pontos, por polissacarídeo, indicam que não há diferença estatística para dados apresentados, letras diferentes, indicam diferença estatística significativa entre as médias, segundo teste de Tukey.

Para os testes com galactomananas oriundas de sementes de guapuruvu, observamos que houve diferença no crescimento para todas as concentrações aplicadas em relação ao controle, e que um melhor resultado foi conseguido com a concentração de 500nM.

A partir da concentração de 2nM, já foi possível verificar o efeito sobre o crescimento nas aplicações das galactomananas, (30% para 2nM). Este efeito teve um decréscimo à 19% na concentração de 10nM e foi sendo melhorado até a concentração de 500nM, com uma percentual de 55% maior que o grupo controle (0nM) e posterior decréscimo no crescimento na concentração de 1000nM, ainda assim, esta concentração apresentava um crescimento 36% maior que a concentração de 0nM e mantendo-se acima dos percentuais das concentrações de 2 a 100nM.

Quando observadas as concentrações utilizando extratos de sementes de bracinga, estas tiveram um efeito significativamente maior em relação às sementes não tratadas, como visto nos tratamentos de guapuruvu. Para bracinga, a partir de 2nM foi possível verificar uma diferença significativa apresentando um ápice na concentração de 100nM, com uma diferença de 63% maior do que o grupo controle, apresentando decréscimo para 500 e 1000nM, mas ainda, assim, sendo maior em 42% e 32%, respectivamente, de aumento em relação a concentração de 0nM (Figura 6)

Como verificado, com base nos dados representados, na Figura 6, as sementes tratadas com o polissacarídeos extraído do endosperma de bracinga, representaram a melhor taxa de crescimento para o desenvolvimento das radículas.

4.3 Efeito das Galactomananas Sobre o Alongamento da Parte Aérea

Os gráficos mostrando o comprimento da parte aérea foram separados para facilitar a visualização, mediante a pequena diferença significativa apresentada por alguns tratamentos.

Ao ser auferido o comprimento da parte aérea, as concentrações de alfarroba (Figura 7A) mostraram efeito similar ao ocorrido com a radícula, com os dados não apresentando diferença estatística, porém neste caso, o gráfico expressa uma tendência de alta no crescimento.

Já para o crescimento da parte aérea nos tratamentos envolvendo galactomananas de extraídas de guapuruvu, (Figura 7B) observamos um efeito positivo em relação ao grupo controle, para a concentração de 2nM, onde já havia um crescimento superior a 10%, e manteve-se em tendência de alta até a concentração de 500nM e 1000nM, estatisticamente iguais, contudo a concentração de 500nM

apresentou um aumento 23% maior que o 0nM, diferente dos 21% apresentados pelo 1000nM em relação ao controle.

Para tratamento contendo polissacarídeos extraídos de sementes de bracatinga (Figura 7C) o crescimento da parte aérea, apesar de significativo, não foi tão expressivo quanto ao crescimento da radícula, apresentando um crescimento de 30% para a concentração de 50nM e posterior decréscimo até a concentração de 1000nM, que não apresentou diferença significativa para o grupo controle. Apesar da diminuição do efeito de crescimento nas concentrações de 100, 500 e 1000nM, o crescimento da parte aérea, para os tratamentos com galactomananas oriundas de sementes de bracatinga, teve na concentração de 50nM um crescimento maior, do que as medias observadas nos tratamentos com polissacarídeos oriundos de sementes de guapuruvu.

Para tratamentos com extratos de guar houve diferença significativa, como pode ser visto, (Figura 7D), diferente do que ocorreu nos experimentos deste polissacarídeo nas análises de radícula. Para concentração de 500nM, foi observado um crescimento de 13% maior que o grupo controle, as demais concentrações permaneceram com dados sem diferença estatística em relação a concentração de 0nM, exceto para 2nM que apresentou-se abaixo da média do grupo controle.

