

Estresse osmótico e putrescina na germinação de sementes de *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam) Urb (Malvaceae)

Osmotic stress and putrescine effects on the germination of balsa tree [*Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam) Urb (Malvaceae)] seeds

Davi Silva DALBERTO^{1,2}; Lúcia Filgueiras BRAGA³

¹ Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor; Pesquisa financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

² Autor para correspondência, Doutorando em Fisiologia Vegetal; biodavi@gmail.com

³ Botânica, Profa. Dra., Depto. Ciências Biológicas, Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Propagação de Plantas, UNEMAT, Campus Alta Floresta-MT. Rod. MT 208, km 143, s/n; luciabraga@unemat.br

Resumo

O objetivo do trabalho foi verificar o efeito do estresse osmótico na germinação de sementes de pau-de-balsa (*Ochroma pyramidale*), e o papel da putrescina na atenuação do estresse imposto. Para isso, foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro realizado em esquema fatorial 4x6, sendo utilizados quatro agentes osmóticos (polietileno glicol 6000, CaCl₂, NaCl e KCl) para o preparo das soluções e seis potenciais osmóticos (0,0; -0,1; -0,2; -0,3; -0,4 e -0,5 MPa) em câmara de germinação tipo BOD, à temperatura de 35 °C. A porcentagem e o índice de velocidade de germinação foram realizados diariamente, durante 30 dias. No segundo experimento, foram utilizados quatro agentes osmóticos (polietileno glicol 6.000, CaCl₂, NaCl e KCl) nos potenciais limitantes a 50% (-0,2; -0,3 e -0,4 MPa), com aplicação de putrescina (0; 2 e 4 mM), em um esquema fatorial 4x4x3 (agentes x potenciais x concentrações de putrescina). O estresse osmótico interferiu na germinação de sementes de *Ochroma pyramidale*, havendo redução da porcentagem e de velocidade do processo germinativo à medida que os potenciais se tornaram mais negativos, especialmente nas soluções salinas. A aplicação da poliamina putrescina promoveu aumento na porcentagem de germinação das sementes quando estas estavam expostas aos potenciais mais negativos, com maiores valores na concentração de 4 mM, porém o índice de velocidade de germinação diminuiu na presença deste regulador. O tratamento com putrescina é indiferente sobre as sementes presentes em soluções de PEG.

Palavras-chave adicionais: estresse hídrico; estresse salino; espécie florestal; pau-de-balsa.

Abstract

The objectives of this work were to verify the effects of osmotic stress on the germination of balsa tree seeds and the role played by putrescine on the attenuation of that stress. Two experiments were conducted to reach those objectives. The first was structured in a 4 X 6 factorial scheme where 4 osmotic agents [polyethylene glycol (PEG) 6000, CaCl₂, NaCl, and KCl] were applied to the seeds at the osmotic potentials of 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, and 0.5 MPa the seeds being placed in a BOD type germinator at the temperature of 35 °C to germinate. Seed germination and speed of germination were monitored daily during 30 days. In the second experiment, the same four osmotic agents of the first experiment were used but at osmotic potentials limiting germination to 50% (-0.2, -0.3, and -0.4 MPa) and putrescine applied at the amounts of 0, 2, and 4 mM in a 4 X 4 X3 factorial scheme (4 agents, 4 potentials, and 3 putrescine concentrations). Osmotic stress interfered in seed germination – germination and speed of germination were reduced by increasing osmotic potential, especially when the osmotic agent was of the saline type. Putrescine promoted increments in seed germination when they were exposed to the more negative osmotic potential with the highest values taking place at the concentration of 4 mM. On the other hand, seed speed of germination decreased when this regulator was present. Putrescine had no effect on the seeds behavior when they were submitted to PEG.

Additional keywords: Balsawood; forest species; salt stress; water stress.

Introdução

A flora brasileira é bastante conhecida por ser rica em diversidade de espécies, sendo que muitas são, inclusive, de grande valor econômico, como, por exemplo, as que constituem a Amazônia, contudo, existem muitas espécies que ainda não são muito conhecidas e tampouco pesquisadas (SANTIAGO, 2003). Entre as espécies florestais Amazônicas, com potencialidade para o reflorestamento, destaca-se *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam) Urb. - Malvaceae, vulgarmente conhecida como pau-de-balsa, caracterizada por ser uma espécie de importância econômica e ambiental utilizada em plantios mistos destinados à recomposição de áreas degradadas e de preservação permanente, graças ao seu rápido crescimento e tolerância à luminosidade direta (LORENZI, 1992). Além disso, sua madeira é macia e fácil de trabalhar, podendo ser utilizada para fabricação de papel e celulose, confecção de embarcações e brinquedos (VARELA & FERRAZ, 1991).

Entretanto, diversos fatores ambientais, e.g. disponibilidade de água e salinidade, podem influenciar no sucesso desta espécie nas atividades silviculturais. Dessa forma, estudos sobre relações hídricas fazem-se necessários para o conhecimento da biologia dessas sementes e sua respectiva avaliação dos limites de tolerância e capacidade de adaptação, uma vez que os fatores ambientais são determinantes no processo de germinação (SOUSA, 2004).

O estresse hídrico pode afetar a germinação, provocando atraso no início do processo ou diminuição no estande final de plântulas (ROSA et al., 2005; VERSLUES et al., 2006). A redução do potencial hídrico pode ser causada por estresse salino, o qual influencia significativamente na resposta germinativa, refletida pela menor capacidade de absorção de água pelas sementes, e toxidez de alguns elementos, como o sódio e o cloro, que promovem distúrbios fisiológicos na planta, podendo ser letais (MUNNS & TESTER, 2008).

Em solos de regiões tropicais, a água subterrânea é a principal fonte de suprimento hídrico para as espécies florestais e está sujeita à salinização frequente, causada pela alta força evaporativa do ar, que leva à saída de água da superfície do solo, tornando-a mais salinizada do que as camadas mais profundas. Em geral, as sementes encontram-se em ambientes mais salinizados do que as plântulas já estabelecidas, cujas raízes podem usar a porção menos salinizada do perfil do solo (AGBOOLA, 1998).

