

## INFLUÊNCIA DO MANITOL E NaCl NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DUAS ESPÉCIES DE LEGUMINOSAS COM IMPORTÂNCIA NO SEMI-ÁRIDO BAIANO

RENATA CONDURU RIBEIRO<sup>1,\*</sup> & CLAUDINÉIA REGINA PELACANI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bióloga. Univ. Estadual de Feira de Santana, Unidade Experimental Horto Florestal

<sup>2</sup>Depto. de Ciências Biológicas, UEFS, BR 116, Km 03, 44031-460, Feira de Santana, Bahia, Brasil

\*Author for correspondence: Unidade Experimental Horto Florestal/ UEFS, Av. Presidente Dutra, s/n, Bairro Santa Mônica, 44055-000, Feira de Santana, Bahia, Brasil (rconduru@hotmail.com)

**(Influência do manitol e NaCl na germinação de sementes de duas espécies de leguminosas com importância no semi-árido baiano)** – Foi objetivo do presente trabalho estudar a resposta germinativa de sementes de *Cenostigma gardnerianum* Tul. e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, pertencentes à família Fabaceae, a condições de estresse hídrico e salino que estão freqüentemente presentes na região semi-árida do nordeste brasileiro. O estresse hídrico obtido com solução de manitol e salino com solução de NaCl foram testados por meio de diferentes potenciais osmóticos (0,0 a -1,4 MPa). O experimento foi conduzido em caixa tipo gerbox forradas com papel filtro e com um lote de 50 sementes para cada potencial de cada tratamento. Este material foi mantido em um germinador sob temperatura de 25°C, com 10h de luz e 14h de escuro. As avaliações foram feitas diariamente durante dez dias e posteriormente foram calculadas as porcentagens de germinação, velocidade média de germinação, tempo médio de germinação e velocidade de germinação. A germinação das sementes foi diminuída à medida que o potencial osmótico das soluções dos dois tipos de estresses era menor. As espécies demonstraram uma adaptação às condições de seca, já que os decréscimos em potencial osmótico foram tipicamente limitados entre -0,2 a -0,8 MPa.

**Palavras-chave:** Estresse hídrico, estresse salino, potencial osmótico, Semi-árido.

**(Effect of manitol and NaCl on the germination of seeds of two leguminous species with importance to the Bahian dryland)** – The present work studied the germinative response of seeds of *Cenostigma gardnerianum* Tul. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, of the Family Fabaceae, under conditions of water and saline stress that are often present in the semi-arid region of Northeastern Brazil. The water stress obtained with manitol solution and the saline stress obtained with NaCl solution were tested by means of different osmotic potentials. The experiment was conducted in a box lined with paper filter and 50 seeds for each potential of each treatment. Material was kept in a germinating chamber at 25°C, in 10h of light alternating with 14h of darkness. Percent germination and average rate of germination were measured daily, beginning after ten days. The germination of the seeds diminished as the osmotic potential of the solutions of the two types of stresses diminished. The species demonstrated an acclimation to the drought conditions, because the decreases in osmotic potential typically had been limited between -0.2 to the -0.8 MPa.

**Key words:** Water stress, saline stress, osmotic potential, Dryland (Brazilian Northeast).

### INTRODUÇÃO

A Bahia tem aproximadamente 320.211 Km<sup>2</sup>, ou 57,08% do seu território inserido no polígono das secas, sendo que mais de dois terços desta área estão situados no sertão semi-árido (BARBOSA, 1993). As secas são fenômenos naturais freqüentes nessas áreas, de modo que a região nordeste sempre foi submetida aos rigores das variações climáticas que caracterizam o clima semi-árido e que determinam fortes deficiências hídricas, solos altamente salinos, ecossistemas xerófilos e graves conseqüências sociais para seus 20 milhões de habitantes que apresentam elevada dependência dos recursos naturais.

