

# EFEITO DOS ESTRESSES SALINO E HÍDRICO E DO ENVELHECIMENTO PRECOCE NA GERMINAÇÃO DE ALGAROBEIRA<sup>1</sup>

SÔNIA CRISTINA JULIANO GUALTIERI DE ANDRADE PEREZ<sup>2</sup> e MARIÂNGELA TAMBELINI<sup>3</sup>

RESUMO - Foram utilizadas sementes de algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C.) armazenadas por cinco anos em refrigerador, e que, submetidas ao teste de viabilidade, apresentaram 99% de germinação. Para avaliação do estresse hídrico e salino no processo germinativo, foram comparados os valores de arco seno  $\sqrt{\%}$  e velocidade de germinação, utilizando-se soluções de NaCl, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e manitol nos potenciais osmóticos de 0,0; -0,3; -0,6; -0,9; -1,2 e -1,5 MPa. O vigor das plântulas foi avaliado pelo comprimento de hipocótilo e da radícula. Verificou-se que ocorreu redução significativa da germinação a partir de -0,3 MPa no que tange ao NaCl, e -0,6 MPa no que diz respeito aos demais sais. O Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> foi o sal que mais interferiu no tamanho das plântulas dessa espécie. As sementes da algarobeira mostraram-se também bastante resistentes ao envelhecimento precoce.

Termos para indexação: refrigeração, teste de viabilidade, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, manitol, *Prosopis juliflora*.

## EFFECT OF SALINE AND WATER STRESS AND OF EARLY AGING ON THE "ALGAROBA" SEED GERMINATION

ABSTRACT - Mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C.) seedlings stored for five years in a refrigerator, submitted to a viability test, presented 99% of germination. Later, the effects of water and salt stress were observed using NaCl, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and manitol solution in several osmotic potentials: 0.0; -0.3; -0.6; -0.9; -1.2 and -1.5 MPa. The seedlings' vigor was observed using the length of the hypocotyl and radicle. A significant decrease in germination was verified beginning with -0.3 MPa for NaCl and -0.6 MPa for the other salts. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solutions resulted in a significant reduction in the seedlings' length. Mesquite seeds presented resistance to an accelerated aging.

Index terms: refrigeration, viability test, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, manitol.

## INTRODUÇÃO

A algarobeira é uma espécie pertencente à família Leguminosae, nativa das Américas do Norte e Sul, onde se concentra a maioria das 44 espécies conhecidas do gênero *Prosopis* (Felker, 1982). É uma espécie recomendada para a região nordestina brasileira (Almeida, 1983), dada a sua capacidade

de sobrevivência e produção em zonas de baixa umidade no solo, elevadas temperaturas, alta evapotranspiração e grandes variações nas precipitações.

A habilidade de uma semente de germinar sob amplo limite de condições é definida como a manifestação de seu vigor, dependendo, entre outros fatores, das condições ambientais encontradas no local onde foi semeada. Situações de seca, por exemplo, podem ser encontradas no campo, e a semente deve ser vigorosa para que seja competitiva. Condições artificiais de estresse, como o envelhecimento precoce, podem avaliar a velocidade no declínio do vigor (Khan, 1977).

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 12 de setembro de 1995.

<sup>2</sup> Bióloga, Prof.ª Adjunta, Dep. de Botânica da UFSCar, Caixa Postal 676, CEP 13565-905 São Carlos, SP.

<sup>3</sup> Bióloga, Pós-graduanda, Dep. de Botânica da UFSCar.

Silva et al. (1992), citando Ayers & Hayward (1948), consideram que, embora informações sobre o efeito das variações de umidade do solo e do teor de sal sobre a germinação sejam necessárias, é mister detectar primeiramente o efeito dos vários níveis de salinidade sobre a germinação, quando todos os outros fatores são mantidos constantes ou uniformes.

No que diz respeito à resposta ao estresse salino, tanto halófitas como glicófitas respondem de maneira similar ao aumento da intensidade do estresse, reduzindo o número total de sementes germinadas e a velocidade de germinação. A concentração salina que causa o atraso e a redução no número de sementes germinadas depende da tolerância ao sal de cada espécie individual (Ungar, 1982). No entanto, é difícil avaliar, em condições de campo, o nível de salinidade que condiciona a germinação.