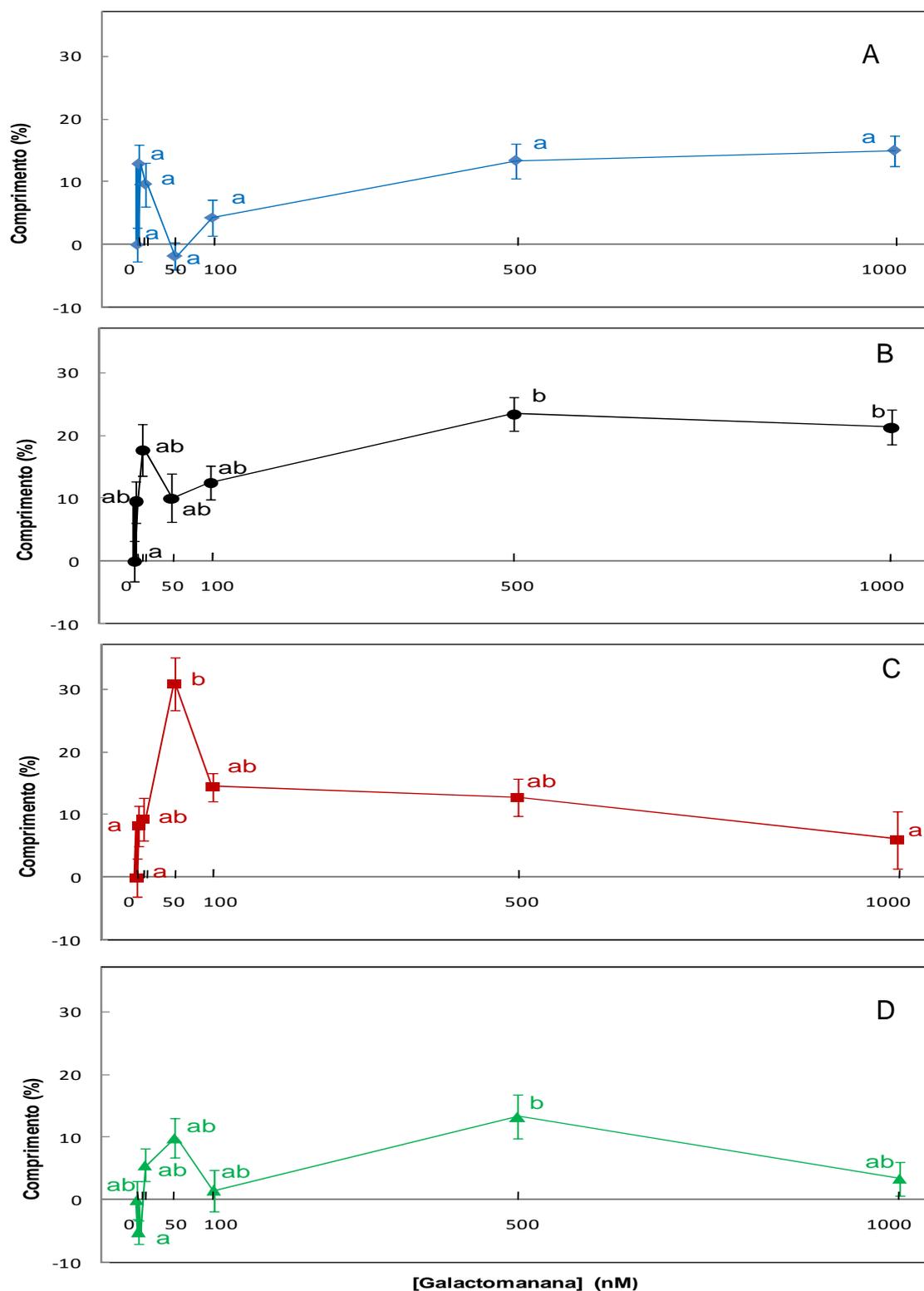


Figura 7 Comparação de percentual de crescimento da parte aérea em relação ao grupo controle

Sendo goma comercial de alfarroba (A), galactomananas extraída de sementes de guapuruvu (B), galactomananas extraída de sementes de bracatinga (C) e goma comercial de guar (D).

4.4 Efeito das Galactomananas Sobre o Comprimento Total da Plântula

Como observado nos outros ensaios comparativos, as plântulas tratadas com extrato de sementes de alfarroba também não apresentaram crescimento significativo, isto também foi verificado nas análises do comprimento total da plântula, (Figura 8). E o mesmo foi observado para os tratamentos utilizados com extratos de guar.

