

## Aspectos fisiológicos e bioquímicos de sementes de *Erythrina velutina* Willd. na tolerância aos estresses abióticos durante a germinação e crescimento inicial de plântulas

Renata Conduru Ribeiro<sup>1</sup>, Bárbara França Dantas<sup>2</sup> & Claudinéia Regina Pelacani<sup>3</sup>

A germinação de espécies arbóreas tropicais ainda necessita de informações mais precisas sobre fatores abióticos envolvidos intrinsecamente às sementes, que podem interferir no processo germinativo delas.

O conhecimento para o manejo e análise de sementes da maioria das espécies florestais nativas do Nordeste do Brasil, de modo que possam fornecer dados que possam caracterizar seus atributos físicos e fisiológicos, ainda é insuficiente. Nesse sentido, o estudo da germinação de sementes, o conhecimento sobre como o estresse influencia esse processo tem importância especial na ecofisiologia para avaliar os limites

---

<sup>1</sup>Laboratório de Análise de Sementes (LASESA), Embrapa Semiárido; rconduru@gmail.com

<sup>2</sup> LASESA; rconduru@gmail.com, barbara.dantas@embrapa.br

<sup>3</sup> Laboratório de Germinação (LAGER), Departamento de Biologia (UEFS); claudineiapelacani@gmail.com

de tolerância e a capacidade de adaptação das espécies, pois os fatores abióticos interferem na germinação das sementes (LARCHER, 2006).

O processo germinativo se inicia com a absorção de água por embebição, porém, há necessidade de que a semente alcance um nível de hidratação que permita a reativação dos seus processos metabólicos para o estabelecimento das plântulas. Para que a germinação ocorra satisfatoriamente, a semente, viva e não dormente, deve dispor de condições favoráveis de ambiente. Os fatores ambientais essenciais à germinação das sementes são a temperatura, água e o oxigênio. O grau de exigência desses fatores é variável entre as espécies e é determinado pelo genótipo e pelas condições ambientais prevalentes durante a formação das sementes (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1989).

Assim, como em plantas diversas alterações podem ocorrer nas sementes durante a exposição ao estresse. A sensibilidade à dessecação, por exemplo, é um fenômeno fisiológico complexo e envolve uma série de mecanismos deletérios e/ou protetores dependendo das condições da dessecação (LI & SUN, 1999).

São vários os mecanismos sugeridos e relacionados com a tolerância à dessecação em sementes ortodoxas, tais como o acúmulo de reservas

insolúveis e a presença de um sistema de reparo durante a reidratação de sementes secas. A ausência ou expressão insuficiente de um ou mais desses mecanismos é considerada a causa da sensibilidade à dessecação em sementes recalcitrantes (PAMMENTER & BERJAK, 1999). Isso pode também explicar e determinar o momento durante a embebição, no qual sementes ortodoxas perdem a capacidade de tolerância a uma eventual condição de restrição hídrica, afetando diretamente a germinação e o estabelecimento plântulas (BUITINK *et al.*, 2003). Portanto, o estudo da tolerância ao estresse por seca converge com o entendimento da tolerância à dessecação. Estudos com sementes ortodoxas e com plantas tolerantes à desidratação têm possibilitado a identificação de vários genes envolvidos na tolerância à dessecação, como *ABI5*, genes *LEA* e '*heat-shock*' (VICIENT *et al.*, 2000; BARTELS & SALAMINI, 2001; RAMANJULU & BARTELS, 2002; BERNACCHIA & FURINI, 2004).

Aparentemente, a imposição de estresse osmótico as sementes podem induzir tolerância a outros tipos de estresses em espécies cultivadas, incluindo tolerância à seca e a sais (BURGASS & POWELL, 1984; BRUGGINK *et al.*, 1995; CAYUELA *et al.*, 1996; CADMAN *et al.*, 2006). Esse parece ser um fenômeno evolutivo natural em espécies nativas, de adaptação a condições adversas. Dentro desse enfoque, percebe-se a importância das pesquisas relativas a estresses em sementes, como componente essencial e inicial de tolerância às condições adversas ao longo do ciclo de vida natural da maioria das espécies vegetais.

Nesse sentido, são necessários avanços no desenvolvimento de metodologias adequadas, as quais somente poderão existir com o conhecimento das necessidades ecológicas e do comportamento fisiológico das espécies. A fim de suprir essa necessidade, as pesquisas sobre os mecanismos de germinação e conservação de sementes de espécies nativas, de valor econômico e potencial agrônomo ou biotecnológico devem ser consideradas prioritárias, como *Erythrina velutina* Willd. (Leguminosae – Papilionoideae), uma espécie florestal nativa da caatinga, da região nordeste brasileira, que tem mostrado um comportamento de tolerância ou



mecanismos de adaptações, frente a estresses abióticos, especialmente térmico, salino e hídrico (RIBEIRO-REIS, 2012a).

