

Embebição de sementes de salsa com *Ascophyllum nodosum*: efeitos na germinação e crescimento de plântulas sob estresse térmico

Parsley seeds imbibition with Ascophyllum nodosum: effects on germination and growth of seedlings under thermal stress

Karina Panizzi **SORGATTO**^{1,2} & Vanessa Neumann **SILVA**¹

RESUMO

Plantas de salsa produzem sementes com germinação lenta e irregular, em função, dentre diversos fatores, da temperatura. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da embebição de sementes de salsa com extrato de *Ascophyllum nodosum* na germinação e desenvolvimento de plântulas, em situação de estresse térmico por alta temperatura. Realizou-se o experimento em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2 x 5 (cultivares x doses), com cinco repetições. Os tratamentos consistiram de cultivares de salsa-crespa e salsa-lisa e doses do extrato de *A. nodosum*: 0, 1, 2, 4 e 8 ml. L água⁻¹. Efetuaram-se curvas de embebição das sementes. O efeito dos tratamentos foi avaliado por meio das variáveis germinação, porcentagem das raízes e da parte aérea de plântulas e massa seca das raízes e da parte aérea de plântulas. Os resultados foram submetidos a análise de variância e regressão. Verificou-se que a embebição de sementes de salsa com *A. nodosum* propicia menor tempo necessário para a protrusão da raiz, na situação de estresse térmico (30°C), comparativamente à embebição em água. De forma geral, nas condições desta pesquisa, nenhuma dosagem de *A. nodosum* proporciona melhoria na germinação e no desenvolvimento de plântulas de salsa em estresse térmico.

Palavras-chave: alga parda; bioestimulante; *Petroselinum sativum*.

ABSTRACT

Parsley plants produce seeds with slow and irregular germination, depending on, among several factors, the temperature. The objective of this work was to verify the effect of the soaking of parsley seeds with *Ascophyllum nodosum* extract on the germination and development of seedlings under high temperature stress conditions. The experiment was carried out in a completely randomized design, with a 2 x 5 factorial scheme (cultivars x doses), with five replications. The treatments consisted of the cultivars Crespa and Lisa parsley and doses of *A. nodosum* extract: 0, 1, 2, 4 and 8 ml. L water⁻¹. Curves of seed imbibition were performed. The effect of the treatments was evaluated by means of germination, root and shoot percentage and dry mass of roots and seedlings. The results were submitted to analysis of variance and regression. It was verified that the imbibition of parsley seeds with *A. nodosum* gives less time necessary for the protrusion of the root, in the situation of thermal stress (30°C), compared to the imbibition in water. In general, under the conditions of this research, no dosage of *A. nodosum* provides improvement in the germination and development of parsley seedlings under thermal stress.

Keywords: bioestimulant; brown seaweed; *Petroselinum sativum*.

Recebido em: 14 maio 2018

Aceito em: 9 out. 2018

¹ Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Av. Fernando Machado, 108E, Centro – CEP 89814-470, Chapecó, SC, Brasil.

² Autor para correspondência: kasorgato@gmail.com.

INTRODUÇÃO

A salsa (*Petroselinum sativum*), da família Apiaceae, produz sementes do tipo aquênios, com germinação lenta, irregular e desuniforme. É sabido que a temperatura exerce efeito marcante nos processos bioquímicos envolvidos na germinação e no crescimento de plântulas (CONTREIRA RODRIGUES *et al.*, 2011). A germinação da salsa torna-se ainda mais difícil em condições desfavoráveis de ambiente. Em situações de estresse, o tempo lento de germinação pode gerar insustentabilidade do sistema de produção de mudas, visto que um maior tempo será necessário para obtenção das plantas, com maiores gastos de recursos (água, energia, fertilizantes, mão de obra para tratamentos culturais etc.).

A temperatura ideal para germinação e desenvolvimento de plantas de salsa fica na faixa de 15-20°C (FILGUEIRA, 2008). Contudo, em muitas épocas e regiões do Brasil, os valores médios excedem esses limites. Estudando o efeito da temperatura na germinação de sementes de salsa, Silva *et al.* (2017) constataram termoinibição, quando as sementes foram submetidas a temperatura de 35°C, em três cultivares avaliados (salsa-graúda-portuguesa, salsa-lisa-preferida e salsa-chácara).

A termoinibição consiste na incapacidade de sementes germinarem sob altas temperaturas, sendo considerado um fenômeno reversível, uma vez que tal capacidade pode ser restabelecida após a redução da temperatura a níveis adequados (OLIVEIRA, 2017). Investigando o aspecto genético ligado a essa característica, Argyris *et al.* (2008) verificaram que, em sementes de alface, genes ligados ao ácido abscísico (ABA) foram altamente expressos quando a germinação foi inibida e genes relacionados com giberelina (GA) e etileno se mostraram altamente expressos quando a germinação ocorreu (OLIVEIRA, 2017).

