

Efeitos do estresse hídrico induzido durante a germinação da mamona, *Ricinus communis* (Euphorbiaceae)

Fábio F. da Silva^{1*}, Marcelo Polo² & Amanda C. Rodrigues³

RESUMO: Com o propósito de se verificar os efeitos do estresse hídrico sobre a taxa de germinação de sementes de mamoneira (*R. communis* L.) em diferentes tempos de embebição e concentrações crescentes de polietilenoglicol (PEG-6000), foram realizados testes com sementes ruderais de mamona. As sementes foram pesadas a cada seis horas durante o período de 48 horas para obtenção da curva de embebição. O tempo de embebição se mostrou de grande importância durante o processo de germinação podendo atuar tanto como promotor em 24 h quanto inibidor em 48 h. A análise de variância e a regressão deixaram clara a influência das diferentes concentrações de PEG-6000, assim como do tempo de embebição nos diferentes tratamentos com relação à germinabilidade entre as variáveis analisadas. Podemos concluir que a germinação é alterada de forma benéfica ou nociva sob diferentes tempos de embebição e que potenciais osmóticos menores ou iguais a -1,0 MPa são prejudiciais à germinação.

Palavras chave: polietilenoglicol, restrição de água, semente ruderal.

ABSTRACT: Effects of induced water stress during the germination of the castor, seed, *Ricinus communis* (Euphorbiaceae). We tested the effects of water stress on the germination rate of ruderal castor seeds (*R. communis* L.) at different times of soaking and increasing concentrations of polyethylene glycol (PEG-6000). Seeds were weighed every six hours during 48 horas to generate the soaking curve. Soaking was important during germination, acting both as a promoter in 24 h, and as inhibitor in 48 h. Analysis of variance and regression showed the influence of different concentrations of PEG-6000 and the time of imbibition in different treatments regarding germinability and variables analyzed. We conclude that germination is altered in a positive or negative way under different imbibition times, and osmotic potentials lower than or equal to -1.0 MPa are harmful to seed germination.

Key words: polyethylenglicol, ruderal seed, water restriction.

¹ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Alfenas, 37.130-000, Alfenas, MG, Brasil.

² Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Alfenas, 37.130-000, Alfenas, MG, Brasil.

³ Departamento de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, 37.200-000, Lavras, MG, Brasil.

* Correspondente: fa_biounifal@yahoo.com.br

Recebido: 1 dez 2008. Aceito: 15 jul 2009.

Introdução

A mamona (*Ricinus communis* L.) pertencente à família Euphorbiaceae, é heliófila, de razoável xerofitismo e ampla capacidade adaptativa (Amorim *et al.*, 2001). A emergência das plântulas de mamona pode ser influenciada por diversos fatores, como temperatura, umidade ou por condições estressantes. A germinação inicia-se com a captação de água pela semente e termina com o crescimento do embrião, que se torna visível quando sua radícula transpassa o envoltório da semente (Bewley, 1997). A germinação é a protrusão de uma parte do embrião através dos tegumentos. Essa é uma resposta do tipo “tudo ou nada”, que tem sido descrita pela análise de curvas, pelas quais pode-se avaliar a germinação acumulada em diferentes intervalos de tempo. O formato destas curvas descreve, em última análise, a distribuição da taxa de germinação (G%) em função do tempo (Cardoso & Pereira, 2008). Durante a germinação, potenciais osmóticos muito baixos influenciam a absorção de água, inviabilizando a sequência dos eventos germinativos (Bansal *et al.*, 1980).

O polietilenoglicol (PEG-6000) tem sido utilizado com sucesso em trabalhos para simular os efeitos da restrição hídrica por não penetrar nas células, não ser degradado e não causar toxidez, devido ao seu alto peso molecular. Ele atua como um agente osmótico que simula um determinado potencial osmótico (Ψ_{os}) que pode ser estabelecido pela equação de Van't Hoff (Braga *et al.*, 1999; Souza & Cardoso, 2000). A diminuição da germinação de sementes submetidas ao estresse hídrico é atribuída à redução da atividade enzimática, resultando em menor desenvolvimento meristemático.