Além disto, deve-se diferenciar também o efeito tóxico do efeito osmótico produzido pelo sal. O potencial osmótico da solução salina apresenta valores mais negativos do que o apresentado pelas células do embrião, dificultando, portanto, a absorção de água necessária para a germinação da semente (Santos et al., 1992). Para que se estabeleça a diferença entre efeito tóxico e efeito osmótico, pode-se comparar o efeito da solução de um sal com o da solução de manitol sobre a germinação.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do envelhecimento, do estresse hídrico e de diferentes sais na germinação de sementes de algarobeira (*Prosopis juliflora*) e no crescimento inicial das suas plântulas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material biológico

Foram utilizadas sementes de *Prosopis juliflora* provenientes da SEMENPE, que se encontravam armazenadas em embalagens impermeáveis, a temperaturas entre 5 e 10°C, por cinco anos. As sementes foram inicialmente submetidas a um teste de viabilidade a 35°C (temperatura ótima, Perez & Moraes, 1990), apresentando 99% de germinação.

### Procedimento experimental

Todas as sementes foram previamente submetidas à escarificação química ( $H_2SO_4/5min$ ). Em seguida, foram

lavadas em água corrente, depois em solução de hipoclorito de sódio (2,5%) e, finalmente, em água destilada. Para a incubação foram utilizadas placas-de-petri esterilizadas de 15 cm de diâmetro, forradas internamente com duas folhas de papel de filtro autoclavadas e umedecidas com 15 ml das soluções-teste, no caso de estresse salino e hídrico, ou Captan (0,2%), nos testes de envelhecimento. As placas foram seladas com película transparente de PVC e colocadas para germinar em incubadora, a 35°C. Em cada tratamento foram utilizadas 400 sementes, divididas em quatro réplicas de 100 sementes cada. Houve contagem diária das sementes que apresentavam protusão de radícula  $\geq 2$  mm, e após sete dias foram medidos os comprimentos de hipocótilo e radícula das plântulas (Brasil, 1988).

### Estresse salino e hídrico

Para a indução do estresse salino e hídrico foram utilizadas soluções de NaCl,  $CaCl_2$  e  $Na_2SO_4$ , e para o estresse hídrico, a solução de manitol. Os potenciais osmóticos utilizados variaram de zero a -1,5 MPa, com intervalos de -0,3 MPa. As drogas foram pesadas em balança analítica Mettler, e a quantidade de cada substância para a obtenção desses potenciais foi calculada pela fórmula citada em Parmar & Moore (1968) no tocante às soluções de manitol; e no tocante aos diferentes sais, o cálculo foi feito segundo Weast (1970/71).

### Envelhecimento precoce

As sementes foram submetidas a 10, 28, 45 e 60 dias de envelhecimento, a 45°C e com 87% de umidade relativa. Para a obtenção dessa U.R., foi utilizado um dessecador, onde se colocou uma mistura de 80% de água e 20% de  $H_2SO_4$  p.a. (Hofler, 1942, citado por Barbosa, 1980).

### Análise matemática dos dados

Os cálculos de porcentagem de germinação, germinabilidade média e velocidade média de germinação são descritos por Labouriau (1978). Os resultados de porcentagem de germinação foram transformados em arco seno  $\sqrt{\%}$  para aplicação da análise estatística. A análise de variância e o teste de Tuckey para contraste das médias foram realizados segundo Snedecor & Cochran (1978).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fig. 1 apresenta os valores de arco seno  $\sqrt{\%}$  de germinação para sementes submetidas a estresse

