



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

JANETE RODRIGUES MATIAS

**VULNERABILIDADE DE SEMENTES DE *Cenostigma pyramidale* (TUL.) AOS
ESTRESSES ABIÓTICOS**

MOSSORÓ

2019

JANETE RODRIGUES MATIAS

**VULNERABILIDADE DE SEMENTES DE *Cenostigma pyramidale* (TUL.) AOS
ESTRESSES ABIÓTICOS**

Tese apresentada ao Doutorado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de sementes

Orientador: Salvador Barros Torres,
Prof. Dr.

Coorientadora: Bárbara França Dantas,
Profa. Dra.

MOSSORÓ

2019

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

R433v Rodrigues Matias, Janete.
VULNERABILIDADE DE SEMENTES DE *Cenostigma
pyramidale* (TUL.) AOS ESTRESSES ABIÓTICOS / Janete
Rodrigues Matias. - 2019.
68 f. : il.

Orientador: Salvador Barros Torres.
Coorientadora: Bárbara França Dantas.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia, 2019.

1. Salinidade. 2. restrição hídrica. 3.
metabolismo germinativo. 4. atividade enzimática.
5. germinação. I. Barros Torres, Salvador, orient.
II. França Dantas, Bárbara, co-orient. III.
Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

JANETE RODRIGUES MATIAS

**VULNERABILIDADE DE SEMENTES DE *Cenostigma pyramidale* (TUL.) AOS
ESTRESSES ABIÓTICOS**

Tese apresentada ao Doutorado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de sementes

Defendida em: 12 / 03 / 2019.

BANCA EXAMINADORA



Salvador Barros Torres, Prof. Dr. (EMPARN/UFERSA)
Presidente



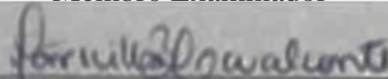
Bárbara França Dantas, Profa. Dra. (Embrapa Semiárido)
Membro Examinador



Francislene Angelotti, Profa. Dra. (Embrapa Semiárido)
Membro Examinador



Marcelle Almeida da Silva, Profa. Dra. (UNIVASF)
Membro Examinador



Márkilla Zunete Beckmann Cavalcante, Profa. Dra. (UNIVASF)
Membro Examinador



Carlos Alberto Aragão, Prof. Dr. (UNEB)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fortalecer e me guiar nas escolhas que fiz.

Aos meus pais, que são responsáveis por tudo que sou e almejo. Minha dedicação é para eles e por eles. Por me apoiarem, por serem tão pacientes, pelas orações, pelo cuidado e por serem meu porto seguro.

Ao meu orientador, Dr. Salvador Barros Torres, por ter me recebido tão bem, pela orientação, pelos ensinamentos e incentivos constantes, que despertaram em mim grande admiração e eterna gratidão.

À minha coorientadora, Bárbara França Dantas, pelo apoio que sempre me ofereceu, por acreditar no meu trabalho e incentivar desde a graduação.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade.

À Embrapa Semiárido, pela disponibilização da sua infraestrutura e apoio dos funcionários.

Aos colegas do Laboratório de Análise de Sementes da UFERSA, que foram importantes no meu dia a dia e me fizeram sentir tão bem acolhida, hoje fazem parte da minha vida e por quem tenho enorme carinho. Ganhei amigos para a vida!

Aos funcionários da UFERSA que sempre foram prestativos e sempre que precisei me ajudaram.

A todos do LASESA, por fazerem parte da minha vida nesses anos de Embrapa e por toda a ajuda e amizade.

À secretária do Programa, Acácia Camila Diógenes Costa, por ser tão atenciosa sempre que precisei.

Aos membros da banca, pelas contribuições.

À CAPES pela concessão da bolsa.

Aos que compartilharam dos momentos difíceis, que me incentivaram, me ouviram, vocês foram muito importantes, de verdade. Eu sou eternamente grata! A todos aqueles que de uma forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho. Afinal... SOZINHA NÃO CONSEGUIRIA!

OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| RESUMO..... | 7 |
| ABSTRACT..... | 9 |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 13 |
| REFERÊNCIAS..... | 17 |
| CAPITULO 1 - VULNERABILIDADE DE ACESSOS DE SEMENTES DE <i>Cenostigma pyramidale</i> À SALINIDADE E RESTRIÇÃO HÍDRICA EM DIFERENTES TEMPERATURAS | 21 |
| RESUMO..... | 21 |
| CHAPTER 1 - VULNERABILITY OF <i>Cenostigma pyramidale</i> SEEDS ACCESS TO SALINITY AND WATER RESTRICTION AT DIFFERENT TEMPERATURES..... | 22 |
| ABSTRACT..... | 22 |
| INTRODUÇÃO | 23 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| RESULTADOS E DISCUSSAO..... | 26 |
| CONCLUSÕES | 41 |
| REFERÊNCIAS..... | 42 |
| CAPITULO 2 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM ACESSOS DE SEMENTES DE <i>Cenostigma pyramidale</i> DURANTE A GERMINAÇÃO SOB ESTRESSES ABIÓTICOS..... | 48 |
| RESUMO..... | 48 |
| CHAPTER 2 - ENZYMATIC ACTIVITY IN ACCESSIONS OF SEEDS OF <i>Cenostigma pyramidale</i> DURING GERMINATION UNDER ABIOTIC STRESSES | 49 |
| ABSTRACT..... | 49 |
| INTRODUÇÃO | 50 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 51 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 52 |
| CONCLUSÕES | 62 |
| REFERÊNCIAS..... | 63 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 68 |

MATIAS, J. R. **Vulnerabilidade de sementes de *Cenostigma pyramidale* (TUL.) aos estresses abióticos**. 2019. 68f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2019

RESUMO

Os fatores externos poderão retardar, inibir ou promover a germinação. Compreender os mecanismos utilizados neste processo é de extrema relevância na medida em que permite, por exemplo, o uso da espécie nas situações futuras de maior intensidade dos estresses ambientais. A tolerância insuficiente das plantas a fatores ambientais adversos pode ameaçar a viabilidade da espécie. Sobreviver sob estresses depende da habilidade das espécies vegetais em perceber o estímulo, gerar e transmitir o sinal, apresentando alterações tanto fisiológicas quanto bioquímicas e enzimáticas. No capítulo 1, objetivou-se avaliar a germinação, vigor e o metabolismo de dois acessos de *Cenostigma pyramidale*, sob condições de salinidade e restrição hídrica em diferentes temperaturas. Para simular os estresses, utilizou-se soluções de cloreto de sódio e polietilenoglicol com potenciais osmóticos de -0,1; -0,2, -0,4; -0,6 MPa e -0,1; -0,2; -0,3; -0,4 MPa, respectivamente. Para cada tratamento, utilizou-se 100 sementes, divididas em quatro repetições. Avaliou-se o índice de velocidade de germinação, número de plântulas normais, comprimento e massa seca das raízes e partes aéreas. Além disso, determinou-se o teor de proteínas totais, aminoácidos livres e açúcares solúveis totais. A temperatura influencia na tolerância das sementes de *C. pyramidale* à restrição hídrica e salinidade. Os açúcares solúveis totais, proteínas totais e aminoácidos, presentes em plântulas de *C. pyramidale*, respondem como indicadores de tolerância desta espécie aos estresses abióticos. Os acessos de *C. pyramidale* sob estresses abióticos respondem diferentemente quanto à germinação, vigor e metabolismo, tendo o da Bahia apresentado tolerância à salinidade superior ao do Rio Grande do Norte. No segundo capítulo, o objetivo foi avaliar a germinação e atividade de enzimas antioxidantes em dois acessos de *Cenostigma pyramidale* sob restrição hídrica e salinidade, em diferentes temperaturas. Os acessos foram provenientes da Bahia e do Rio Grande do Norte. A germinação foi conduzida sob temperaturas de 25, 30 e 35 °C durante 14 dias, considerando-se germinadas as que apresentavam a protrusão de raiz. Para a atividade das enzimas antioxidantes, catalase, peroxidase e superóxido dismutase, sob temperaturas de 30 e 35 °C, a salinidade e restrição hídrica

foram simuladas para os potenciais osmóticos de -0,1 e -0,4 MPa e de -0,1 e -0,3 MPa, respectivamente. Para isso, coletou-se os eixos embrionários com 2 e 4 mm e seus respectivos cotilédones. Os acessos de *C. pyramidale* diferem no mecanismo enzimático adotado na sinalização aos estresses abióticos. A temperatura influencia na tolerância de sementes de *C. pyramidale* à salinidade e restrição hídrica. As atividades das enzimas antioxidativas em eixos embrionários e cotilédones de plântulas de *C. pyramidale* variam entre os acessos, temperaturas e estresses. A avaliação de diferentes acessos permitiu amplo entendimento da germinação e dos mecanismos bioquímicos e enzimáticos durante o processo germinativo, sob estresses abióticos.

Palavras-chave: Salinidade, restrição hídrica, metabolismo germinativo, atividade enzimática, germinação.

MATIAS, J.R. **Vulnerability of *Cenostigma pyramidale* (TUL.) seeds to abiotic stresses.** 2019. 68p. Thesis (Doctorate in Plant Science) – Universidade Federal Rural Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2019

ABSTRACT

External factors may slow down, inhibit or promote germination. Understanding the mechanisms used in this process is extremely relevant because it allows, for example, the use of the species in future situations of greater intensity of environmental stresses. Insufficient plant tolerance to adverse environmental factors may threaten species viability. Surviving under stress depends on the ability of plant species to perceive the stimulus, generate and transmit the signal, presenting physiological, biochemical and enzymatic changes. In chapter 1, the objective was to evaluate the germination, vigor and metabolism of two accessions of *Cenostigma pyramidale* under conditions of salinity and water restriction at different temperatures. To simulate the stresses, solutions of sodium chloride and polyethylene glycol with osmotic potentials of -0,1; -0,2, -0,4; -0,6 MPa e -0,1; -0,2; -0,3; -0,4, respectively, were used. For each treatment, 100 seeds, divided into four replicates, were used. The germination speed index, number of normal seedlings, length and dry mass of roots and aerial parts were evaluated. In addition, the content of total proteins, free amino acids and total soluble sugars were determined. The temperature influences the tolerance of *C. pyramidale* seeds to water restriction and salinity. The total soluble sugars, total proteins and amino acids present in seedlings of *C. pyramidale* respond as indicators of tolerance of this species to abiotic stresses. The accessions of *C. pyramidale* under abiotic stresses respond differently regarding germination, vigor and metabolism, with Bahia presenting a higher tolerance to salinity than that of Rio Grande do Norte. In the second chapter, the objective was to evaluate the germination and activity of antioxidant enzymes in two accesses of *C. pyramidale* under water restriction and salinity, at different temperatures. The accesses came from Bahia and Rio Grande do Norte. The germination was conducted under temperatures of 25, 30 and 35 ° C for 14 days, considering as germinated those ones with root protrusion. For the activity of the antioxidant enzymes, catalase, peroxidase and superoxide dismutase, under temperatures of 30 and 35 ° C, salinity and water restriction were simulated for the osmotic potencies of -0,1 and -0,4 MPa and of -0, 1 and -0,3 MPa, respectively. For this, the embryonic axes with 2 and 4

mm and their respective cotyledons were collected. The accessions of *C. pyramidale* differ in the enzymatic mechanism adopted in the signaling to the biotic stresses. The temperature influences the tolerance of *C. pyramidale* seeds to salinity and water restriction. The activities of the antioxidative enzymes in embryonic axes and cotyledons of *C. pyramidale* seedlings vary between accesses, temperatures and stresses. The evaluation of different accesses allowed a broad understanding regarding germination and biochemical and enzymatic mechanisms during the germination process under abiotic stresses.

Keywords: Salinity, water restriction, germination metabolism, enzymatic activity, germination.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

CAPITULO 1- VULNERABILIDADE DE ACESSOS DE SEMENTES DE *Cenostigma pyramidale* À SALINIDADE E RESTRIÇÃO HÍDRICA EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Tabela 1. Potencial osmótico, condutividade elétrica e quantidade de cloreto de sódio utilizado na simulação dos estresses25

Tabela 2. Número de plântulas normais, comprimento de raiz e de parte aérea, massa seca de raiz e de parte aérea de acessos de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas.....27

Figura 1. Índice de velocidade de germinação IVG, a-c) e número de plântulas normais (PN, d-f) de acessos Massaroca 2016- BA e Rio Grande do Norte 2016- RN, de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e salinidade..... 29

Figura 2. Comprimento de raízes (CR, a-c) e de parte aérea (CPA, d-f), massa seca de raízes (MSR, g-i) e de parte aérea (MSPA, j-l) de dois acessos, Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN), de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas salinidade. 31

Figura 3. Proteínas solúveis em eixos embrionários (a-b) e cotilédones (c-d) e aminoácidos livres em eixos embrionários (e-f) e cotilédones (g-h) coletados no tamanhos (1 a 2 mm) de acessos Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN) plântulas de *Cenostigma pyramidale* sob 30 e 35 °C e salinidade. 33

Figura 4. Proteínas solúveis em eixos embrionários (a-b) e cotilédones (c-d) e aminoácidos livres em eixos embrionários (e-f) e cotilédones (g-h) coletados com 2 a 4 mm de acessos Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN) plântulas de *Cenostigma pyramidale* sob 30 e 35 °C e salinidade. 34

Figura 5. Plântulas normais (PN) e índice de velocidade de germinação (IVG) de acessos da Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN), de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e restrição hídrica. 36

Figura 6. Comprimento de raízes (CR, a-c) e de parte aérea (CPA, d-f), massa seca de raízes (MSR, g-i; e de parte aérea, MSPA, j-l) de dois acessos, Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN), de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e restrição hídrica. 38

Figura 7. Proteínas solúveis em eixos embrionários (a-b) e cotilédones (c-d), aminoácidos livres em eixos embrionários (e-f) e cotilédones (g-h) e açúcares solúveis totais em eixos embrionários (i-j) e cotilédones (k-l) coletados com 1 a 2 mm, de acessos (BA e RN) plântulas de *Cenostigma pyramidale* sob 30 e 35 °C e restrição hídrica..... 39

Figura 8. Proteínas solúveis em eixos embrionários (a-b) e cotilédones (c-d), aminoácidos livres em eixos embrionários (e-f) e cotilédones (g-h) e açúcares solúveis totais em eixos embrionários (i-j) e cotilédones (k-l) coletados em com tamanho de 2 a 4 mm, de acessos (BA e RN) plântulas de *Cenostigma pyramidale* sob 30 e 35 °C e restrição hídrica.....40

CAPITULO 2- ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM ACESSOS DE SEMENTES DE *Cenostigma pyramidale* DURANTE A GERMINAÇÃO SOB ESTRESSES ABIÓTICOS

Figura 1. Germinação de sementes de acessos de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e salinidade..... 53

Figura 2. Atividade das enzimas peroxidase (a-d), catalase (e-h) e superóxido dismutase (i-l) em eixos embrionários com tamanho de 1 a 2 mm e cotilédones de *Cenostigma pyramidale* coletados, sob duas temperaturas e salinidade. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média.....55

Figura 3. Atividade das enzimas peroxidase (a-d), catalase (e-h) e superóxido dismutase (i-l) em eixos embrionários com tamanho de 2 a 4 mm e cotilédones de *Cenostigma pyramidale* coletados, sob duas temperaturas e salinidade. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média.....56

Figura 4. Germinação de acessos de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e restrição hídrica. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média ..58

Figura 5. Atividade das enzimas peroxidase (a-d), catalase (e-h) e superóxido dismutase (i-l) em eixos embrionários com tamanho de 1 a 2 mm e cotilédones de *Cenostigma pyramidale* coletados, sob duas temperaturas e restrição hídrica. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média..... 59

Figura 6. Atividade das enzimas peroxidase (a-d), catalase (e-h) e superóxido dismutase (i-l) em eixos embrionários com tamanho de 2 a 4 mm e cotilédones de *Cenostigma pyramidale* coletados, sob duas temperaturas e salinidade. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média..... 60

INTRODUÇÃO GERAL

As plantas estão sujeitas frequentemente a agressões causadas por agentes bióticos e abióticos. Entre as situações ambientais capazes de produzir esses estresses, pode-se citar a salinidade, a seca e as altas temperaturas (SUZUKI et al., 2014). Um dos ecossistemas que se enquadram nesses aspectos é a Caatinga. Trata-se de uma região com grande diversidade biológica e alto nível de endemismo, abrigando ampla gama de espécies adaptadas a este tipo de clima (RIBEIRO et al., 2012). Entre estas, encontra-se a *Cenostigma pyramidale* (Tul.) Gagnon & G.P. Lewis (Fabaceae), (sinonímia *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz; *Caesalpinia pyramidalis* [Tul.]).