### **Influência dos estresses abióticos na resposta germinativa de sementes**

O estresse é considerado um desvio das condições ótimas que induz mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo submetido e conforme a duração deste, essas mudanças podem ser reversíveis ou tornarem-se permanentes (LARCHER, 2006), segundo ainda esse mesmo autor, um dos métodos mais difundidos para determinação da tolerância das plantas aos estresses abióticos é a observação da capacidade germinativa das sementes nestas condições.

Para que as sementes germinem é necessário que existam condições favoráveis de luz, temperatura e disponibilidade de água (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012). A germinação é um processo complexo em que a semente deve recuperar-se rapidamente da secagem sofrida no final do processo de maturação, retomando uma intensidade sustentada do metabolismo, que proporcione eventos celulares essenciais para permitir a emergência do embrião, e se preparar para o crescimento subsequente das mudas (NONOGAKI *et al.*, 2010). O início desse processo se dá pela

absorção de água pela semente seca até que todas as matrizes e os conteúdos celulares estejam completamente hidratados. Essa é uma fase crítica do biociclo vegetal, pois o processo está associado a vários fatores de natureza extrínseca e intrínseca. Fatores intrínsecos são constituição química, além de processos fisiológicos e metabólicos característicos das sementes. Fatores extrínsecos são referentes ao ambiente físico externo às sementes, como temperatura, disponibilidade de água e qualidade física e química do substrato (BEWLEY & BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005).

### **Estresse Térmico**

A temperatura influencia o metabolismo das sementes, alterando processos bioquímicos ou fisiológicos, existindo temperaturas limitantes e ótimas para a germinação. A temperatura é responsável não somente pela velocidade de germinação como também pelo percentual final de germinação (FERRAZ-GRANDE & TAKAKI, 2001; MEDEIROS-SILVA *et al.*, 2002; SOCOLOWSKI & TAKAKI, 2004).

A quantidade de água absorvida durante a hidratação das sementes depende da temperatura e da quantidade de água disponível. Os efeitos da temperatura podem variar em diferentes espécies e

variedades, bem como diferente localização ambiental das plantas matrizes da mesma espécie ou variedade (BASKIN & BASKIN, 2001; VERMA *et al.*, 2010; KUMAR *et al.*, 2011).

A faixa de 20 a 30°C mostra-se adequada para a germinação de grande número de espécies subtropicais e tropicais, em *E. velutina* a germinação foi afetada pelas temperaturas baixas e elevadas de incubação. A maior taxa de germinação (%) ocorreu em 25°C (99% de sementes germinadas), e média de 2,99 dias, sendo considerada a temperatura ótima de germinação. O tempo médio de germinação, velocidade média e parâmetros de índice de uniformidade nas demais temperaturas aplicadas foram mais sensíveis às variações de temperatura nas sementes de *E. velutina* (Tabela 1).

Resultados demonstrando o efeito da temperatura na germinação de outras espécies leguminosas também foram descritos por Varela *et al.* (2005) com itaubarana (*Acosmium nitens* (Vog.) Yakovlev) uma Caesalpinioideae, onde para os valores de porcentagem de germinação, a temperatura de 25°C foi significativamente superior quando comparada a 20, 30 e 35°C. A germinação de *Acacia polyphylla* DC. uma Mimosoideae, foi diminuída em 15°C, e valores de germinação mais elevados foram obtidos a 25°C (ARAÚJO NETO *et al.*, 2003). *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore apresenta temperatura ótima de 35°C para germinação (CABRAL *et al.*, 2003).

Pensando a biodiversidade: mulungu (*Erythrina* sp.)

Para *Poecilanthe parviflora* Benth. 25°C e 30°C foram as temperaturas apropriadas para a germinação (VALADARES *et al.*, 2008). Assim, é evidente que a temperatura é um fator crítico para a germinação de sementes, mas que para a maioria das espécies a temperatura de 25°C está entre as mais apropriadas para a germinação (Figura 1).



Figura 1. Germinação de sementes de mulungu (*E. velutina* Willd.) submetidas a diferentes temperaturas 35°C (A) e 25°C (B) (Ribeiro-Reis *et al.* 2012c)

Segundo Carvalho e Nakagawa (2012), temperaturas mais baixas ou mais elevada do que a temperatura óptima tende a reduzir a velocidade de germinação das sementes expostas a fatores adversos durante períodos mais longos, o que pode reduzir a germinação total. Os resultados obtidos a 40°C nas sementes de *E. velutina* foram consistentes com esta redução na viabilidade, porque todas as variáveis, com a exceção do tempo médio de germinação, foram significativamente menores (Tabela 1).