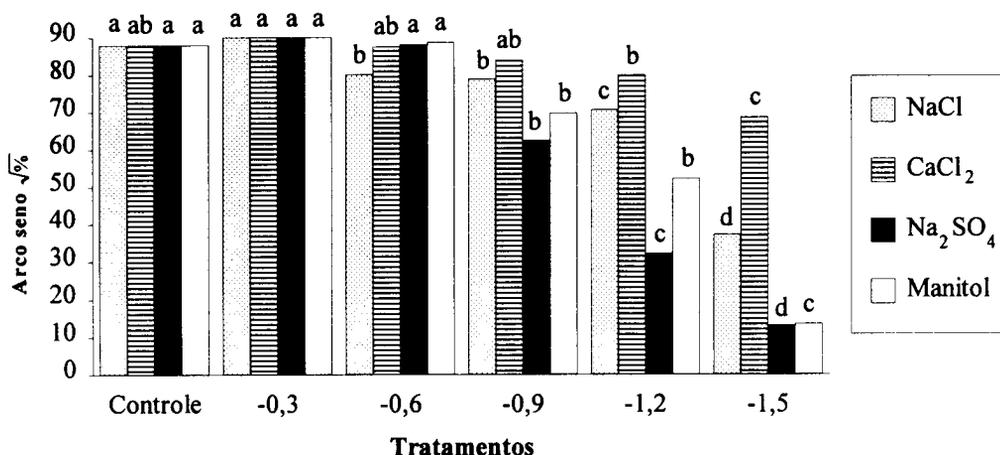


FIG. 1. Arco-seno  $\sqrt{\%}$  de germinação referente a sementes de algarobeira submetidas a diferentes estresses hídricos e salinos. As concentrações são expressas em MPa.

hídrico e a diferentes sais. As sementes de algarobeira suportaram, de maneira geral, potenciais osmóticos bastante negativos. Houve redução significativa da porcentagem de germinação a partir de -0,6 MPa somente em relação ao NaCl, e a partir de -0,9 MPa, em relação aos demais sais. A porcentagem de germinação foi mais afetada pelo  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , seguida pela do manitol e NaCl. O  $\text{CaCl}_2$  causou redução significativa no número de sementes germinadas, porém de maneira menos acentuada que os demais sais. A germinação não chegou a ser totalmente inibida em nenhum dos potenciais testados, mas foi reduzida drasticamente a -1,5 MPa, tanto pelo  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  quanto pelo manitol.

Varshney & Bajjal (1977), citados por Ungar (1982), indicam a toxidez de vários sais, na seguinte ordem decrescente:  $\text{NaHCO}_3 > \text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{NaCl} > \text{CaCl}_2$ . Nas sementes de algaroba, verificou-se uma toxidez maior do NaCl em relação ao  $\text{CaCl}_2$ , e acrescentou-se o  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  nas posições próximas ao carbonato da ordem anterior. Santos et al. (1992), trabalhando com sementes de soja, obtiveram resultados semelhantes com o  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , porém opostos com relação à toxidez do NaCl e do  $\text{CaCl}_2$ .

Os valores de germinação encontrados para sementes incubadas em manitol foram menores que os relativos ao NaCl e ao  $\text{CaCl}_2$ . Um fator que pode ter contribuído para a ocorrência desse comportamento é o tempo de armazenamento dessas semen-

tes em embalagens impermeáveis, que provavelmente reduziu seu vigor. Perez (1988) obteve 34,5% de germinação, com as mesmas sementes recém-coletadas, no tratamento com manitol a -1,6 MPa, enquanto o resultado atual a -1,5 MPa, é de 6,5%. Santos et al. (1992) obtiveram redução mais acentuada da germinação quando trabalharam com soja de baixo vigor.

Pelos valores de velocidade de germinação apresentados na Fig. 2, verifica-se que tanto o estresse hídrico quanto os diferentes sais interferiram mais na velocidade de germinação do que na sua porcentagem. A -0,3 MPa, a velocidade é reduzida somente no tratamento com NaCl, mas nos potenciais seguintes há redução significativa em todos os tratamentos. O NaCl é o sal que mais interfere na germinação em potenciais menos negativos, embora não tenha produzido o maior efeito tóxico. A partir de -0,6 MPa, o sal que produziu menor redução na velocidade de germinação foi o  $\text{CaCl}_2$ , em contraste com o  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e o manitol, que proporcionaram as maiores reduções.