A sensibilidade das sementes ao estresse depende, dentre outros fatores, da velocidade de absorção de água e da temperatura (DANTAS et al., 2014). As oscilações térmicas possivelmente interferem no processo germinativo; para a *C. pyramidale*, ainda não foram estabelecidos os limites de redução da temperatura na germinação dessas sementes. Considerar os prejuízos nos processos de germinação, como a embebição e a protrusão da raiz primária, até a formação de plântulas, possibilitará melhor entendimento dos mecanismos de germinação das sementes sob condições ambientais adversas.

Sabe-se que a germinação inicia com a embebição das sementes e é seguida por eventos moleculares, bioquímicos e celulares que terminam com a protrusão da radícula (BEWLEY et al., 2013). Os fatores externos poderão retardar, inibir ou promover a germinação. Compreender os mecanismos utilizados neste processo é de extrema relevância na medida em que permite, por exemplo, o uso da espécie nas situações futuras de maior intensidade dos estresses ambientais.

C. pyramidale apresenta tolerância aos estresses ambientais, tanto à salinidade quanto à restrição hídrica (TEIXEIRA et al., 2007; ANTUNES et al., 2011; MATIAS et al., 2013; SANTOS et al., 2016). Além disso, a germinação dessa espécie ocorre em ampla faixa de temperatura (MATIAS et al., 2014), desde constantes (ANTUNES et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011; MATIAS et al., 2013; SANTOS et al., 2014; AFFONSO et al., 2015, GOMES et al., 2015) a temperaturas alternadas (LIMA et al., 2011). Os efeitos dos estresses combinados entre temperaturas e restrição hídrica ainda são pouco conhecidos (MATIAS et al., 2017) e não há informações para os que atuam desde o processo germinativo ao metabolismo, utilizando sementes de mais de uma procedência.

Quando os estresses ocorrem juntos, podem ocorrer alterações no crescimento sob estresse hídrico e calor, quanto em combinação desses, resultando em danos mais severos ao

crescimento das plantas (SUZUKI et al., 2015). A ocorrência das mudanças climáticas na região semiárida implicará aumento da temperatura e, provavelmente, a seca continuará ocorrendo de forma mais intensa (MARENGO et al., 2018). Sendo assim, os efeitos adversos desses estresses para as diferentes espécies vegetais serão inevitáveis.

A tolerância insuficiente das plantas a fatores ambientais adversos pode ameaçar a viabilidade da espécie. Portanto, é extremamente importante conhecer os indicadores básicos que podem caracterizar a tolerância das plantas a esses estresses (HUSEYNOVA et al., 2015), desde a germinação ao seu metabolismo durante o processo germinativo e a regulação da mobilização das reservas. As estratégias das plantas para lidar com estresses abióticos normalmente envolvem um conjunto de mecanismos de prevenção. Durante a seca, as plantas podem evitar o desenvolvimento do sistema radicular; ao passo que a tolerância à seca envolve ajustes metabólicos, mediados por alterações na expressão gênica, para ajudar a melhorar a funcionalidade da planta (WELFARE et al., 2002). A capacidade que algumas espécies têm de germinar em condições desfavoráveis confere vantagens ecológicas sobre outras que são sensíveis (LAVEZO et al., 2015).

As plantas são frequentemente submetidas a períodos de solo e déficits hídricos durante seu ciclo de vida (SILVA et al., 2010). A fase de germinação pode ser inviabilizada caso a demanda hídrica não seja suprida (MARCOS FILHO, 2015). Esta impossibilidade se deve à redução do potencial hídrico da célula e, conseqüentemente, à redução da pressão de turgor, prejudicando a expansão e o crescimento celular, além de afetar o metabolismo, crescimento e estabelecimento das plântulas (JALEEL et al., 2009).

Pesquisas com sementes de espécies florestais envolvendo diferentes temperaturas, níveis de potenciais osmóticos simulando salinidade e deficiência hídrica vêm sendo realizadas, como as de Ferreira et al. (2017) com *Handroanthus spongiosus* (Rizzini) S. Grose; Dutra et al. (2017) com *Peltophorum dubium* Sprengel Taubert; Nogueira et al. (2018) com *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth, para condições salinas. A combinação de temperaturas e restrição hídrica foi testada para algumas espécies como *Apeiba tibourbou* (GUEDES et al., 2013), *Chorisia glaziovii* O. Kuntze (SILVA et al., 2016a) e *Piptadenia moniliformis* Benth. (AZEREDO et al., 2016). Para *C. pyramidale*, ainda não se tem conhecimento sobre a resposta da combinação de estresses, tampouco sobre os mecanismos fisiológicos e bioquímicos desta espécie sob essas condições adversas.

A salinidade pode aumentar a pressão osmótica e, a depender do nível, responder semelhantemente ao déficit hídrico, diminuindo a absorção de água no final da divisão e diferenciação celular, acarretando redução no comprimento da plúmula e da radícula

(LAGHMOUCHI et al., 2017).

Os limites toleráveis pelas espécies sobreviverem em situação de baixa disponibilidade de água, e o nível que reduzirá o crescimento das plântulas difere entre espécies e dentro da espécie. A redução do crescimento ocorre porque a água tem essa direta ligação com a expansão e alongação do eixo embrionário (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Assim, a restrição hídrica paralisa os processos fisiológicos da planta, uma vez que as células só crescem quando estão túrgidas (LARCHER, 2006). A combinação de temperaturas e restrição hídrica foi testada para algumas espécies, como *Apeiba tibourbou* (GUEDES et al., 2013), *Chorisia glaziovii* O. Kuntze (SILVA et al., 2016a) e *Piptadenia moniliformis* Benth. (AZEREDO et al., 2016).

Populações de habitats semelhantes podem apresentar diferentes respostas de germinação quanto à temperatura e estresses osmóticos. Essas diferenças podem ocorrer graças às variações ambientais durante a maturação das sementes e ao efeito do genótipo materno (FENNER; TOMPSON, 2005). A variação interpopulacional é uma importante estratégia de sobrevivência para as espécies com ampla distribuição (BASKIN; BASKIN, 2014; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ et al., 2014).

A atividade enzimática depende de fatores como espécie estudada, parte da planta, tipo e duração do estresse. Normalmente, as plantas desenvolvem grande escala de componentes químicos e estratégias para controlar a produção fisiológica ou aumento de nível de EROs, sob condições de estresse como seca, salinidade, temperatura, dentre outros (SAIBI; BRINI, 2018).

As sementes de espécies nativas da Caatinga, incluindo *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan, *Myracrodruon urundeuva* (Fr. All.), *Aspidosperma pyrifolium* (Mart.), *Erythrina velutina* (Willd.), apresentam alta tolerância ao sal e mecanismos efetivos de germinação sob salinidade (DANTAS et al., 2014). Em plantas submetidas à salinidade, as respostas são diversas, desde acúmulo de açúcares solúveis (DANTAS et al., 2014) à produção de espécies reativas de oxigênio, as EROS, que, em concentrações baixas, são sinalizadores de tolerância (REN et al., 2016).

Algumas espécies desenvolvem um sistema antioxidante eficiente, controlando os níveis de EROS, prevenindo os efeitos deletérios sobre as biomoléculas na célula (HOSSAIN et al., 2015). Se o nível estressante se eleva, a formação de EROS se intensifica e sua eliminação deve ocorrer de forma constante a fim de evitar o estresse oxidativo. Desta forma, a ação sincronizada das enzimas responsáveis pela remoção das EROS confere maior às plantas tolerância sob condições de estresse (DEUNER et al., 2011).

Sob deficiência hídrica, a concentração de EROs aumenta, podendo causar estresse oxidativo, além de reduzir a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas (LAXA et al., 2019). Sob salinidade, pode afetar a germinação de sementes pelo efeito osmótico, toxicidade iônica ou ambos; a partir disso, a planta desencadeia mecanismos para lidar com os danos causados pelo sal, como modificações em desenvolvimento, atividade de enzimas antioxidantes (ZHANG et al., 2014).

Os efeitos osmóticos e iônicos do déficit hídrico e da salinidade podem aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio, que interagem com diversas moléculas, levando à peroxidação lipídica, desnaturação protéica, destruição de membrana, dentre outros (SILVA et al., 2019).

O entendimento dos mecanismos bioquímicos e antioxidantes desempenha papel importante na resposta das plantas a uma combinação de seca e estresse térmico (SUZUKI et al., 2014). A alta concentração de EROs prejudica os organismos, a funcionalidade e integridade celular, causando danos a macromoléculas e desnaturação de proteínas (GILL; TUTEJA, 2010) e, a depender do nível de dano celular, pode ser irreversível às células, com consequente perda da capacidade fisiológica e eventual morte celular (BARBOSA et al., 2014). Portanto, isso evidencia a importância dos mecanismos de defesa contra o dano oxidativo, ativados durante o estresse, para regular os níveis tóxicos de EROs (MULLINEAUX; BAKER, 2010).

OBJETIVOS

Determinar a tolerância de acessos de sementes de *C. pyramidale* à restrição hídrica ou salinidade em diferentes temperaturas, durante a germinação; avaliar a mobilização de reservas e atividade enzimática durante a germinação de sementes de acessos de *C. pyramidale* sob estresses abióticos (salinidade, restrição hídrica e temperatura).

REFERÊNCIAS

- AFFONSO, I. B.; MATIAS, J. R.; GOMES, S. E. V.; COSTA, D. C. C.; DANTAS, B. F. Germinação de sementes de *Poincianella pyramidalis* Tul. L. P. Queiroz submetidas ao déficit hídrico. **Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido**, Petrolina, PE, 2015. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/135704/1/Isabela.pdf>>. Acesso em: 1º abr. 2018.
- ANTUNES, C. G. C.; PELACANI, C. R.; CONDURU, R. C.; SOUZA, J. V.; SOUZA, C. L. M.; CASTRO, R. D. Germinação de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (catingueira) submetidas a deficiência hídrica. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 35, n. 5, p. 1007-1015, 2011.
- ANTUNES, C. G. C.; PELACANI, C. R.; RIBEIRO, R. C.; GOMES, H. L. R.; CASTRO, R. D. Influência do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 34, n. 6, p. 1001-1008, 2010.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; CAMARA, C. U. T. R. C. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. 2. ed. San Diego, CA, USA: Academic/Elsevier, 2014.
- DEUNER, C.; MAIA, M. S.; DEUNER, S.; ALMEIDA, A. S.; MENEGHELLO, G. E. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de fenótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 711-720, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v33n4/13.pdf>>. Acesso em: 2 abr. 2018.
- FENNER, F.; THOMPSON, K. **The ecology of seeds**. London: Cambridge University Press, 2005.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.
- GOMES, S. E. V.; MATIAS, J. R.; BRITO, I. A.; RIBEIRO, R. C.; DANTAS, B. F. Limites de temperatura para germinação de sementes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz. **X JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO**, Petrolina, PE, 2015.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; VIANA, J. S.; GONÇALVES, E. P.; SANTOS, S. R. N.; COSTA, G. G. Tratamentos pré-germinativos e temperaturas para a germinação de sementes

- de *Apeiba tibourbou* Aubl. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 131-140, 2011.
- HOSSAIN, M. A.; BHATTACHARJEE, S.; ARMIN, S. M.; QIAN, P.; XIN, W.; LI, H. Y.; BURRITT, D. J.; MASAYUKI, F.; TRAN, L. S. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 420, 2015.
- JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture Biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/fc62/ad94f99b818ee7f9aca6d879b434b04ba609.pdf>>. Acesso em: 3 abr. 2018.
- LAGHMOUCHI, Y.; BELMEHDI, O.; BOUYAHYA, A.; SENHAJI, N. S.; ABRINI, J. Effect of temperature, salt stress and pH on seed germination of medicinal plant *Origanum compactum*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, p. 156-160, 2017.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Tradução de Prado, C. H. B. A. São Carlos: Rima, 2006.
- LAVEZO, A.; BRAGA, L. F.; BATISTÃO, A. C.; BONFANTE, L. V. Estresse osmótico na germinação de sementes de *Petiveria alliacea* L. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 17, n. 4, p. 622-630, 2015.
- LIMA, C. R.; PACHECO, M. V.; BRUNO, R. L. A.; FERRARI, C. S.; BRAGA JUNIOR, J. M.; BEZERRA, A. K. D. Temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* TUL. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 216-222, 2011.
- MARENCO, J.A.; CUNHA, A.P.; ALVES, L.M.A seca de 2012-15 no semiárido do Nordeste do Brasil no contexto histórico. **Climanálise**, v. 3, p. 49-54, 2018. Disponível em: <<http://climanalise.cptec.inpe.br/~rclimanl/revista/pdf/30anos/marengoetal.pdf>>. Acesso em: 5 abr. 2018.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, V., MARTÍNEZ-GARCÍA, F.; PÉREZ-GARCÍA, F. Census, reproductive biology, and germination of *Astragalus gines-lopezii* (Fabaceae), a narrow and endangered endemic species of SW Spain. **Turkish Journal of Botany**, v. 38, p. 686-695, 2014.
- MATIAS, J. R.; CONDURU, R. C.; OLIVEIRA, G. M.; AFFONSO, I. B.; SILVA, T. B.; COSTA, D. C. C.; BISPO, J. S.; MENDES, R. B.; DANTAS, B. F. Temperatura limitante à

germinação de semente de Catingueira-verdadeira. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 24, n. 3, p. 87, 2014.

MATIAS, J. R.; LEITE, M. S.; AQUINO, G. S. M.; TORRES, S. B.; DANTAS, B. F. Temperatura e restrição hídrica na germinação de sementes de *Poincianella pyramidalis*. In: **JORNADA DE INTEGRAÇÃO DA PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA SEMIÁRIDO**, 2., 2017, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semiárido, 2017. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/174281/1/2o-resumo-de-SDC2804.pdf>

MATIAS, J. R.; SANTOS, M. G.; RIBEIRO, R. C.; OLIVEIRA, G. M.; DANTAS, B. F. Germinação de sementes de Catingueira-verdadeira sob estresse salino. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 166, ago. 2013. 1 CD- ROM. Número especial. Resumos do XVIII Congresso Brasileiro de Sementes, Florianópolis, set. 2013.

OLIVEIRA, L. M.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, K. R. G.; ALVES, E. U.; SILVA, G. Z. ANDRADE, A. P. Qualidade fisiológica de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 289-298, 2011.

PELEGRINI, L. L.; BORCIONI, E.; NOGUEIRA, A. C.; KOEHLER, H. S.; QUOIRIN, M. G. G. Efeito do estresse hídrico simulado com NaCl, manitol e PEG (6000) na germinação de sementes de *Erythrina falcata* Benth. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 511-519, 2013.

REN, J.; SUN, L. N.; ZHANG, Q. Y.; SONG, X. S. Drought tolerance is correlated with the activity of antioxidante enzymes in *Cerasus humilis* seedlings. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-9, 2016.