Pertencentes à família Leguminosae, as espécies *Cenostigma gardnerianum* Tul. e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan possuem uma ampla distribuição na caatinga, já que a família constitui a maior diversidade de espécies nesse bioma (QUEIROZ, 1998, 2002). Estas espécies nativas constituem, em sua maioria, uma importante fonte de recursos para o homem do sertão, e em face de sua importância em regiões com déficits hídricos freqüentes e

com solos afetados por sais, *C. gardnerianum* e *A. colubrina* são utilizadas como forrageiras, ou na alimentação dos animais, e sua madeira tem diversas utilizações, além de serem utilizadas como ornamentais. Propagam-se predominantemente por sementes requerendo umidade adequada e alguns dias para sua emergência.

Dentre os diversos fatores ambientais capazes de influenciar o processo germinativo, a disponibilidade de água é um dos mais importantes. Esta condição é vista como um fator limitante na iniciação da germinação de sementes, assim como está envolvida, direta ou indiretamente em todas as demais etapas do metabolismo subsequente. A taxa de absorção de água pelas sementes durante a germinação depende de uma série de fatores, dentre os quais podem ser destacados: as características de cada espécie; a área de contato entre a semente e o substrato; a idade; o teor de umidade; e a temperatura (ROCHA, 1996).

O primeiro efeito mensurável do estresse hídrico na germinação é o impedimento do crescimento, causado pela diminuição da expansão celular. O processo de alongamento celular e a síntese de parede são altamente sensí-

veis ao déficit hídrico (KRAMER, 1974). O déficit hídrico altera a permeabilidade da membrana e as propriedades do tonoplasto, permitindo a interação entre proteínas citoplasmáticas e enzimas degradativas, ou ainda, aumenta a degradação de proteínas por estimular a síntese de enzimas proteolíticas (PEREZ & MORAES, 1991).

Além da água, a salinidade do meio influencia significativamente a resposta germinativa das espécies. PRISCO (1980) relata que as plantas são mais sensíveis à salinidade durante a germinação e primeiros estádios de crescimento e que essa sensibilidade depende da espécie vegetal e do tipo de sal existente no solo. O excesso de sais solúveis provoca uma redução do potencial hídrico do solo, induzindo menor capacidade de absorção de água pelas sementes, o que resulta em uma seca fisiológica. Além disso, a concentração de íons no embrião pode elevar-se a níveis tóxicos.

As plantas estão sujeitas a condições de múltiplos estresses que limitam o seu desenvolvimento e suas chances de sobrevivência, a depender dos locais onde se encontram. Um dos métodos mais difundidos para a determinação da tolerância das plantas aos estresses hídrico e salino é a observação da capacidade germinativa das sementes nessas condições (LARCHER, 2000). Os mecanismos fisiológicos de sobrevivência ao estresse hídrico e salino impostos às espécies do semi-árido são pouco estudados, sendo que a maioria das informações aborda o problema para plantas cultivadas. Este trabalho objetivou verificar a influência do estresse hídrico e salino na resposta germinativa de sementes de *Cenostigma gardnerianum* e *Anadenanthera colubrina*, bem como avaliar a tolerância das espécies a esses estresses.

#### MATERIAL E MÉTODOS

As sementes utilizadas de *Cenostigma gardnerianum* e *Anadenanthera colubrina* foram originadas de coletas, doadas ao banco de sementes do Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana, onde está depositado material das mesmas.

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Germinação no Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia. Em função do número reduzido de sementes, a unidade experimental foi composta por amostragem do lote usando 50 sementes por cada potencial osmótico testado. Os experimentos foram conduzidos em caixas tipo gerbox (11 x 11 cm), contendo ao fundo duas camadas de papel germitest semi-esterilizados. A semi-esterilização procedeu-se por manter o papel a 105°C em estufa por quatro horas. As duas camadas de papel contidas nos gerbox foram umedecidas com 20mL das soluções teste.

Para simulação de estresse hídrico foram utilizadas soluções de manitol (P.A.) e para simulação de estresse salino foram utilizadas soluções de NaCl, ambas preparadas em diferentes potenciais osmóticos (0,0; -0,2; -0,4; -0,6; -0,8; -1,0; -1,2; -1,4 MPa). A quantidade de substâncias utilizadas para preparação das soluções testes foi obtida conforme relação utilizada por PARMAR & MOORE (1968). Para as sementes de *C. gardnerianum*, utilizaram-se potenciais

osmóticos de até -1,0 MPa devido ao número reduzido de sementes da espécie.