Esse trabalho teve por objetivo medir os efeitos do estresse hídrico durante a germinação de sementes de *R. communis* por um período de 15 dias, a fim de determinar a interação de diferentes tempos de embebição e concentrações de PEG-6000.

Métodos

Foram utilizadas sementes de *R. communis* coletadas durante o ano de 2008 de plantas que crescem espontaneamente em terrenos baldios na cidade de Alfenas, Minas Gerais (21°27'S 45°56'W). Foram utilizadas espécies ruderais devido ao maior pool gênico das mesmas, que pode apresentar maior variabilidade de tolerância a diferentes tipos de estresses que uma espécie cultivada. Para tal, foram escolhidas 15 plantas matrizes. As sementes foram coletadas manualmente, atendo-se à maturação, que foi observada pela dispersão de parte das sementes. Após feita a coleta, os frutos foram secos a sombra, até

ocorrer a liberação das sementes, que foram selecionadas, descartando-se as imaturas, danificadas e chochas. Foi feita uma separação visual das mesmas, por tamanho e coloração, mantendo aquelas de tamanho mediano e coloração marrom escuro. Durante a caracterização visual, foram observadas sementes pequenas, médias e grandes, sendo as médias em maior número. Quanto a coloração, foram observadas sementes cinza rajada de preto, marrom claro e escuro rajadas de preto. Foram coletadas, em média 2000 sementes por coleta, das quais se retirava aproximadamente 50% de diásporos viáveis. O armazenamento foi feito em potes de vidro, em câmara fria a 10°C.

As sementes tiveram as carúnculas retiradas e foram escarificadas mecanicamente, utilizando lixa número 40, para aumentar a entrada de água e trocas gasosas. A sementeira foi feita em caixas gerbox, colocando-se duas camadas de papel de filtro, umedecidas com 5 ml de água destilada. Foram distribuídas 25 sementes sobre a superfície do papel. A contagem da germinação foi realizada diariamente após a sementeira, de acordo com os preceitos estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Foi utilizada uma temperatura alternante 20–30°C com termoperíodo de 12 horas, que se mostrou mais efetiva na promoção da germinação em testes prévios. Os experimentos foram mantidos em escuro contínuo, em câmara de germinação do tipo BOD.

A curva de embebição das sementes foi determinada mantendo-as imersas em soluções de diferentes concentrações de PEG-6000, com pesagem inicial e a intervalos de 6 até 48 horas, ao final das quais as sementes foram transferidas para os gerbox. A cada intervalo de tempo e antes de cada pesagem, as sementes foram secas com papel absorvente e posteriormente recolocadas nas diferentes soluções. Com os valores do ganho de peso da amostra durante o tempo de 48 horas, foi feita a curva de embebição nos diferentes potenciais osmóticos. As soluções foram trocadas a cada seis horas, para evitar anóxia do meio.

As sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio 4% durante 10 min. Em seguida, foram lavadas com água destilada por várias vezes e foi aplicado o antifúngico de ação sistêmica Benomil (Benlate). As sementes foram postas para germinar em soluções de PEG-6000 com potenciais osmóticos de: 0 MPa; -0,1 MPa; -0,5 MPa; -1,0 MPa. A quantidade de PEG-6000 necessária para as soluções com os potenciais foi obtida por meio da equação proposta por Michel (1970).

Antes da sementeira, as sementes foram divididas em três grupos: 1) sementes não embebidas; 2) sementes embebidas por 24 horas; 3) sementes embebidas por 48 horas. Os experimentos foram realizados empregando-se um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada amostra. Foram calculados a porcentagem de germinação (%G) e o índice de velocidade

de germinação (IVG), somando-se o número de sementes germinadas, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da sementeira, conforme Maguire (1962). Foram considerados o tempo e a quantidade de sementes germinadas, em porcentual, em cada um dos experimentos.

Os cálculos de germinação foram obtidos por meio das equações citadas por Laboriau & Agudo (1987). As comparações dos valores médios de porcentagem de germinação foram feitas através da análise de variância. Os valores das porcentagens de germinação foram transformados em arco seno $\sqrt{\%}$, e as médias comparadas por meio da análise de regressão polinomial.