SAIBI, W.; BRINI, F. **Superoxide dismutase**: structure, synthesis and applications. Edition: 2018, Cap.: 3, Publisher: Nova Science Publishers, Inc., Editors: Sergei Magliozzi, p. 101-142. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/322551748_Superoxide_dismutase_SOD_and_abiotic_stress_tolerance_in_plants_An_overview>. Acesso em: 6 abr. 2018.

SANTOS, C. A.; SILVA, N. V.; WALTER, L. S.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Germinação de duas espécies da Caatinga sob déficit hídrico e salinidade. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo-PR, v. 36, n. 87, p. 219-224.2016.

SANTOS, R. S.; RAMOS, D. L. D.; SILVA, T. C. F. S.; MATIAS, J. R.; DANTAS, B. F. Processo germinativo de sementes de catingueira-verdadeira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.) em diferentes temperaturas. In: **ANAIS JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA**

- EMBRAPA SEMIÁRIDO**, 7., 2012, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semiárido, 2012. p. 367-372. 1 CD-ROM. (Embrapa Semiárido. Documentos, 248).
- SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1130-1137, 2010.
- SILVA, M. F.; ARAÚJO, E. F.; SILVA, L. J.; AMARO, G. T. R.; DIAS, L. A. S.; DIAS, D. C. F. S. Tolerance of crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) to salinity and water stress during seed germination and initial seedling growth. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras-MG, v. 43, p. 1-13, 2019.
- TEIXEIRA, N. C.; VIRGENS, I. O.; CARVALHO, D. M.; CASTRO, R. I.; FERNANDES, L. G.; LOURENÇO, M. B. Efeito do estresse hídrico sobre a viabilidade e o vigor de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae - Caesalpinoideae). In: **ANAIS CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL**, 2007, Caxambu: SEB, Sociedade de Ecologia do Brasil, p. 1-4, 2007.
- WELFARE, K.; YEO, A. R.; FLOWERS, T. J. Effects of salinity and ozone, individually and in combination, on the growth and ion contents of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties. **Environmental Pollution**, v. 120, n. 2, p. 397-403, 2002.
- ZHANG, H.; IRVING, L. J.; MCGILL, C.; MATTHEW, C.; ZHOU, D.; KEMP, P. The effects of salinity and osmotic stress on barley germination rate: sodium as an osmotic regulator. **Annals of Botany**, v. 14, n. 11, 2014.

CAPITULO 1 - VULNERABILIDADE DE ACESSOS DE SEMENTES DE *Cenostigma pyramidale* À SALINIDADE E RESTRIÇÃO HÍDRICA EM DIFERENTES TEMPERATURAS

RESUMO

O entendimento dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos, utilizados pelas plantas sob condições adversas é de extrema importância, por permitir que espécies com vantagens ecológicas, em vez de outras que são sensíveis, sejam utilizadas na restauração de áreas. Objetivou-se avaliar a germinação, vigor e o metabolismo de dois acessos de *Cenostigma pyramidale*, sob condições de salinidade e restrição hídrica em diferentes temperaturas. Para simular os estresses, utilizou-se soluções de cloreto de sódio e polietilenoglicol com potenciais osmóticos de 0,1, -0,2, -0,4 e -0,6 e -0,1; -0,2; -0,3 e -0,4, respectivamente. Para cada tratamento, utilizou-se 100 sementes, divididas em quatro repetições. Avaliou-se o índice de velocidade de germinação, número de plântulas normais, comprimento e massa seca das raízes e partes aéreas. Além disso, determinou-se o teor de proteínas totais, aminoácidos livres e açúcares solúveis totais. A partir das médias, foram elaborados os gráficos e calculado o erro padrão. Em água destilada, tratamento testemunha, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial dois acessos x quatro temperaturas. A germinação de sementes e o estabelecimento de plântulas de *C. pyramidale* foram mais elevados sob temperaturas de 25 e 30 °C. O aumento da temperatura de 30 para 35 °C ocasionou redução no vigor das plântulas. A temperatura influenciou na tolerância à salinidade de plântulas de *C. pyramidale*. Os acessos de *C. pyramidale* responderam diferentemente aos estresses abióticos. Sementes provenientes da Bahia ajustaram-se osmoticamente de forma mais eficiente do que as oriundas do Rio Grande do Norte. Os índices de açúcares solúveis totais, proteínas totais e aminoácidos em *C. pyramidale* podem ser utilizados como indicadores de tolerância desta espécie aos estresses abióticos estudados.

Palavras-chave: Fabaceae, estresse salino, deficiência hídrica, estresse térmico, Caatinga.

CHAPTER 1 - VULNERABILITY OF *Cenostigma pyramidale* SEEDS ACCESS TO SALINITY AND WATER RESTRICTION AT DIFFERENT TEMPERATURES

ABSTRACT

The understanding of the physiological and biochemical mechanisms used by plants under adverse conditions is of extreme importance, because it allows species with ecological advantages, instead of others that are sensitive, be used in the restoration of areas. The objective was to evaluate the germination, vigor and metabolism of two accessions of *Cenostigma pyramidale* under conditions of salinity and water restriction at different temperatures. In order to simulate the stresses, solutions of sodium chloride and polyethylene glycol with osmotic potentials of 0.1, -0.2, -0.4 and -0.6 and -0.1; -0.2; -0.3 and -0.4, respectively, were used. For each treatment, 100 seeds were used, divided into four replicates. The germination speed index, number of normal seedlings, length and dry mass of roots and aerial parts were evaluated. In addition, the content of total proteins, free amino acids and total soluble sugars were determined. From the averages, the graphs were elaborated and the standard error was calculated. In distilled water, control treatment, the experimental design was completely randomized, in a factorial scheme two accessions x four temperatures. Seed germination and establishment of *C. pyramidale* seedlings were higher at temperatures of 25 and 30 ° C. The increase in temperature from 30 to 35 ° C caused a reduction in the vigor of the seedlings. The temperature influenced the salinity tolerance of *C. pyramidale* seedlings. The accessions of *C. pyramidale* responded differently to the abiotic stresses. Seeds from Bahia adjusted osmotically more efficiently than those from the Rio Grande do Norte. The determination of total soluble sugars, total proteins and amino acids in *C. pyramidale* may be used as indicators of tolerance of this species to the studied abiotic stresses.

Keywords: Fabaceae, saline stress, water deficiency, thermal stress, Caatinga.

INTRODUÇÃO

O ecossistema de floresta tropical seca se caracteriza pelo clima semiárido, quente e baixa pluviosidade (AZEREDO et al., 2016), a exemplo do que ocorre na Caatinga. Nesta região, a temperatura varia de 25 °C a 29 °C, com evaporação média de 2.000 mm, precipitação pluviométrica em torno de 250 a 1000 mm anuais, mal distribuída e concentrada em três a cinco meses (FIGUEIREDO et al., 2012). A distribuição irregular das chuvas e a restrição hídrica são fatores que influenciam negativamente as características do solo (AMARAL et al., 2013). De certa forma, as espécies endêmicas toleram solos pouco férteis, como a *Cenostigma pyramidale* (MAIA, 2012). De forma geral, constata-se que a região semiárida brasileira se encontra em estado de alerta, uma vez que a vulnerabilidade da Caatinga aos efeitos das mudanças climáticas representa um fator de pressão para a desertificação (SILVA et al., 2016).

Os estudos sobre respostas de desenvolvimento de plântulas sob estresses abióticos, em sua maioria, as expõe a apenas um fator estressante (GRAY; BRADY, 2016), como salinidade ou restrição hídrica. Porém, no ambiente os estresses ocorrem simultaneamente, e pouco se conhece sobre a germinação e desenvolvimento de plântulas nessas condições.

A salinidade e a restrição hídrica afetam a embebição, a velocidade e a porcentagem de germinação das sementes, podendo paralisar o crescimento das plântulas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Quanto à temperatura, sabe-se que esta apresenta complexo efeito na germinação, pois cada estágio do processo germinativo é afetado de diferentes maneiras, além de estar relacionada aos processos bioquímicos aos quais as sementes são sujeitas (MARCOS FILHO, 2015).

Sobreviver sob estresses depende da habilidade das espécies vegetais em perceber o estímulo, gerar e transmitir o sinal, apresentando alterações tanto fisiológicas quanto bioquímicas (COSTA et al., 2012). A capacidade de germinação sob amplo limite de condições pode ser a manifestação de seu vigor, dependendo, dentre outros fatores, das condições ambientais encontradas no local onde foi semeada (SIMONI et al., 2011). A ocorrência de secas periódicas pode se dar no campo e a semente deve ser suficientemente vigorosa para que seja competitiva (MARCOS FILHO, 2015).

Entender o comportamento germinativo de sementes sob estresses tem importância para a ecofisiologia e possibilita a avaliação dos limites e tolerância de sobrevivência e adaptação destas espécies às condições de estresses naturais (GUEDES et al., 2013). Para as espécies da Caatinga, a tolerância à seca é uma característica importante quando se considera

a recomendação de espécies vegetais capazes de se estabelecer sob diferentes condições de potenciais osmóticos, principalmente com baixa disponibilidade hídrica (OLIVEIRA et al., 2017).

O conhecimento em relação às características de adaptação das espécies vegetais às condições ambientais da Caatinga é significativo; entretanto, pouco se sabe sobre os mecanismos de adaptação de sementes dessas espécies nessas condições (REIS et al., 2012). Entre as espécies endêmicas, a *Cenostigma pyramidale* possui importância ecológica e econômica, com potencial de uso madeireiro, medicinal, forrageiro, além de ser recomendada para a recuperação de áreas degradadas (MAIA, 2012).

Pesquisas com sementes de espécies florestais envolvendo diferentes temperaturas, níveis de potenciais osmóticos simulando salinidade e déficit hídrico vêm sendo realizadas, como as de Ferreira et al. (2017) com *Handroanthus spongiosus* (Rizzini) S. Grose; Dutra et al. (2017) com *Peltophorum dubium* Sprengel Taubert; Nogueira et al. (2018) com *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth, para condições salinas. A combinação de temperaturas e restrição hídrica foi testada para algumas espécies, como *Apeiba tibourbou* (GUEDES et al., 2013), *Chorisia glaziovii* O. Kuntze (SILVA et al., 2016a) e *Piptadenia moniliformis* Benth. (AZEREDO et al., 2016). Para *C. pyramidale*, ainda não se tem conhecimento sobre a resposta da combinação de estresses, tampouco sobre os mecanismos fisiológicos e bioquímicos desta espécie sob essas condições adversas.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar as respostas fisiológicas e bioquímicas de dois acessos de sementes de *C. pyramidale* durante a germinação sob diferentes níveis de salinidade, restrição hídrica e aumento de temperaturas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os acessos de sementes de *C. pyramidale* foram coletados de árvores nativas existentes no distrito de Massaroca (09° 52'09,00'', 40° 16' 42'', 469 m) Juazeiro, Bahia, (BA) e no município de Currais Novos, Rio Grande do Norte (06° 15' 46'', 36° 31' 03'', 353 m). Para ambos os acessos, as sementes foram produzidas em 2016 e colhidas tendo como critério os aspectos visuais. Após serem coletadas, foram beneficiadas manualmente, acondicionadas em sacos de pano e armazenadas em câmara fria (10±2 °C; UR 40±5%) até a realização do experimento, aproximadamente três meses após colhidas.

Antes da instalação dos ensaios de germinação, as sementes foram submetidas à assepsia com fungicida mancozebe (Dithane® NT), utilizando a dosagem de 4 g. kg⁻¹ de

sementes (RIBEIRO, 2013).

Para a simulação da salinidade, utilizou-se cloreto de sódio (NaCl), cujas soluções foram preparadas seguindo a fórmula proposta por Vant Hoff (SALISBURY; ROSS, 1992), nos potenciais osmóticos de -0,1, -0,2, -0,4 e -0,6 MPa (Tabela 1). No tocante à restrição hídrica, utilizou-se soluções de PEG 6000 nos potenciais osmóticos de -0,1; -0,2; -0,3 e -0,4 MPa, sob temperaturas constantes de 25, 30 e 35 °C (VILLELA et al., 1991). Para o tratamento testemunha, utilizou-se a água destilada (0 MPa).

Para cada tratamento, utilizou-se 100 sementes, divididas em quatro repetições de 25, distribuídas sobre duas folhas de papel toalha (Germitest[®]), cobertas com uma terceira e organizadas em forma de rolo. O papel foi umedecido com as soluções supracitadas na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco e os rolos foram acondicionados em sacos de plástico transparente, totalizando 16 tratamentos. Os rolos contendo as sementes foram incubados em germinadores a 25, 30 e 35 °C, com fotoperíodo de 12 horas. As avaliações das plântulas normais ocorreram aos sete e 14 dias após a semeadura.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado diariamente considerando a emissão da raiz primária (MAGUIRE, 1962). O comprimento da raiz principal e da parte aérea foi determinado por meio da mensuração de 10 plântulas normais de cada subamostra, quando havia, com auxílio de uma régua graduada (cm). Em seguida, as mesmas plântulas utilizadas anteriormente tiveram as partes radicular e área separadas e acondicionadas em saco de papel; foram colocadas em estufa de circulação de ar (65 °C ± 2 °C), por 72 horas, para determinação das massas secas, cujos resultados foram expressos em miligrama (mg).

Tabela 1. Potencial osmótico, condutividade elétrica e quantidade de cloreto de sódio utilizado na simulação dos estresses.

| Potencial osmótico (MPa) | Condutividade elétrica (dS.m ⁻¹) | [NaCl] (g.L ⁻¹)* |
|-----------------------------|---|------------------------------|
| -0,1 | 3 | 2,4 |
| -0,2 | 6 | 4,7 |
| -0,4 | 11 | 9,4 |
| -0,6 | 17 | 14,2 |

* Quantidade variou ± 0,1g a depender da temperatura

No tratamento com água destilada, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial dois acessos x quatro temperaturas. Para os tratamentos com estresse, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo, quatro temperaturas x quatro potenciais osmóticos x dois acessos. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e análise de regressão pelo programa Agroestat.

Para as análises bioquímicas, utilizou-se eixos embrionários (apresentando entre 1 e 2 mm, para coleta 1, e tamanho entre 2 e 4 mm para a coleta 2) e seus respectivos cotilédones, coletados de sementes germinadas nas temperaturas de 30 e 35 °C (água destilada) e nos potenciais osmóticos de -0,1 e -0,4 MPa NaCl, e de -0,1 e -0,3 MPa de PEG. Os materiais vegetais coletados foram homogeneizados, utilizando-se na maceração 10 mL de solução tampão de fosfato de potássio 0,1 M e pH 7,5. Posteriormente, foram centrifugados a 10.000 xg/20 min a 4 °C e armazenados em freezer, -20 °C, até o momento das análises.

A partir dos extratos obtidos, determinou-se os teores de açúcares solúveis totais - AST (MORRIS, 1948; YEMM; WILLIS, 1954); proteínas solúveis totais - PT (BRADFORD, 1976) e aminoácidos totais - AA (ROSEN, 1957). A partir das médias, foram elaborados os gráficos e calculado o erro padrão.

RESULTADOS E DISCUSSAO

O número de plântulas normais (PN) de *C. Pyramidale* não foi alterado com o aumento da temperatura de 25 para 30 °C, no entanto, a 35 °C houve redução, para o acesso RN (Tabela 2). Para cada espécie, a germinação ocorre dentro de certos limites de temperatura, a qual, caso esteja acima dos limites superiores e abaixo dos inferiores, inibe a germinação, especialmente se as sementes forem pouco vigorosas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Dentro destes limites, existe uma temperatura ou intervalo de temperaturas em que o processo ocorre com maior eficiência, isto é, quando a germinação máxima é obtida no menor período de tempo (MARCOS FILHO, 2015).

As temperaturas que ocorrem nos habitats das espécies são parâmetros importantes para a seleção destas a serem utilizadas no experimento (BASKIN; BASKIN, 2014). Sendo assim, é importante avaliar temperaturas superiores à considerada ótima e temperatura alternada, por simular o que ocorre no ambiente.