Como consequência do estresse osmótico, ocorre aumento da concentração de putrescina (LIU et al., 2011). Além disso, a tolerância ao estresse salino parece estar

associada não apenas à capacidade de acumular putrescina, mas também em manter ativo o metabolismo de outras poliaminas, incluindo-se aí a síntese de espermina e espermidina (TALAAT & SHAWKY, 2013). Ainda, quando aplicadas exogenamente na planta, as poliaminas podem causar acentuada redução dos efeitos deletérios de estresses ambientais (SADAK et al., 2012).

Diante do exposto acima, o objetivo foi verificar o efeito do estresse osmótico na germinação de sementes de *Ochroma pyramidale*, e o papel das poliaminas na atenuação do estresse imposto.

Material e métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Ecofisiologia e Propagação de Plantas da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Alta Floresta - MT. Foram utilizadas sementes de *Ochroma pyramidale* coletadas no município de Feliz Natal - MT, sendo estas armazenadas em geladeira (aproximadamente 5 °C), em recipientes de vidro tampados.

Para a assepsia das sementes, foi utilizada solução de hipoclorito de sódio a 10%, por dois minutos, sendo lavadas, em seguida, em água corrente por 10 minutos, e em água destilada pelo mesmo período. Para a superação de dormência, as sementes foram imersas em água a 80 °C por cinco minutos, após, foram tratadas com o fungicida Captan® (Orthocide 500) a 0,5% em relação ao peso das sementes. O melhor tempo de imersão das sementes em água quente foi obtido a partir de testes preliminares, embasados no trabalho de VARELA & FERRAZ (1991), considerando que o tempo fosse o mínimo necessário para superar a dormência tegumentar sem, contudo, ocorrer embebição.

Experimento I: Avaliação do estresse osmótico

Para verificar o efeito de diferentes potenciais hídricos no processo germinativo, foi utilizado como agente osmótico o polietileno glicol (PEG 6000), nos potenciais de 0 (testemunha); -0,1; -0,2; -0,3; -0,4 e -0,5 MPa, sendo as soluções preparadas utilizando tabela citada por VILLELA et al. (1991). Para simular o estresse salino e determinar o limite máximo de tolerância das sementes de *Ochroma pyramidale* aos sais KCl, NaCl e CaCl₂, utilizaram-se os mesmos potenciais, sendo as soluções salinas preparadas a partir da equação de Van't Hoff, citada por BRAGA et al. (1999).

As sementes foram colocadas para germinar em caixas plásticas transparentes (11 x 11 x 3 cm), sobre papel mata-borrão umedecido

com 12 mL das soluções, em câmara de germinação BOD, à temperatura de 35 °C, sob fotoperíodo de 12 horas, com quatro lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (Osram® 20W) com irradiância de $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo utilizadas quatro repetições de 50 sementes, em cada tratamento.

As avaliações de porcentagem e índice de velocidade de germinação (IVG) foram realizadas diariamente, sendo consideradas germinadas as sementes com, aproximadamente, 2 mm de raiz (REHMAN et al., 1996). Os cálculos de porcentagem e velocidade de germinação foram realizados de acordo com LABOURIAU & VALADARES (1976) e MAGUIRE (1962), respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, disposto em esquema fatorial 4 x 6 (agentes osmóticos x potenciais osmóticos). Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, sendo a porcentagem de germinação e IVG transformados em $\sqrt{X+0,5}$. De acordo com a significância, os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial.

Experimento II: Avaliação do estresse osmótico com a aplicação de putrescina

Baseado nos dados obtidos no experimento I, foram utilizados os mesmos agentes osmóticos, porém com potenciais limitantes a 50% da germinação (-0,2; -0,3 e -0,4 MPa), além da testemunha (0 MPa), sendo adicionadas às soluções as concentrações de 0; 2 e 4 mM de putrescina.

Para cada tratamento, foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, em caixas plásticas transparentes (11 x 11 x 3 cm), tendo como substrato papel mata-borrão umedecido com 12 mL das soluções, em câmara de germinação BOD à temperatura de 35 °C, sob fotoperíodo de 12 horas, com quatro lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (Osram® 20W) com irradiância de $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

As avaliações de porcentagem e índice de velocidade de germinação (IVG) foram realizadas diariamente, sendo consideradas germinadas as sementes com, aproximadamente, 2 mm de raiz (REHMAN et al., 1996). Os cálculos de porcentagem e velocidade de germinação foram realizados de acordo com LABOURIAU & VALADARES (1976) e MAGUIRE (1962), respectivamente.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, disposto em esquema fatorial 4 x 4 x 3 (agentes x potenciais osmóticos x concentrações de putrescina). Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, a 5%

de probabilidade, sendo a porcentagem de germinação e IVG transformados em $\sqrt{X+0,5}$. De acordo com a significância, os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial.

Resultados e discussão

Experimento I – Avaliação do estresse osmótico

De acordo com a análise de variância (Tabela 1), os agentes e potenciais osmóticos testados apresentaram efeito significativo sobre os resultados de porcentagem e índice de velocidade de germinação, com interação entre os fatores, evidenciando as respostas diferenciadas entre os agentes osmóticos utilizados.

O estresse osmótico induzido por soluções de CaCl_2 , NaCl , KCl e PEG 6000 reduziu os valores de porcentagem e o índice de velocidade de germinação de sementes de *Ochroma pyramidale*, à medida que o potencial diminuiu (Figuras 1 A e B). Verificou-se que, quando as sementes foram submetidas às soluções salinas, ocorreu diferença significativa no potencial de -0,2 MPa para a porcentagem de germinação, em relação ao controle, enquanto para o PEG, foi possível verificar diferenças a partir de -0,3 MPa, sugerindo menor tolerância da espécie ao estresse salino do que ao estresse hídrico (Tabela 2).

Esta redução da porcentagem de germinação se deve ao fato de que a alta concentração de solutos em uma solução é um fator de estresse para as plantas, pois reduz o potencial osmótico, e a água é retida na solução, de forma que o aumento da concentração a torna cada vez menos disponível para as plantas (RIBEIRO et al., 2001), impedindo a germinação de sementes menos vigorosas.

A partir do potencial de -0,2 MPa, houve diferenças significativas entre os agentes osmóticos utilizados, com os maiores valores de porcentagem de germinação evidenciados em sementes submetidas às soluções de PEG, o que difere das respostas encontradas para sementes submetidas nas soluções de CaCl_2 , solução esta que não apresentou diferenças significativas em relação aos demais sais (NaCl e KCl) neste potencial.