A natureza da inibição da germinação causada pelo aumento do estresse salino é discutível. O alto conteúdo de sais no solo, especialmente do cloreto de sódio, pode inibir a germinação, inicialmente em face de efeitos osmóticos, e, em alguns casos, por efeitos tóxicos (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). Hadas (1976) sugere que a atividade enzimática é

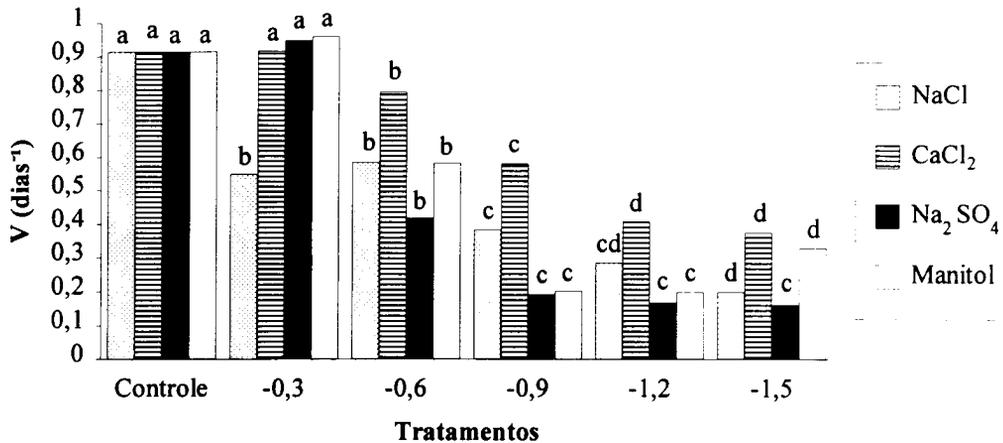


FIG. 2. Velocidade de germinação de sementes de algaroeira submetidas a diferentes estresses hídricos e salinos. As concentrações são expressas em MPa.

atrasada com a diminuição do potencial hídrico externo e provoca atraso no desenvolvimento meristemático e na emergência da radícula. Para Prisco & Vieira (1976), citado por Prisco & Gomes Filho (1978), a mobilização das reservas cotiledonares ou o transporte de produtos de hidrólise são afetados pelo NaCl. Dell'Aquila (1992) afirma que a síntese protéica nos tecidos do embrião é reduzida quando o embrião está sujeito ao aumento do estresse hídrico, e que isto se relaciona com mudanças na turgescência das células, afetando suas estruturas de membranas, bem como a regulação da transcrição, transporte e estabilidade do RNA mensageiro. Em sementes de trigo, quando a hidratação normal é interrompida por estresse salino, a emergência da radícula é bloqueada, e os mecanismos bioquímicos envolvidos podem ser prejudicados (Dell'Aquila & Spada, 1993).

Ashraf & Abu-Shakra (1978), tratando sementes de trigo com manitol, consideraram a velocidade de germinação inversamente relacionada com a intensidade do estresse hídrico. Já Choinski Junior & Tuohy (1991), trabalhando o efeito do estresse hídrico com PEG sobre árvores de savana africana, observaram diminuição da porcentagem de germinação, mas não de sua velocidade. Sementes de trigo submetidas ao NaCl tiveram o início da germinação atrasado de 24 para 48 horas (Dell'Aquila & Spada, 1993).

O comprimento médio das plântulas produzidas sob condições de estresse, nos potenciais entre -0,3

e -0,9 MPa, se encontra na Fig. 3. Observa-se que nos tratamentos com NaCl, CaCl<sub>2</sub> e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a -0,3 MPa, os comprimentos médios totais permaneceram próximos ao valor das plântulas-controle, com ligeiro aumento dos comprimentos de radícula, enquanto que o manitol, no mesmo potencial e a -0,6 MPa, conduz a um aumento acentuado dessas medidas. O potencial de -0,6 MPa provoca pequena redução no comprimento de plântulas submetidas ao NaCl e ao CaCl<sub>2</sub>, verificada no hipocótilo, porém é bastante tóxico para plântulas em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. A -0,9 MPa, todos os tratamentos reduzem o comprimento das plântulas, mas pode-se notar que, em relação ao manitol, o comprimento da radícula não ficou menor que o da radícula-controle. Verifica-se, então, que o efeito tóxico dos sais deve ocorrer principalmente no crescimento da radícula, enquanto que o hipocótilo é mais afetado pelo efeito osmótico. Choinski Junior & Tuohy (1991), que observaram comprimento equivalente ou maior do hipocótilo com a utilização de PEG, sugeriram tratar-se de uma adaptação adicional ao estresse. Por outro lado, Santos et al. (1992) constataram aumento no comprimento de radícula originada de sementes de baixo vigor, nos potenciais de -0,3 e -0,9 MPa.