As raízes e as partes aéreas responderam diferentemente entre as temperaturas (Tabela 2). Estas respostas confirmam que poderá o desenvolvimento da raiz ser afetado por

temperaturas elevadas do solo (GRAY; BRADY, 2016), tanto o comprimento quanto a arquitetura do sistema radicular podem ser alterados pela temperatura de crescimento. Entre os acessos analisados, essa resposta foi modificada.

Tabela 2. Número de plântulas normais, comprimento de raiz e de parte aérea, massa seca de raiz e de parte aérea de acessos de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas.

| Temperatura | Germinação (% plântulas normais) | |
|------------------------------|----------------------------------|----------|
| | BA | RN |
| 25 | 84 Aa | 85 Aa |
| 30 | 81 ABa | 88 Aa |
| 35 | 73 Aa | 56 Bb |
| CV (%) | 7,68 | |
| Comprimento raiz (cm) | | |
| | BA | RN |
| 25 | 11,55 Ba | 7,59 Bb |
| 30 | 13,50 Aa | 11,24 Ab |
| 35 | 7,32 Ca | 7,89 Ba |
| CV (%) | 10,39 | |
| Comprimento parte aérea (cm) | | |
| | BA | RN |
| 25 | 9,07 Aa | 5,84 Cb |
| 30 | 6,95 Cb | 8,98 Aa |
| 35 | 7,98 Ba | 7,32 Bb |
| CV (%) | 4,38 | |
| Massa seca raiz (g) | | |
| | BA | RN |
| 25 | 0,19 Aa | 0,16 Ab |
| 30 | 0,18 Aa | 0,13 Bb |
| 35 | 0,20 Aa | 0,10 Cb |
| CV (%) | 9,98 | |
| Massa seca parte aérea (g) | | |
| | BA | RN |
| 25 | 0,25 Ab | 0,28 Aa |
| 30 | 0,25 Ab | 0,30 Aa |
| 35 | 0,25 Aa | 0,25 Ba |
| CV (%) | 6,70 | |

Letras maiúsculas iguais, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si dentro do desdobramento (temperaturas x acessos). Letras minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si, para cada temperatura. Pelo teste de Scott-Knott.

Um solo é considerado salino quando a condutividade elétrica (CE) da solução atinge 4 dS.m⁻¹, equivalente a 40 mM de NaCl, gerando uma pressão osmótica aproximada de -0,2 MPa e reduzindo significativamente os rendimentos da maioria das espécies (MUNNS;

TESTER, 2008). Essa condição poderá limitar ou até mesmo anular a germinação de espécies, caso não tolere a salinidade.

As plantas desenvolveram mecanismos para reconhecer sinais externos, na resposta às condições ambientais, embora o grau de ajustabilidade ou tolerância a estresses específicos varie entre espécies da mesma família e gênero, e mesmo entre cultivares (HOSSAIN et al., 2015), ou níveis de sal na água de irrigação e o tempo de exposição a esse estresse (ACOSTA-MOTOS et al., 2017). Para *C. pyramidale*, o aumento da salinidade afetou diferentemente os acessos de sementes (Figura 1).

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi menor para o acesso do RN em comparação ao acesso da Bahia (Figura 1, a-c). Pela diminuição no potencial osmótico, a velocidade do processo germinativo é prejudicada, pois no solo ou substrato, sob salinidade, a água é osmoticamente retida na solução salina e a torna menos disponível às plantas, ao aumentar a concentração de sais (NASR et al., 2012).

Em combinação de estresses, aumento da salinidade e de temperatura de 30 para 35 °C, a formação de plântulas normais de *C. pyramidale* para o acesso BA foi favorecida (Figura 1, d-f). Para o acesso BA, na condição de maior temperatura, 35 °C, apesar de reduzir a velocidade a partir de -0,2 MPa de NaCl (Figura 1, a-c), esse aumento da salinidade não reduziu o número de plântulas normais (Figura 1, d-f). Por ser um dos estágios mais vulneráveis aos estresses abióticos, a capacidade de as sementes resistirem a condições ambientais adversas pode estar associada aos mecanismos de proteção e reparo serem mais eficientes (KRANNER et al., 2010). Neste sentido, as sementes do acesso BA mostraram-se mais tolerantes.

A sensibilidade à salinidade do acesso RN foi maior do que no acesso BA (Figura 2, a-d), relacionado-se com os danos ocasionados pelo efeito tóxico proporcionado pelo excesso de sais (GORDIN et al., 2012). Na medida em que o potencial osmótico se torna mais negativo, as raízes tendem a ser mais sensíveis do que as partes aéreas das plântulas. Este fato pode estar associado ao ajustamento osmótico mais rápido pelas raízes e à perda de turgor mais lenta, quando comparadas com a parte aérea. Em algumas espécies, esse comportamento foi verificado, como em *Peltophorum dubium* Sprengel Taubert (DUTRA et al., 2017) e *Toona ciliata* M. Roem. var. *australis* (LUCCHESI et al., 2018).

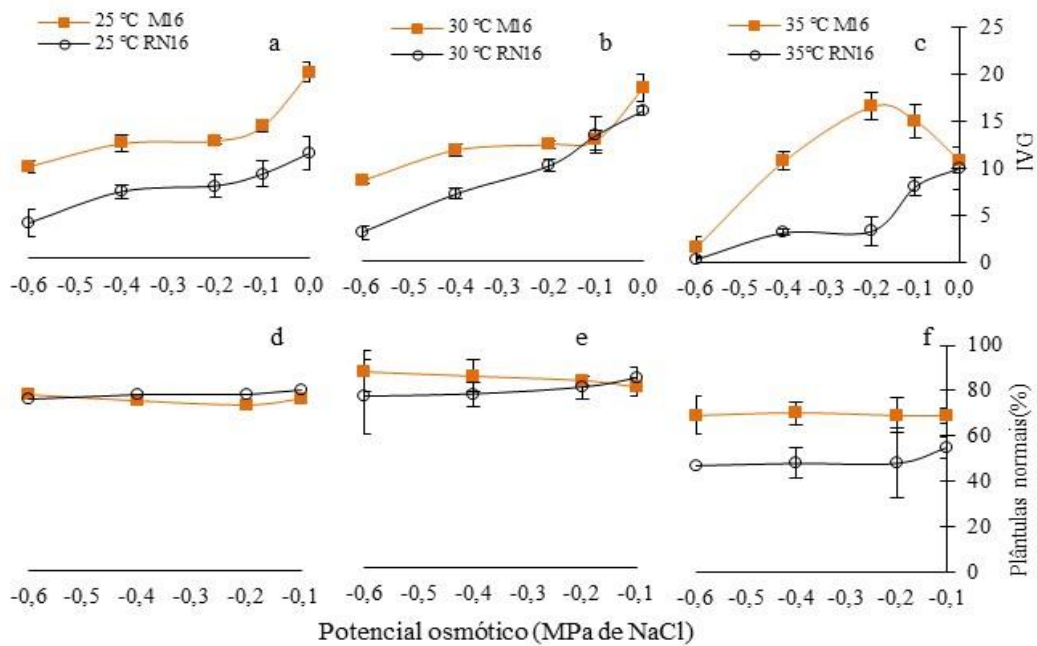


Figura 1. Índice de velocidade de germinação IVG, a-c) e número de plântulas normais (PN, d-f) de dois acessos, Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN), de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e salinidade.

Em *Toona ciliata* M. Roem. var. australis, verificaram menor tolerância que *C. pyramidale*, apresentando plântulas anormais a partir de potencial osmótico -0,4 MPa de NaCl as (LUCCHESI et al., 2018). As sementes de *C. pyramidale*, assim como *P. moniliforme* M. *ophthalmocentra*, sob temperatura de 25 °C, suportaram concentrações salinas de até -0,6 MPa sem prejudicar a qualidade fisiológica das plântulas (PEREIRA et al., 2016; NOGUEIRA et al., 2018). Nessa condição, ambos os acessos de *C. pyramidale* apresentaram número de plântulas normais superior a 60% (Figura 1, d-f), demonstrando que há maior capacidade de adaptação à salinidade, para essa condição. Nessa temperatura, a taxa de respiração e a necessidade de água pelas sementes são menores e, conseqüentemente, o efeito do potencial osmótico negativo é reduzido.

Espécies de plantas tolerantes ao estresse desenvolveram mecanismos que protegem suas sementes dos fatores estressantes, como temperaturas extremas, que seriam letais para plantas adultas (KRANNER et al., 2010). A capacidade de germinar e desenvolver plântulas normais em condição salina elevada, -0,6 MPa, 17 dSm⁻¹, pode indicar que a *C. pyramidale* seja tolerante a este estresse.

O aumento da temperatura de 30 para 35 °C proporcionou raízes menores (Figura 2, a-c). Para a manutenção do desenvolvimento em condições salinas, as plantas utilizam

mecanismos fisiológicos e bioquímicos visando à aclimação ao estresse, proporcionando seu desenvolvimento mesmo em condições desfavoráveis (MUNNS; TESTER, 2008). Raízes maiores podem favorecer a retenção de íons tóxicos neste órgão, controlando a translocação para as partes aéreas (ACOSTA-MOTOS et al., 2017).

Plântulas adaptadas à salinidade apresentam habilidade de regulação salina. Isso faz com que o sal presente no substrato seja impedido de alcançar o protoplasma, tolerando, assim, os efeitos osmóticos e tóxicos, associados ao aumento da concentração salina (LARCHER, 2004).

O crescimento das plântulas de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth., assim como *M. ophthalmocentra*, sob temperaturas inferiores a 30 °C, foi satisfatório até a concentração salina de 12 dS m⁻¹, equivalente a -0,4 MPa (NOGUEIRA et al., 2018). Essa condição estressante não foi prejudicial para *C. pyramidale*, constatada pela não redução de tamanho das plântulas nos acessos analisados (Figura 2, d-f).

A massa seca das raízes (MSR) do acesso BA foi favorecida com o aumento da temperatura de 25 para 35 °C em comparação com o acesso RN (Figura 2, g-i). Este resultado pode indicar que o acesso BA possui maior vigor, uma vez que é esperado que lotes mais vigorosos acumulem maior quantidade de massa seca. Sendo assim, essas sementes apresentam maior capacidade de transformação dos tecidos e suprimento das reservas armazenadas com mais eficiência (AMARO et al., 2015). Além disso, as demais variáveis supracitadas confirmaram esse resultado.

Os acessos responderam de forma oposta quando submetidos à temperatura de 30 °C, tendo o acesso BA maior massa seca da parte aérea do que o RN (Figura 2, j-l). Essa resposta sugere que a *C. pyramidale* tenha capacidade de lidar com a heterogeneidade ambiental, e no futuro as populações ou os acessos desta espécie poderão apresentar maior capacidade de adaptação às mudanças climáticas (FERRERAS et al., 2018).

Geralmente, a massa seca das raízes é menos afetada pelo excesso de sais do que os órgãos da parte aérea, provavelmente devido à seca fisiológica ocasionada pela diminuição do potencial osmótico, efeito imediato da salinidade (MUNNS; TESTER, 2008). Nesta condição, a planta aloca a pouca biomassa existente para o desenvolvimento do sistema radicular, pois raízes vigorosas e profundas possuem maior potencial de extração de água e nutrientes do solo (Matos, 2013). Fato semelhante foi verificado para as plântulas do acesso RN de *C. pyramidale* (Figura 2, g-i).

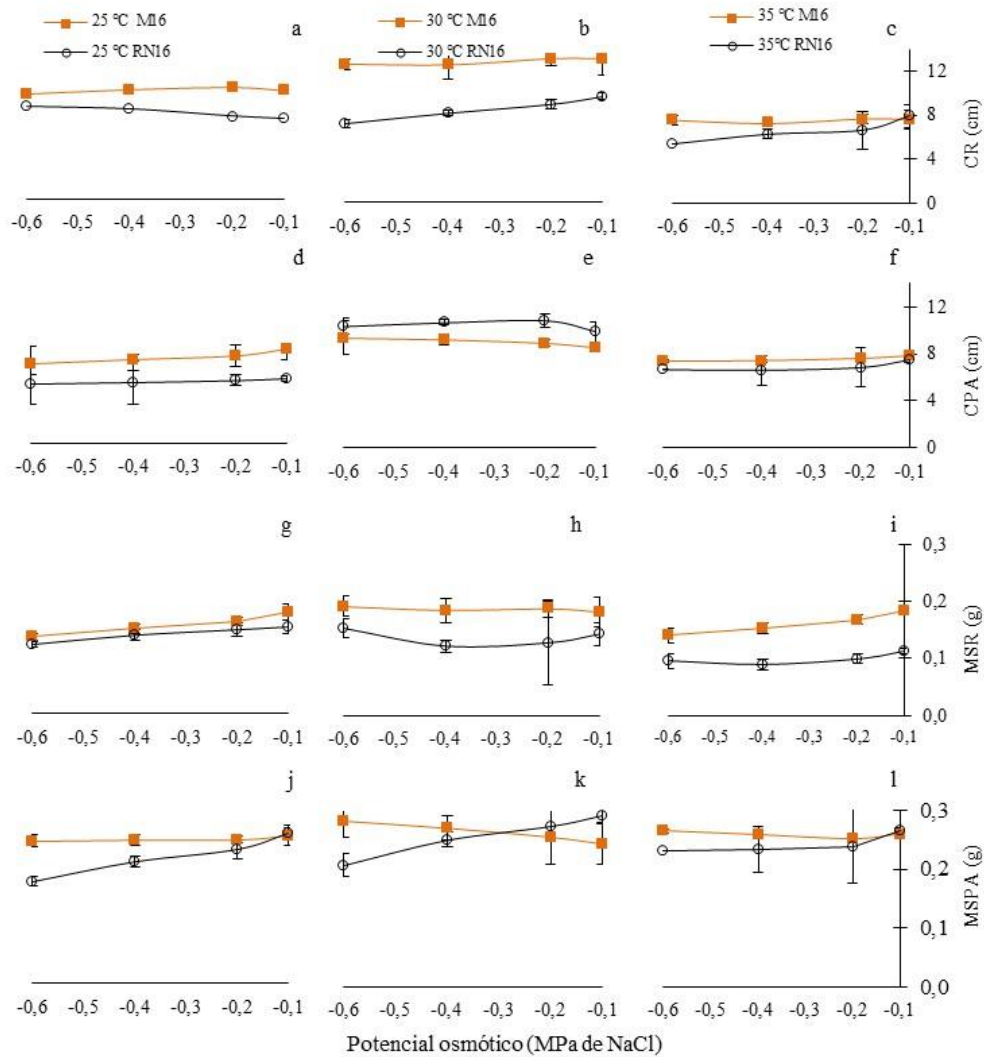


Figura 2. Comprimento de raízes (CR, a-c) e de parte aérea (CPA, d-f), massa seca de raízes (MSR, g-i) e de parte aérea (MSPA, j-l) de dois acessos, Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN), de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas salinidade.

Outra resposta decorrente da salinidade é o acúmulo de substâncias como, proteínas, carboidratos e, aminoácidos no interior da célula (Taiz e Zeiger, 2013). Porém, essa resposta dependerá da tolerância da espécie ao estresse abiótico e conseqüentemente de sua adaptação a esta condição.

Os cotilédones das plântulas de *C. pyramidale* não transcolaram proteínas solúveis totais (PT) para os eixos embrionários (Figura 3, a-d). Por outro lado, a salinidade promoveu aumento de PT em plântulas de *Erythrina velutina* Willd. (RIBEIRO et al., 2017).

O aumento da salinidade favoreceu o incremento do teor de proteínas solúveis totais (PT) para o acesso BA em ambas as temperaturas, (Figura 7, a), assim como em plântulas de

E. velutina Willd. (Ribeiro et al., 2017). Essa resposta das plântulas de *C. pyramidale* pode ter ocorrido como atenuação do estresse sofrido, pois as proteínas desempenham papel iminente na resposta ao estresse das plantas, uma vez que estão diretamente envolvidas na aquisição de maior tolerância ao estresse (KOSOVÁ et al., 2014). Essas ações induzem mudanças no metabolismo energético visando à atenuação dos impactos do estresse (KOSOVÁ et al., 2014).