As soluções de NaCl e KCl só diferiram do tratamento com PEG a partir do potencial -0,3 e -0,4 MPa, respectivamente, indicando menor toxicidade do KCl às sementes de *Ochroma pyramidale*.

Estes resultados diferem dos obtidos por FANTI & PEREZ (2004) para outra espécie da família Malvaceae, *Chorisia speciosa* St. Hil., que observaram diferença significativa a partir do potencial de -0,4 MPa nas soluções de PEG, NaCl e CaCl_2 e -0,6 MPa para KCl . Comportamento similar a este foi verificado por BAKKE et

al. (2006) em sementes de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret, as quais apresentaram maior sensibilidade ao estresse salino com redução de 95% da porcentagem de germinação no tratame-

nto testemunha, para 63 a 53% quando submetida a soluções de PEG com potenciais entre -0,9 e -1,2 MPa, e para 27 a 9,5% em soluções salinas, nos mesmos potenciais.

Tabela 1 - Análise de variância para o caráter germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Ochroma pyramidale*, em função de agentes e potenciais osmóticos. *Analysis of variance of data of germination (G) and speed of germination (IVG) of Ochroma pyramidale seeds submitted to osmotic agents and osmotic potentials.*

Fontes de variação	GL	G (%)	IVG
Agentes (A)	3	13,06 **	68,23 **
Potenciais (B)	5	195,07 **	516,46 **
A x B	15	3,838 **	10,314 **
Resíduo	72		
Média Geral		5,13	1,75
Coefficiente de Variação (%)		19,38	11,28

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F ($p < 0,01$)

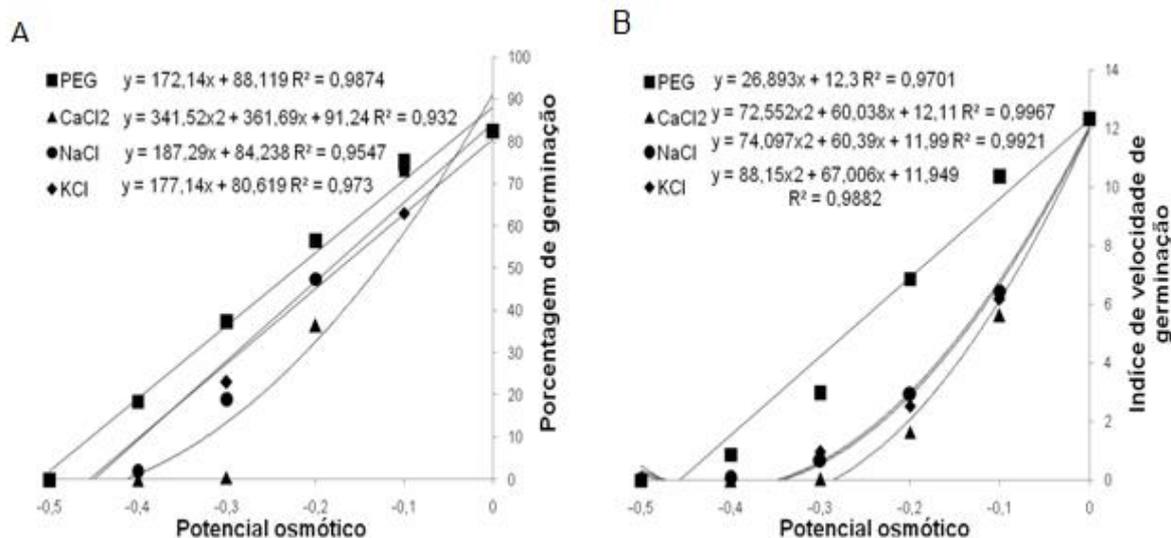


Figura 1 - (A) Porcentagem de germinação (G%) e (B) índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Ochroma pyramidale* submetidas a diferentes potenciais osmóticos (0,0; 0,1; -0,2; -0,3; -0,4 e -0,5 MPa). (A) *germination (G%) and (B) speed of germination index (IVG) of Ochroma pyramidale seeds submitted to osmotic potentials of 0.0, -0.1, -0.2, -0.3, -0.4, and -0.5 MPa.*

O comportamento diferenciado observado para as sementes de *O. pyramidale* presentes nas soluções salinas, quando comparado com o PEG, pode ser explicado pelo fato de que a inibição do crescimento ocasionada pela salinidade deve tanto ao efeito osmótico, ou seja, à seca fisiológica produzida, como ao efeito tóxico, resultante da concentração de íons no protoplasma (TOBE & OMASA, 2000), levando à formação de espécies reativas de oxigênio, tais como superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila e oxigênio singlete (GILL & TUTEJA, 2010). Estas formas citotóxicas de oxigênio podem perturbar gravemente o metabolismo através de dano oxidativo a lipídios e proteínas (LÓPEZ COLOMBA et al., 2013), o que, consequentemente, pode prejudicar a estrutura física das membranas celulares (ALCÁZAR et al., 2006; SHARMA et al., 2012).

Já a redução da germinação em soluções de PEG deve-se, provavelmente, à redução da absorção de água pelas sementes e não a um efeito tóxico do PEG, visto que o polietileno glicol é considerado um composto inerte e não tóxico (MARTINELLI-SENEME et al., 2000).

Avaliando os valores de porcentagem de germinação encontrados para *O. pyramidale* quando em soluções de diferentes potenciais osmóticos, observa-se que o limite máximo de tolerância foi encontrado entre -0,3 e -0,4 MPa em solução de CaCl₂, e entre -0,4 e -0,5 MPa nos demais agentes, semelhante ao observado para a espécie *Schizolobium amazonicum* (Huber) Ducke, por BRAGA et al. (2008), cuja germinação em solução de CaCl₂ foi inibida completamente a -0,3 MPa e em solução de NaCl, a -0,5 MPa.