A Fig. 4 mostra o efeito do envelhecimento precoce sobre a germinação de sementes de *Prosopis juliflora*. Houve redução significativa da porcentagem de germinação em todos os tempos de envelhecimento. O tempo de dez dias produz resultados semelhantes aos de 28 dias, assim como são equiva-

lentes os resultados referentes a 45 e 60 dias. A velocidade de germinação, como se vê na Fig. 5, não se alterou significativamente com o aumento do tempo de envelhecimento. Estes resultados demonstraram a resistência das sementes de algarobeira a condições adversas de temperatura e umidade, principalmente, em comparação com outras espécies. A porcentagem de germinação decresceu rapidamente em sementes de girassol envelhecidas precoce-

mente (Adamo et al., 1984). Sementes de cedro envelhecidas a 40°C não sofreram grandes variações na porcentagem de germinação, mas deixaram de germinar quando envelhecidas a 50°C (Borges et al., 1990). Lin (1990) observou decréscimo na germinação e vigor de sementes de feijão submetidas a 1, 2, 3 e 4 dias de envelhecimento, relacionado com o aumento na lixiviação eletrolítica dos solutos celulares das sementes, o que sugere uma relação íntima

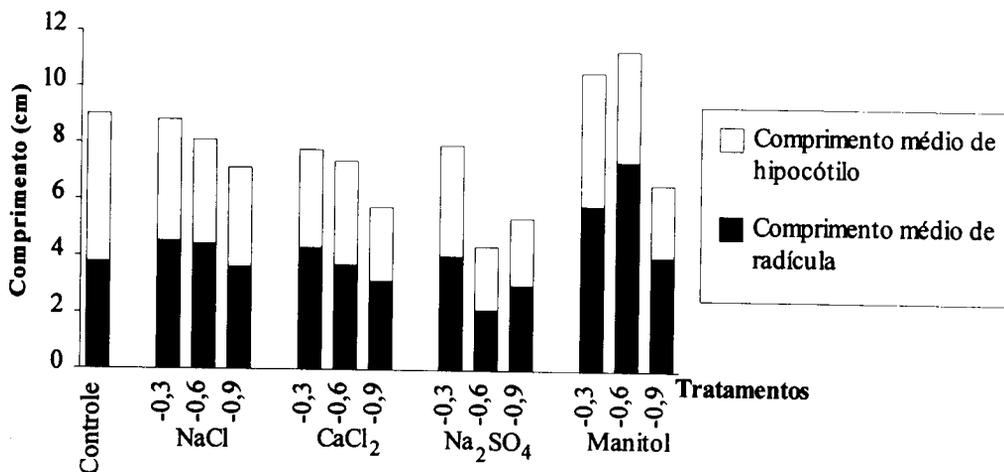


FIG. 3. Comprimentos médios de radícula e hipocótilo de plântulas de algarobeira submetidas a diferentes estresses hídricos e salinos. As concentrações dos sais e do manitol são expressas em MPa.

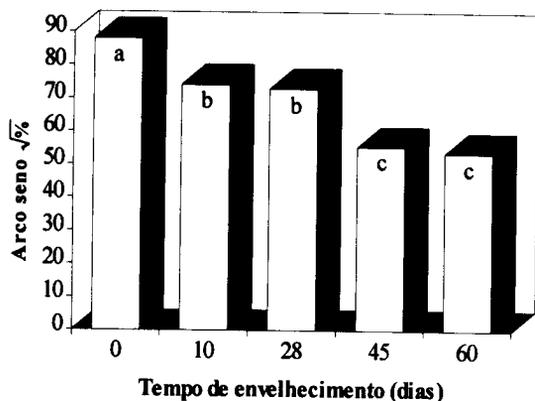


FIG. 4. Arco-seno  $\sqrt{\%}$  de germinação de sementes de algarobeira submetidas a diferentes períodos de envelhecimento precoce. As letras representam o resultado da análise de variância.