O acúmulo de PT no potencial osmótico de -0,1 MPa de NaCl pode ter ocorrido como sinalização do estresse sofrido pelo acesso RN (Figura 3, b). Em seguida, verifica-se que a redução pode indicar a fase de aclimação (Figura 3, b), uma vez que as proteínas desempenham papel iminente na resposta ao estresse das plantas que estão diretamente envolvidas na aquisição de maior tolerância ao estresse. Elas induzem mudanças no metabolismo energético visando a atenuar os impactos do estresse, como mudanças no potencial osmótico e atividade de íons, como nas adaptações estruturais das células, em mudanças no crescimento e desenvolvimento das plantas (KOSOVÁ et al., 2014).

Sob 35 °C e com aumento de salinidade de -0,1 para -0,4MPa de NaCl, os eixos embrionários foram maiores, ou seja, maior tempo expostos à salinidade, a concentração de AA reduz (Figura 4, e-f), indicando que as sementes de *C. pyramidale* realizaram ajuste osmótico para tolerar o estresse. A salinidade estimulou o aumento da concentração de AA como tentativa de manutenção do potencial hídrico e turgescência celular, próximas ao nível adequado (NASCIMENTO et al., 2015).

Os teores de AA nos eixos embrionários foram maiores para o acesso BA do que para RN (Figura 3, e-f), Os eixos embrionários do acesso BA com maior tamanho (Figura 3, e) acumularam aminoácidos livres (AA), porém, quando houve aumento da salinidade, o incremento ocorreu em menor proporção (Figura 3, e-h), possivelmente devido à eficiência maior do ajuste osmótico realizado pelo primeiro. Resposta similar foi verificada em *E. velutina* quando a salinidade promoveu redução dos AA nas plântulas sob este estresse (RIBEIRO et al., 2017). A partir da diferente resposta entre os acessos, constata-se que as regulações realizadas entre estes se diferem, podendo ter influência de fatores edafoclimáticos, genéticos, dentre outros (Figuras 3 e 4).

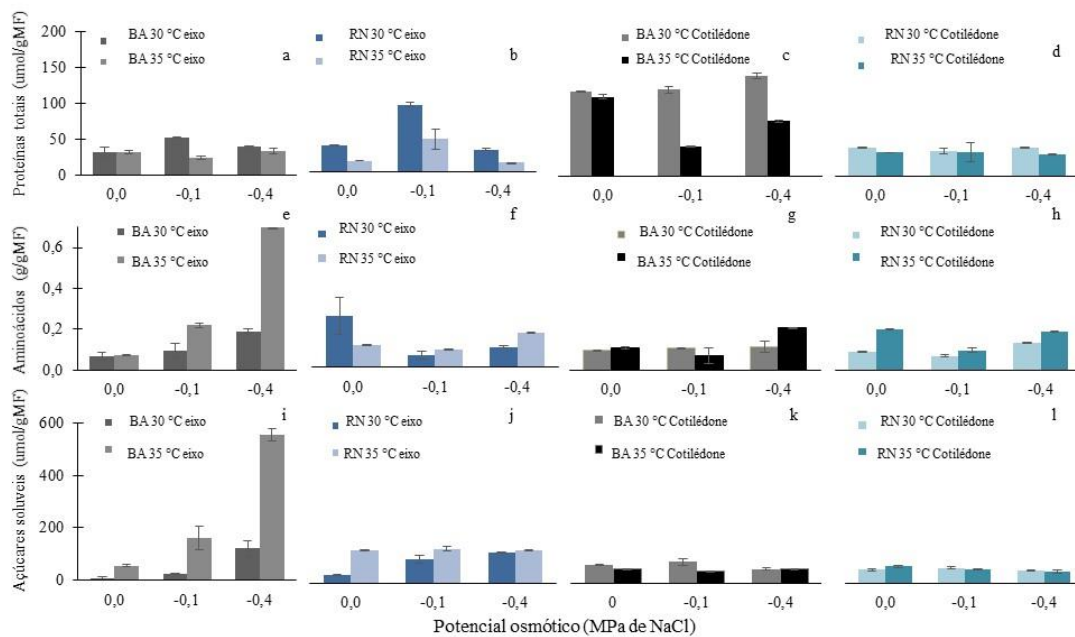


Figura 3. Proteínas solúveis em eixos embrionários (a-b) e cotilédones (c-d) e aminoácidos livres em eixos embrionários (e-f) e cotilédones (g-h) coletados no tamanhos (1 a 2 mm) de acessos Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN) plântulas de *Cenostigma pyramidale* sob 30 e 35 °C e salinidade.

A salinidade também estimula o aumento da concentração de aminoácidos livres (AA), como tentativa de manutenção do potencial hídrico e turgescência celular, próximas ao nível adequado (NASCIMENTO et al., 2015). Neste sentido, verificou-se maior concentração de aminoácidos nos cotilédones do que nos eixos, sob temperatura de 35 °C e potencial osmótico de -0,4 MPa (Figura 3, e-h). Constatou-se também que a concentração de AA nos eixos embrionários foi cinco vezes superior à testemunha (Figura 3, e), possivelmente devido ao ajuste osmótico. Resposta similar foi verificada em plântulas de *E. velutina* submetidas à salinidade (RIBEIRO et al., 2017).

Em condições de estresses abióticos, os açúcares funcionam como osmoprotetores e também estabilizam as membranas (SAMI et al., 2016; SAGLAM et al. 2010), pois o acúmulo de açúcares solúveis está associado à tolerância à salinidade, como tentativa de sobrevivência (TAIZ; ZEIGER, 2013). Esses açúcares estão relacionados à manutenção do equilíbrio osmótico celular, visando à manutenção do nível de água necessário ao ajustamento osmótico (SAMI et al., 2016). Nessa tentativa de proteção contra o estresse, o teor de AST nos eixos embrionários em comparação aos cotilédones foi maior (Figura 3 e 4, i-j).

Sob temperatura de 35 °C, e com maior tamanho, nota-se incremento na concentração de AST (Figura 3, c-d). Isso evidencia que durante o processo germinativo das sementes de *C.*

pyramidale houve alterações nas reservas de açúcares solúveis e estas foram utilizadas durante a germinação das sementes, assim o metabolismo precisou ser alterado em resposta à salinidade.

Ao considerar que plântulas tolerantes à salinidade mantenham tanto sua capacidade germinativa quanto seu crescimento sem danos, pode-se inferir que esta apresenta tolerância na fase analisada. O dano causado pela salinidade decorre da quantidade de sal excedendo a capacidade das células de compartimentá-lo este no vacúolo (ALMEIDA et al., 2017).

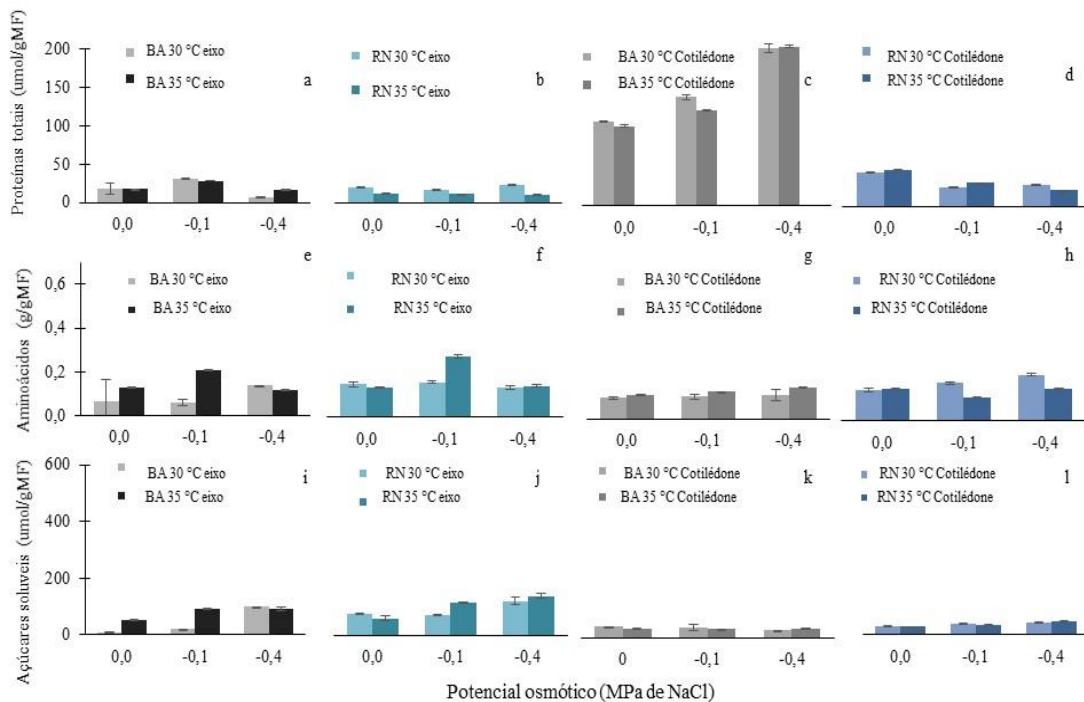


Figura 4. Proteínas solúveis em eixos embrionários (a-b) e cotilédones (c-d) e aminoácidos livres em eixos embrionários (e-f) e cotilédones (g-h) coletados com 2 a 4 mm de acessos Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN) plântulas de *Cenostigma pyramidale* sob 30 e 35 °C e salinidade.

O vacúolo se relaciona à manutenção do metabolismo celular devido ao seu papel no armazenamento em longo prazo de íons tóxicos, armazenamento em longo ou curto prazo de ácidos minerais e / ou orgânicos e na homeostase citoplasmática (ALMEIDA et al., 2017). O sal acumulado no citoplasma inibe a atividade da enzima ou, alternativamente, acumula-se nas paredes celulares, desidratando a célula. Por isso a redução de matéria seca não deve ser vista como uma simples redução de crescimento, mas como uma reorientação induzida do crescimento para evitar o estresse (PANUCCIO et al., 2014).

A tolerância à salinidade avaliada apenas durante a germinação pode sugerir resposta

que difere da encontrada no metabolismo das sementes. Sendo assim, são importantes pesquisas visando a possibilitar melhor entendimento. A salinidade tem afetado diversas espécies por causar tipos distintos de estresse, o osmótico e estresse por fitotoxicidade iônica específica, o que, conseqüentemente, diminui a absorção de nutrientes e o crescimento, provocando distúrbios nas atividades metabólicas em geral (HARTER et al., 2014). Estudos analisando da germinação ao metabolismo com interação entre fatores de estresse são limitados, e para *C. pyramidale* são raros com este enfoque.

Normalmente, o estresse hídrico reduz tanto a porcentagem quanto a velocidade de germinação, com variação de respostas entre as espécies, desde aquelas muito sensíveis até as mais resistentes (MASETTO et al., 2011). Tolerância superior à encontrada neste estudo foi verificada para sementes de *Simira. gardneriana* e *A. tibourbou* por Oliveira et al. (2017) e Guedes et al. (2013), respectivamente.

A tolerância ao estresse hídrico é variável entre acessos de sementes e temperaturas de germinação (AZEREDO et al., 2016). Consta na literatura que a *C. pyramidale* apresenta maior tolerância a deficiência hídrica do que a verificada neste estudo, com o mesmo agente osmótico, polietilenoglicol 6000. Porém, os autores avaliaram a protrusão da radícula e verificaram que as sementes germinaram até o potencial osmótico de -0,8 MPa sob 25 °C (ANTUNES et al., 2011). Reforçando que tolerar ou não esse estresse se relaciona não apenas à espécie, mas pode estar ligado à localização das plantas, condições edafoclimáticas do ano de colheita das sementes e ao seu vigor. Portanto, estudos além de um estágio são requeridos para que se afirme com mais exatidão o limite tolerável pela espécie, e ao emitir somente radícula pode não formar plântulas normais.

Para algumas espécies, a germinação será mais prejudicada com a ocorrência de mais de um estresse. Neste sentido, verificou-se em sementes de *P. grandifolia* subsp. *grandifolia* que o aumento da temperatura reduziu a tolerância ao estresse hídrico (OLIVEIRA et al., 2017). Desse modo, estudos com sementes de populações diferentes da mesma espécie permitirão a confirmação da influência da sua origem na resposta germinativa, quando submetidas a estresses abióticos associados (OLIVEIRA et al., 2017).

A deficiência hídrica afetou a normalidade das plântulas (PN) de *C. pyramidale* de forma distinta entre os acessos (Figura 5-a-d), reduzindo as PN com o aumento do potencial osmótico (Figura 5, a-c). O acesso RN apresentou maior tolerância do que o BA, que apresentou menos plântulas anormais (Figura 2, d-f). Em sementes de *A. tibourbou*, os potenciais mais negativos proporcionaram redução drástica na germinação, independentemente da temperatura utilizada, com inibição da germinação no potencial de -0,6 MPa, indicando

sensibilidade das sementes ao estresse (GUEDES et al., 2013). Para *S. gardneriana*, a formação de plântulas normais foi prejudicada a partir do potencial $-0,5$ MPa sob temperaturas de 25 e 30 °C e de $-0,4$ e $-0,2$ MPa a 35 °C (OLIVEIRA et al., 2017).

Constata-se que na medida em que o potencial osmótico tornou-se mais negativo, a germinação ocorreu de forma mais lenta (Figura 5, a-c). Este decréscimo se deveu ao efeito do polietilenoglicol durante a embebição das sementes, cujos peso molecular e alta viscosidade retardam a velocidade de hidratação dos tecidos e a difusibilidade de oxigênio, conseqüentemente exigindo maior tempo para a reorganização das membranas e desenvolvimento de processos metabólicos (ANTUNES et al., 2011). Na menor temperatura, 25 °C, a germinação do acesso BA foi ainda mais lenta (Figura 5, a); devido a esta temperatura e com o decréscimo do potencial osmótico, o tempo requerido para completar a fase II foi aumentado (BEWLEY et al., 2013).

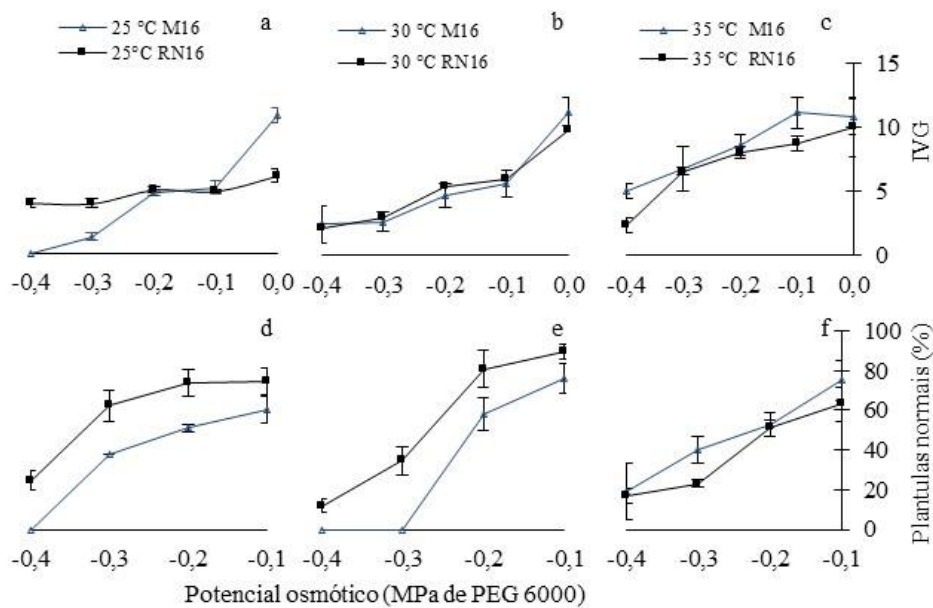


Figura 5. Plântulas normais (PN) e índice de velocidade de germinação (IVG) de acessos da Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN), de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e restrição hídrica.