Portanto, estudos de técnicas que visem à superação da termoinibição ou mesmo à indução da germinação em situações de temperaturas elevadas são necessários para aumentar a eficiência produtiva na produção de salsa no Brasil. Segundo Essemine *et al.* (2010), um resultado direto do estresse por alta temperatura, na germinação, é a indução de mudanças celulares que levam ao acúmulo de compostos tóxicos nas células, incluindo espécies reativas de oxigênio. Além disso, a mobilização das reservas armazenadas nas sementes fica comprometida, após o estresse causado por altas temperaturas, em função de esse processo afetar as enzimas que atuam na quebra dos carboidratos. Rayorath *et al.* (2008) verificaram que extratos da alga-parda (*Ascophyllum nodosum*) induzem a atividade de enzimas alfa-amilase independentes de GA3 e provavelmente agem com a rota de produção de alfa-amilase GA3 dependente, levando ao aumento da germinação e do vigor de sementes de cevada.

Sendo assim, é possível que o uso de extratos de alga-parda possa auxiliar na tolerância ao estresse térmico, na germinação de sementes de salsa, em elevadas temperaturas. Não há até o presente momento trabalhos que comprovem essa teoria. O objetivo do presente estudo foi verificar o efeito da embebição de sementes de salsa com diferentes doses de extrato de *Ascophyllum nodosum*, na germinação e no desenvolvimento de plântulas, em situação de estresse térmico por alta temperatura.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se o experimento no Laboratório de Sementes da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Chapecó (SC). Foram utilizadas sementes de salsa dos cultivares crespas e lisas. Recorreu-se ao delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 5 (cultivares x doses), com cinco repetições.

Inicialmente, fez-se a curva de embebição das sementes, para determinação do período de tratamento a ser empregado (embebição com extrato de *Ascophyllum nodosum*), conforme metodologia descrita a seguir:

Curva de embebição: realizada com metodologia adaptada de Ferreira *et al.* (2013), com cinco repetições de 0,5 g de sementes. Colocaram-se as sementes para embeber em água destilada e soluções com produto comercial à base de extrato de *Ascophyllum nodosum*, nas concentrações de 0 e 4 ml. L água⁻¹ (HIDANGMAYUM & SHARMA, 2015), em caixa plástica do tipo Gerbox, sobre tela metálica, entre duas folhas de papel Germitest[®] previamente umedecidas (2,5 vezes o seu peso), na temperatura de 20°C, em câmara de germinação, até a protrusão da raiz primária. Para determinação da quantidade de água absorvida, as sementes foram retiradas do Gerbox, colocadas para secar com auxílio de papel toalha, sendo em seguida pesadas com balança digital com precisão de 0,001 g, em intervalos de 60 minutos nas primeiras 12 h e a cada 3 h, a partir de 12 até 36 h, e a cada 6 h, a partir desse ponto. Quando ocorreu a protrusão da raiz primária, o processo foi interrompido e anotou-se o período correspondente.

Posteriormente, com os resultados obtidos na curva de embebição, procedeu-se a análise de regressão e determinou-se o tempo ideal para o tratamento para cada cultivar e temperatura (anterior à protrusão da raiz primária, que ocorreu com média de 105 horas no cultivar lisa e 116 horas no cultivar crespa com solução de *A. nodosum* e 102 horas em água pura). Na sequência, as sementes foram submetidas à embebição, por um período de 100 h, na temperatura de 20°C, conforme metodologia já descrita, nas doses de 0, 2, 4 e 8 ml L⁻¹; depois foram submetidas aos testes descritos na sequência.

Teste de germinação: utilizaram-se quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento, em caixas do tipo Gerbox, sobre substrato papel para germinação (Germitest[®]), previamente umedecido com água destilada e mantido em germinador nas temperaturas constantes de 20°C e 30°C. Avaliou-se a porcentagem de germinação aos 10 dias após a semeadura (DAS) (primeira contagem) e 28 DAS, de acordo com os critérios estabelecidos nas regras para análise de sementes (BRASIL, 2009).

Velocidade de protrusão da raiz primária: teste feito em conjunto com o teste de germinação, com contagens efetuadas diariamente, à mesma hora, contabilizando-se as sementes com protrusão de 2 mm de raiz primária, de acordo com metodologia proposta por Matthews & Powell (2011).

Comprimento de plântulas: teste realizado ao final do teste de germinação, separando-se dez plântulas por repetição (DELIAN & LAGUNOVSKI-LUCHIAN, 2015), com base nas quais foi determinado o comprimento da raiz e da parte aérea (medição da base do colo à extremidade da raiz e ao ápice da plântula), com auxílio de régua graduada em milímetros (NAKAGAWA, 1994).

Massa seca de plântulas: as mesmas plântulas usadas para avaliar o comprimento foram separadas em raiz e parte aérea e submetidas à secagem em estufa de circulação de ar forçado, regulada a 65°C até peso constante, sendo posteriormente pesadas em balança de precisão (NAKAGAWA, 1994).

Submeteram-se os resultados obtidos a análise de variância e, quando o teste F foi significativo, efetuou-se análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A protrusão da raiz primária iniciou-se por volta de 102 e 100 horas em água, estendendo-se até 132 e 156 horas na temperatura de 20°C (figura 1 – A e B), para os cultivares lisa e crespa, respectivamente.

Os valores de absorção de água nos períodos citados anteriormente foram de 0,49 e 0,48 g g⁻¹ para sementes do cultivar lisa e de 0,54 e 0,45 g g⁻¹ para sementes do cultivar crespa.