### **Estresse Hídrico**

Além da temperatura a disponibilidade de água é capaz de influenciar o processo germinativo e o desenvolvimento pós-germinativos de plântulas. Essa condição é vista como um fator limitante à iniciação da germinação de sementes e estabelecimento de plântulas no campo. Isso porque afeta diretamente as relações hídricas em sementes e subsequente desenvolvimento de plântulas, implicando direta ou indiretamente em todas as demais etapas do metabolismo, incluindo reativação do ciclo celular e crescimento (DE CASTRO *et al.*, 2000).

Pensando a biodiversidade: mulungu (*Erythrina* sp.)

Tabela 1. Germinação (G, %), tempo médio (Tm, dias), velocidade média (Vm, dias<sup>-1</sup>) e índice de velocidade de germinação (IVG, protrusão de radícula.dia<sup>-1</sup>) de sementes de *Erythrina velutina* submetidas a diferentes temperaturas (°C), potenciais osmóticos (MPa) e concentrações de solução de NaCl (CE dS.m<sup>-1</sup>) durante a germinação (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012a).

Tratamentos	G	Tm	Vm	IVG
<b>Temperatura</b>				
15	92a	4,54a	0,22a	5,99b
25	99a	2,99b	0,34a	9,04a
35	81b	2,94b	0,34a	7,43b
40	2c	5,85a	0,17b	3,18c
<b>PEG 6000</b>				
0,0	100a	4,43a	0,23a	2,49a
-0,2	96a	5,59a	0,18b	1,76b
-0,4	96a	8,02b	0,12c	1,27bc
-0,6	96a	11,77c	0,08c	0,83c
<b>NaCl</b>				
0	100a	4,67a	0,22a	2,420a
2	100a	4,70a	0,21a	2,272a
4	100a	4,90a	0,20a	2,200a
6	93a	5,00a	0,19a	1,989a
8	100a	4,73a	0,21a	2,305a
10	100a	4,97a	0,20a	2,115a
12	100a	4,66a	0,21a	2,295a
14	100a	5,62a	0,17a	2,817a
16	100a	5,96a	0,16a	2,669a
18	97a	5,96a	0,16a	2,686a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna para cada tratamento não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A mudança de potencial osmótico influencia a germinação de sementes de *E. velutina*. A germinação (%) permanece em níveis elevados até -0,6 MPa, acima deste potencial a germinação é bloqueada. A velocidade de germinação é menor em potenciais osmóticos mais negativos, sendo necessário um tempo mais longo para protrusão da radícula nas sementes (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012b).

O déficit hídrico ocasiona um prolongamento da fase estacionária do processo de embebição por causa da redução da atividade enzimática e, conseqüentemente, um menor desenvolvimento meristemático e atraso na protrusão da radícula (FALLERI, 1994), como ocorreram nas sementes de *E. velutina* submetidas a -0,2 MPa e principalmente verificado em -0,6 MPa. De acordo com os resultados obtidos por Ribeiro-Reis *et al.* (2012b), o vigor é muito mais sensível à deficiência hídrica do que a porcentagem de germinação nas sementes de mulungu. Nas sementes submetidas a -0,8 MPa quando restabelecidas as condições adequadas para germinação, germinaram 100%. Com este resultado fica evidente que, neste potencial, as sementes não perdem a viabilidade e nem entraram em dormência. Esse tipo de resposta passa a ser bastante interessante em espécies submetidas a estresses hídricos mais severos, onde

logo após as condições do meio se restabelecerem, mostram a capacidade de germinarem numa velocidade ainda maior, quando comparada com sementes que não foram submetidas à restrição hídrica, possibilitando a sobrevivência das sementes e da espécie (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012b).

### **Estresse Salino**

Como resultado do déficit hídrico, há geralmente elevação de sais solúveis (salinidade) que podem influenciar, significativamente, na resposta germinativa das espécies. O excesso de sais solúveis provoca uma redução do potencial hídrico do substrato, induzindo menor capacidade de absorção de água pelas sementes, devido à diminuição do potencial osmótico do mesmo (CHAVES *et al.*, 2009). Isso retarda a embebição das sementes ou o alongamento da raiz, além de provocar toxicidade nos tecidos devido ao acúmulo em excesso dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  (ESTEVES & SUZUKI, 2008; GÓIS *et al.*, 2008).

O aumento da salinidade no meio de incubação não causou alterações significativas na germinação das sementes de *E. velutina* até a CE de  $18 \text{ dS.m}^{-1}$  (Tabela 1), no entanto, a restrição hídrica promovida pela solução de NaCl afetou o crescimento inicial das plântulas que mostraram-se menores e com baixa produção de massa



seca, proporcionando diminuição da razão parte aérea/raiz de plântulas de *E. velutina*, indicando que esta espécie provavelmente não suporta crescer em solos com potencial osmótico superior a 6 dS.m<sup>-1</sup> CE (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012a). De forma diferente ao que ocorreu em sementes de *E. velutina*, em sementes de paineira (*Chorisia speciosa* A.St.-Hil.) (FANTI & PEREZ, 2004) *Jatropha curcas* L. (Andréo-Souza *et al.*, 2010) e *Carthamu stinctoriu* sL. (DANTAS *et al.*, 2011), não foi verificado um limite elevado de tolerância ao estresse salino. Por outro lado, sementes de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan, *Aspidosperma pyriformium* Mart. (DANTAS *et al.*, 2014) e *Bauhinia cheilantha* (Bong) Stend. e *Myracrodruon urundeuva* Allemão (OLIVEIRA *et al.*, 2014) apresentam alta tolerância ao estresse salino.