Quando observado o comprimento total da plântula com tratamentos utilizando galactomananas de sementes de guapuruvu, verificamos um padrão de crescimento similar ao comprimento da radícula, quando comparada as concentrações de galactomananas, com um desenvolvimento maior para a concentração de 500nM, a uma taxa de 39% de crescimento, observando que todas as concentrações obtiveram um efeito considerado significativo sobre o crescimento quando comparadas ao grupo controle, porém, neste caso houve um decréscimo na concentração de 1000nM, que não ocorreu nas médias de radícula para o mesmo polissacarídeo testado, contudo a concentração de 1000nM apresentou uma taxa de crescimento maior que os demais tratamentos de polissacarídeos oriundos de sementes de guapuruvu, em torno de 29% se comparado as sementes não tratadas.

Para tratamentos com galactomananas oriundas de sementes de bracatinga, o crescimento da plântula como um todo, teve mais similaridade com o crescimento da radícula, onde foi observado um aumento mais significativo para a concentração de 100nM com um aumento no ordem de 41% de crescimento, e posterior decréscimo, mas ainda assim, mantendo na concentração de 1000nM um aumento de 20% de crescimento em relação ao grupo controle (Figura 8).

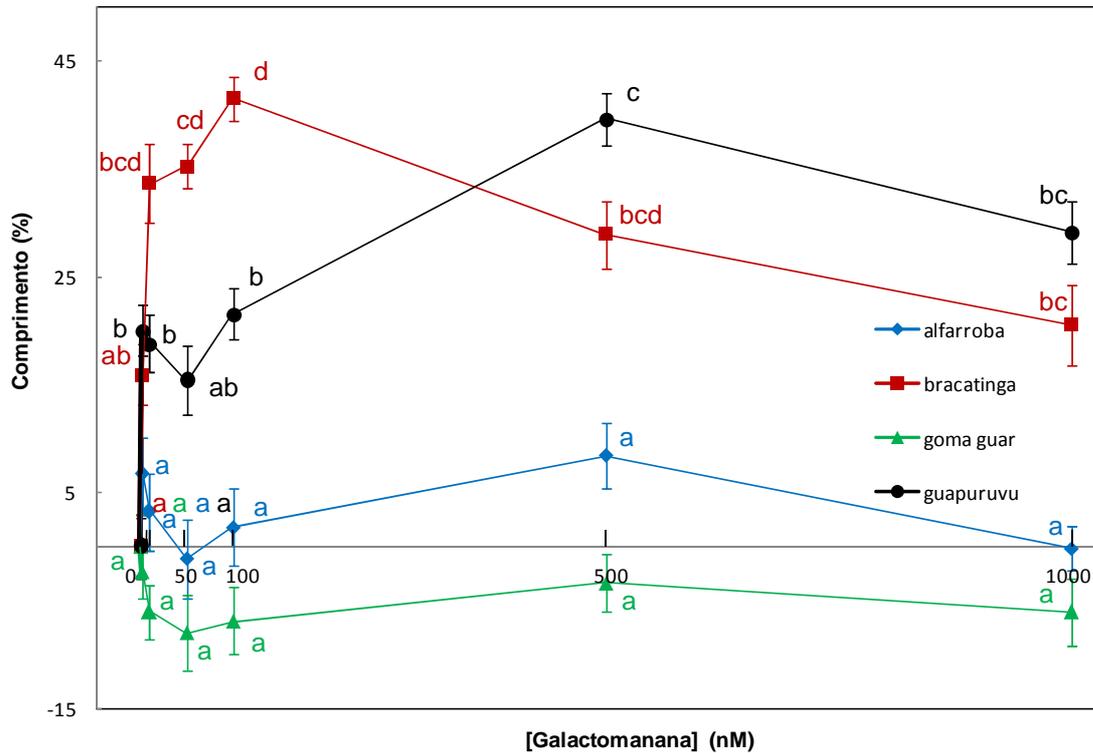


Figura 8 Comparação entre percentual de crescimento total da plântula em relação ao grupo controle

4.5 Efeito das Galactomananas Sobre o Alongamento de Radículas Secundárias

Para o número de radículas secundárias foi observado aumento significativo para os tratamentos com extratos de alfarroba na concentração de 100nM, sendo que as concentrações de 10 e 500nM tiveram média inferior ao grupo controle, como pode ser visto na figura abaixo (Figura 9A).