Na temperatura de 30°C, a protrusão começou por volta de 145 e 122 horas, quando as sementes absorveram 0,53 e 0,59 g.g água⁻¹, estendendo-se até 156 horas, momento em que a absorção foi de 0,53 e 0,56 g.g⁻¹ para os cultivares lisa e crespa, respectivamente.

Percebe-se, portanto, o atraso na protrusão da raiz em função da elevação da temperatura. De maneira análoga a esses resultados, Contreira Rodrigues *et al.* (2008) constataram que, em sementes de salsa embebidas a temperatura de 25°C, a fase II da germinação teve duração de 57,5 e 77,8 horas, ao passo que, na temperatura de 30°C, a duração foi de 56,7 e 91,6 horas.

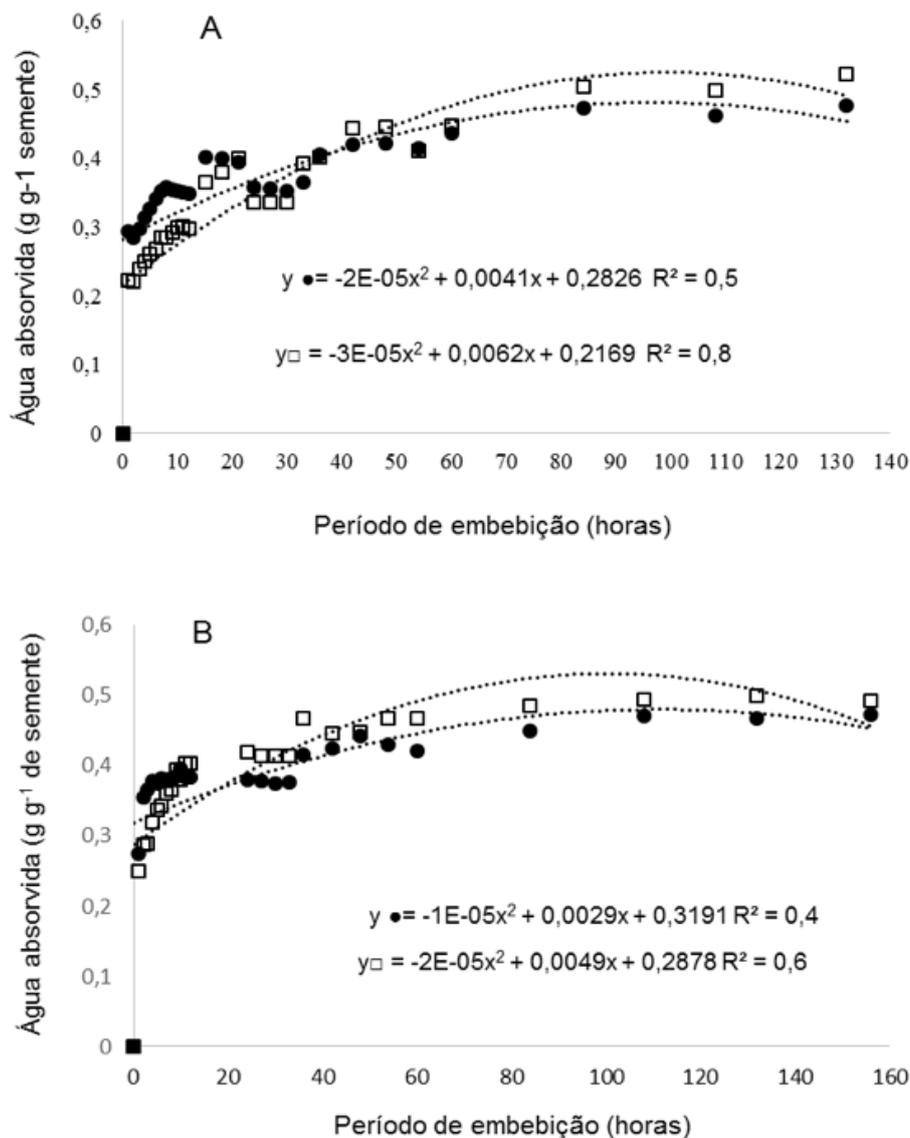


Figura 1 – Curva de embebição, em água destilada, de sementes de *Petroselinum sativum*, cultivares lisa (●) e crespa (□), nas temperaturas de 20°C (A) e 30°C (B).

Quando foi utilizada solução de *A. nodosum*, observou-se que a protrusão da raiz teve início às 105 horas, aos 20°C, para ambos os cultivares, e às 105 e 116 horas, aos 30°C, para os cultivares lisa e crespa, respectivamente (figura 2), estendendo-se até 140 horas.

Comparativamente à curva de embebição com água, percebe-se menor tempo necessário para a protrusão da raiz, na situação de estresse térmico (30°C), quando se usou *A. nodosum*.