O período germinativo é importante para a sobrevivência das espécies florestais, principalmente nos locais onde a disponibilidade de água é limitada durante um período do ano (BRAGA *et al.*, 2009). A observação do grau de tolerância ao estresse salino, neste processo é importante e depende da capacidade das plantas de

minimizarem os efeitos da salinidade através de mecanismos específicos de adaptação (LARCHER, 2006).

Sementes de plantas de áreas com baixo índice de pluviosidade, como as do semiárido, como estratégia de sobrevivência, germinam mais rápido do que as de outros habitats, já que estão programadas fisiologicamente para germinarem no curto espaço de tempo das estações chuvosas e em que os níveis de salinidade do solo são geralmente reduzidos e há disponibilidade de água suficiente para favorecer a germinação (GORAI & NEFFATI, 2007; 2009).

A resistência elevada a estresses abióticos é uma característica original de sementes, mas que não é explorada como uma fonte potencial para conferir tolerância a plântulas ou plantas inteiras, assim como não é explorado como um marcador potencial para o estabelecimento e melhoria do plantio como um todo. Nesse sentido, sementes podem estar expostas a estresses severos também durante o desenvolvimento e maturação, incluindo seca e temperaturas elevadas (BOWLER & FLUHR, 2000; PASTORI & FOYER, 2002).

A tolerância ao estresse osmótico e iônico induzido pela restrição de água e por sais constituem processos complexos e geralmente interligados, envolvendo a interação de várias propriedades (ZHU, 2002; FOOLAD, 2004; VERSLUES *et al.*, 2006). Do ponto de vista molecular, a transdução de sinais dos estresses por seca e por sais consistem em cadeias de sinais vinculadas as homeostases iônica e osmótica, cadeias de resposta à desintoxicação (controle de danos e reparos), e cadeias de regulação do crescimento, com efeito sobre a ativação ciclo celular e crescimento (ZHU, 2002). Os mecanismos fisiológicos de sobrevivência sob estresse hídrico (seca), salino e por calor ainda precisam ser bastante estudados em sementes de espécies nativas.

Os problemas de escassez de água também fizeram ressurgir o interesse nas pesquisas sobre técnicas de aplicação segura e controlada de águas residuárias na agricultura. Desta forma, muitos estudos têm sido desenvolvidos para provar a eficiência do reuso da água de forma segura, principalmente em países ou regiões onde o recurso água encontra-se de forma limitada.

As espécies nativas do semiárido são adaptadas às severas condições hídricas predominantes na região, podendo constituir uma importante

alternativa para o aproveitamento e recuperação das áreas salinizadas ou em processos de salinização, condições em que a exploração de muitas espécies agrícolas é inviável economicamente (SILVA *et al.*, 2009).

Pensando na reutilização futura desse tipo de fonte de água, a atividade florestal, por suas peculiaridades, apresenta-se como uma alternativa promissora, principalmente por não envolver produção de alimentos para consumo humano e nem riscos à saúde (CROMER, 1980).

Uma das atividades agrícolas na qual a *E. velutina*, entre outras espécies da Caatinga, pode ser explorada é a agricultura bioessalina, um termo amplo utilizado para descrever a agricultura sob uma gama de níveis de salinidade nas águas subterrâneas ou águas residuais e solos, ou uma combinação de ambos (MASTERS *et al.*, 2007), tais como o uso da irrigação de água subterrânea salina. Embora, as sementes de *E. velutina* apresentam uma redução da velocidade de germinação quando submetida à água bioessalina, proveniente de tanques de piscicultura abastecidos com água salobra, sua germinação se manteve ao redor de 100% e o seu coeficiente de uniformidade de germinação aumentou (DANTAS *et al.*, 2014).

### **Mudanças Bioquímicas durante os estresses abióticos**

O estabelecimento de uma determinada espécie está ligado à capacidade de suas sementes germinarem rápida e uniformemente. A fim de vencer a concorrência com outras espécies, ou pela capacidade de se manterem viáveis por períodos mais longos, até que as condições ambientais sejam propícias ao desenvolvimento das plântulas, a espécie pode lançar mão de outros meios adaptativos, como a mobilização de determinadas reservas que serão úteis para a formação de estruturas físicas, como a parede celular, ou para respiração, sintetizando intermediários metabólicos com finalidades diversas.