Geralmente, baixas temperaturas reduzem a velocidade de germinação, ao passo que as altas aumentam a velocidade (NOGUEIRA et al., 2017). Neste sentido, em sementes de *C. pyramidale*, acesso RN, ao aumentar a temperatura de 25 para 30 °C, verificou-se que a germinação foi mais rápida (Figura 5, a-b). Para *Erythrina falcata* Benth. (Fabaceae), a temperatura de 25 °C e potenciais acima de $-0,4$ MPa inibiram drasticamente a porcentagem

de germinação, e o índice de velocidade de germinação foi reduzido (PELEGRINI et al., 2013). Para essa condição, a germinação de sementes de *C. pyramidale* foi nula para o acesso BA.

Sementes vigorosas originam plântulas maiores, devido a capacidade de transformação do suprimento de reserva dos tecidos de armazenamento e incorporação deste pelo eixo embrionário ser maior (BEWLEY et al., 2013). Os resultados sugerem que o acesso BA apresentou maior vigor, pela superioridade do acesso nesse aspecto (Figura 6, a-c) e suas plântulas, ao aumentar a temperatura de 30 para 35 °C apresentaram maiores raízes, na medida em que o potencial osmótico se tornou mais negativo (Figura 6, e-f). Isso pode ter permitido que o acesso BA tenha desenvolvido maior adaptabilidade a deficiência hídrica.

O crescimento de raízes de *C. pyramidale* sugere que houve tentativa de adaptação à condição adversa (Figura 6, e-f). Esse fato confirma que essas plântulas tendem a direcionar suas reservas ao desenvolvimento radicular na medida em que seus tecidos passam por estresses hídrico, sendo este um mecanismo adaptativo da planta às adversidades do ambiente em que está inserida (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Possivelmente como resposta à restrição hídrica, para favorecer a absorção de água em profundidades de solos mais úmidos, as plântulas investiram no sistema radicular em detrimento dos tecidos da parte aérea (TAIZ; ZEIGER, 2013; GRAY; BRADY, 2016). A continuidade do crescimento radicular, sob condições de menor disponibilidade hídrica, depende da manutenção de uma pressão de turgor nas células ser suficiente para permitir o alongamento da parede celulósica e o crescimento celular (SCALON et al., 2011).

Os acessos BA e RN, sob temperaturas de 25 e 30 °C, resultaram em plântulas com maior parte aérea, entre 6 e 10 cm, respectivamente (Figura 6, d-f). Igualmente ocorreu para plântulas de *Chorisia glaziovii* oriundas das sementes submetidas à temperatura de 30 °C, que apresentaram maior parte aérea, constatando-se redução na medida em que a disponibilidade de água foi restringida, independente da temperatura (SILVA et al., 2016).

Na espécie em estudo, na medida em que o potencial osmótico aumentou não afetou a produção da massa seca das raízes, que variou de 0,1 e 0,2 g de massa seca (Figura 6, g-i), divergindo do resultado esperado, que é a redução na biomassa em condição de deficiência hídrica para o metabolismo, por diminuir a velocidade das reações metabólicas, com a expectativa da ocorrência de menor acúmulo de matéria seca (MARUR et al., 1994).

Sementes de *Mimosa caesalpinifolia* provenientes de diferentes regiões geográficas responderam fisiologicamente de maneira semelhante ao estresse hídrico, com valores máximos no potencial de -0,3 MPa. A matéria seca da parte aérea da plântula também

diminuiu para as sementes coletadas nas diferentes regiões, devido ao aumento da restrição hídrica (SOUZA et al., 2018).

Os acessos diferiram na resposta da massa seca da parte aérea, na temperatura de 30 °C, o acesso BA apresentou incremento da massa do que o acesso RN (Figura 6, j-l). Esse aumento pode decorrer do enrijecimento da parede de células em desenvolvimento, como mecanismo primário de ajuste à redução da disponibilidade de água para embebição (MASETTO et al., 2011), semelhantemente ao verificado em plântulas de *M. caesalpinifolia* de diferentes regiões, em que houve redução da massa seca da parte aérea com o aumento da restrição hídrica (SOUZA et al., 2018).

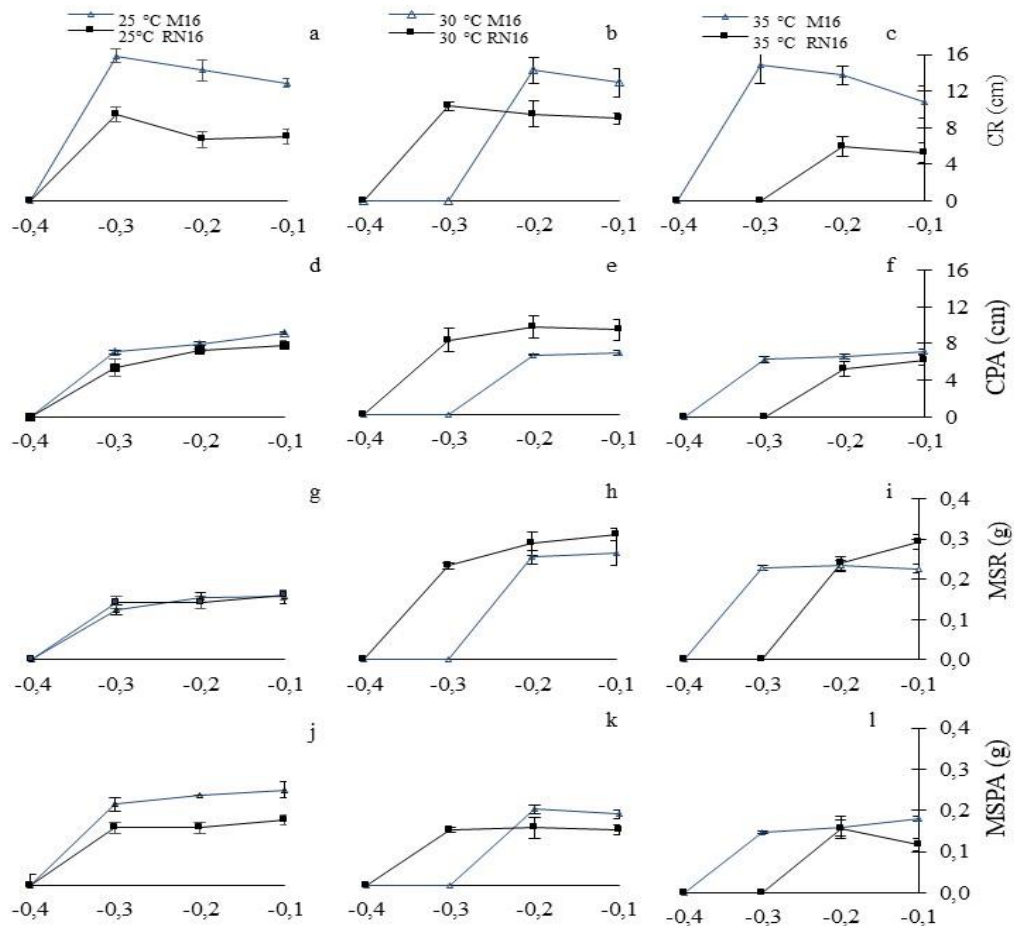


Figura 6. Comprimento de raízes (CR, a-c) e de parte aérea (CPA, d-f), massa seca de raízes (MSR, g-i; e de parte aérea, MSPA, j-l) de dois acessos, Bahia (BA) e Rio Grande do Norte (RN), de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e restrição hídrica.

As concentrações de proteínas solúveis nos tecidos da planta, sob restrição hídrica, decrescem devido ao aumento da atividade de enzimas proteolíticas quebrando as proteínas de reservas e, ao mesmo tempo, reduzindo sua síntese (SOUZA et al., 2014). Esse tipo de estresse interfere basicamente no metabolismo bioquímico da planta e, como mecanismo de defesa, a planta, sob déficit hídrico, altera seu comportamento metabólico, degradando várias proteínas para liberarem aminoácidos (SOUZA et al., 2014), constatando-se – nos eixos embrionários de *C. pyramidale* do acesso BA, sob temperatura de 30 °C e com menos água disponível (-0,1 para -0,3 MPa de PEG 6000) – acúmulo de PT e de AA (Figuras 7, 8, a).

Eixos embrionários e cotilédones do acesso da Bahia comportaram-se semelhantemente, mantiveram o teor de AA inalterado, mesmo sob potenciais hídricos mais negativos (Figura 7, e,g). Para o acesso do RN, a 30 °C, e com o aumento da restrição hídrica ocorreu redução no teor de AA (Figura 7, f, h). Sob 35 °C, os eixos embrionários e cotilédones desse acesso comportaram-se inversamente, com acúmulo e decréscimo, respectivamente (Figura 7, f,h).

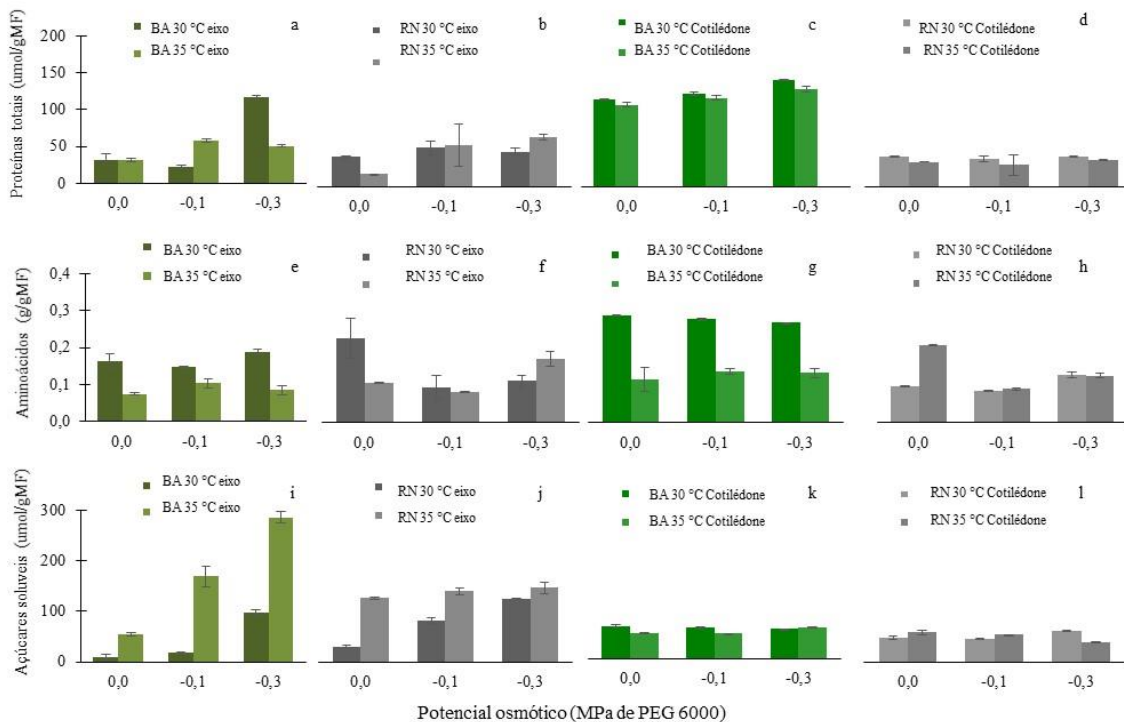


Figura 7. Proteínas solúveis em eixos embrionários (a-b) e cotilédones (c-d), aminoácidos livres em eixos embrionários (e-f) e cotilédones (g-h) e açúcares solúveis totais em eixos embrionários (i-j) e cotilédones (k-l) coletados com 1 a 2 mm, de acessos (BA e RN) plântulas de *Cenostigma pyramidale* sob 30 e 35 °C e restrição hídrica.

O teor de AST nos eixos embrionários foi maior do que em cotilédones (Figura 7, i-l). Na comparação entre acessos, verificou-se maior quantidade de AST para o RN (Figura 8). Sob 30 °C e com maior tamanho e maior tempo de exposição a déficit hídrico, verificou-se pequeno aumento do teor de AST (Figura 8, f, h). O acúmulo dos teores de açúcares solúveis nos eixos embrionários indica que estes não foram, aparentemente, translocados (ATAÍDE et al., 2017). Similarmente, foi verificado que plântulas de *E. velutina* apresentaram incremento no teor de AST (REIS et al., 2012).

No acesso BA, a concentração de AST foi maior, com aumento do potencial osmótico de 0 MPa para -0,3 MPa, seis vezes superior, sob temperatura de 35 °C (Figura 7, i). Espera-se que as sementes acumulem AST em potenciais hídricos mais baixos, como tentativa de se ajustar ao potencial osmótico, protegendo-as indiretamente contra a desestabilização de proteínas (REIS et al., 2012). Considerando-se que açúcares atuam na manutenção do equilíbrio osmótico celular, visando à manutenção do nível de água necessário ao ajustamento osmótico, atua como um osmólito para preservar a integridade da membrana e atuar como uma molécula de sinalização para induzir rearranjos metabólicos sob condições estressantes (NOUNJAN et al., 2018), permitindo que a plântula mantenha seu potencial hídrico celular, não sofrendo danos, inicialmente, pelo que seria estresse (MORANDO, 2014).

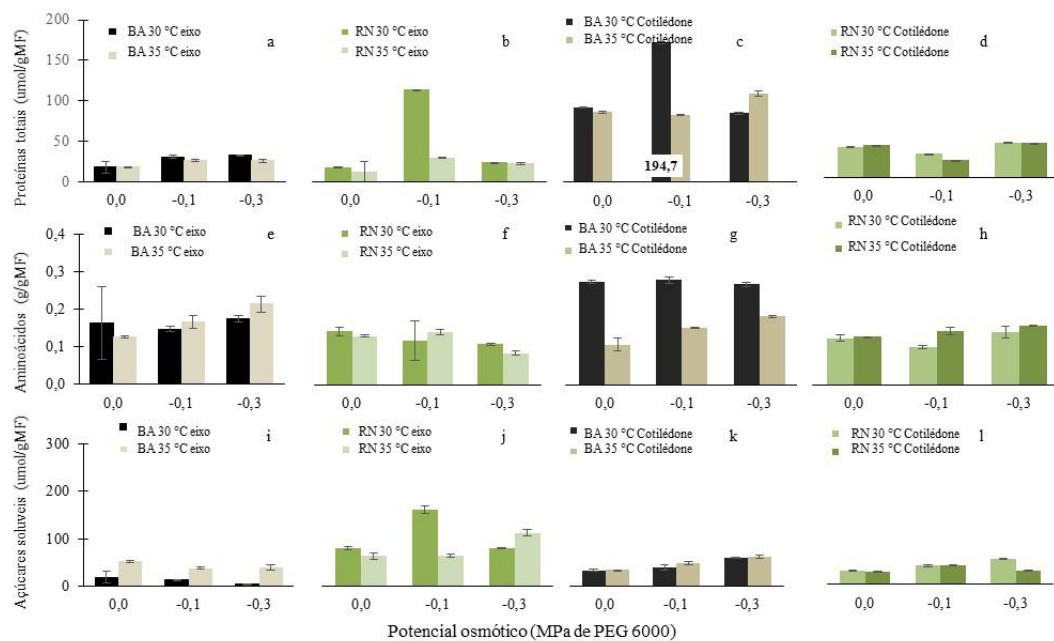


Figura 8. Proteínas solúveis em eixos embrionários (a-b) e cotilédones (c-d), aminoácidos livres em eixos embrionários (e-f) e cotilédones (g-h) e açúcares solúveis totais em eixos embrionários (i-j) e cotilédones (k-l) coletados em com tamanho de 2 a 4 mm, de acessos (BA e RN) plântulas de *Cenostigma pyramidale* sob 30 e 35 °C e restrição hídrica.