Tabela 2 - Valores médios de porcentagem de germinação (G) e do índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Ochroma pyramidale* submetidas a agentes e a potenciais osmóticos. *Germination (G%) and speed of germination index (IVG) of Ochroma pyramidale seeds submitted to osmotic agents and osmotic potentials.*

Potencial osmótico (MPa)	Agentes osmóticos			
	PEG	CaCl ₂	NaCl	KCl
	(1) G (%)			
0,0 (Controle)	82,50 Aa	82,50 Aa	82,50 Aa	82,50 Aa
-0,1	75,50 Aa	73,25 Aa	73,50 ABa	63,00 ABa
-0,2	56,50 ABa	36,50 Bb	47,50 Bab	47,50 Bab
-0,3	37,50 BCa	0,50 Cc	19,00 Cb	23,00 Cab
-0,4	18,50 Ca	0,00 Cb	2,00 Db	2,00 Db
-0,5	0,00 Da	0,00 Ca	0,00 Da	0,00 Da
	(1) IVG			
0,0 (Controle)	12,349 Aa	12,349 Aa	12,349 Aa	12,349 Aa
-0,1	10,378 Aa	5,631 Bb	6,445 Bb	6,196 Bc
-0,2	6,868 Ba	1,652 Cb	2,962 Cbc	2,529 Cc
-0,3	2,988 Ca	0,036 Dc	0,691 Cc	0,968 Db
-0,4	0,879 Da	0,000 Db	0,062 Cb	0,067 Eb
-0,5	0,000 Ea	0,000 Da	0,000 Ca	0,000 Ea

(1) Médias seguidas pelas mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O efeito inibitório causado pelas soluções de CaCl₂ pode estar associado ao fato do Ca²⁺ ser um importante mensageiro secundário da transdução de sinais, portanto pequenas flutuações na concentração de Ca²⁺ citossólico alteram as atividades de muitas enzimas (PALLARDY, 2008).

Esses valores de limite de tolerância de *O. pyramidale* são consideravelmente baixos, comparando com outras espécies florestais que germinaram em potenciais acima de -1,0 MPa, como verificado em sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) (PEREZ & NEGREIROS, 2002), *Senna spectabilis* (DC) Irwin et Barn (JELLER & PEREZ, 2001) e *C. speciosa* (FANTI & PEREZ, 2004).

Os valores médios do índice de velocidade de germinação demonstraram que ocorreram reduções significativas a partir de -0,1 MPa nas soluções salinas e -0,2 MPa no PEG. Reduções na velocidade de germinação no mesmo potencial também foram observadas para *Peltophorum dubium* (BOTELHO & PEREZ, 2001) e para *S. amazonicum* (BRAGA et al., 2008).

Ao comparar a ação dos diferentes agentes sobre o IVG, nota-se que os maiores valores foram obtidos nas soluções de PEG, diferindo dos agentes salinos (Tabela 2). É possível observar que há uma redução gradual do IVG das sementes presentes em soluções de PEG, enquanto as sementes que estavam nas soluções salinas tiveram decréscimo acentuado no potencial de -0,1 MPa, em relação ao controle

(Figura 1 B). Nestas condições de redução do potencial hídrico, as sementes têm água suficiente para iniciar o processo germinativo (Fases I e II) sem, contudo, iniciar o crescimento da raiz primária (Fase III) (BRADFORD, 1990), reduzindo, assim, a velocidade de germinação, ampliando o período necessário para que seja atingido o teor mínimo de água exigido para o início da emergência do eixo embrionário (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

Em condições naturais, o estresse hídrico pode atuar de forma positiva no estabelecimento das espécies, distribuindo a germinação no tempo e aumentando a probabilidade de as plântulas encontrarem condições ambientais adequadas ao estabelecimento e desenvolvimento (BEWLEY & BLACK, 1994).

Experimento II – Avaliação do estresse osmótico com aplicação de putrescina

Neste segundo experimento, as respostas de porcentagem e o índice de velocidade de germinação mantiveram comportamento em relação aos agentes e potenciais osmóticos, bem como a interação entre esses fatores (Tabela 3). As concentrações de putrescina utilizadas apresentaram efeito significativo sobre a resposta de porcentagem de germinação, com interação entre os demais fatores. No entanto, somente sua interação com os potenciais osmóticos apresentou efeito significativo sobre o índice de velocidade de germinação, indicando que seu mecanismo de ação se dá na minimização do

efeito da restrição hídrica a que as sementes foram submetidas, independentemente do agente osmótico utilizado.

Houve redução na porcentagem e no índice de velocidade de germinação das sementes à medida que os potenciais osmóticos das soluções salinas se tornaram mais negativos (Tabela 4).

A germinação máxima das sementes em presença das soluções salinas, verificada no potencial de -0,2 MPa, foi estatisticamente inferior ao controle, exceto para NaCl, que diferiu a partir de -0,3 MPa.

Tabela 3. Análise de variância para o caráter germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Ochroma pyramidale* em função de agentes, potenciais osmóticos e concentrações de putrescina. *Analysis of variance of data of germination (G) and speed of germination (IVG) of Ochroma pyramidale seeds submitted to osmotic agents, osmotic potentials, and putrescine.*

Fontes de variação	GL	G (%)	IVG
Agentes (A)	3	73,11 **	45,66 **
Potenciais (B)	3	223,53 **	604,95 **
Concentrações (C)	2	4,93 **	1,93 ns
A x B	9	25,69 **	9,76 **
A x C	6	3,21 **	1,08 ns
B x C	6	4,42 **	4,99 **
Resíduo	162		
Média Geral		6,25	2,04
Coeficiente de Variação (%)		15,52	13,33

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F ($p < 0,01$); ns - não significativo pelo teste F ($p > 0,05$).

Observaram-se decréscimos mais acentuados na porcentagem e no índice de velocidade de germinação quando as sementes foram embebidas na solução de CaCl_2 , diferindo estatisticamente das outras soluções, indicando maior sensibilidade a este sal.

Os valores de porcentagem de germinação obtidos nos tratamentos com soluções de PEG 6.000, não diferiram estatisticamente do controle, porém essa resposta não foi observada para o IVG, que demonstrou diferença significativa a partir de -0,2 MPa.

Da mesma forma que o experimento I, os maiores valores de IVG foram evidenciados nas sementes que foram submetidas às soluções de PEG, diferindo dos agentes salinos, exceto para o NaCl no potencial de -0,2 MPa. Em relação aos valores obtidos nas soluções salinas, verificou-se que os menores valores foram observados nas soluções de CaCl_2 ; no entanto, estes não diferiram dos valores obtidos nas soluções de KCl nos potenciais de -0,2 e -0,4 MPa.