Resultados

A dinâmica de embebição nos diferentes Ψ_{os} permite inferir que estas sementes selvagens são sensíveis à restrição hídrica do meio (Figura 1), e que ela segue um determinado padrão com a diminuição da mesma de acordo com a diminuição do Ψ_{os} , como já era esperado. Foi observado também um crescente ganho de água pela semente no decorrer das 48 horas de embebição a que a mesma foi exposta.

A taxa de germinação das sementes que não foram previamente embebidas, seguiu padrão diretamente proporcional ao aumento da embebição (Figura 2A). O IVG estabilizou no décimo segundo dia para o potencial osmótico -0,5 MPa, chegando a aproximadamente 50% de germinação em 24 horas de embebição. Para os tratamentos a 0 MPa, -0,1 MPa e -1,0 MPa, a porcentagem de germinação estabilizou no 14º dia de análise. Porém, a resposta de germinação variou de 60%, 55% e 30%, respectivamente aos tratamentos citados anteriormente.

Em termos gerais, para o tempo de embebição por 24 horas (Figura 2B) observou-se a maior taxa de germinação quando comparada com os diferentes tempos de embebição. Analisando os diferentes potenciais osmóticos, o tratamento a -0,5 MPa foi o que obteve a maior %G, chegando a 85%, estabilizando a curva de germinação no 14º dia, juntamente com o tratamento 0 e -0,1 MPa. Para os tratamentos à -0,1 MPa, 0 MPa e -1,0 MPa, observou-se uma maior porcentagem de germinação de 75%, 65% e 50%, respectivamente.

No tempo de embebição de 24 horas, observou-se o maior IVG, mesmo nos diferentes Ψ_{os} analisados (Figura 3), demonstrando que esse tratamento foi o que respondeu melhor ao estresse hídrico, seguido dos tempos de 0 e 48 horas. O IVG foi superior no tratamento -0,5 MPa em embebição por 24 e 48 horas, sendo esse fator de variação ocasionado possivelmente pelo período prévio de embebição, pelo qual essas sementes passaram. Já no tratamento sem embebição, obteve-se um decréscimo constante no IVG à medida que o Ψ_{os} foi

decrecendo. No geral, todos os testes realizados a -1,0 MPa sofreram grandes interferências devido ao baixo Ψ_{os} , contudo esse padrão não se manteve quando foram analisados os diferentes tempos de embebição.

Sem embebição (0 h), as médias de germinabilidade seguiram o padrão das médias estimadas, sendo que quanto menor o potencial osmótico, menor a taxa de germinação (Figura 4A). No entanto, o mesmo não aconteceu com embebição de 24 h (Figura 4B). O teste de regressão não foi aplicado ao tratamento de 48 horas, pois essa interação foi muito inferior quando comparada aos outros tratamentos, sendo os resultados irrelevantes neste ponto.

A análise de variância e teste de regressão entre os diferentes potenciais osmóticos e tempos de embebição deixaram clara a influência dos diferentes tratamentos com relação à germinabilidade. Para o tempo de 0 h, houve correlação entre as análises ($R^2= 0,9757$; $p<0,05$), mas para o tratamento 24 h não houve ($R^2=0,8504$; $p>0,05$), sendo essa diferença possivelmente ocasionada pelo Ψ_{os} de -0,5MPa.