Entre as alterações em decorrência do déficit hídrico nas plantas, o acúmulo de carboidratos é um mecanismo de proteção a esse estresse (MARUR et al., 1994). Os eixos embrionários acumularam AST em ambas as temperaturas, na medida em que a água se tornou indisponível e na coleta II houve redução (Figura 8, a-d). Isso pode ser uma tentativa de ajuste osmótico, uma vez que os açúcares solúveis desempenham papel importante nesse ajuste, além de efeitos indiretos de proteção, como na estabilização de proteínas (REIS et al., 2012).

Além do acúmulo de carboidratos e proteínas, já foi constatado para diferentes espécies que os estresses, tanto salino como hídrico, acumulam aminoácidos solúveis totais (NASCIMENTO et al., 2015). Na coleta II, sob temperatura de 35 °C, o acesso BA acumulou aminoácidos, tanto nos eixos embrionários como nos cotilédones (Figura 8, i-q). Esse acúmulo pode estar associado ao ajustamento osmótico dessas plântulas.

Com as informações disponíveis sobre os cenários futuros do clima para as próximas décadas, projetam-se secas mais frequentes e graves (CAMPBELL, 2013). Daí a relevância de se entender como as plântulas irão se comportar. Na fase analisada, as plântulas de *C. pyramidale* não sofreram danos severos e o eventual uso de água salobra ou salinizada não prejudicará o desenvolvimento da espécie.

Portanto, entender as estratégias de germinação das sementes dentro de uma única comunidade tem implicações na evolução das características, assim como na dinâmica populacional e comunitária.

CONCLUSÕES

A temperatura influencia na tolerância das sementes de *C. pyramidale* à restrição hídrica e salinidade.

Os açúcares solúveis totais, proteínas totais e aminoácidos, presentes em plântulas de *C. pyramidale*, respondem como indicadores de tolerância desta espécie aos estresses abióticos.

Os acessos de *C. pyramidale* sob estresses abióticos respondem diferentemente quanto à germinação, vigor e metabolismo, tendo o da Bahia apresentado maior tolerância à salinidade do que o do Rio Grande do Norte.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MOTOS, J. R.; ORTUÑO, M. F.; BERNAL-VICENTE, A.; DIAZ-VIVANCOS, P.; SANCHEZ-BLANCO, M. J.; HERNANDEZ, J. A. Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. **Agronomy**, v. 7, n. 1, p. 1-38, 2017.
- AMARO, H. T. R.; DAVID, A. M. S. S.; ASSIS, M. O.; RODRIGUE, B. R. A.; CANGUSSÚ, L. V. S.; OLIVEIRA, M. B. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 383-389, 2015.
- ANTUNES, C. G. C.; PELACANI, C. R.; RIBEIRO, R. C.; SOUZA, J. V.; SOUZA, C. L. M.; CASTRO, R. D. Germinação de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (catingueira) submetidas a deficiência hídrica. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 1007-1015, 2011.
- ATAÍDE, G. M.; BORGES, E. E. L.; PICOLI, E. A. T.; FILHO, A. T. L.; FLORES, A. V. Alterações nas reservas de sementes de *Melanoxylon brauna* Schott. (Fabaceae Caesalpinoideae) durante a germinação em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 12, n. 3, p. 372-379, 2017.
- AZEREDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Germinação de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. sob estresse hídrico. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 1, p. 193-202, 2016.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; CAMARA, C. U. T. R. C. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. 2nd ed. San Diego, CA, USA: Academic/Elsevier, 2014.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. Springer. Third Edition, 2013.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal, UNESP, 2012.
- COSTA, V. P.; HAYASHI, A. H.; CARVALHO, M. A. M.; SILVA, E. A. Aspectos fisiológicos, anatômicos e ultra estruturais do rizoma de *Costus arabicus* L. (Costaceae) sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 125-137, 2012.

- DUTRA, T. R.; MASSAD, M. D.; MOREIRA, P. R.; RIBEIRO, E. S. M. Efeito da salinidade na germinação e crescimento inicial de plântulas de três espécies arbóreas florestais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo-PR, v. 37, n. 97, p. 223-230, 2017.
- FERRERAS, A.E.; ZEBALLOS, S.R.; GUILLERMO FUNES, G. Inter- and intra-population variability in physical dormancy along a precipitation gradient. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 31, n. 1, p. 141-146, 2018.
- FIGUEIREDO, J. M.; ARAÚJO, J. M.; PEREIRA, O. N.; BAKKE, I. A.; BAKKE, O. A. Revegetation of degraded Caatinga sites. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 24, n. 3, p. 332–343, 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/289266435_Revegetation_of_degraded_caatinga_sites>. Acesso em: 10 abr. 2018.
- GORDIN, C. R. B.; MARQUES, R. F.; MASETTO, T. E.; SOUZA, L. C. F. Estresse salino na germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de niger (*Guizotia abyssinica* (L.f.) Cass.). **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 26, n. 4, p. 966-972, 2012.
- GRAY, S. B.; BRADY, S. M. Plant developmental responses to climate change. **Developmental Biology**, v. 419, n. 1, p. 64-77, 2016.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; VIANA, J. S.; GONÇALVES, E. P.; LIMA, C. R.; SANTOS, S. R. N. Germinação e vigor de sementes de *Apeiba tibourbou* submetidas ao estresse hídrico e diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 1, p. 45-53, 2013.
- KOSOVÁ, K.; PRÁŠIL, I. T.; PAVEL VÍTÁMVÁS, P. Protein contribution to plant salinity response and tolerance acquisition. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 4, p. 6757-6789, 2013.
- KRANNER, I.; MINIBAYEVA, F. V.; BECKETT, R. P.; SEAL, C. E. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. **New Phytologist**, v. 188, n. 3, p. 655-673, 2010.
- LAMARCA, E. V.; BONJOVANI, M. R.; FARIA, J. M. R.; BARBEDO, C. J. Germinação em temperatura sub-ótima de embriões de *Inga vera* subsp. *affinis* obtidos sob diferentes condições ambientais. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 4, p. 877-885, 2013.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2004.
- LUCCHESI, J. R.; BOVOLINI, M. P.; HILGERT, M. A.; BROSE, C. B.; AVRELLA E. D.; LAZAROTTO, M. Estresse salino e hídrico na germinação e crescimento inicial de plântulas de *Toona ciliata* M. ROEM. var. *australis*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 141-149, 2018.

- MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.
- MAIA, G.N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. 2. ed. Fortaleza: Printcolor, 2012.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed., Londrina: ABRATES, 2015.
- MARUR, C. J.; SODEK, L.; MAGALHÃES, A. C. Free aminoacids in leaves of cotton plants under water deficit. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 103-108, 1994.
- MASETTO, T. E.; QUADROS, J. B.; RIBEIRO, D. M.; REZENDE, R. K. S.; SCALON, S. P. Q. Potencial hídrico do substrato e teor de água das sementes na germinação do crambe. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 511-519, 2011.
- MORANDO, R.; SILVA, A. O.; CARVALHO, L. C.; PINHEIRO, M. P. M. A. Déficit hídrico: efeito sobre a cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, Umaruma, v. 3, n. especial, p. 114-129, 2014.
- MORRIS, D. L. Quantitative determination of carbohydrates with Drywood's anthrone reagent. **Science**, v. 107, n. 2775, p. 254-255, 1948.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOSWIKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (org.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 21-24.
- NASCIMENTO, H. H. C.; SANTOS, C. A.; FREIRE, C. S.; SILVA, M. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Ajustamento osmótico em mudas de jatobá submetidas à salinidade em meio hidropônico. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 39, n. 4, p. 641-653, 2015.
- NASR, S. M. H.; PARSAKHOO, A.; NAGHAVI, H.; KOOHI, S. K. S. Effect of salt stress on germination and seedling growth of *Prosopis juliflora* (Sw.). **New Forests**, v. 43, n. 1, p. 9265-9269, 2012.
- NOGUEIRA, N. W.; TORRES, S. B.; FREITAS, R. M. O.; CASTRO, T. H. S.; SÁ, F. V. S. 'Jurema-de-embira' seed germination under water stress and at different temperatures. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 21, n. 4, p. 244-248, 2017.
- NOGUEIRA, N. W.; TORRES, S. B.; FREITAS, R. M. O.; SANTOS, P. C. S.; SÁ, F. V. S.; LEITE, M. S. Salt stress and temperatures on the germination and initial growth of 'jurema-

- de-embira' (*Mimosa ophthalmocentra*) seedlings. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 22, n. 4, p. 273-278, 2018.
- NOUNJAN, N.; CHANSONGKROW, P.; CHAROENSAWAN, V.; SIANGLIW, J. L.; TOOJINDA, T.; CHADCHAWAN, S.; THEERAKULPISUT, P. High performance of photosynthesis and osmotic adjustment are associated with salt tolerance ability in rice carrying drought tolerance qtl: physiological and co-expression network analysis. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1-15, 2018.
- OLIVEIRA, G. M.; MATIAS, J. R.; RIBEIRO, R. C.; BARBOSA, L. G.; SILVA, J. E. S. B. DANTAS, B. F. Germinação de sementes de espécies arbóreas nativas da Caatinga em diferentes temperaturas. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 10, n. 4, p. 1-6, 2014.
- OLIVEIRA, M. M.; LIMA, A. T.; ROCHA, E. A.; MEIADO, M. V. O aumento da temperatura reduz a tolerância ao estresse hídrico na germinação de sementes de *Pereskia grandifolia* haw. Subsp. *Grandifolia* (cactaceae)? **Gaia Scientia**, João Pessoa, v. 11, n. 4, p. 26-36, 2017.
- PANUCCIO, M. R.; JACOBSEN, S. E.; AKHTAR, S. S.; MUSCOLO, A. Effect of saline water on seed germination and early seedling growth of the halophyte quinoa. **AoB Plants**, v. 6, n. 47, p. 1-18, 2014.
- PELEGRINI, L. L.; BORCIONI, E.; NOGUEIRA, A. C.; SOARES K. H.; QUOIRIN, G.; GERMAINE, M. Efeito do estresse hídrico simulado com NaCl, Manitol e PEG (6000) na germinação de sementes de *Erythrina falcata* Benth. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 513-521, 2013.
- PEREIRA, F.E.C.B.; MEDEIROS FILHO, S.; TORRES, S.B., MARTINS, C.C.; BRITO, S.F. Saline stress and temperatures on germination and vigor of *Piptadenia moniliformis* Benth. seeds. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, n. 7, p. 649-653, 2016.
- REIS, R. C. R.; DANTAS, B. F.; PELACANI, C. R. Mobilization of reserves and germination of seeds of *Erythrina velutina* Willd. (Leguminosae - Papilionoideae) under different osmotic potentials. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 580-588, 2012.
- RIBEIRO, M.F. **Tratamentos alternativos para conservação de sementes de café arábica**. Viçosa, UFV, 2013. 97p. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/1205/texto%20completo.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

- RIBEIRO, R. C.; DANTAS, B. F.; MATIAS, J. R.; PELACANI, C. R. Efeito do estresse salino na germinação e crescimento inicial de plântulas de *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae). **Gaia Scientia**, João Pessoa, v. 11, n. 4, p. 65-78, 2017.
- ROSEN, H. A. A modified ninhydrin calorimetric analysis for amino acids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 67, n. 1, p. 10-15, 1957.
- SAGLAM, A.; TERZI, R.; NAR, H.; SARUHAN, N.; AYAZ, F. A.; KADIOGLU, A. Inorganic and organic solutes in apoplastic and symplastic spaces contribute to osmotic adjustment during leaf rolling in *Ctenanthe setosa*. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 52, n. 1, p. 37-44, 2010.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4.ed. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1992.
- SAMI, F.; YUSUF, M.; FAIZAN, M.; FARAZ, A.; HAYAT, S. Role of sugars under abiotic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 54-61, 2016.
- SANTOS, P. C. S.; BENEDITO, C. P.; ALVES, T. R. C.; PAIVA, E. P.; SOUSA, E. C.; FREIRES, A.L.A. Water stress and temperature on germination and vigor of *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 22, n. 5, p. 349-354, 2018.
- SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; EUZÉBIO, V. L. M.; KODAMA, F. M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 4, p. 655-662, 2011.
- SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; SANTOS-MOURA, S. S.; NETO, A. P. S. Germinação de sementes de *Chorisia glaziovii* O. Kuntze submetidas ao estresse hídrico em diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 3, p. 999-1007, 2016.
- SIMONI, F.; COSTA, R. S.; FOGAÇA, C. A.; GEROLINETO, E. Sementes de *Sorghum bicolor* L. - Gramineae, submetidas ao estresse hídrico simulado com PEG (6000). **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Aracaju, v. 11, n. 1, p. 188-192, 2011.
- SOARES, M. M.; SANTOS JUNIOR, H. C.; SIMÕES, M. G.; PAZZIN, D.; SILVA, L. J. Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 4, p. 370-378, 2015.
- SOUSA, E. C.; SILVA, D. V.; SOUSA, D. M. M.; TORRES, S. B.; OLIVEIRA, R. R. T. Physiological changes in *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. seeds from different sources and submitted to abiotic stresses. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 22, n. 6, p. 383-389, 2018.

SOUZA, L. C.; SIQUEIRA, J. A. M.; SILVA, J. L. S.; SILVA, J. N.; COELHO, C. C. R.; NEVES, M. G.; NETO, C. F. O.; LOBATO, A. K. S. Compostos nitrogenados, proteínas e aminoácidos em milho sob diferentes níveis de silício e deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, n. 2, p. 117-128, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre, Artmed, 2013.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 11/12, p. 1957-1968, 1991.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954.

CAPITULO 2 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM ACESSOS DE SEMENTES DE *Cenestigma pyramidale* DURANTE A GERMINAÇÃO SOB ESTRESSES ABIÓTICOS

RESUMO

As plantas estão expostas à combinação de diferentes estresses abióticos no ambiente e a maneira como os acessos de uma mesma espécie responde, possivelmente são distintos. O acúmulo de espécies reativas de oxigênio poderá sinalizar ou proteger da adversidade do meio. Objetivou-se avaliar a germinação e atividade de enzimas antioxidantes em dois acessos de *Cenestigma pyramidale* sob restrição hídrica e salinidade, em diferentes temperaturas. Os acessos foram provenientes dos municípios de Juazeiro, Bahia (BA), e Currais Novos, Rio Grande do Norte (RN). A germinação foi conduzida sob temperaturas de 25, 30 e 35°C durante 14 dias, considerando-se germinadas as que apresentavam a protrusão de raiz. Para a atividade das enzimas antioxidantes, catalase, peroxidase e superóxido dismutase, a salinidade foi simulada para os potenciais osmóticos de -0,1 e -0,4 MPa e restrição hídrica de -0,1 e -0,3 MPa, sob temperaturas de 30 e 35 °C. Para isso, coletou-se os eixos embrionários com 2 e 4 mm e seus respectivos cotilédones. A germinação de sementes de *C. pyramidale* foi elevada nas diferentes temperaturas testadas, porém o acesso RN, sob 35 °C, teve germinação inferior ao BA, esta não sendo a temperatura ideal para a germinação da espécie. De maneira geral, os acessos de *C. pyramidale* diferem no mecanismo enzimático adotado na sinalização aos estresses abióticos. A temperatura influencia na tolerância de sementes de *C. pyramidale* à salinidade e restrição hídrica. As atividades das enzimas antioxidativas em eixos embrionários e cotilédones de plântulas de *C. pyramidale* variam entre os acessos, temperaturas e estresses, o que reforça a importância de avaliar sementes de diferentes procedências.

Palavras-chave: Enzimas antioxidantes, salinidade, temperatura, restrição hídrica, catingueira.