O fato de as soluções salinas causarem maior atraso na germinação das sementes de *O. pyramidale* pode estar relacionado não somente à retenção da água nas soluções osmóticas, como também, ao efeito tóxico provocado pelo desbalanço iônico (MENDES, 2009), alterando o metabolismo do embrião e prolongando a fase II da embebição das sementes.

Quando a putrescina foi adicionada ao meio germinativo, observou-se atenuação do

estresse osmótico, na concentração de 4 mM, através do aumento da germinação (Figura 2).

Observando os valores dos interceptos, é possível verificar que a concentração de 2 mM reduziu os valores de porcentagem, em relação às concentrações de 0 e 4 mM; porém, avaliando junto ao ângulo obtido na equação, nota-se que, para os potenciais mais negativos (entre -0,3 e -0,4 MPa), a concentração de 2 mM reduziu o efeito do estresse osmótico, apresentando uma curva com redução menos acentuada que a observada na concentração de 0 mM, exceto para as soluções de PEG, onde o tratamento com putrescina não apresentou diferença entre os diferentes potenciais.

Observando a Tabela 5, verificou-se aumento significativo dos valores de porcentagem de germinação no potencial de -0,3 MPa com aplicação de putrescina; porém, no potencial de -0,4 MPa, não houve diferença entre as concentrações de 0 e 4 mM.

A adição de putrescina nas soluções salinas pode ter reduzido o efeito do estresse osmótico nas sementes de *O. pyramidale*, através da redução do estresse oxidativo gerado pela salinidade, o que, conseqüentemente, pode ter levado a um aumento da atividade de enzimas antioxidantes (TANG & NEWTON, 2005), mantendo a integridade das membranas e reduzindo perturbações ao metabolismo do embrião, desencadeando a germinação.

Tabela 4. Valores médios de porcentagem de germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Ochroma pyramidale* submetidas a diferentes agentes e potenciais osmóticos. *Germination (G%) and speed of germination index (IVG) of Ochroma pyramidale seeds submitted to osmotic agents and osmotic potentials.*

Potencial osmótico (MPa)	Agentes osmóticos			
	PEG	CaCl ₂	NaCl	KCl
	(1) G (%)			
0,0 (Controle)	69,08 Aa	69,00 Aa	69,00 Aa	69,00 Aa
-0,2	61,17 Aa	48,17 Ba	58,58 Aa	52,83 Ba
-0,3	56,66 Aa	13,83 Cc	32,17 Bb	44,00 Ba
-0,4	58,17 Aa	0,83 Dd	15,66 Cb	6,50 Cc
	(1) IVG			
0,0 (Controle)	10,579 Aa	10,579 Aa	10,579 Aa	10,579 Aa
-0,2	5,812 Ba	3,466 Bc	5,032 Bab	4,057 Bbc
-0,3	3,588 Ca	0,609 Cd	1,634 Cc	2,521 Cb
-0,4	2,706 Ca	0,027 Dc	0,606 Db	0,172 Dbc

(1) Médias seguidas pelas mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

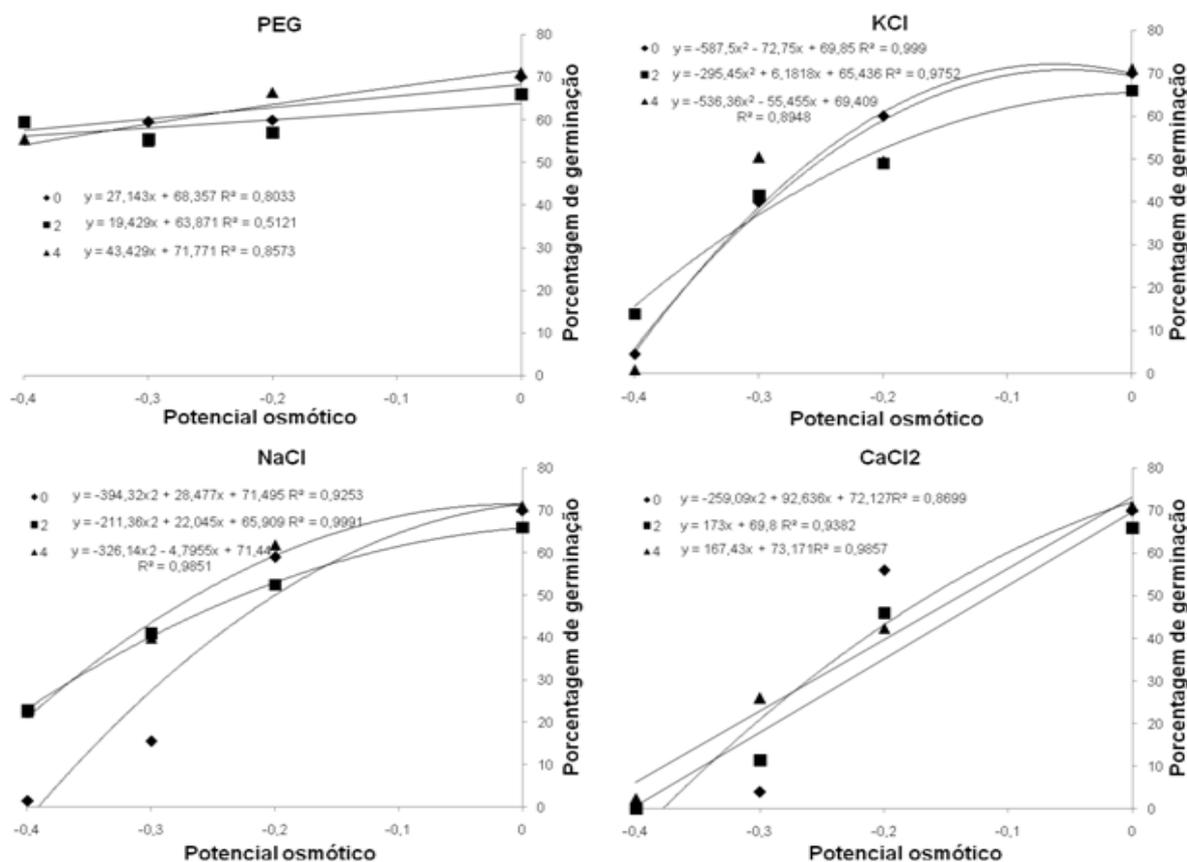


Figura 2. Porcentagem de germinação de sementes de *Ochroma pyramidale* em soluções osmóticas e aplicação de poliaminas (0; 2 e 4 mM). *Germination of Ochroma pyramidale seeds submitted to osmotic potentials in the presence of polyamines (0, 2, and 4 mM).*

Nos estudos realizados por BOTELHO & PEREZ (2001) em sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert, foi observada atenuação parcial do estresse hídrico durante a

germinação, com aumento nos valores de porcentagem e na velocidade de germinação, mas não no limite máximo de tolerância. Em sementes de *Enterolobium schomburgkii* (Benth.)