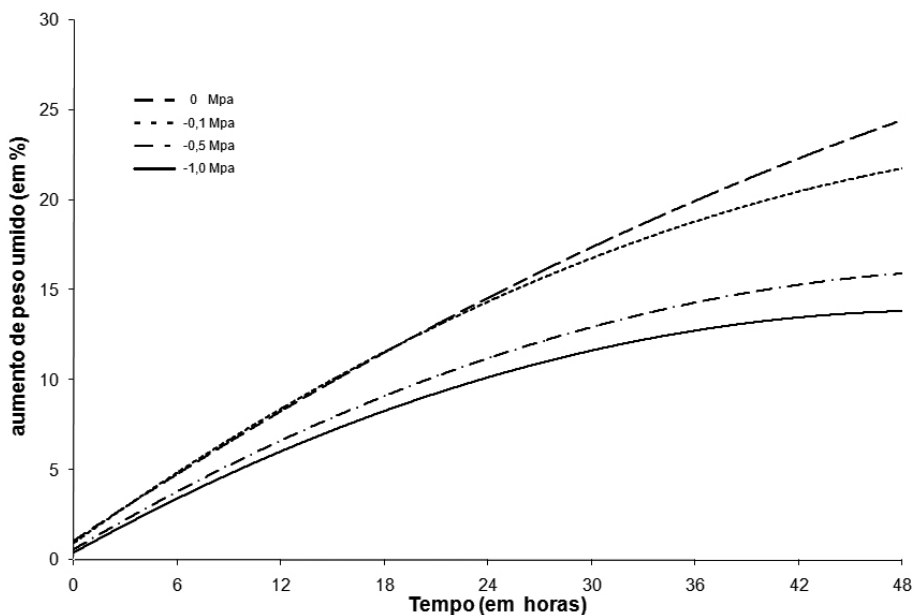


Figura 1. Curva de embebição de sementes de *R. communis* em diferentes potenciais hídricos, onde foi calculada a porcentagem de água acumulada pela semente, em cada observação realizada a cada 6 horas durante 48 horas de embebição.

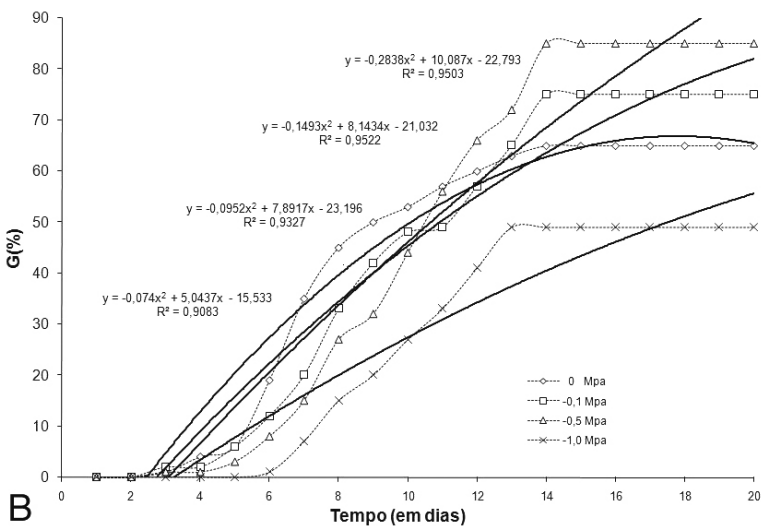
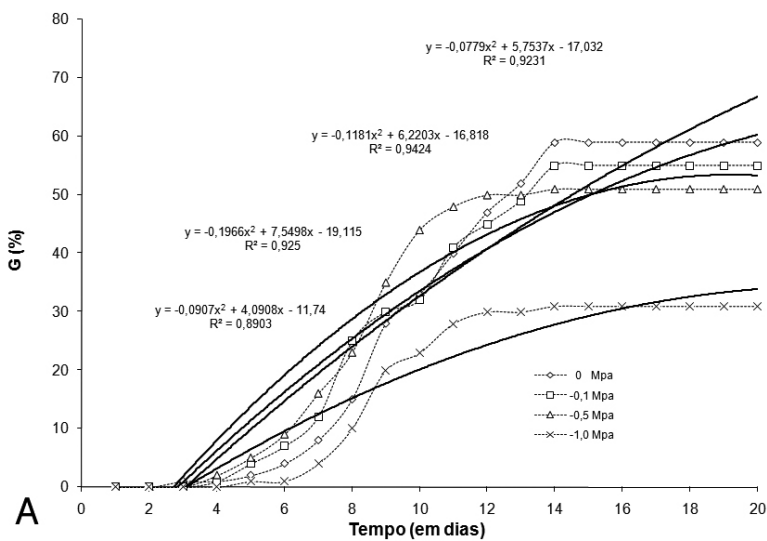


Figura 2. Porcentagem acumulada de germinação (G%) de sementes de *R. communis* em diferentes potenciais hídricos, em diferentes tempos de embebição 0 h (A), 24 h (B) e 48 h (C, próxima pág.).