Para tratamentos com galactomananas de origem nas sementes de bracinga, apesar das comparações anteriores terem demonstrado a diferença entre tratamentos, no crescimento de radículas secundárias, não foi observada diferença estatística entre as médias (Figura 9B).

Para os tratamentos realizados extratos de guar, as médias mais expressivas foram observadas na concentração de 2nM, com as concentrações de 10, 500 e 100nM apresentando medias mais baixas que o grupo controle (Figura 9C).

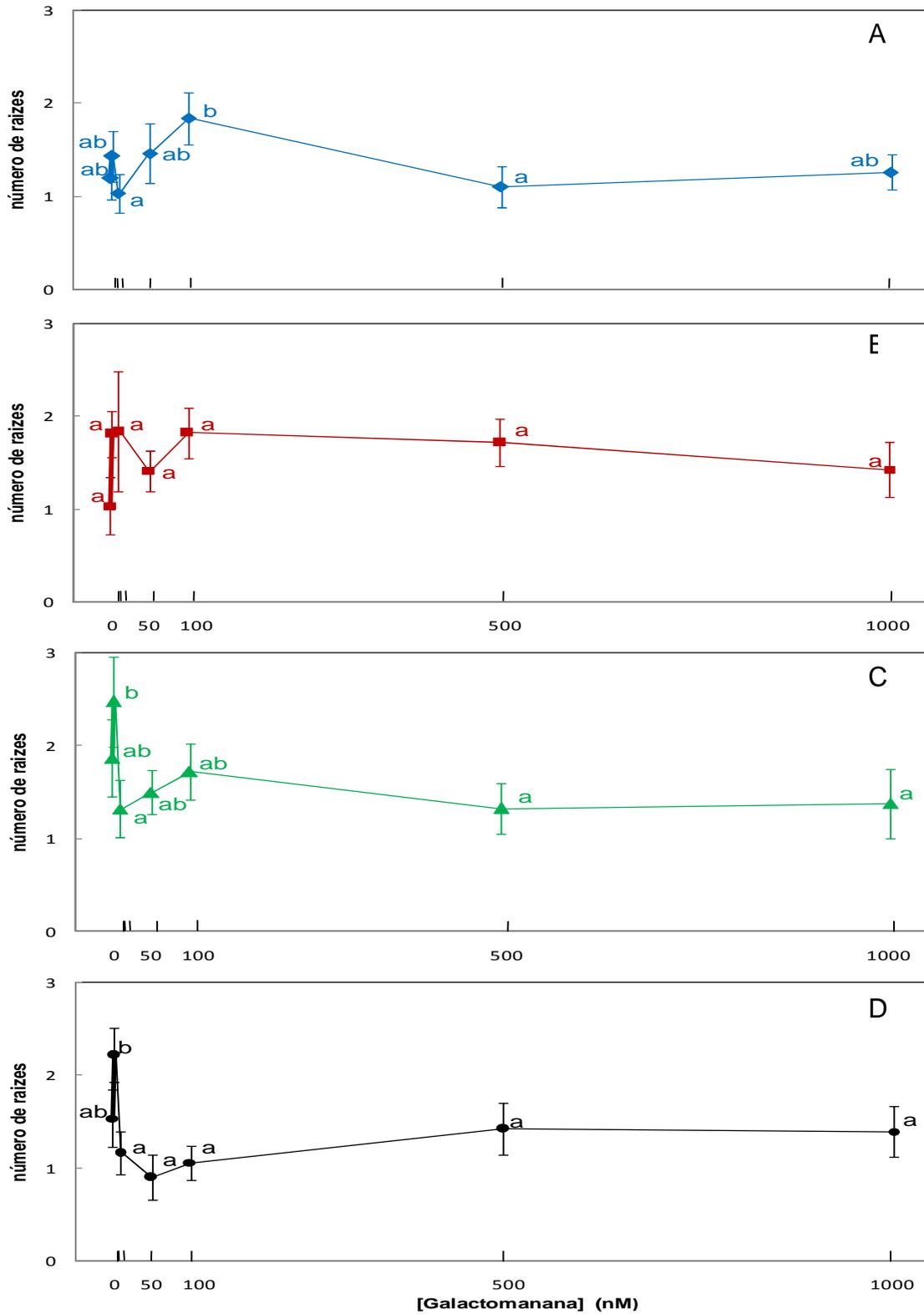


Figura 9 Comparação de percentual de crescimento da parte aérea em relação ao grupo controle

Sendo goma comercial de alfarroba (A), galactomannanas extraída de sementes de bracinga (B), goma comercial de guar (C) e galactomannanas extraída de sementes de guapuruvu (D).

As médias de números de radículas secundárias para tratamentos com polissacarídeos extraídos de sementes de guapuruvu apresentaram um valor mais expressivo para a concentração de 2nM, e posterior redução para as demais concentrações, sendo que as medias entre 10nM e 1000nM ficaram abaixo do grupo controle (Figura 9D).

5 DISCUSSÃO

Diversos estudos tem demonstrado o efeito modulador do tegumento sobre a germinação de sementes. Por exemplo, em sementes de alfarroba foi demonstrado que o tegumento pode controlar a produção de enzimas hidrolíticas envolvidas na maturação, germinação e mobilização de reservas durante o desenvolvimento das sementes (KONTOS & SPYROPOULOS 1996).

O tegumento permite a entrada, condução e distribuição de água ao redor da semente durante os primeiros estádios de embebição, o rompimento da barreira física, em função da entrada de água na semente, expõe a parede celular, que entra em contato com o meio externo, possibilitando com que as galactomananas exógenas sejam expostas à ação de enzimas liberadas pelo endosperma (SANTOS, 2002) e/ou tegumento que podem clivar polissacarídeos em oligossacarídeos (TONINI, 2004) ou até mesmo em monômeros de galactose, através da ação de α -galactosidases que quebram ligações α -(1 \rightarrow 6) (MCCLEARY, 1983). Este rompimento não depende exclusivamente da entrada de água, ele é facilitado, de dentro pra fora, pelas enzimas hidrolíticas. Por exemplo, endo- β -mananases degradam o tegumento, “amolecendo-o”, e conseqüentemente facilitando a protusão da radícula (DIRK *et al.*, 1995).