Benth, a aplicação da poliamina putrescina promoveu aumento na porcentagem de germinação sob os potenciais mais negativos (BRAGA et al., 2009). No entanto, esse comportamento diverge do apresentado por outras espécies florestais, em que a aplicação de poliaminas não atenuou o efeito do estresse osmótico, como em *Adenantha pavonina* L. (FONSECA & PEREZ, 2001;

FONSECA & PEREZ, 2003) e *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (BRAGA et al., 2007). JARDIM et al. (2007) verificaram que as soluções que continham putrescina causaram redução da viabilidade das sementes de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil, em relação ao controle.

Tabela 5. Valores médios de porcentagem e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Ochroma pyramidale* submetidas a diferentes potenciais osmóticos e concentrações de putrescina. *Germination (G%) and speed of germination index (IVG) of Ochroma pyramidale seeds submitted to osmotic potentials and putrescine concentrations.*

Potencial osmótico (MPa)	Concentrações de poliamina (mM)		
	0	2	4
	(1) G (%)		
0,0 (Controle)	70,00 Aa	66,06 Aa	71,00 Aa
-0,2	58,75 Aa	51,69 Ba	55,13 Ba
-0,3	29,75 Bb	37,38 Ca	42,88 Ca
-0,4	16,38 Cb	24,13 Da	20,38 Dab
	(1) IVG		
0,0 (Controle)	11,699 Aa	9,145 Ab	10,893 Aa
-0,2	5,121 Ba	4,027 Bb	4,628 Bab
-0,3	1,922 Ca	2,342 Ca	2,000 Ca
-0,4	0,690 Da	1,071 Da	0,871 Da

(1) Médias seguidas pelas mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Valores médios de porcentagem de germinação (G) e de índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Ochroma pyramidale* submetidas a diferentes agentes osmóticos e concentrações de putrescina. *Mean values of (G) and germination speed index (IVG) of Ochroma pyramidale seeds subject to osmotic agents and osmotic potentials.*

Putrescina (mM)	Agentes osmóticos			
	PEG	CaCl ₂	NaCl	KCl
	(1) G (%)			
0	62,25 Aa	30,87 Ac	36,50 Bb	43,62 Abc
2	59,50 Aa	32,50 Ac	45,62 Ab	42,62 Ab
4	62,00 Aa	35,50 Ac	48,87 Ab	43,00 Ac
	(1) IVG			
0	6,113	3,954	4,531	4,836
2	5,330	3,192	4,209	3,855
4	5,573	3,865	4,650	4,306

(1) Médias seguidas pelas mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Assim como observado para porcentagem, o índice de velocidade de germinação também reduziu com potenciais mais negativos (Figura 3), porém é notável que houve variações nos valores com a redução dos potenciais, com maior índice no tratamento sem acréscimo de putrescina (controle), seguido do potencial a -0,2 MPa, havendo menor média com a redução gradual da concentração de putrescina (Tabela

5). As poliaminas podem afetar negativamente o desenvolvimento de uma espécie, em função da concentração e da sensibilidade dos tecidos a esses compostos, como ocorreu em sementes de *Chorisia speciosa*, onde a aplicação de 5 mM de putrescina reduziu os valores de IVG até o potencial de -0,8 MPa, em relação ao tratamento sem aplicação de poliaminas (JARDIM et al., 2007).

Na Tabela 6, é possível verificar que a porcentagem de germinação obtida nas soluções de NaCl apresentou resposta diferenciada às concentrações de putrescina, onde o tratamento sem poliamina apresentou o menor valor (36,5%), diferenciando das demais concentrações. Esse resultado pode ser relacionado ao papel das poliaminas em resposta ao estresse provocado por Na⁺, proposto por YAMAGUCHI et al. (2006), em experimentos com *Arabidopsis thaliana*, onde esses reguladores agem sobre canais permeáveis ao Ca²⁺, sendo que esses íons atuam na expressão dos genes da via SOS (*salt overly sensitive*), ativando proteínas de transporte presentes na membrana plasmática, acarretando o efluxo dos íons de Na⁺ presentes no citossol e, por consequência, impedindo o extravasamento de K⁺, gerado em decorrência da despolarização da membrana durante o

estresse (SHABALLA et al., 2006; SHABALLA et al., 2007).

Ao comparar a ação da putrescina entre os agentes, os maiores valores foram observados na presença de PEG, diferenciando-se dos demais agentes. Os menores valores foram observados nas soluções de CaCl₂, que não diferiram dos resultados obtidos nas soluções de KCl nas concentrações de 0 e 4 mM.

De acordo com ALCAZAR et al. (2006), quando a aplicação de poliaminas exógenas não surte efeitos, este resultado pode ser atribuído à translocação e/ou interação com os componentes aniônicos da parede celular, onde as poliaminas são catabolizadas em amins por poliaminas oxidases.