O conjunto de sementes mais gerbox foram mantidos em câmara climática tipo B.O.D (precisão de  $\pm 2^\circ\text{C}$ ) à temperatura de aproximadamente 25°C. Essa temperatura foi previamente otimizada para as espécies. Durante os experimentos foi mantido um fotoperíodo de 10 horas de luz e 14 horas de escuro, por um período de dez dias.

Foi efetuada a troca de gerbox, papel germitest e das soluções teste a cada dois dias para que as sementes ficassem expostas a níveis constantes dos potenciais osmóticos das soluções e para evitar a contaminação das sementes por patógenos.

As avaliações de germinação foram feitas diariamente, onde foram consideradas germinadas as sementes com pelo menos 2mm de comprimento de protrusão radicular. O experimento foi finalizado ao término do décimo dia após a semeadura.

Para análise dos resultados foram calculadas: a porcentagem de germinação, a velocidade média de germinação (Vm), o tempo médio de germinação (Tm) e a velocidade de germinação ou índice de velocidade de germinação (VG). Todos os cálculos foram obtidos conforme as relações citadas por SANTANA & RANAL (2000).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A diminuição do potencial osmótico ( $\Psi_s$ ) do meio influenciou na resposta germinativa das espécies estudadas independente da substância testada. Observou-se ainda uma diferença quanto ao grau de sensibilidade das sementes às soluções testadas (Figs. 1 e 2).

A taxa de germinação de sementes de *C. gardnerianum* diminuiu linearmente à medida que os  $\Psi_s$  reduziam principalmente quando se utilizou manitol (Fig. 1). A germinação não foi totalmente inibida, quando o potencial foi reduzido de -0,2 à -1,0 MPa e de -0,8 à -1,0 MPa, respectivamente sob manitol e NaCl. Os decréscimos na germinação não foram significativos na presença de NaCl, sendo um indicativo que a espécie pode tolerar a seca fisiológica produzida quando existe aumento da concentração de sais no meio germinativo, o que promove uma diminuição do potencial osmótico e conseqüentemente uma redução do potencial hídrico da semente.

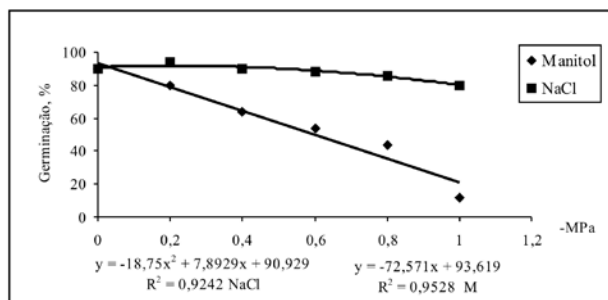


Fig. 1. Germinabilidade (%) de sementes de *Cenostigma gardnerianum* submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos.

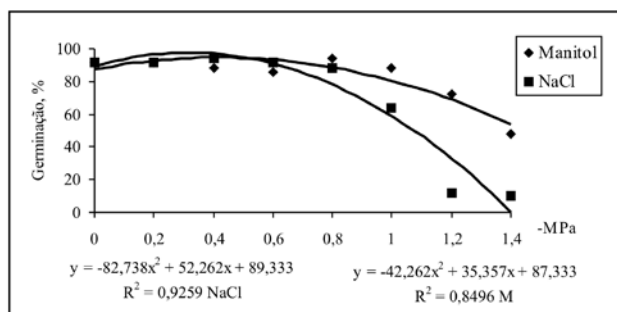


Fig. 2. Germinabilidade (%) de sementes de *Anadenanthera colubrina* submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos.