Durante a germinação, as reservas insolúveis de alto peso molecular presente nas sementes, como lipídeos, proteínas e açúcares, são degradadas e convertidas a formas solúveis, que são rapidamente transportadas aos tecidos em crescimento e utilizadas em reações de síntese ou de produção de energia. As modificações metabólicas que ocorrem nesses estádios são resultado da atividade de várias enzimas de hidrólise e transferência (BEWLEY & BLACK, 1994; BUCKERIDGE, *et al.*, 2004) e podem expressar a qualidade fisiológica de semente.

A mobilização e degradação das reservas das sementes de *E. velutina* submetidas a estresses abióticos durante a germinação foram afetadas pelas temperaturas baixas e elevadas de incubação e também à restrição hídrica (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012c). A temperatura 25°C foi ótima para a espécie, sendo observado redução dos açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), proteínas totais (PT) e aumento de aminoácidos totais (AA) livres, esses resultados foram bem relacionados com a mobilização das reservas de carbono e nitrogênio para o crescimento do eixo embrionário.

A germinação foi inibida em 40°C, com apenas 4% de emissão de radícula, sendo atribuída à elevada taxa de degradação das macromoléculas nas sementes de *E. velutina*. Todas as variáveis analisadas durante a germinação apresentaram variações em função da temperatura contínua no intervalo de 15 a 40°C. A mobilização de reservas de carbono e nitrogênio nas sementes também foi influenciada pelo estresse hídrico. Houve redução na germinação entre -0,2 e -0,6 MPa, sendo que a degradação e mobilização de macromoléculas foi mais lenta quando o potencial osmótico foi diminuído (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012b).

Em sementes de *M. urundeuva*, Virgens *et al.*, (2012) verificaram que as variações nos teores dos metabólitos quantificados nas sementes submetidas ao estresse hídrico provocaram alterações quantitativas sem comprometer o desenvolvimento germinativo. No entanto segundo esses autores quando as sementes foram submetidas a estresse térmico, os efeitos foram deletérios inviabilizando a germinação através da degradação e/ou inibição da síntese dos compostos necessários para o início da germinação.

O processo de germinação envolve uma série de atividades metabólicas, durante as quais uma sequência programada de reações químicas, cada uma dessas apresentando exigências próprias quanto à temperatura, principalmente porque dependem da atividade de sistemas enzimáticos específicos (MARCOS FILHO, 2005).

A mobilização das reservas das sementes ocorre após o alongamento e emissão da raiz primária, sendo, portanto, um evento pós-germinativo, no entanto, a degradação dessas reservas se inicia nas primeiras horas de embebição das sementes não dormentes (BEWLEY & BLACK, 1994). Além da temperatura a água é imprescindível para o reinício das atividades metabólicas durante o

processo germinativo por três razões: para a hidratação de enzimas preexistentes nas sementes quiescentes, como substrato na digestão hidrolítica de substâncias de reserva e enfim, para a solubilização e transporte das reservas recém degradadas (MARCOS FILHO, 2005).

O acúmulo de AST nas sementes de *E. velutina* (Figura 2) submetidas aos potenciais de maior restrição hídrica pode ser também uma tentativa de ajuste osmótico (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012b), como ocorrido nas sementes submetidas ao estresse salino, em que a restrição hídrica promovida pelo sal provocou uma desaceleração dos processos fisiológicos e bioquímicos durante a germinação. Em 6dS.m<sup>-1</sup> ocorreu uma mudança no padrão de mobilização das reservas, indicando uma tentativa de ajuste osmótico (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012c).

As sementes de espécies tolerantes ao sal tendem a ter baixos potenciais osmóticos, permitindo-lhes absorver a água do ambiente (ZHANG *et al.*, 2010). A diminuição do potencial osmótico, em sementes tolerantes ao estresse salino, pode ser alcançada de duas maneiras: a exclusão de sal a partir do citosol por compartimentalização vacuolar (SONG *et al.*, 2005), enquanto se mantém um potencial osmótico através da síntese e acúmulo de compostos de massa molecular pequena, como açúcares álcoois,



prolina e glicina betaína (HELLEBUST, 1976; YANCEY *et al.*, 1982), os quais são denominados de osmólitos, osmoprotetores ou solutos compatíveis.

A função exata desses compostos, nas plantas, embora seja desconhecida, pode estar relacionada à proteção dos vegetais a estresses abióticos, funcionando como uma ferramenta para o ajustamento osmótico celular (HELLEBUST, 1976). Além dessa função principal no ajustamento osmótico, os osmoprotetores podem ajudar na estabilização de macromoléculas e proteção contra danos oxidativos sob condições adversas (YEO, 1998). Vários trabalhos têm discutido a osmoproteção em plantas e sua potencial aplicação na tolerância à seca e a salinidade (HARE & CRESS, 1997; RATHINASABAPATHI, 2000; PARIDA & DAS, 2005; ZHANG *et al.*, 2010).