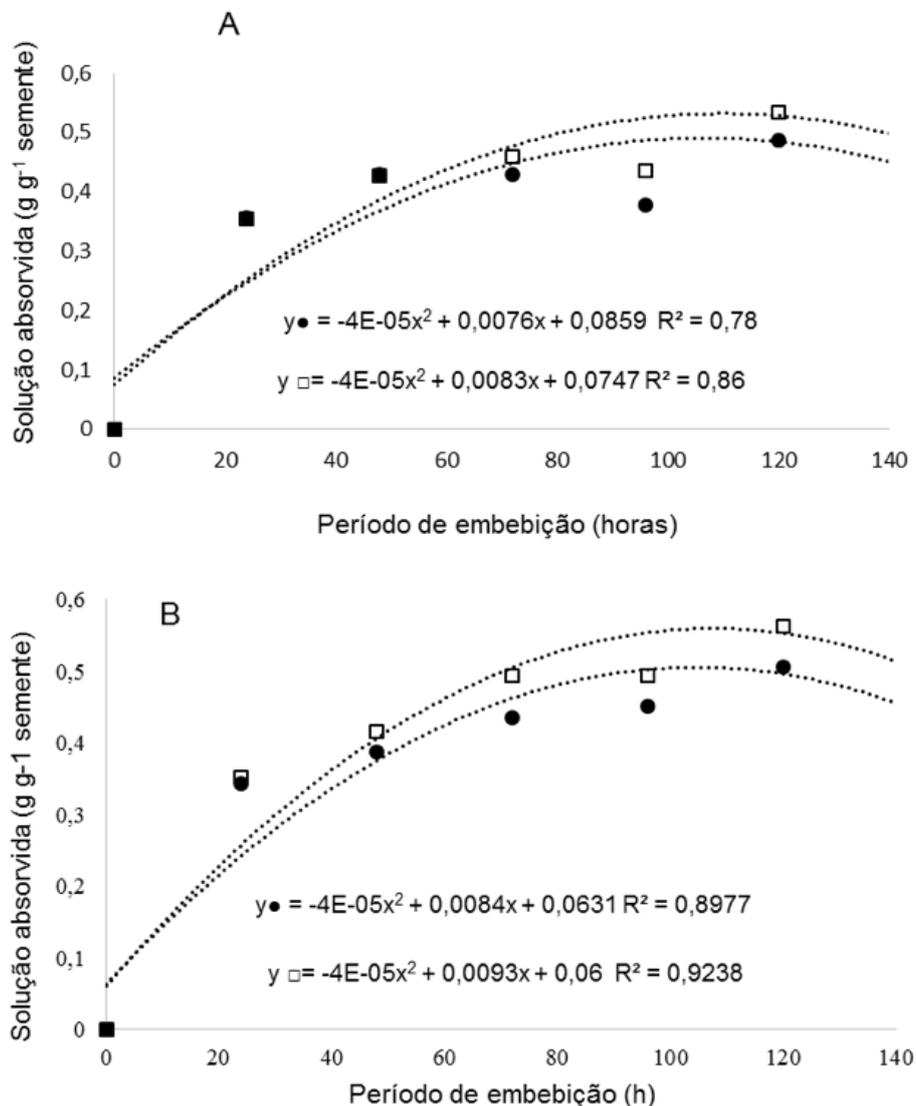


Figura 2 – Curva de embebição, em solução de *A. nodosum*, de sementes de *Petroselinum sativum*, cultivares lisa (●) e crespa (□), nas temperaturas de 20°C (A) e 30°C (B).

Com alteração do potencial hídrico do meio de embebição, alteram-se as relações água/semente e, por conseguinte, a velocidade das reações bioquímicas envolvidas no processo de germinação.

Dessa forma, optou-se por realizar o tratamento das sementes, para a segunda etapa da pesquisa, na temperatura de 20°C, com período de 100 horas, para evitar a ocorrência da protrusão da raiz, visando ao estabelecimento de resultados que possam ser aplicáveis futuramente a trabalhos de condicionamento fisiológico. Segundo Marcos Filho (2015), as sementes são intolerantes à dessecação na fase III da germinação, que é sinalizada a partir da protrusão da raiz primária.

Na segunda etapa da pesquisa, notou-se que a germinação de sementes de salsa, para ambos os cultivares avaliados, foi superior na temperatura de 20°C (figura 3A), em comparação com a temperatura de 30°C (figura 3B), em todos os tratamentos (figura 3).

Em nenhum tratamento verificou-se melhoria na porcentagem de plântulas normais formadas, em ambas as temperaturas. Cabe ainda destacar que, mesmo no tratamento testemunha, os valores de germinação foram de 51 e 66%, para cultivares crespa e lisa, respectivamente, valor relativamente baixo. Contudo, para essa espécie, em função da sua dificuldade de germinação, tal valores são frequentemente relatados, como por exemplo nas pesquisas de Khan *et al.* (2017), Oliveira *et al.* (2013) e Dursun & Ekinci (2010), em que as médias foram 70%, 62% e 50,9%, respectivamente.