O processo germinativo se inicia com a absorção de água por embebição, porém há necessidade de que a semente alcance um nível adequado de hidratação o qual permita a reativação dos seus processos metabólicos. Uma análise das relações hídricas das taxas de germinação de sementes revelou que o início da germinação está relacionado com a sensibilidade da iniciação do crescimento radicular ao conteúdo de água no meio. A habilidade do embrião em absorver água do meio e iniciar o seu crescimento dependente do potencial osmótico de suas células (FONSECA & PEREZ, 2003).

A redução na porcentagem de germinação e o atraso no início do processo germinativo com o aumento dos estresses podem estar relacionados com a seca fisiológica produzida, pois quando existe o aumento da concentração de substâncias no meio germinativo, há uma diminuição do potencial osmótico e, conseqüentemente, uma redução do potencial hídrico. Esta redução pode afetar a cinética de absorção de água pelas sementes (efeito osmótico), como também elevar a níveis tóxicos a concentração de íons no embrião (efeito tóxico).

*Anadenanthera colubrina* mostrou sua germinabilidade quase que totalmente nula à medida que o potencial do meio era reduzido, principalmente quando se utilizou solução de NaCl (Fig. 2). As maiores reduções na taxa de germinação das sementes foram observadas em -1,2 e -1,4 MPa. Este comportamento das sementes da espécie pode ser atribuído ao efeito das substâncias sobre a cinética de absorção de água pelas sementes devido a um efeito osmótico provocado pelas soluções, como também um efeito tóxico do sal NaCl e manitol no embrião.

Sabe-se que em concentrações elevadas, os íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  causam intumescimento do protoplasma, promovendo alterações quantitativas e qualitativas no metabolismo, o que resulta em baixa produção de energia, distúrbios na assimilação do nitrogênio, alterações no padrão de aminoácidos e no metabolismo das proteínas (FREIRE, 2000). Além disso, o excesso de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  no protoplasma ocasionam distúrbios em relação ao balanço iônico de  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{+2}$ , bem como no efeito específico dos íons sobre as enzimas e membranas (LARCHER, 2000).

O  $\text{Na}^+$  pode competir com o  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{+2}$  no transporte de substâncias através da membrana plasmática reduzindo

sua integridade. Assim os íons  $\text{Ca}^{+2}$  contribuem para a diminuição do extravasamento de  $\text{K}^+$ , o qual é responsável pela síntese de proteínas, amido e ativação de muitas enzimas no processo germinativo (FRANCO *et al.*, 1999).

A resistência das sementes submetidas ao alto estresse salino depende da habilidade do protoplasma na compartimentalização seletiva dos íons que entram na célula. A maior parte dos sais é acumulada nos vacúolos (LARCHER, 2000), assim o equilíbrio osmótico entre o citoplasma e os diferentes compartimentos celulares depende da síntese de compostos orgânicos com atividade osmoregulatórias. Desta forma, é realizado o ajustamento osmótico pelas sementes em presença de altas concentrações iônicas, como na aplicação exógena de solução de manitol que quando não causa efeito tóxico nas sementes, estas ficam inviáveis para a germinação.

A relação entre o limite mínimo e máximo de tolerância das espécies frente aos estresses hídrico e salino impostos pelas substâncias pode ser verificada também por outras variáveis cinéticas, tais como tempo e velocidade média de germinação em diferentes  $\Psi_s$ .

Em *C. gardnerianum* (Tabela 1) o tempo médio de germinação das sementes passou de 2,44 no controle para 5,33 (quase duas vezes maior), quando submetidas ao potencial osmótico de -1,0 MPa utilizando-se manitol. O tempo levado para que o processo germinativo ocorresse foi maior à medida que o potencial osmótico era reduzido e quando comparado a solução de NaCl, que passou para 4,12 percebeu-se a maior sensibilidade ao manitol. Com relação à velocidade média e velocidade de germinação para essa mesma espécie, percebeu-se resposta mais significativa, ou seja, uma maior redução ao manitol. De acordo com os valores obtidos, nota-se que as sementes de *C. gardnerianum* apresentaram uma faixa ampla de tolerância ao estresse salino.

Tabela 1. Valores de tempo médio de germinação (Tm), velocidade média de germinação (Vm) e velocidade de germinação (VG) em sementes de *Cenostigma gardnerianum* submetidas a diferentes potenciais osmóticos.