Pensando a biodiversidade: mulungu (*Erythrina* sp.)

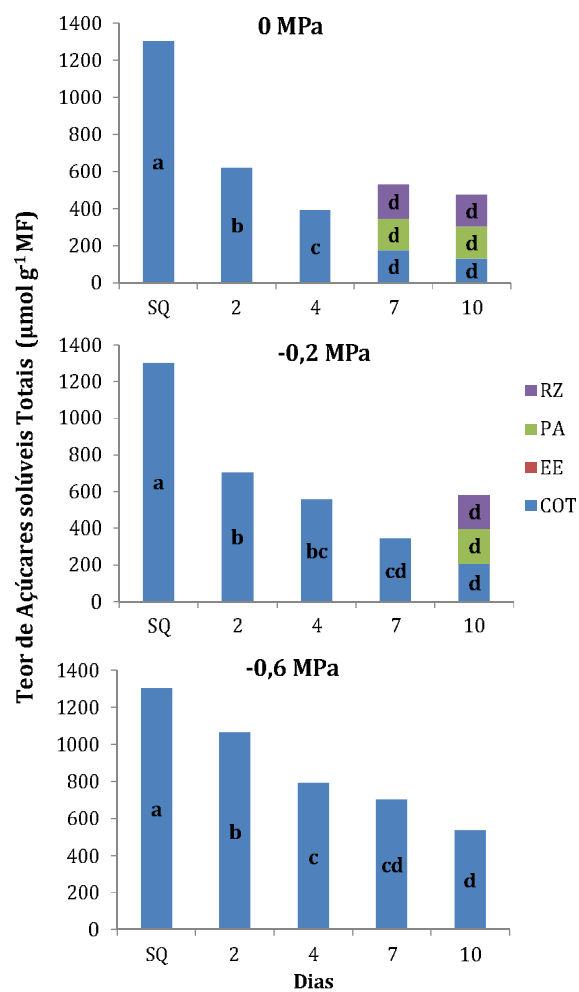


Figura 2. Teores de Açúcares Solúveis Totais ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  MF) em cotilédones de sementes quiescentes (SQ) e em cotilédones (COT), parte aérea (PA) e raiz (RZ) de sementes de *E. velutina* Willd. submetidas a estresse hídrico durante a germinação (traduzido de RIBEIRO-REIS *et al.* 2012b).

A quantidade de sais solúveis a partir de  $4 \text{ dS.m}^{-1}$ , exerceu efeito no crescimento inicial de plântulas de *E. velutina*, retardando a expansão do eixo e a mobilização dos compostos nas sementes de mulungu a partir de 4 dias de exposição à solução salina. A inibição do crescimento inicial de *E. velutina* ocasionada pela salinidade, se deve tanto ao efeito osmótico, ou seja, à seca fisiológica produzida, como ao efeito tóxico, resultante da concentração de íons no protoplasma (Figura 3).

Apesar do  $\text{Na}^+$  ser um cátion importante presente no solo, ele não é considerado um mineral essencial para a maioria das plantas. Em solos salinos, como da Caatinga (DANTAS *et al.*, 2006), elevadas concentrações de  $\text{Na}^+$  podem perturbar o equilíbrio de outros minerais, tais como  $\text{K}^+$ , causando assim uma redução no turgor da célula, essa toxicidade iônica pode ainda ocasionar o atraso da emergência das plântulas e da mobilização de reservas ou até diminuir a viabilidade das sementes, por afetar processos fisiológicos e metabólicos dos tecidos embrionários (ESTEVES & SUZUKI, 2008; KUMAR *et al.*, 2008; MUNNS & Tester, 2008; VOIGT *et al.*, 2009).

Pensando a biodiversidade: mulungu (*Erythrina* sp.)



Figura 3. Desenvolvimento inicial de plântulas de mulungu (*E. velutina* Willd.) submetidas a diferentes concentrações de solução de NaCl, 4 dS.m<sup>-1</sup> (A) e 8 dS.m<sup>-1</sup> (B) (RIBEIRO-REIS *et al.*, 2012c)

### **Mecanismos antioxidantes de tolerância aos estresses abióticos**

A formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) tem sido relatada por vários autores como produto do estresse biótico e abiótico (FOYER & NOCTOR, 2000; REDDY *et al.*, 2004).

A seca e o acúmulo de íons tóxicos tornam-se tipos de estresse oxidativo para os vegetais. Radicais livres são formados sob condições de estresse oxidativo bem como pelas reações normais da cadeia de transporte de elétrons, mas que são altamente reguladas (MAZHOU DI *et al.*, 1997; GREGGAINS *et al.*, 2000), todavia esta regulação pode ser perdida se o estresse for mais severo aumentando consideravelmente a produção de radicais livres que podem levar a uma cascata de evento que começando com a peroxidação de lipídeos, avançam para degradação de membranas e para morte celular (GREGGAINS *et al.*, 2000). O superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) é o primeiro produto da redução do oxigênio molecular. Ele pode reagir para produzir várias outras espécies reativas e pode formar  $H_2O_2$  tanto enzimática ou espontaneamente (PITCHER & ZILINSKAS, 1996).