Esta mesma enzima foi associada com o enfraquecimento do endosperma na região micropilar das sementes de alface, levando à germinação (NASCIMENTO, CANTLIFF e HUBER, 2000).

A ação de enzimas hidrolíticas sobre a galactomanana exógena, só pode ocorrer se o tegumento da sementes de cenoura tiver participação no processo germinativo similar ao de Alfarroba ou *Sesbania virgata*, onde Tonini, (2004) sugere a participação do tegumento no processo enzimático, através da síntese, modificação e/ou armazenamento das enzimas, especificamente da endo- β -mananase.

Como mencionado por Buckeridge (2000), a ação das três enzimas hidrolíticas (α -galactosidase, β -manosidase e endo- β -mananase) tem papel importante na degradação de galactomananas durante a maturação das sementes. Assim, galactomananas presentes no endosperma das sementes podem ser degradados até seus monossacarídeos constituintes (manose e galactose) ao mesmo tempo em que há produção de sacarose, e de acordo McCLearly (1983), os produtos da mobilização da galactomanana podem ser usados em vários processos bioquímicos durante o

crescimento da plântula. Durante a expansão celular, ocorre a degradação e rearranjo da parede celular. Enzimas quebram as ligações cruzadas entre as hemiceluloses da parede celular e isto permite o deslizamento dos componentes da parede, afrouxando-a e permitindo assim sua expansão (LIMA e BUCKERIDGE, 2001). Após o afrouxamento da parede, ocorre à expansão pela absorção de água, bem como a adição de parede ao redor da célula. A continuidade do crescimento depende da síntese e secreção de polissacarídeos e proteínas necessárias para o aumento da parede celular (KERBAUY, 2004), que é composta por polissacarídeos hemicelulósicos em menor proporção e grande quantidade de proteínas estruturais. Enzimas como xiloglucana:xiloglucosil transferase (XTH) (EC 2.4.1.207) poderiam usar manose e galactoses oriundas da degradação das galactomananas exógenas empregadas neste estudo, especialmente de guapuruvu e bracatinga, no rearranjo e na reconstrução de polissacarídeos da parede celular, permitindo, deste modo, o alongamento, a expansão e o crescimento da célula (NISHITANI, 1997).