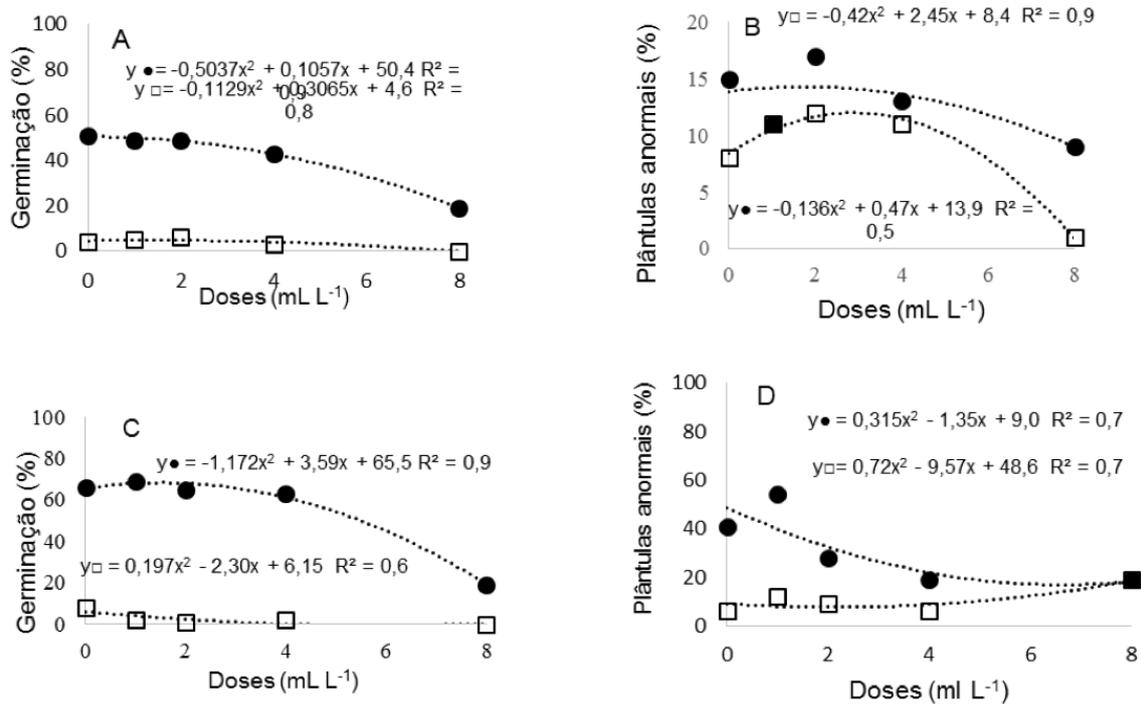


Figura 3 – Valores médios de germinação (A, B) e plântulas anormais (C, D) de sementes de *P. sativum*, cultivares crespa (A, C) e lisa (B, D), submetidas a embebição com diferentes doses de *Ascophyllum nodosum*, nas temperaturas de 20°C (●) e 30°C (□).

Em relação às plântulas anormais, houve um elevado percentual para o cultivar lisa (figura 3D), mesmo na condição ideal de temperatura (20°C), indicando baixo potencial fisiológico das sementes. Contudo cabe destacar que, com exceção da dose de 1 ml L⁻¹ de *A. nodosum* para o cultivar lisa, na temperatura de 20°C, as demais propiciaram redução no percentual de plântulas anormais formadas (figura 2B), o que mostra certa efetividade dos tratamentos.

Quanto à velocidade de protrusão da raiz primária, observou-se efeito positivo dos tratamentos para o cultivar crespa, na temperatura de 30°C, na dose de 2,3 ml L⁻¹, pois houve um aumento significativo (figura 4A) comparativamente à testemunha (de 4,7 para 9,3), evidenciando resposta positiva do uso de *A. nodosum* no tratamento de sementes, em situação de germinação em estresse térmico.

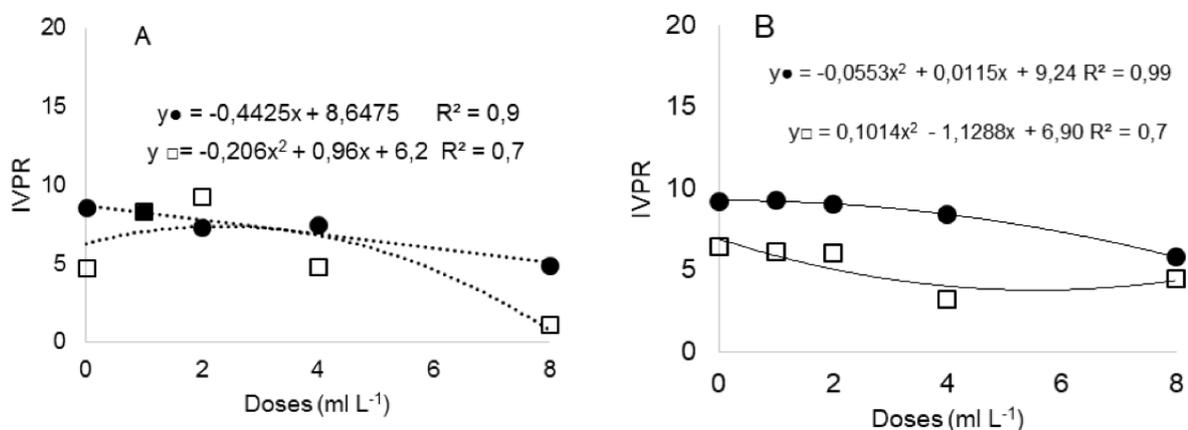


Figura 4 – Valores médios de velocidade de protrusão de raiz primária (IVPR) de *P. sativum*, cultivares crespa (A) e lisa (B), em sementes submetidas a embebição com diferentes doses de *Ascophyllum nodosum*, nas temperaturas de 20°C (●) e 30°C (□).