O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) não é um radical livre, mas participa como oxidante e redutor em muitas reações celulares (PRICE *et al.*, 1989). É altamente difusível através das membranas e compartimentos aquosos e pode inativar diretamente enzimas sensíveis em baixas concentrações. Tal como o superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o  $H_2O_2$  é pouco estável e, portanto, menos tóxico que outras espécies reativas de oxigênio. A principal ameaça imposta por estes radicais está na habilidade de gerarem altas quantidades de radicais hidroxil ( $OH^{\cdot}$ ), que é a mais potente espécie oxidante encontrada em sistemas biológicos. Este reage de forma não específica com qualquer molécula biológica (SGHERRI & NAVARI-IZZO, 1995; BARTELS, 2001).

As plantas desenvolveram uma rede elaborada e eficiente de mecanismos de eliminação que lhes permitem superar a toxicidade a EROs (BAILEY-SERRES & MITTLER, 2006; FOYER & NOCTOR, 2005). O aumento nos oxidantes celulares pode levar a super expressão de genes de enzimas de desintoxicação como as superóxido dismutases (SOD) (GIANNOPOLITIS & RIES, 1977), catalase (CAT), peroxidase (PRX) e enzimas do ciclo ascorbato-glutationa (BAILLY *et al.*, 1998; BAILLY, 2004) como parte de uma estratégia requerida para superar o estresse oxidativo.

Tradicionalmente, os estudos mostram a ação das EROs apenas como geradores de dano oxidativo. Entretanto, ao longo destes anos, vários estudos fisiológicos encontraram correlação entre níveis de antioxidantes e o nível de tolerância ao estresse em espécies, variedades e biótipos de plantas. Pesquisas demonstram que diversas respostas celulares a estímulos fisiológicos normais ou a estresses são induzidas pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) em compartimentos celulares específicos (EDREVA, 2005; KWAK *et al.*, 2006; FEDOROFF, 2006) mostrando seu papel importante na sinalização celular (MITTLER, 2011). No entanto, o efeito danoso das EROs depende de um delicado equilíbrio espacial e temporal entre a produção e remoção das mesmas.

Mudanças no balanço das enzimas desintoxicadoras de EROs induzem mecanismos compensatórios nos tecidos. Por exemplo, quando a catalase é reduzida, enzimas protetoras como ascorbato peroxidase e glutathione peroxidase são expressas em maiores quantidades em efeito compensatório (APEL & HIRT, 2004).

Uma ampla gama de outros compostos, incluindo oligossacarídeos, glicoproteínas e peptídeos, também pode mediar à indução das reações de defesa nas plantas (BENHAMOU & NICOLE, 1999; JUNG *et al.*, 2000). De forma análoga, a resistência ao frio ou aos choques de calor podem ser aumentados por elevação na concentração de compostos fenólicos (RIVERO *et al.*, 2001) ou por alguns aminoácidos envolvidos na síntese de fenólicos (MACHADO NETO *et al.*, 2004). Em sementes a incapacidade de os tecidos sensíveis à dessecação efetuarem adequada proteção contra eventos oxidativos, consequentes do metabolismo alterado existente durante a desidratação, pode ser considerada como uma das principais causas da sensibilidade à dessecação e da reduzida longevidade (LEPRINCE *et al.*, 1993).

As sementes podem estar expostas a estresses severos também durante o processo germinativo, incluindo seca e temperaturas elevadas, e neste sentido existem poucos relatos sobre mecanismos bioquímicos de resposta ao estresse, e mais especificamente na atividade de enzimas antioxidantes. A detecção da atividade destas enzimas durante a germinação tem sido verificada em algumas espécies, tais como, *Picea omorika* (PRODANOVIC *et al.*, 2007),



*Medicago sativa* (CAKMAK *et al.*, 2010) e *Jatropha curcas* (CAI *et al.*, 2011), no entanto, não existem muitos trabalhos publicados com sementes de espécies florestais submetidas a estresses abióticos.

Muitas fontes de EROs foram identificadas em plantas, sendo que qualquer transferência ou transporte de elétrons pode potencialmente gerar EROs. Nesse sentido, sementes ortodoxas representam um caso particular. Exceto durante a fase inicial de desenvolvimento, as sementes são desprovidas de uma fonte importante de EROs, que é através transporte de elétrons fotossintético, o que leva à produção de superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). Além disso, no final do desenvolvimento e a partir do início da germinação, o teor de umidade das sementes e atividade metabólica variam drasticamente. Portanto, as fontes de EROs em sementes provavelmente variam consideravelmente (BAILLY, 2004).