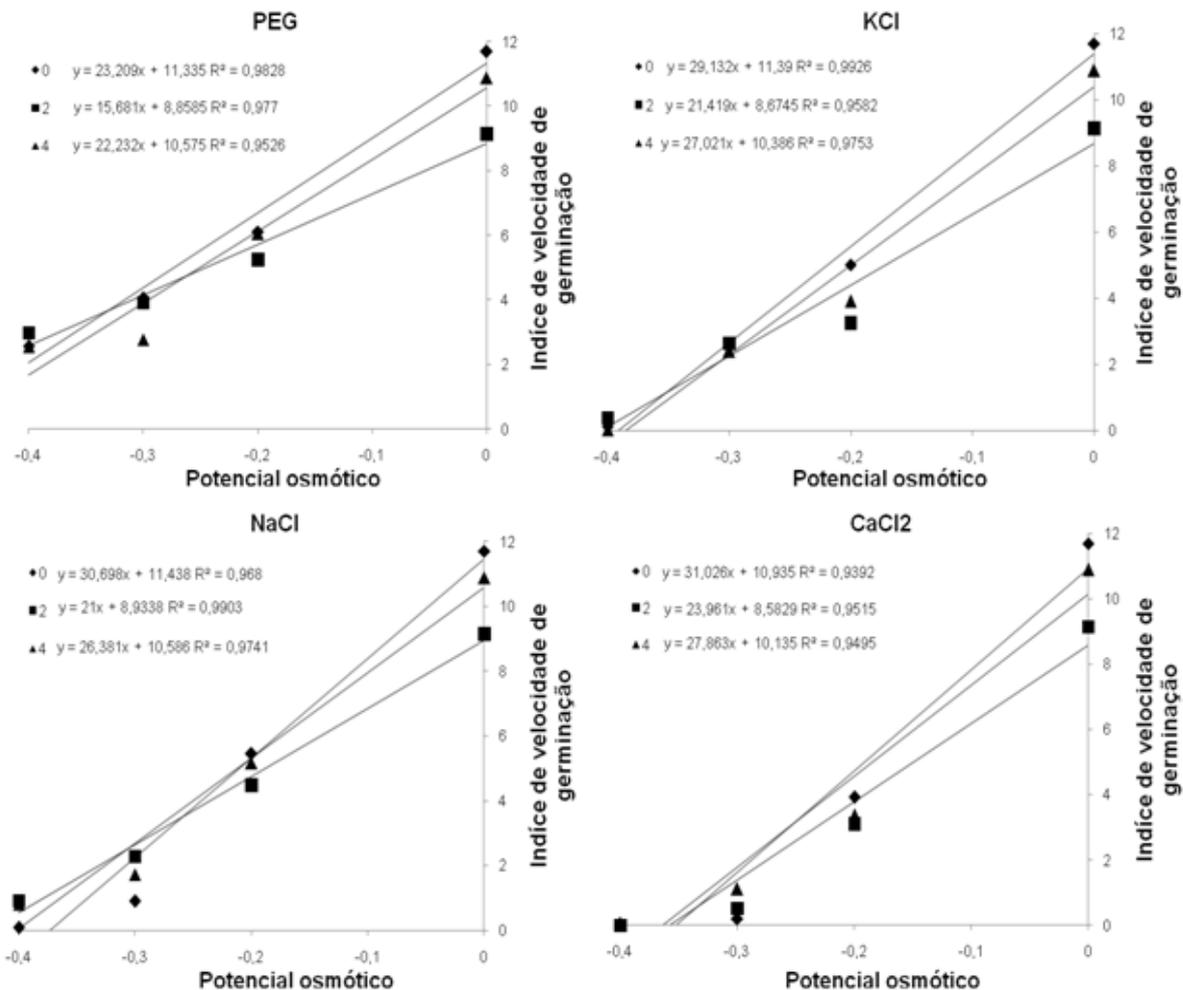


Figura 3. Índice de velocidade de germinação de sementes de *Ochroma pyramidale* em soluções osmóticas e aplicação de poliaminas. *Speed of germination index of Ochroma pyramidale seeds submitted to osmotic potentials and to polyamines.*

Conclusões

O estresse osmótico interfere na germinação de sementes de *Ochroma pyramidale*, pois reduz a porcentagem e a velocidade do processo germinativo à medida que os potenciais osmóticos se tornam mais negativos, especialmente nas soluções de CaCl₂.

Potenciais osmóticos entre -0,3 e -0,4 MPa de CaCl₂, -0,4 e -0,5 MPa de NaCl, KCl e PEG inibem a germinação de sementes de *Ochroma pyramidale*;

A aplicação da putrescina promove aumento na porcentagem de germinação sob os potenciais osmóticos mais negativos, porém o índice de velocidade de germinação diminui na presença deste regulador.

Agradecimento

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsa de estudos ao primeiro autor.

Referências

- AGBOOLA, D. A. Effect of saline solutions and salt stress on seed germination of one tropical forest tree species. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v.46, n.4, p.1.109-1.115, 1998.
- ALCÁZAR, R.; MARCO, F.; CUEVAS, J. C.; PATRON, M.; FERRANDO, A.; CARRASCO, P.; TIBURCIO, A. F.; ALTABELLA, T. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. **Biotechnology Letters**, New York, v.28, n.23, p.1867-1876, 2006.
- BAKKE, I. A.; FREIRE, A. L. O.; BAKKE, O. A.; ANDRADE, A. P.; BRUNO, R. L. A. Water and sodium chloride effects on *Mimosa Tenuiflora* (Willd.) Poiret seed germination. **Caatinga**, Mossoró, v.19, n.3, p.261-267, 2006.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nded. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BOTELHO, B. A.; PEREZ, S. C. J. G. A. Estresse hídrico e reguladores de crescimento na germinação de sementes de Canafístula. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.1, p.43-49, 2001.
- BRADFORD, K. J. A Water Relations Analysis of Seed Germination Rates. **Plant Physiology**, Lancaster, v.94, n.3, p.840-849, 1990.
- BRAGA, L. F.; CARVALHO, A. B.; SOUSA, M. P.; LIMA, G. P. P.; GONÇALVES, A. N. Aplicação de poliaminas em sementes de *Schizolobium amazonicum* (Huber) Ducke durante a germinação sob estresse hídrico. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.5, n.1, p.27-35, 2007.
- BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; ALMEIDA, T. A. Germinação de sementes de *Enterolobium schomburgkii* (Benth.) Benth. Submetidas a estresse salino e aplicação de poliamina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.1, p.63-70, 2009.
- BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; CESARO, A. S.; LIMA, G. P. P.; GONÇALVES, A. N. Germinação de sementes de pinho-cuiabano sob deficiência hídrica com diferentes agentes osmóticos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.36, n.78, p.157-163, 2008.
- BRAGA, L. F.; SOUZA, M. P.; BRAGA, J. F.; SÁ, M. E. Efeito da disponibilidade hídrica do substrato na qualidade fisiológica de sementes feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v.21, n.2, p.95-102, 1999.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Semente: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. A. Processo germinativo de sementes de paineira sob estresses hídrico e salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.9, p.903-909, 2004.
- FONSECA, S. C. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. Ação do polietileno glicol na germinação de sementes de *Adenantha pavonina* L. e o uso de poliaminas na atenuação do estresse hídrico sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v. 25, n.1, p.1-6, 2003.
- FONSECA, S. C. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. Germinação de sementes de olho-de-dragão (*Adenantha pavonina* L.): ação de poliaminas na atenuação do estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v.23, n.2, p.14-20, 2001.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.48, n.12, p.909-930, 2010.
- JARDIM, M. M.; PEREZ, S. C. J. G. A.; SANTIS, L. B. Efeitos do condicionamento da putrescina

na germinação de *Chorisia speciosa* St Hil. sob estresse. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, n.2, p.882-884, 2007.