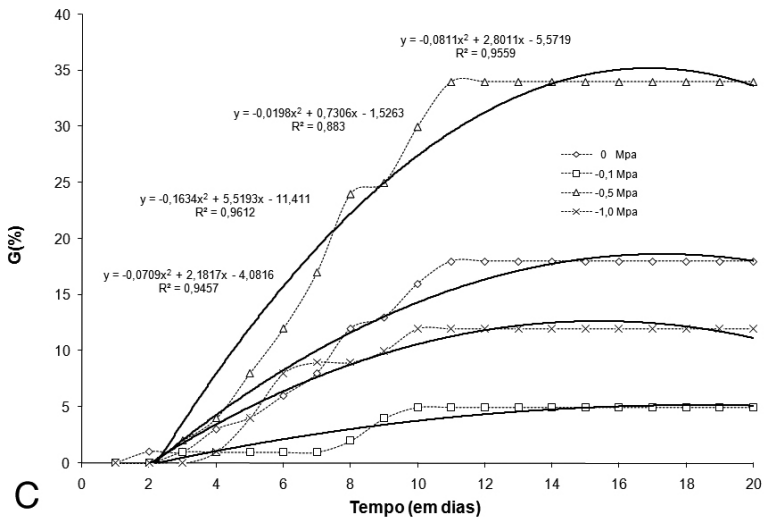


Figura 2. (cont.). Porcentagem acumulada de germinação (G%) de sementes de *R. communis* em diferentes potenciais hídricos, em diferentes tempos de embebição 0 h (A, pág. anterior), 24 h (B, pág. anterior) e 48 h (C).

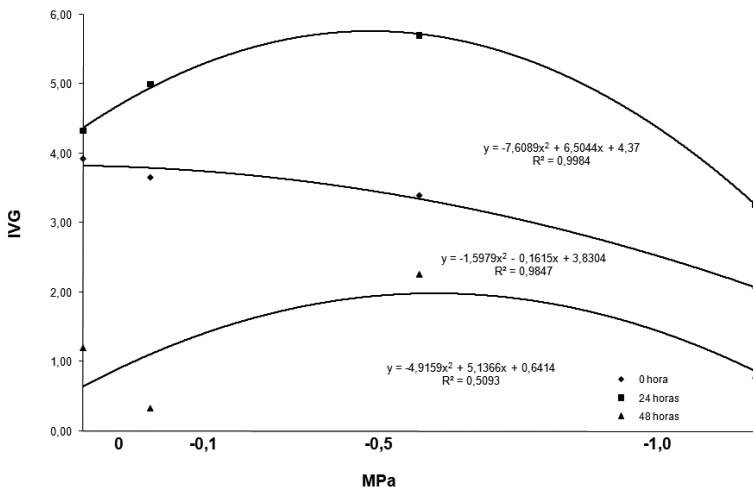


Figura 3. Índice de velocidade de germinação de *R. communis* para os tratamentos a 0, 24 e 48 horas submetidos a diferentes concentrações de polietileno glicol.