Tratamentos	Tm, dias	Vm, dias <sup>-1</sup>	VG
Controle	2,44	0,40	19,75
Manitol (-MPa)			
0,2	3,67	0,27	11,6
0,4	3,75	0,26	8,85
0,6	4,40	0,22	6,65
0,8	4,68	0,21	4,98
1,0	5,33	0,18	1,15
NaCl (-MPa)			
0,2	3,12	0,32	16,03
0,4	2,77	0,36	17,33
0,6	3,27	0,30	15,94
0,8	3,74	0,26	12,21
1,0	4,12	0,24	10,31

O percentual de germinação obtido nos diferentes potenciais testados não foi suficiente em demonstrar o efeito da redução destes potenciais na germinação das sementes. Desse modo, os cálculos de velocidade de germinação parecem ser mais representativos na verificação do comportamento das espécies na fase de germinação.

Em sementes de *A. colubrina* observou-se que as variações do tempo médio foram maiores quando se utilizou solução de manitol. Nos menores  $\Psi_s$  (-1,4 MPa) esse aumento foi o dobro quando comparado ao controle (Tabela 2). Por sua vez, soluções de NaCl mesmo quando fornecidas em  $\Psi_s$  de -1,4 MPa proporcionaram um aumento no tempo médio de germinação de apenas uma vez. No entanto, a velocidade de germinação foi mais afetada quando as sementes foram incubadas em solução de NaCl em  $\Psi_s$  menores que -1,0 MPa e isto pode evidenciar que essas condições não adequadas para germinação podem induzir as sementes a entrarem em estado de dormência secundária ou mesmo causar efeito tóxico resultante da concentração de íons no protoplasma (FANTI & PEREZ, 2004).

Tabela 2. Valores de tempo médio de germinação (Tm), velocidade média de germinação (Vm) e velocidade de germinação (VG) em sementes de *Anadenanthera colubrina* submetidas a diferentes potenciais osmóticos.

Tratamentos	Tm, dias	Vm, dias <sup>-1</sup>	VG
Controle	2,02	0,49	22,83
Manitol (-MPa)			
0,2	2,13	0,47	22,00
0,4	2,59	0,38	18,00
0,6	2,56	0,39	17,98
0,8	3,25	0,30	15,73
1,0	3,57	0,28	13,11
1,2	5,25	0,19	7,42
1,4	5,75	0,17	4,72
NaCl (-MPa)			
0,2	2,10	0,47	22,33
0,4	2,10	0,47	22,66
0,6	2,71	0,36	19,70
0,8	3,40	0,29	14,35
1,0	3,81	0,26	9,45
1,2	3,50	0,28	1,86
1,4	3,40	0,29	1,50

O aumento do tempo médio de germinação apresentado pelas espécies *C. gardnerianum* e *A. colubrina* sob condições de déficit hídrico imposto pelo manitol, em condições naturais poderia atuar de forma positiva no estabelecimento das plântulas, pois dessa forma a germinação pode ser distribuída no tempo e no espaço, aumentando a probabilidade das plântulas encontrarem condições ambientais adequadas para seu crescimento e desenvolvimento (BEWLEY & BLACK, 1994).

De acordo com os resultados obtidos, os  $\Psi_s$  em que a germinação de sementes das leguminosas estudadas parecem ser afetadas, denominada de limite de tolerância, foram semelhantes ao verificado em outras espécies, como *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (CAVALCANTE & PEREZ, 1995), *Bauhinia forficata* L. (FANTI & PEREZ, 1996), *Copaifera langsdorffii* Desf. (JELLER & PEREZ, 1997) e *Adenanthera pavonina* L. (FANTI & PEREZ, 1998).

## CONCLUSÕES

O uso do manitol e do NaCl influencia na germinação das sementes de *C. gardnerianum* e *A. colubrina*.

Os efeitos negativos desses compostos são mais expressivos quando o potencial osmótico do meio germinativo é -1,0 MPa para as sementes de *C. gardnerianum*, com maior sensibilidade ao manitol, e -1,2 e -1,4 MPa para as sementes de *A. colubrina*, com maior sensibilidade ao NaCl.