O crescimento e o desenvolvimento de plântulas foram promovidos na dose de 1 ml L⁻¹ para o cultivar lisa, quanto à parte aérea, na temperatura de 20°C, passando de 1,9 para 2,8 cm (figura 5B). No entanto, para o cultivar crespa, nenhum tratamento incrementou o crescimento da parte aérea (figura 5A).

No tocante ao crescimento de raízes, somente na temperatura de 30°C, para o cultivar crespa, observou-se efeito positivo na dose de 2 ml L⁻¹ de *A. nodosum*, passando de 0,2 para 0,6 cm (figura 5C). Resultados semelhantes foram verificados para plântulas de tomate (SOUZA *et al.*, 2017) e milho (ERTANI *et al.*, 2018), em função da aplicação de doses de *A. nodosum*. Ertani *et al.* (2018) constataram elevados níveis de ácido indolacético no extrato de *A. nodosum*. Tal composto pertence ao grupo das auxinas, hormônios vegetais diretamente envolvidos no processo de formação de raízes em plantas (OVERVOORD *et al.*, 2010).

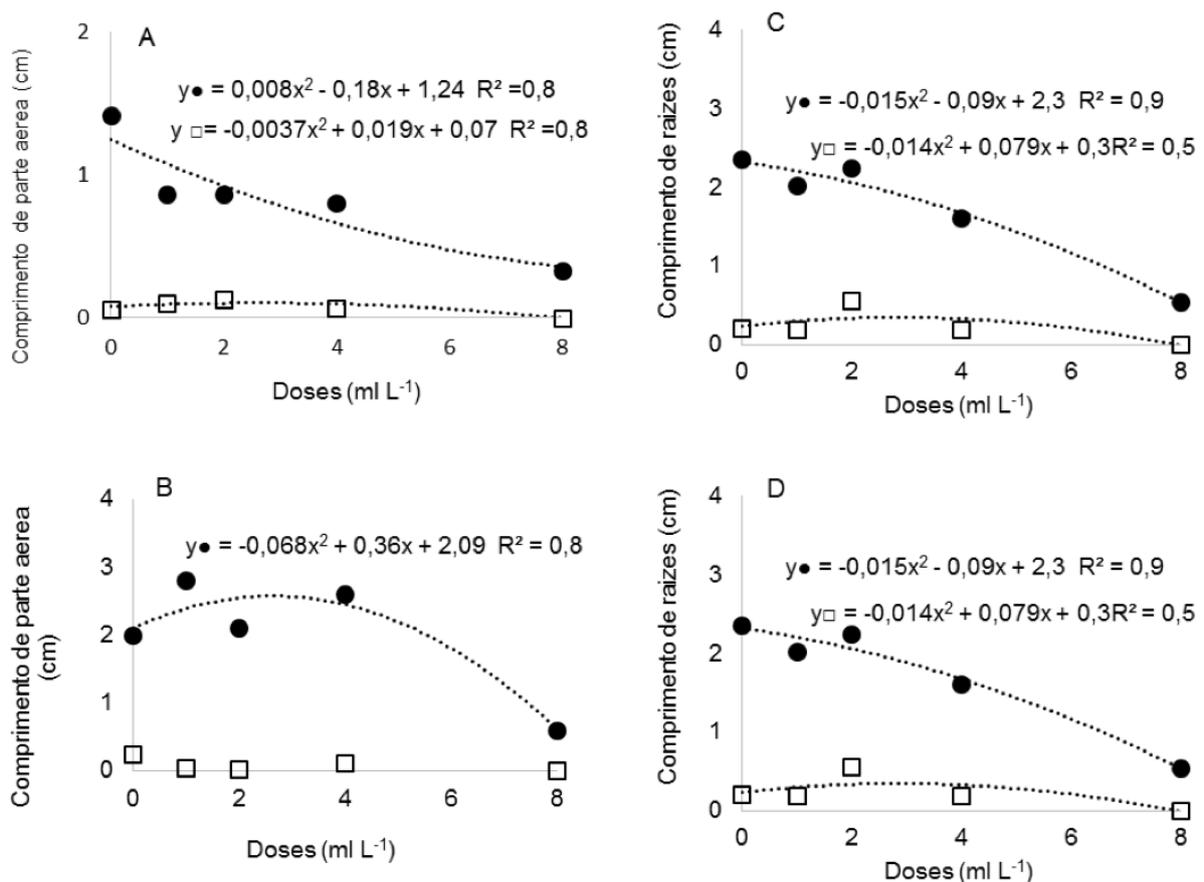


Figura 5 – Valores médios de comprimento de parte aérea (A e B) e de raízes (C e D) de plântulas de *P. sativum*, cultivares crespa (A, C) e lisa (B, D), obtidas a partir de sementes condicionadas com diferentes doses de *Ascophyllum nodosum*, nas temperaturas de 20°C (●) e 30°C (□).