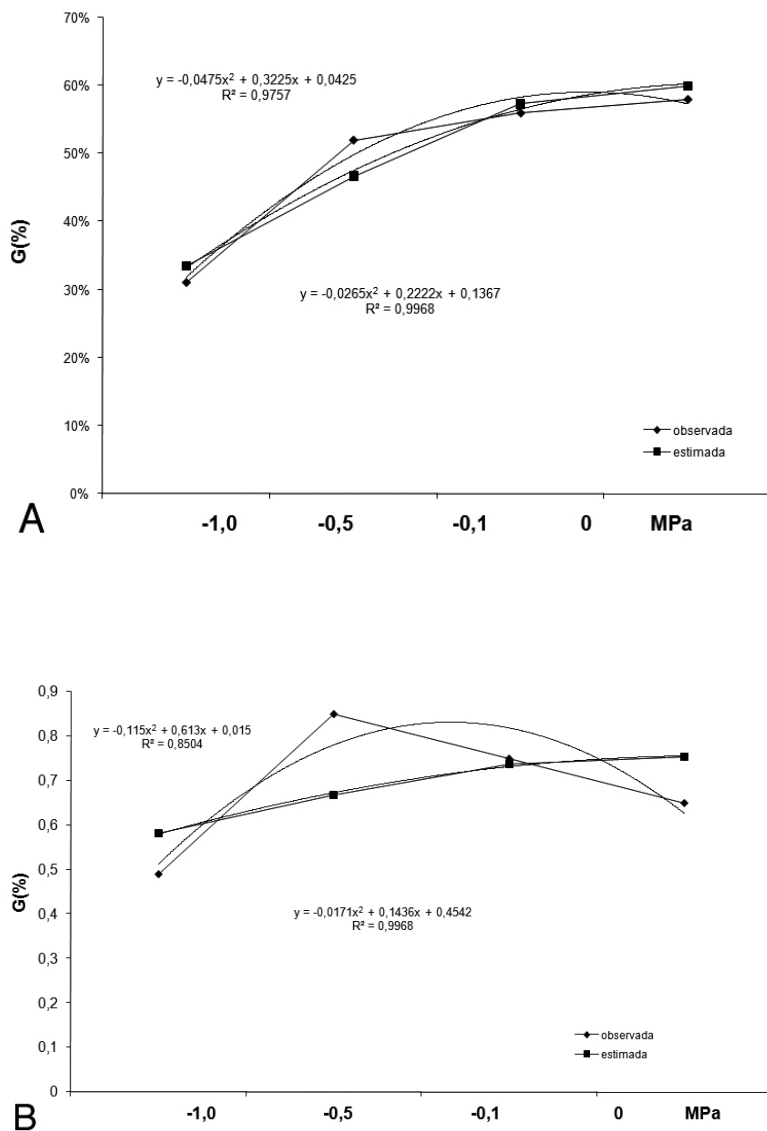


Figura 4. Porcentagem acumulada de germinação (G%) de sementes de *R. communis* nos tempos de embebição 0 h (A) e 24 h (B) em diferentes potenciais osmóticos.

Discussão

O processo de absorção de água pelas sementes evolui de acordo com o padrão trifásico (Bewley & Black, 1994). A velocidade de embebição e o ganho de peso são rápidos e essa fase possui duração de uma a duas horas (Carvalho & Nakagawa, 2000). Entretanto, as sementes de mamona atingem essa etapa após 24 horas de embebição (Souza & Carvalho, 2008), sendo este o ponto de mudança para a segunda fase, que é marcada por uma redução da taxa de respiração e pela diminuição da absorção e, conseqüentemente, pela redução na taxa de germinação. Essas conclusões são corroboradas pelos resultados apresentados, onde a curva de embebição foi crescente até 48 horas, porém com grandes danos à viabilidade destas sementes. Danos de embebição são resultantes da rápida absorção de água pelos cotilédones durante o processo de embebição, levando à alta lixiviação de solutos das sementes e à morte celular (Powell & Matthews, 1978). A diminuição da germinação de mamona com embebição por 48 horas provavelmente tem estreita relação com essa perda de compostos e morte celular. O dano pode ser tão alto nesta fase de embebição que a semente responde de forma diferente aos potenciais osmóticos utilizados quanto ao IVG (Figura 3).

Em relação aos diferentes potenciais osmóticos, o de $-0,5$ MPa se mostrou benéfico para a germinação, sendo superior até mesmo ao controle, contudo esse fato foi notado apenas nas sementes que tiveram embebição prévia. A porcentagem final de germinação mostra que o consórcio entre o Ψ_{os} $-0,5$ MPa e 24 horas de embebição são ideais para a germinação de mamona. Em contrapartida, o tratamento com Ψ_{os} $-1,0$ MPa foi prejudicial à germinação e o IVG foi de 2,06 para sementes não embebidas, 3,27 para sementes embebidas por 24h e 0,8 para as embebidas por 48h. Em todas as circunstâncias analisadas, o potencial osmótico de $-1,0$ MPa prejudicou a germinação.