JELLER, H.; PEREZ, S. C. J. G. A. Efeitos dos estresses hídrico e salino e da ação de giberelina em sementes de *Senna spectabilis*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.11, n.1, p.93-104, 2001.

LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds *Calatropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.48, p.263-284, 1976.

LIU, J.H.; NAKAJIMA, I.; MORIGUCHI, T. Effects of salt and osmotic stresses on free polyamine content and expression of polyamine biosynthetic genes in *Vitis vinifera*. **Biologia Plantarum**, Praha, v.55, n.2, p.340–344, 2011.

LÓPEZ COLOMBA, E.; TOMMASINO, E.; LUNA, C.; GRIFFA, S.; CARLONI, E.; RIBOTTA, A.; GRUNBERG, K. Differential salt-stress response during germination and vegetative growth in *in vitro* selected somaclonal mutants of *Cenchrus ciliaris* L. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v.87, p.157-163, 2013.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, Editora Plantarum, 1992, p.65.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination and in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, p.176-177, 1962.

MARTINELLI-SENEME, A.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Germinação de milho cv. al-34 em função do tamanho da semente e do potencial hídrico do substrato. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v.22, n.2, p.131-138, 2000.

MENDES, B. S. S. **Efeitos Fisiológicos e Bioquímicos do Estresse Salino em *Ananas porteanus***. 2009. 53f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.59, p.651–681, 2008.

PALLARDY, D. S. G. Plant Hormones and Other Signaling. In: PALLARDY, S. G. **Molecules physiology of woody plants**. 3rded. San Diego: Academic Press, 2008. p.367-377.

PEREZ, S. C. J. G. A.; NEGREIROS, G. F. Efeitos do pré-condicionamento na viabilidade e no vigor de sementes de Canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) em condições de estresse. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v.23, n.1, p.175-183, 2002.

REHMAN, S.; HARRIS, P. J. C.; BOURNE, W. F.; WILKIN, J. The effect of sodium chloride on germination and the potassium and calcium contents of Acacia seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.25, p.45-57, 1996.

RIBEIRO, M. C. C.; MARQUES, B. M.; AMARO-FILHO, J. Efeito da salinidade na germinação de sementes de quatro cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v.23, n.1, p.281-284, 2001.

ROSA, L. S.; FELIPPI, M.; NOGUEIRA, A. C.; GROSSI, F. Avaliação da germinação sob diferentes potenciais osmóticos e caracterização morfológica da semente e plântula de *Ateleia glazioviana* BAILL (TIMBÓ). **Cerne**, Lavras, v.11, n.3, p.306-314, 2005.

SADAK, M. S.; EL-MONEM, A. A. A.; EL-BASSIOUNY, H. M. S.; BADR, N. M. Physiological response of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to exogenous arginine and putrescine treatments under salinity stress. **Journal of Applied Sciences Research**, Athens, v.8, n.10, p.4943-4957, 2012.

SANTIAGO, E. J. A. **Caracterização morfológica e bioquímica de calos de pimenta longa (*Piper hispidinervium* Candolle, De Candolle)**. 2003. 162f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

SHABALLA, S.; CUIN, T. A.; POTTOSIN, I. Polyamines prevent NaCl-induced K⁺ efflux from pea mesophyll by blocking non-selective cation channels. **FEBS Letters**, Amsterdam, v.581, n.10, p.1993-1999, 2007.

SHABALLA, S.; DEMIDCHIK, V.; SHABALA, L.; CUIN, T. A.; SMITH, S. J.; MILLER, A. J.; DAVIES, J. M.; NEWMAN, I. A. Extracellular Ca²⁺ ameliorates NaCl-induced K⁺ loss from Arabidopsis root and leaf cells by controlling plasma membrane K⁺-permeable channels. **Plant Physiology**, Lancaster, v.141, n.4, p.1653-1665, 2006.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense

- Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, London, v.2012, p.1-26, 2012.
- SOUSA, M. P. **Germinação de sementes de *Plantago ovata*: estresse hídrico e salino, teor de prolina e atividade das enzimas amilase e ascorbato peroxidase**. 2004. 80f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.
- TALAAT, N. B.; SHAWKY, B. T. Modulation of nutrient acquisition and polyamine pool in salt-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heldeberg, v.35, n.8, p.2601-2610, 2013.
- TANG, W.; NEWTON, R. J. Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in *Virginia pine*. **Plant Growth Regulation**, v.46, p.31-43, 2005.
- TOBE, K.; LI, X.; OMASA, K. Seed germination and radicle growth of a halophyte, *Kalidium capsicum* (Chenopodiaceae). **Annals of Botany**, London, v.85, p.391-396, 2000.
- VARELA, V. P.; FERRAZ, I. D. K. Germinação de sementes de Pau-de-balsa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.10, p.1685-1689, 1991.
- VERSLUES, P. E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, Oxford, v.45, n.4, p.523-539, 2006.
- VILLELA, F. A.; DONI-FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.11-12, p.1957-1968, 1991.
- YAMAGUCHI, K.; TAKAHASHI, Y.; BERBERICH, T.; IMAI, A.; MIYAZAKI, A.; TAKAHASHI, T.; MICHAEL, A.; KUSANO, T. The polyamine spermine protects against high salt stress in *Arabidopsis thaliana*. **FEBS Letters**, Amsterdam, v.580, n.30, p.6783-6788, 2006.