Em relação ao acúmulo de massa seca em plântulas, tanto para a parte aérea quanto para raízes, observou-se resposta similar, sem efeitos positivos dos tratamentos utilizados, em ambas as temperaturas testadas (figura 6) e para os dois cultivares, com redução linear em função do aumento das doses. Segundo Carvalho (2013), doses elevadas de bioestimulantes podem provocar efeito contrário ao esperado, causando toxicidade ao meio. Além disso, doses crescentes têm um limite no tocante ao efeito promotor, pois, ultrapassando determinado limite, ocorrem efeitos fisiológicos negativos ao crescimento e desenvolvimento vegetal (ALBRECHT *et al.*, 2011), possivelmente em virtude do desbalanço hormonal gerado (VIEIRA & CASTRO, 2001; LEITE *et al.*, 2003; TAIZ & ZEIGER, 2009).

Importante também notar a redução drástica de biomassa, quando se comparam os resultados da testemunha, em relação às temperaturas avaliadas, evidenciando-se o estresse por temperatura, gerado com a exposição das sementes e plântulas à condição de 30°C.

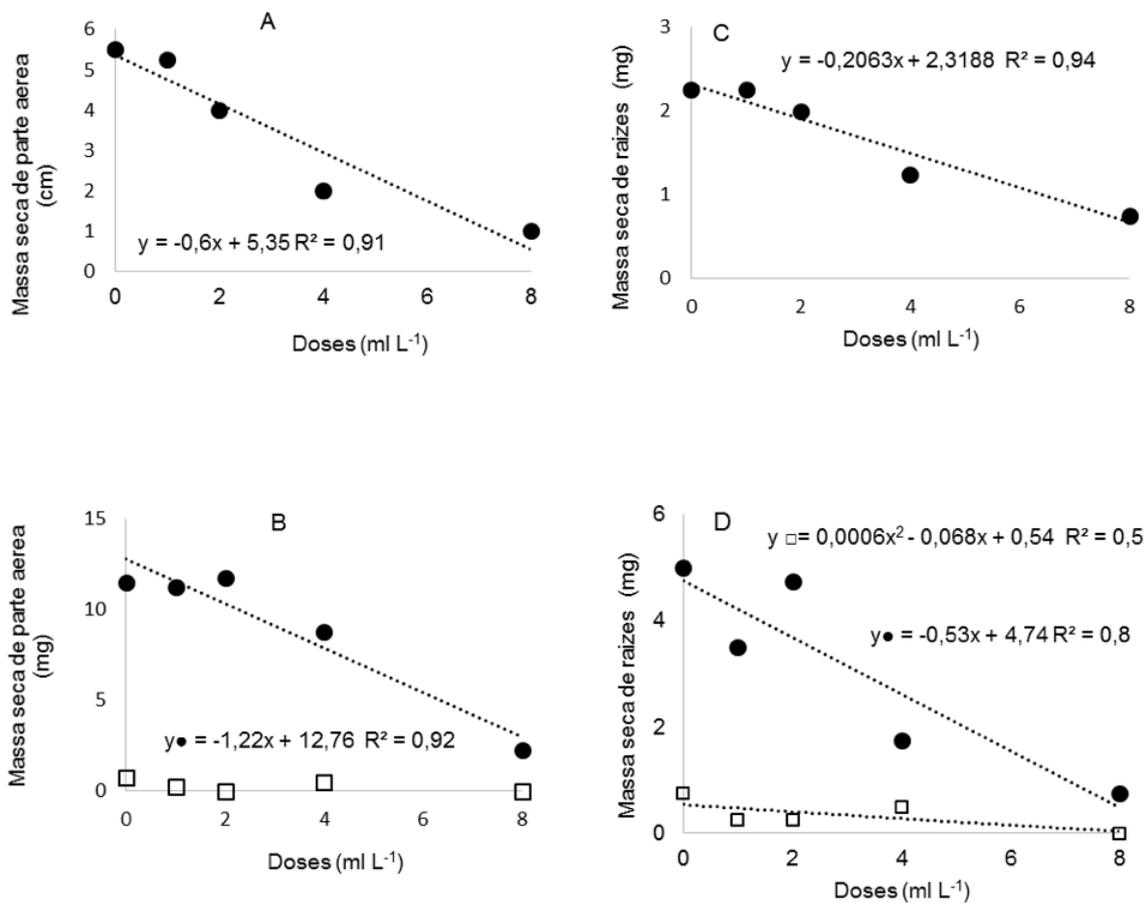


Figura 6 – Valores médios de massa seca da parte aérea (A e B) e de raízes (C e D) de plântulas de *P. sativum*, cultivares crespa (A, C) e lisa (B, D), obtidas a partir de sementes condicionadas com diferentes doses de *Ascophyllum nodosum*, nas temperaturas de 20°C (●) e 30°C (□).

CONCLUSÃO

A embebição de sementes de *Petroselinum sativum* em *Ascophyllum nodosum* propicia menor tempo necessário para a protrusão da raiz, na situação de estresse térmico (30°C), comparativamente a embebição em água.

De forma geral, nas condições da presente pesquisa, as diferentes doses de *A. nodosum* não proporcionam melhoria na germinação e no desenvolvimento de plântulas de salsa em estresse térmico.

REFERÊNCIAS

- Albrecht, L. P.; A. Lucca e Bracinni; C. A. Scapim; M. R. Ávilla; A. J. P. Albrecht & T. T. Ricci. Manejo de biorregulador nos componentes de produção e desempenho das plantas de soja. *Bioscience Journal*. 2011; 27(6): 865-876.
- Argyris, J.; P. Dahal; E. Hayashi; D. W. Still & K. J. Bradford. Genetic variation for lettuce seed thermoinhibition is associated with temperature-sensitive expression of abscisic acid, gibberellin, and ethylene biosynthesis, metabolism, and response genes. *Plant Physiology*. 2008; 148(2): 926-947.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: Mapa / ACS; 2009. 398 p.