Uma razão para este efeito diferencial pode ser atribuída a diferença na relação Man:Gal encontrada nos polissacarídeos – galactomananas – das sementes bracatinga e guapuruvu. Esta diferença na efetividade das galactomananas pode ser pela ação das α -galactosidase que quando degradam a molécula liberam os monômeros de galactose. Neste sentido, deveríamos ter um melhor crescimento para as aplicações de bracatinga (relação Man:Gal (~1,1:1)), seguido por goma-guar (~1,7:1), guapuruvu (~3:1) e por fim alfarroba (~3,7:1), isto talvez não foi observado, pelo motivo das espécies nativas terem tido melhor purificação em relação as obtidas comercialmente, porém nosso estudo não permitem confirmar tal hipótese.

6 CONCLUSÕES

Os dados apresentados neste trabalho demonstram que galactomananas exógenas são capazes de modificar o padrão de germinação e posterior crescimento de plântulas de cenoura quando utilizadas em concentrações adequadas. Todavia, o mecanismo envolvido no estabelecimento destas respostas ainda precisa ser elucidado.

Apesar da necessidade de mais respostas, a aplicação pode ser útil no desenvolvimento de sementes usadas na pesquisa científica com intuito de diminuir o período de desenvolvimento das sementes.

REFERÊNCIAS

AGP II An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, n.141 , p 399-436, 2003.

AVALLONE R., PLESSI M., BARALDI M. e MONZANI A. Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins, **Journal of Food Composition and Analysis**, v.10 n.2, p 166-172, 1997.

BARROSO, G. M., MORIM, M. P., PEIXOTO, A. L. e ICHASO, C. L. F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Editora UFV, Viçosa, 1999.

BATLLE, I. e TOUS, J. Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. **Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research**, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Roma, Italy. P.91, 1997.

BAGGIO, A. J. CARPANEZZI, A. A.; GRAÇA, L. R.; CECCON, E. Sistema agroflorestal tradicional da bracatinga com culturas anuais. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Curitiba, n. 12, p. 73-82, 1986.

BENTO, J. F. **Aspectos taxonômicos de polissacarídeos de endosperma de leguminosas**. 113 p. Dissertação, (mestrado bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, UFPR, Curitiba, 2008.

BEWLEY, J. D. e BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**, 2 ed. New York: Plenum Press 1994, 310p

BIELESKI, R. L. Fructan hydrolysis drives petal expansion in the ephemeral daylily flower. **Plant Physiology**, v103:213-219, 1993.

BUCKERIDGE, M. S., SANTOS, H. P. e TINÉ, M. A. S. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, 38:141-156, 2000.

BUCKERIDGE, M. S., TINÉ, M. A. S., SANTOS, H. P. e LIMA, D. U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Edição Especial, p.137-162. 2000.

BUCKERIDGE, M. S., DIETRICH, S. M. C. Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae-Faboideae). **Plant Science**, v.117 n.1, p 33-43, 1996.

BUCKERIDGE, M. S., PANEGASSI, V. R., ROCHA, D. C. e DIETRICH, S. M. C. Seed galactomannan in the classification and evolution of the Leguminosae. **Phytochemistry**, v.38, n.4, p 871-875, 1995.

CARPITA, N e Mc CANN, M. The cell wall. In: **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, American Society of Plant Physiologist, Maryland, 2000, p.81.

CARPITA, N. C., GIBEAUT, D. M., Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **The Plant Journal**, v.3, n.1, p 1-30, 1993.