A identidade química e a fonte celular das EROs que se acumulam durante o estresse abiótico pode ditar o padrão de expressão de conjuntos específicos de genes e a indução de certos mecanismos de aclimação e de defesa (MITTLER *et al.*, 2004).

Ribeiro *et al.* (2014) verificou a atividade das enzimas relacionadas ao estresse oxidativo durante a germinação de sementes de *Erythrina velutina* submetidas a estresses abióticos. As atividades das enzimas antioxidantes foram detectadas nos cotilédones e eixo embrionário de sementes de mulungu, onde a maior atividade enzimática apresentada no estresse de temperatura aplicado indicou uma maior tolerância. Esses resultados permitiram inferir que sob o aspecto do processo de desintoxicação, o mecanismo é mais eficiente em sementes submetidas a diferentes temperaturas, seguido pelo estresse salino e por fim ao estresse hídrico.

A restrição hídrica causada pelo estresse osmótico pode ter interferido nos mecanismos de defesa, impedindo a germinação, sem que ocorressem danos de deterioração às sementes, uma vez que, de acordo com Hendry (1993), as sementes são mais sensíveis ao estresse hídrico, pois os radicais livres tendem a acumular mais, porque sistemas removedores não são efetivos em organismos desidratados.

A atividade antioxidante nas sementes de *E. velutina* foi variável dependendo do tipo e nível de estresse aplicado, no entanto forneceu indicativos de que a germinação pode ser pouco afetada devido a atividade de enzimas envolvidas no mecanismo de defesa

contra espécies reativas de oxigênio sob condições de estresse abiótico (RIBEIRO *et al.*, 2014).

### **Considerações Finais**

As condições requeridas para a germinação de sementes e a forma como as condições ambientais modelam a resposta adaptativa são distintas para cada espécie, assim, a busca pelo conhecimento das condições ótimas da germinação de sementes florestais fornece informações sobre a propagação e a fisiologia das espécies (VARELA *et al.*, 2005).

Quanto aos estudos realizados com sementes de *E. velutina* submetidas a estresses abióticos, a temperatura ótima de germinação das sementes é 25°C, o tempo médio, índice de velocidade de germinação e o coeficiente de uniformidade são fatores mais sensíveis às variações da temperatura que o percentual de germinação para a espécie e o processo de mobilização e degradação de reservas das sementes é totalmente influenciado pelas temperaturas baixas e elevadas aplicadas. O estresse hídrico aplicado às sementes de *E. velutina* afeta a germinação, sendo que o limite máximo de tolerância da espécie a restrição hídrica é de -

0,6 MPa, no qual alterou o processo de mobilização e degradação de reservas das sementes. A restrição hídrica causada pela salinidade não afetou negativamente a germinação das sementes de *E. velutina* até a CE de 18 dS.m<sup>-1</sup>, podendo a espécie ser considerada tolerante à salinidade com base em dados de germinação, os resultados da mobilização de reservas nessas condições salinas, evidenciam sua utilização para a germinação, e nas demais etapas do desenvolvimento ocorre a diminuição no vigor das sementes com relação ao crescimento inicial.

O aumento da salinidade no meio além de reduzir a razão parte aérea/raiz das plântulas de *E. velutina*, indicando que o efeito da salinidade é mais evidente na parte aérea do que nas raízes, promove uma desaceleração dos processos fisiológicos e bioquímicos durante a germinação, afetando negativamente o crescimento de plântulas de *E. velutina*. A maior atividade de enzimas antioxidantes no estresse de temperatura indica maior tolerância a esse estresse, por outro lado as menores atividades dessas enzimas nas sementes de *E. velutina* submetidas ao estresse osmótico durante o processo de germinação podem ser indicativos de baixa tolerância a essa condição.

Nesse contexto os resultados obtidos para *E. velutina* promove um avanço significativo sobre alguns dos processos fisiológicos que

acontecem durante a germinação e crescimento inicial de plântulas, principalmente pelo fato da espécie estar inserida em um ambiente propenso a condições de seca e altas temperaturas na maior parte do ano. Além disso, essa situação de estresse tende a se agravar pelos impactos das mudanças no clima do Nordeste, que serão maiores temperaturas; escassez de água e maior aridez; alta taxa de evaporação que poderá afetar o nível dos açudes e maior salinização do solo e de poços (IPCC, 2007; GONDIM *et al.*, 2010).

No entanto ainda são necessárias muitas pesquisas com essa espécie e outras espécies nativas que sofrem ainda com a escassez de conhecimento sobre a tecnologia dessas sementes, sobretudo quanto às informações inerentes ao processo de crescimento e desenvolvimento pós-germinativo que são fundamentais e servem como ponto de partida para a utilização e exploração de forma racional dessas espécies.