- Carvalho, M. E. A. Efeitos do extrato de *Ascophyllum nodosum* sobre o desenvolvimento de cultivos [Dissertação de Mestrado]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2013.
- Contreira Rodrigues, A. P. A.; V. A. Laura; K. S. Chermouth & J. Gadum. Absorção de água por semente de salsa, em duas temperaturas. *Revista Brasileira de Sementes*. 2008; 30(1): 49-54.
- Contreira Rodrigues, A. P. A.; V. A. Laura; S. R. Pereira; E. Ferreira & M. E. Freitas. Armazenamento de sementes de salsa osmocondicionadas. *Ciência Rural*. 2011; 41(6): 978-983.
- Delian, E. & V. Lagunovschi-Luchian. Germination and vigour of primed *Daucus carota* L. seeds under saline stress conditions. *Romanian Biotechnological Letters*. 2015; 20(5): 10833-10840.
- Dursun, A. & M. Ekinçi. Effects of different priming treatments and priming durations on germination percentage of parsley (*Petroselinum crispum* L.) seeds. *Agricultural Sciences*. 2010; 1(1): 17-23.
- Ertani, A.; O. Francioso; A. Tinti; M. Schiavon; D. Pizzeghello & S. Nardi. Evaluation of seaweed extracts from *Laminaria* and *Ascophyllum nodosum* spp. as biostimulants in *Zea mays* L. using a combination of chemical, biochemical and morphological approaches. *Frontiers in Plant Science*. 2018; 9: 428.
- Essemine, J.; S. Ammar & S. Bouzid. Impact of heat stress on germination and growth of higher plants: physiological, biochemical and molecular repercussions and mechanisms of defense. *Journal of Biological Sciences*. 2010; 10(6): 565-572.
- Ferreira, R. L.; V. A. Forti; V. N. Silva & S. da C. Mello. Temperatura inicial de germinação no desempenho de plântulas e mudas de tomate. *Ciência Rural*. 2013; 43(7): 1189-1195.
- Filgueira, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa: Editora UFV; 2008. 421 p.
- Hidangmayum, A. & R. Sharma. Effect of different concentration of commercial seaweed liquid extract of *Ascophyllum nodosum* on germination of onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Science and Research*. 2015; 6(7): 1488-1491.
- Khan, F. A.; S. Narayan; S. A. Bhat; I. Murtuza & H. Hussain. Hydropriming-a useful technique for seed invigoration in okra (*Abelmoschus esculentus*) and parsley (*Petroselinum crispum*). *Journal of Applied and Natural Science*. 2017; 9(3): 1792-1795.
- Leite, V. M.; C. A. Rosolem & J. D. Rodrigues. Gibberellin and cytokinin effects on soybean growth. *Scientia Agricola*. 2003; 60(3): 537-541.
- Marcos Filho, J. Fisiologia de sementes das plantas cultivadas. Londrina: Abrates; 2015. 659 p.
- Matthews, S. & A. Powell. Towards automated single counts of radicle emergence to predict seed and seedling vigour. *Seed Testing International*. 2011; 142(1): 44-48.
- Nakagawa, J. Testes de vigor baseados no crescimento de plântulas. In: Vieira, R. D. & N. M. de Carvalho. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: Funep; 1994. 164 p.
- Oliveira, S. F.; D. S. Costa; S. C. Mello; A. D. Novembre & F. G. Gomes Junior. Germination of parsley seeds influenced by mericarps color and internal morphology. *Horticultura Brasileira*. 2013; 31(2): 231-235.
- Oliveira, D. F. Controle genético da tolerância à termoinibição em sementes de alface [Dissertação de Mestrado em Agronomia]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2017.
- Overvoord, P.; H. Fukaki & T. Beekman. Auxin control of root development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2010; 2(6): a001537.
- Rayorath, P.; W. Khan; R. Palanisamy; S. L. Mackinnon; R. Stefanova; S. D. Hankins; A. T. Critchley & B. Prithviraj. Extracts of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* induce gibberellic acid (GA3)-independent amylase activity in barley. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2008; 27(4): 370-379.
- Silva, T. A.; L. F. G. Baldini; G. Ferreira; J. Nakagawa & E. A. A. Silva. Termoinibição in parsley seeds. *Bioscience Journal*. 2017; 33(6): 1412-1418.
- Souza, B. G. A.; L. A. F. Pereira; J. V. G. A. Souza; J. R. T. Alburque; L. V. Sousa & A. P. Barros Júnior. Crescimento e desenvolvimento de mudas de tomate sob efeito de extrato *Ascophyllum nodosum*. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. 2017; 12(4): 712-716.
- Taiz, L. & E. Zeiger. Fisiologia vegetal. 4. ed. Porto Alegre: Artmed; 2009. 819 p.
- Vieira, E. L. & P. R. C. Castro. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. *Revista Brasileira de Sementes*. 2001; 23(2): 222-228.