COSGROVE, D. J. Cell wall loosening by expansions. **Plant Physiology**, v.118, p 333-339, 1998.

COSGROVE, D. J. Relaxation in a high-stress environment: the molecular basis of extensible cell walls and enlargement. **The Plant Cell**, v.9, p 1031-1041, 1997.

DEA, I. C. M., MORRISON, A. Chemistry and intractions of seed galactomannans. **Advances in Carbohydrate Chemistry e Biochemistry**, v.31, p.241-312, 1975.

DIRK, L. M. A., GRIFFEN, A. M.,; DOWNIE, B. e BEWLEY, J. D. Multiple isozymes of endo- β -D-mannanase in dry and imbibed seeds. **Phytochemistry**. v.40 p 1045-1056, 1995.

EDWARDS, M., SCOTT, C., GIDLEY, M. J. e REID, J. S. G. Control of mannose/galactose ratio during galactomannan formation in developing legume seeds. **Planta** v.187, p 67-74, 1991.

EDWARDS, M., BULPIN, P. V., DEA, I. C. M. e REID, J. S. G. Biosynthesis of legume-seed galactomannans in vitro. **Planta** v.178, n.1, p 41-51, 1989.

FILGUEIRA, F. A. R. Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças **Novo Manual de Olericultura**. 402 p. UFV, Viçosa, 2000.

GANTER, J. L. M. S. **Galactomanana de sementes de *Mimosa scabrella* (bracatinga)**. 135 p. Dissertação (mestrado em bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, UFPR, Curitiba, 1988.

JOHANSSON, P., BRUMER III, H., BAUMANN, M. J., KALLAS, Å. M., HENRIKSSON, H., DENMAN, S. E., TEERI, T. T. e JONES, T. A. Crystal Structures of a Poplar Xyloglucan Endotransglycosylase Reveal Details of Transglycosylation Acceptor Binding **The Plant Cell**. v.16, p 874-886, 2004.

KHAN, A. A., TAO, K. L., KNYPL, J. S., BORKOWSKA, B., POWELL, L. E. Osmotic conditioning of seeds: physiological and biochemical changes. **Acta Horticulturae**, v.83, p 267-78, 1978.

KANDLER, O., HOPF, H. Metabolism and function do oligosaccharides. **Biochemistry of Plants Carbohidrates**. New York: Academic Press, 1980. v.15, p 117-131.

KERBAUY, G. B, **Fisiologia Vegetal**. Guanabara Koogan, 2004, volume único, p232.

LEUNG, D. W. M. e BEWLEY, J. D. A role for α -galactosidase in the degradation of the endosperm cell walls of lettuce seeds, cv. Grand Rapids. **Planta** v.157, p 274-277, 1983.

LIMA, D. U., OLIVEIRA, R. C., BUCKERIDGE, M. S. Seed storage hemicelluloses as wet-end additives in papermaking. **Carbohydrate Polymers**, v.52, n.4 p 367-373, 2003.

LIMA, D. U. e BUCKERIDGE, M. S. Interaction between cellulose and storage xyloglucans: the influence of the degree of galactosylation. **Carbohydrate Polymers**, v.46, n2 p157-163, 2001.

LORENZI, H.. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa Plantarum, 2002, vol 1 pag 180.

McCANN, M.C. e ROBERTS, K.. Architecture of the primary wall. In: **The cytoskeletal basis of plant growth and form**. Academic Press, Londres 1991. p. 109-129.

McCLEARY, B. V. e MATHESON, N. K. Galactomannan utilization in germinating legume seeds. **Phytochemistry**, v.15 p 43 -47, 1976.

McCLEARY, B.V. Enzymic interactions in the hydrolysis of galactomannan in germinating guar: the role of exo- β -mannanase. **Phytochemistry**, v.22, p. 649-658, 1983.

MERCÊ, A. L. R., FERNANDES, E., MANGRICH, A. S., SIERAKOWSKI M. R. e SZPOGANICZ, B. Fe(III) - Galactomannan Solid and Aqueous Complexes. Potentiometric, EPR Spectroscopy and Thermal Data. **Journal Braz. Chemical Soc.**, v12, n.6, p 791-798, 2001

NASCIMENTO, W. M., CANTLIFFE, D. J. e HUBER, D. J. Thermotolerance in lettuce seeds: association with ethylene and endo- β -mannanase. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.125, p. 518-524, 2000.