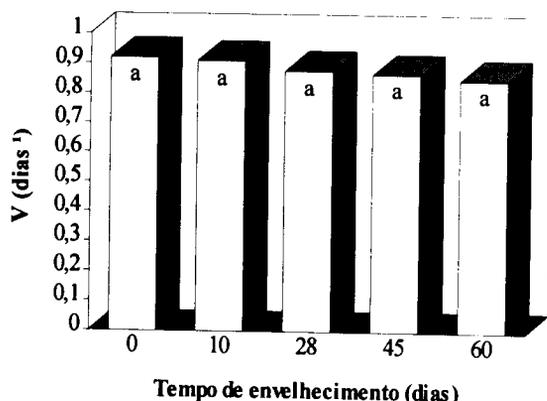


FIG. 5. Velocidade média de germinação de sementes de algarobeira submetidas a diferentes períodos de envelhecimento precoce. As letras representam o resultado da análise de variância.

entre deterioração da membrana e perda de vigor e germinação. Em sementes de *Piptadenia communis* submetidas ao envelhecimento, ocorre diminuição da porcentagem e da velocidade de germinação diretamente proporcionais ao aumento do tempo (Borges et al., 1992).

Mello & Tillmann (1987) levantaram a dificuldade de padronização dos testes de envelhecimento, devido à variação de temperatura e ao tempo de exposição suportada por cada espécie.

Segundo Bewley & Black (1985), sementes de leguminosas que possuem casca dura apresentam maior retenção da longevidade, mesmo em condições estressantes.

As plântulas originadas de sementes submetidas ao envelhecimento precoce sofreram uma pequena redução na média de tamanho, principalmente em decorrência da diminuição do comprimento do hipocótilo (Fig. 6). O tempo de 28 dias, apesar de não apresentar redução no comprimento médio total da plântula, mostra um valor médio de hipocótilo menor que o do controle, com aumento do comprimento médio da radícula.

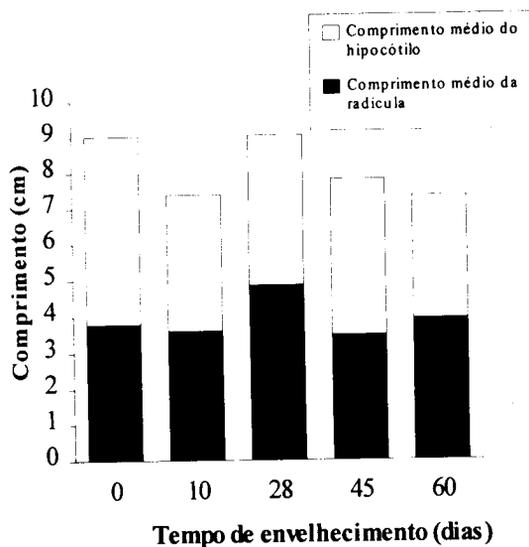


FIG. 6. Comprimento de radícula e de hipocótilo de plântulas de algarobeira originadas de sementes submetidas a diferentes períodos de envelhecimento precoce.

## CONCLUSÕES

1. Sementes de algarobeira apresentam viabilidade prolongada quando armazenadas em embalagens impermeáveis e baixas temperaturas.

2. A germinação das sementes de algarobeira não é inibida pela presença de sais até -0,3 MPa, mas é reduzida significativamente em potenciais a partir de -0,6 MPa no tocante ao NaCl, e -0,9 MPa no tocante aos demais sais testados.

3. O sal que mais interfere no crescimento das plântulas de algarobeira é o  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

4. As sementes de algarobeira são bastante resistentes ao envelhecimento precoce.

## REFERÊNCIAS

- ADAMO, P. E.; SADER, R.; UNGARO, M. R. G. Comportamento germinativo de sementes de girassol submetidas ao teste de envelhecimento precoce. *Revista Brasileira de Sementes*, v.6, n.3, p.15-20, 1984.
- ALMEIDA, J. T. **Algarobeira**: promissora forrageira para a região Semi-Árida. [S.l.]: EMATERBA, 1983. 52p. (Série de Estudos Diversos, 13).
- ASHRAF, C. M.; ABU-SHAKRA, S. Wheat seed germination under low temperature and moisture stress. *Agronomy Journal*, v.70, n.1, p.135-139, Jan./Feb. 1978.
- BARBOSA, D. C. A. **Estudos ecofisiológicos em *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan - Aspectos da germinação e crescimento**. [S.l.:s.n.], 1980. Tese de Doutorado.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: Physiology of development and germination*. 2. ed. New York: [s.n.], 1985. 367p.
- BORGES, E. E. L.; CASTRO, J. L. D.; BORGES, R. C. G. Alterações fisiológicas em sementes de jacaré (*Piptadenia communis*) submetidas ao envelhecimento precoce. *Revista Brasileira de Sementes*, v.14, n.1, p.9-12, 1992.
- BORGES, E. E. L.; CASTRO, J. L. D.; BORGES, R. C. G. Avaliação fisiológica de sementes de cedro submetidas ao envelhecimento precoce. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.12, n.1, p.56-62, 1990.