Verifica-se que nas espécies estudadas os níveis em que a germinação parece ser afetada são semelhantes ao de outras espécies indicando que a faixa de tolerância para essas espécies é intermediária.

As espécies demonstraram uma adaptação às condições de seca, já que os decréscimos em potencial osmótico são tipicamente limitados entre -0,2 a -0,8 MPa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA DVN. 1993. A seca na Bahia. **Bahia Análise & Dados** 3(3): 102-111.
- BEWLEY JD & M BLACK. 1994. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press.
- CAVALCANTE AM DE B & SCJ DE A PEREZ. 1995. Efeitos dos estresses hídricos e salino sobre a germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 30(2): 281-289.
- FANTI SC & SCJGA PEREZ. 1996. Efeitos dos estresses hídrico e salino na germinação de *Bauhinia forficata* Link. **Revista Ceres** 43: 654-662.
- FANTI SC & SCJGA PEREZ. 1998. Efeitos dos estresses hídrico, salino e térmico no processo germinativo de sementes de *Adenanthera pavonina* L. **Revista Brasileira de Sementes** 20: 167-177.
- FANTI SC & SCJGA PEREZ. 2004. Processo germinativo de sementes de paineira sob estresses hídrico e salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 39(9): 903-909.
- FONSECA SCL & SCJGA PEREZ. 2003. Ação do polietileno glicol na germinação de sementes de *Adenanthera pavonina* L. e o uso de poliaminas na atenuação do estresse hídrico sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes** 25(1): 1-6.
- FRANCO OL, J ENÉAS-FILHO, JT PRISCO & E GOMES-FILHO. 1999. Effects of CaCl<sub>2</sub> on growth and osmoregulator accumulation in NaCl stressed cowpea seedlings. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 11: 145-151.
- FREIRE AL DE O. 2000. **Fixação do Nitrogênio, crescimento e nutrição mineral de leucena sob condições de salinidade**. Tese (Doutorado). Jaboticabal: UNESP.
- JELLER H & SCJGA PEREZ. 1997. Efeito da salinidade e semeadura em diferentes profundidades na viabilidade e no vigor de *Copai-fera langsdorffi* Desf. **Revista Brasileira de Sementes** 19: 219-225.
- KRAMER PJ. 1974. Fifty years of progress in water relations research. **Plant Physiology** 54: 463-471.
- LARCHER W. 2000. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima.
- PARMAR MT & RP MOORE. 1968. Carbowax 6000, Mannitol, and Sodium Chloride for Simulating Drought Conditions in Germination Studies of Corn (*Zea mays* L.) of Strong and Weak Vigor. **Agronomy Journal** 60.
- PEREZ SCJ G. DE A & JAPV MORAES. 1991. Influência do estresse hídrico e do pH no processo germinativo da algarobeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 26(7): 981-988.
- PRISCO JT. 1980. Alguns aspectos da fisiologia do “stress” salino. **Revista Brasileira de Botânica** 3: 85-94.
- QUEIROZ LP. 1998. **Leguminosas de Caatinga: espécies com potencial forrageiro**. Relatório final. Programa Plantas do Nordeste, Universidade Estadual de Feira de Santana, Royal Botanic Gardens Kew, Associação Plantas do Nordeste, CNPq, Weston Foundation, Feira de Santana.
- QUEIROZ LP. 2002. Distribuição das espécies de leguminosae na caatinga. In: EVSB SAMPAIO *et al.* (eds). **Vegetação e flora da caatinga**. Recife: Associação Plantas do Nordeste-APNE/ Centro Nordeste de informações sobre Plantas- CNIP.
- ROCHA GR. 1996. **Efeito da temperatura e do potencial hídrico na germinação de sementes de doze cultivares de Feijão-Mungo-Verde [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]**. Monografia do Curso de Agronomia. Jaboticabal: UNESP.
- SANTANA DG & MA RANAL. 2000. Análise estatística na germinação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 12: 205-237.