Em sementes de couve, a porcentagem de germinação e o índice de germinação começam a reduzir a partir do Ψ_{os} $-0,2$ MPa, sendo que a $-1,2$ MPa a germinação não ocorre, o que demonstra a influência de altos potenciais hídricos sobre o IVG também em outras espécies (Silva *et al.*, 2007). O tratamento com Ψ_{os} $-0,5$ MPa foi o que teve o maior IVG. Para o potencial osmótico $-0,1$ MPa a grande variação em relação ao IVG não era esperada, tendo em vista as diferenças significativas observadas. Para o $\Psi_{os} = 0$ não houve grandes variações, que podem ter sido ocasionadas por mecanismo interno das sementes, como a possível redução do Ψ_{os} ou mesmo uma redução parcial do metabolismo até que as condições externas fossem favoráveis em garantir o retorno do crescimento do embrião. Espécies que germinam em baixo potencial hídrico, como as que ocorrem em deserto ou

regiões áridas, alcançam altos valores de germinação em potenciais hídricos que variam entre -0,1 a -1,6 MPa (Kigel, 1995).

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) concedeu bolsa de iniciação científica a F. F. Silva e D. A. Nogueira auxiliou nas análises estatísticas.

Referências

- AMORIM, N. M. S. & ARAÚJO, A. E. 2001. Clima e solo. In D. M. P. Azevedo, & E. F. Lima (eds.). *O agronegócio da mamona no Brasil*. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p. 63–76.
- BANSAL, R. P., BHATI, P. R. & SEM, D. N. 1980. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. *Biology Plantarum*, 22(2): 327–331.
- BEWLEY, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9(7): 1055–1066.
- BEWLEY, J. D. & BLACK, M. 1994. *Seeds: physiology of development and germination*. Plenum Press, New York, 445 p.
- BRAGA, L. F., SOUSA, M. P., BRAGA, J. F. & SÁ, M. E. 1999. Efeito da disponibilidade hídrica do substrato na qualidade fisiológica de sementes de feijão. *Revista Brasileira de Sementes*, 21(2): 95–102.
- BRASIL. 1992. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Brasília, 365 p.
- CARVALHO, N. M. & NAKAGAWA, J. 2000. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Funep, Jaboticabal, 588 p.
- CARDOSO, V. J. M. & PEREIRA, F. J. M. 2008. Germinação de sementes de *Drymaria cordata* (L.) Willd. ex Roem & Schult.: efeito do potencial hídrico. *Revista Brasileira de Botânica*, 32: 253–261.
- KIGEL, J. 1995. Seed germination in arid and semiarid regions. In J. Kigel & G. Galili (eds.). *Seed development and germination*. CRC Press, New York, p. 645–699.
- LABOURIAU, L. G. & AGUDO, M. 1987. On the physiology of germination in *Salvia hispanica* L. temperature effects. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 59(1): 37–56.
- MAGUIRE, J. D. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation

- for seedling and vigor. *Crop Science*, 2(2): 176–177.
- MICHEL, B. E. 1970. Carbowax 6000 compared with mannitol as a suppressant of cucumber hypocotyl elongation. *Plant Physiology*, 45(4): 507–509.
- POWELL, A. A. & MATTHEWS, S. 1978. The damaging effect of water on dry pea embryos during imbibition. *Journal of Experimental Botany*, 29(112): 1215–1229.
- SILVA, K. B., ALVES, E. U., BRUNO, R. L. A., GONÇALVES, E. P. & OLIVEIRA, L. M. 2007. Qualidade fisiológica de sementes de couve em função do estresse hídrico induzido por soluções de polietileno. In *Resumos do 47º Congresso Brasileiro de Olericultura e IV Simpósio Brasileiro de Curcubitáceas*. Porto Seguro.
- SOUZA, G. M. & CARDOSO, V. J. M. 2000. Effects of different environmental stress on seed germination. *Seed Science Technology*, 28(3): 621–630.
- SOUZA, L. A. & CARVALHO, M. L. M. 2008. Curva de absorção de água em sementes de mamona. In *Anais do V Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel*. Lavras.