- BRASIL. Ministério da agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1988.
- CHOINSKI JUNIOR, J. S.; TUOHY, J. M. Effect of water potential and temperature on the germination of four species of African savanna trees. **Annals of Botany**, v.68, p.227-233, 1991.
- DELL'AQUILLA, A. Water uptake and protein synthesis in germinating wheat embryos under the osmotic stress of polyethylene glycol. **Annals of Botany**, n.69, p.167-171, 1992.
- DELL'AQUILLA, A.; SPADA, P. The effect of salinity stress upon protein synthesis of germinating wheat embryos. **Annals of Botany**, n.72, p.97-101, 1993.
- FELKER, P. Produção de vagens de *Prosopis juliflora* - uma comparação de germoplasma norte americano, sul americano, havaiano e africano, em plantações de três a cinco anos de idade. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ALGARROBA. Natal: EMPARN, 1982. p.112-134.
- HADAS, A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solutions. **Journal of Experimental Botany**, v.27, n.98, p.480-489, June 1976.
- KHAN, A. A. Seed dormancy: changing concepts and theories. In: KHAN, A. A. **The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination**. [S.l.]: North-Holland Publishing Company, 1977. p.29-50.
- LABOURIAU, L. G. Seed germination as a thermobiological problem. **Radiation and Environmental Biophysics**, n.15, p.345-366, 1978.
- LIN, S. S. Alterações na lixiviação eletrolítica, germinação e vigor da semente de feijão envelhecida sob alta umidade relativa do ar e alta temperatura. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.2, n.2, p.1-6, 1990.
- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 4th ed. New York: Pergamon Press, 1989. 270p.
- MELLO, V. D. C., TILLMANN, M. A. A. O teste de vigor em câmara de envelhecimento precoce. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.2, 1987.
- PARMAR, M. T.; MOORE, R.P. Carbavax 6000, mannitol and sodium chloride for simulating drought conditions in germination of corn (*Zea mays* L) of strong and weak vigor. **Agronomy Journal**, n.30, p.192-195, 1968.
- PEREZ, S. C. J. G. A. **Aspectos ecofisiológicos da germinação de sementes de *Prosopis juliflora* (Sw)** D.C. São Carlos: [s.n.], 1988. 214p. Tese de Doutorado.
- PEREZ, S. C. J. G. A.; MORAES, J. A. P. V. Influências da temperatura, da interação temperatura-giberelina e do estresse térmico na germinação de *Prosopis juliflora* (Sw) D.C. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.2, n.1, p.41 - 53, 1990.
- PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Effects of NaCl salinity *in vivo* and *in vitro* on the proteolytic activity of *Vigna sinensis* (L.) Savi cotyledons during germination. **Revista Brasileira de Botânica**, n.1, p.83-88, 1978.
- SANTOS, V. L. M.; CALIL, A.C.; RUIZ, H.A.; ALVARENGA, E. M.; SANTOS, C. M. Efeito do estresse salino e hídrico na germinação e vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.14, n.2, p.189-194, 1992.
- SILVA, M. J.; SOUZA, J.G.; BARREIRO NETO, M.; SILVA, J.V. Seleção de três cultivares de algodoeiro para tolerância à germinação em condições salinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.4, p.655- 659, 1992.
- SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W. G. **Métodos estadísticos**. México: Companhia Editorial Continental, 1978.
- UNGAR, I. A. Germination ecology of halophytes. In: TASKS for vegetation science. [S.l.]: W. Junk Publishers, 1982. v.2, p.143-154.
- WEAST, R. C. **Handbook of chemistry and physics**. Cleveland: The Chemical Rubber Co, 1970/71.