NEUKOM, H. **Galactomannans: Properties and Applications**. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, v 22, n.2, p. 41-45, 1989.

NISHITANI, K. The role of endoxyloglucan transferase in the organization of plant cell walls. In: **International Review of Cytology**. New York: Academic Press, 1997. p 157-206.

STEPHEN, A. M. Other plant polysaccharide. In Aspinall, G.O. **The polysaccharides**, New York: Academic Press, 1983 vol.2, p. 98-180.

NOTHNAGEL, A. L. e NOTHNAGEL, E. A., Primary Cell Wall Structure in the Evolution of Land Plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.49 n.8, p 1271–1278, 2007.

OLIVEIRA, G., GUIMARÃES, V. M., LIMA E BORGES, E. E., FIALHO, L. S., MARIA ALMEIDA E OLIVEIRA, G. e REZENDE, S. T. Purificação e caracterização de α -galactosidases de sementes de *Platymiscium pubescens* Micheli. **Rev. Árvore**, v.29 n.4, p 535-543, 2005.

RAVEN, P., EVERT, R., EICHOORN, S. **Biologia Vegetal**. 7ed Guanabara Koogan, 2007, p 60-63.

REID, J. S. G., BEWLEY, J. D. A dual role for the endosperm and its galactomannan reserves in the germinative physiology of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*), an endospermic leguminous seed. **Planta**, v.147, p 145-150, 1979.

REID, J. S. G., EDWARDS, M., GIDLEY, M. J. e CLARK, A. H. Enzyme specificity in galactomannan biosynthesis. **Planta**, v.195, n.4, p 489-495, 1995.

REID, J. S. G., e MEIER, H. The function of the aleurone layer during galactomannan mobilisation in germinating seeds of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.), crimson clover (*Trifolium incarnatum* L.) and lucerne (*Medicago sativa* L.): A correlative biochemical and ultrastructural study. **Planta**, v.106 n.1 p 44-60,1972.

SIERAKOWSKI, M. R., MILAS, M., DESBRIÉRES J. e RINAUDO M. Specific modifications of galactomannans. **Carbohydrate Polymers**. v.42, n.1, p 51-57, 2000.

SITTIKIYOTHIN, W., TORRES, D. e GONÇALVES, M. P. Modeling the rheological behavior of galactomannan aqueous solution. **Carbohydrate Polymers** v.59, p 339-350, 2005.

SRIVASTAVA, M. E KAPOOR, V. P. Seed Galactomannans: An Overview. **Chemistry e biodiversity**, v.2 n.3, p 295-317, 2005.

PANEGASSI, V. R., SERRA, G. e BUCKERIDGE, M. S. Potencial tecnológico do galactomanano de sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis*) para uso na indústria de alimentos. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v.20, n.3, p 406-415, 2000.

TINÉ, M. A. S., **O conteúdo informacional da moléculas de xiloglucano de cotilédones de Hymenaea coubaril reflete suas funções em nível celular.** 112 p. Tese (doutorado em biologia celular e estrutural) - Instituto de Biologia UNICAMP, Campinas, 2002.

TAIZ, L e ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p 362,720.

TONINI, P. P. **Papel do tegumento e do ácido abscísico no processo de degradação do galactomanano em sementes de *Sesbania virgata*.** 114 p. Dissertação (mestrado em Biologia Celular e Estrutural) - Instituto de Biologia UNICAMP, Campinas, 2004.

VAN SANDT, V. S., SUSLOV, D., VERBELEN, J. P. e VISSENBERG, K. Xyloglucan endotransglucosylase activity loosens a plant cell wall. **Annals of Botany** v.100, n.7, p 1467-1473, 2007.

VORWERK, S., SOMERVILLE, S., e SOMERVILLE, C. The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. **Trends in Plant Science**.v.9, n.4, p203-209, 2004.

TREE OF LIVE WEB PROJECT. Disponível em <<http://tolweb.org/Angiosperms>> acessado em 01/dez/2009.