CHAPTER 2 - ENZYMATIC ACTIVITY IN ACCESSIONS OF SEEDS OF *Cenestigma pyramidale* DURING GERMINATION UNDER ABIOTIC STRESSES

ABSTRACT

In the environment, the plants are exposed to the combination of different abiotic stresses and the way in which access of the same species responds possibly will be different. The accumulation of reactive oxygen species may signal or protect against the adversity of the medium. The objective was to evaluate the germination and activity of antioxidant enzymes in two accesses of *Cenestigma pyramidale* under water restriction and salinity, at different temperatures. Seed access from *C. pyramidale*, Bahia, and Rio Grande do Norte, RN was used. The germination was evaluated at temperatures of 25, 30, 35 and 20/40 °C, adopting the criterion of germination and radicular protrusion, for 14 days, being taken those that emitted radicle. For the activity of antioxidant enzymes, catalase, peroxidase and superoxide dismutase, salinity was simulated in the osmotic potencies of -0.1 and -0.4 MPa, and water restriction, osmotic potencies of -0.1 and -0.3 MPa under temperatures of 30 and 35 °C. Embryonic axes with 2 and 4 mm and their respective cotyledons were collected. The species presented high germination at the temperatures tested, the RN 16 access, under 35 °C with germination lower than the BA, which is not the ideal temperature for the germination of the species. Temperature influenced response to stress. Among the accesses, there is a difference in the responses and in the activity of the antioxidative enzymes, thus reinforcing the importance of evaluating different seed provenances

Keywords: Antioxidant enzymes, salinity, temperature, water restriction.

INTRODUÇÃO

As condições do ambiente influenciam na germinação das sementes (REZVANI; ZAEFARIAN, 2017); a redução do potencial osmótico e o aumento na temperatura do solo poderão inibir a germinação e, conseqüentemente, o estabelecimento inicial da plântula (REZVANI; ZAEFARIAN, 2017). Em condição salina, a germinação é afetada não somente pela redução do gradiente de potencial hídrico entre a semente e o substrato, como também pela alteração significativa de seu metabolismo, provocando a inibição da mobilização das reservas e distúrbios nas membranas do eixo embrionário (MARQUES et al., 2011).

De acordo com os dados climáticos disponíveis para a região semiárida brasileira, a ocorrência de chuvas diminuirá e, conseqüentemente, a disponibilidade de recursos hídricos reduzirá (MARENGO, 2008). Além disso, a temperatura poderá, em cenários otimistas, aumentar 1,7 °C; para os pessimistas os valores próximos poderão chegar aos 5 °C (IPCC, 2013). Isso reforça a importância de se conhecer como as espécies endêmicas das regiões semiáridas responderão, durante os processos germinativo e metabólico, uma vez que as alterações climáticas ocorrerão com maior intensidade.

Os estresses abióticos, combinados ou não, provavelmente formam-se em células vegetais distintos tipos de espécies reativas de oxigênio, as EROS, e as decodifica através de diferentes sensores, o que pode criar um sinal específico que irá afetar a planta (CHOUDHURY et al., 2017). Apesar do efeito de desbalanço entre produção e remoção das EROs (CARVALHO et al., 2011), se mantidos em níveis baixos, provavelmente essas EROs funcionarão como componentes de uma via de sinalização de estresse, desencadeando respostas de defesa ou de aclimação ao estresse (SHARMA et al., 2012)

O sistema de defesa antioxidante tem como função reduzir ou inibir os danos causados (BARBOSA et al., 2014). Tais ações podem ser alcançadas por meio de diferentes mecanismos, e a falha desses sistemas antioxidativos causa o estresse oxidativo (VARJOVI et al., 2015). Portanto, uma estratégia de combate aos estresses é sua ativação ou indução das enzimas (SAHITYA et al., 2018). As plantas mantêm sistemas complexos de vários tipos de antioxidantes, como as enzimas catalase, superóxido dismutase e várias peroxidase (BARBOSA et al., 2014).

Com as mudanças climáticas globais, a disponibilidade dos recursos e as condições cruciais para o desenvolvimento das plantas serão afetadas (PARMESAN; HANLEY, 2015). As variações nas características ecofisiológicas das plantas, sua adaptabilidade inerente (dentro e entre indivíduos e populações inteiras) são vitais, e o entendimento das variações em

conjunto são extrema relevância para compreender o desenvolvimento sob alterações climáticas previstas (PARMESAN; HANLEY, 2015).

Para adaptação e tolerância a esses possíveis estresses, as plantas desenvolverão mecanismos fisiológicos e bioquímicos, além da produção de enzimas antioxidantes (CAVERZAN et al., 2016). Para evitar os danos causados pelas enzimas antioxidativas, o equilíbrio entre a produção e a eliminação no nível intracelular deve ser regulado ou eficientemente metabolizado (CAVERZAN et al., 2016). A *Cenostigma pyramidale* (Tul.) Gagnon & G.P. Lewis é adaptada a ambientes xéricos, degradados e pouco produtivos, o que explica sua inserção nesses ambientes (FABRICANTE et al., 2009). Porém, não se conhece ainda como essa espécie responderá durante a fase germinativa e a atividade enzimática sob combinações de estresses abióticos.

Espécies adaptadas a ambientes secos, salinizados e quentes são frequentes em regiões semiáridas, porém para *C. pyramidale* não há resultados disponíveis envolvendo esses estresses combinados de temperatura e salinidade ou temperatura e deficiência hídrica, além da atividade enzimática nestas condições.

Dessa forma, objetivou-se avaliar as alterações da atividade de enzimas antioxidativas durante a germinação de sementes de *C. pyramidale*, sob condições de salinidade e restrição hídrica, em diferentes temperaturas.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes utilizadas foram de dois acessos de *C. pyramidale* coletadas de árvores matrizes existentes no distrito de Massaroca (09° 52'09,00'', 40° 16' 42'', 469 m), Juazeiro, Bahia (BA), e no município de Currais Novos, Rio Grande do Norte (RN) (06° 15' 46" S, 36° 31' 03" W e 353 m de altitude). Os frutos foram colhidos com as mesmas características visuais de maturação, no ano de 2016. Em seguida, os frutos foram secados à sombra, as sementes beneficiadas manualmente, acondicionadas em sacos de pano e armazenadas em câmara fria (10±2 °C; UR 40±5%) até a realização do experimento.

Antes da instalação dos ensaios de germinação, as sementes foram submetidas à assepsia com fungicida mancozebe (Dithane® NT), utilizando a dosagem de 4 g. kg⁻¹ de sementes (RIBEIRO, 2013).

Para cada tratamento, utilizou-se 100 sementes, divididas em quatro repetições de 25, distribuídas sobre duas folhas de papel toalha, cobertas com uma terceira e organizadas em forma de rolo. O papel toalha (Germitest®) foi umedecido com água destilada ou com as

soluções, na quantidade equivalente a 2,5 vezes seu peso seco e os rolos foram acondicionados em sacos de plástico transparente.

Na simulação da salinidade, soluções de cloreto de sódio (NaCl) foram preparadas seguindo a fórmula proposta por Vant Hoff (SALISBURY; ROSS, 1992), nos potenciais osmóticos de -0,1, -0,2, -0,4 e -0,6 MPa. Para a restrição hídrica, utilizou-se o polietilenoglicol 6000 (PEG 600) nos potenciais osmóticos de -0,1 0,2, 0,3 e -0,4 MPa preparadas de acordo com Villela et al. (1991). As temperaturas utilizadas foram as constantes de 25, 30 e 35 °C, fotoperíodo de 12 horas. Os rolos contendo as sementes foram incubados em germinadores durante 14 dias.

As avaliações foram realizadas diariamente, sendo computadas as que apresentavam emissão da raiz primária maior que 1 mm de comprimento e descartadas. Ao final, obteve-se o número de sementes germinadas e os resultados foram expressos em porcentagem.

Com os resultados obtidos dos estresses osmóticos, salino e hídrico, foram selecionados os tratamentos para analisar as atividades das enzimas antioxidantes.

A atividade das enzimas antioxidantes foi determinada por meio de dois experimentos, um para cada agente estressante, sendo ambos conduzidos sob temperaturas de 30 e 35 °C. Para o experimento que simulou a salinidade, foram utilizados os potenciais osmóticos de -0,1 e -0,3 MPa e os de -0,1 e -0,4 MPa como simulador do déficit hídrico. As soluções foram preparadas de acordo com o experimento anterior. Ao germinar, coletou-se separadamente os eixos embrionários com dois tamanhos, de 1 a 2 mm e 2 a 4 mm, com seus respectivos cotilédones.

Os extratos foram obtidos a partir da maceração dos eixos embrionários e cotilédones, em almofariz, de 1 g de matéria fresca em 10,0 mL de tampão fosfato de potássio a 100 mM, pH 7,0 e submetidos a centrifugação a 10.000 x g a 4 °C durante 20 min. Em seguida, as amostras foram armazenadas em ultrafreezer a -80°C até o momento das análises. A partir da obtenção do extrato bruto, foi determinada a atividade da enzima catalase (CAT, EC 1.11.1.6) (KAR et al., 1976); superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), adaptado por Sun et al. (1988) e peroxidase (POX, EC 1.11.1.7), de acordo com Matsuno; Uritani (1972).

A partir dos dados de germinação e atividades das enzimas antioxidantes, foram confeccionados os gráficos e estabelecido o erro padrão da média.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação dos acessos de *C. pyramidale* sem estresse (0 MPa) foi elevada para as temperaturas testadas. A temperatura 35 °C proporcionou maior capacidade de germinação ao

acesso BA do que o RN (Figura 1). A temperatura é responsável por interferir na velocidade de absorção de água, além de modificar a velocidade das reações bioquímicas, que irão ocasionar o desdobramento e transporte das reservas e a síntese de substâncias no eixo embrionário (BEWLEY et al., 2013). O ideal é que a germinação ocorra de forma mais rápida e eficiente em maior temperatura, até certo limite (MARCOS-FILHO, 2015), porém em *C. pyramidale*, acesso RN, na temperatura 35 °C a germinação foi inferior às demais testadas (Figura 1).

Os dois acessos de sementes de *C. pyramidale* responderam à salinidade de forma semelhante (Figura 1). Porém, sob 35 °C a germinação do acesso BA, independentemente do nível de salinidade, foi maior do que a do RN (Figura 1). Assim como os demais fenômenos naturais ameaçam a viabilidade das espécies, a salinidade pode prejudicar o desempenho germinativo. Uma das principais razões para redução é a resistência insuficiente das plantas a fatores ambientais adversos.

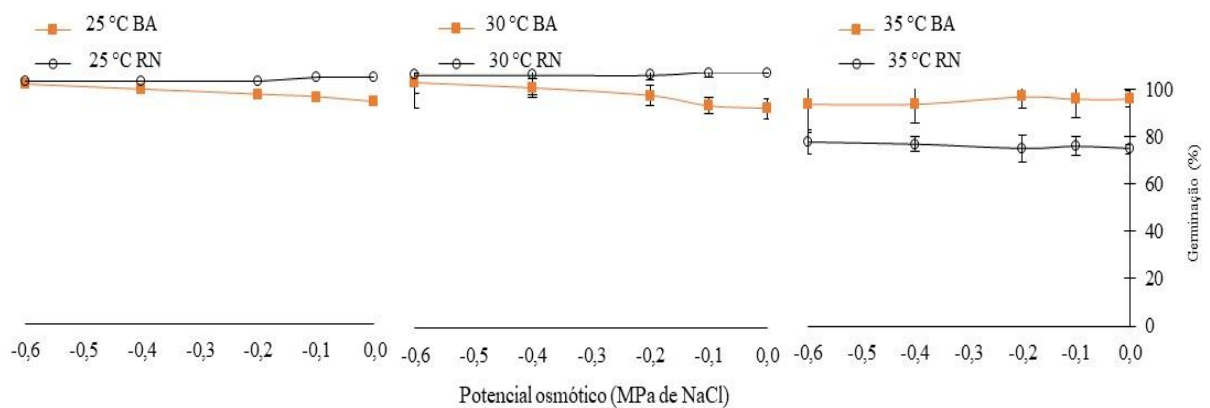


Figura 1. Germinação de sementes de acessos de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e salinidade.

A salinidade afeta as plantas de várias maneiras, desde o estresse hídrico, toxicidade iônica, alteração dos processos metabólicos, desorganização da membrana, estresse oxidativo, dentre outros (MUSCOLO et al., 2013). Com o aumento da salinidade de -0,1 para -0,4 MPa de NaCl, a atividade da enzima superóxido dismutase reduz, para o acesso BA e aumentou para o acesso RN (Figura 2, i-j).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) gerado pela ação da SOD deve ser convertido em H_2O por outras enzimas, como a catalase e peroxidases, uma vez que o peróxido também é tóxico quando acumulado na planta (LIRA et al., 2018). Observa-se que com aumento da

salinidade ocorre redução aumento da peroxidase, sinalizando estresse maior para o acesso RN (Figura 2, a-b). Nos eixos embrionários do acesso BA, com aumento da salinidade de 0 para -0,1 MPa de NaCl (Figura 2, b) houve decréscimo na atividade, como tentativa de minimizar os efeitos nocivos do estresse salino (LIRA et al., 2018).

Aumento na temperatura, de 30 para 35 °C – combinado com aumento da salinidade, de 0 para -0,1 MPa de NaCl – acarretou redução na atividade das enzimas peroxidase, catalase e superóxido dismutase (Figura 2). O acúmulo de H₂O₂ inibido sob uma combinação de estresse salino e térmico sugere que ocorreu proteção contra essa combinação de estresse, atribuível à inibição do estresse oxidativo (SUZUKI et al., 2014). Na medida em que o potencial osmótico se tornou mais negativo, a resposta se inverteu, aumentando a atividade enzimática (Figura 2).

Com o aumento da salinidade, a formação de EROs é intensificada, danificando a célula antes da eliminação, que deve ocorrer para evitar o estresse oxidativo (DEUNER et al., 2011), e na medida em que o meio se tornou mais salino, potencial osmótico de -0,1 MPa para -0,4 MPa, pode-se associar o aumento da atividade das enzimas peroxidase (Figura 2, a), da catalase (Figura 2, e) e superóxido dismutase (Figura 2, i) à aclimação à salinidade, caracterizando uma eficiente detoxificação das EROs (DEUNER et al., 2011) nos eixos embrionários do acesso BA.

A peroxidase sinaliza as atividades fisiológicas da planta, apresentando rápido aumento em espécies tolerantes aos estresses (MENEZES et al., 2004). Neste sentido, plantas adaptadas à salinidade aumentam a atividade, em decorrência das alterações das propriedades mecânicas da parede celular, na sua estabilidade, já que as propriedades desta parede são modificadas pelo estresse salino (SANCHO et al., 1996). Assim, atribui-se aos acessos BA e RN tolerância à salinidade em eixos embrionários, sob menor e maior tempo de exposição à salinidade (Figura 2, 3, a,b).

Espécies tolerantes ao sal geralmente apresentam maior atividade enzimática antioxidante do que espécies sensíveis (ZHANG et al., 2014). A diferenciação no comportamento enzimático dos acessos avaliados sugere uma tentativa de adaptação à salinidade, uma vez que em espécie tolerante há tendência de maior atividade de peroxidase (LIMA et al., 2007).

Em cotilédones, o aumento na salinidade teve efeito diferenciado entre os acessos na atividade enzimática da peroxidase, catalase e superóxido dismutase, com redução da atividade para o acesso BA e aumento para o RN (Figura 3, c,d,g,h). Durante a germinação, normalmente, ao ser exposta à temperatura superior à ótima, a membrana celular é afetada,

pelo aumento de sua permeabilidade, e em estágio avançando ocorre degradação (MARCOS FILHO, 2015). Nestas condições, temperatura superior à ideal, ocorre estresse térmico e direcionamento das substâncias de reserva ao metabolismo ativo em órgãos em crescimento, como eixo embrionário, além de aumento da produção das enzimas antioxidantes (MARINI et al., 2013).

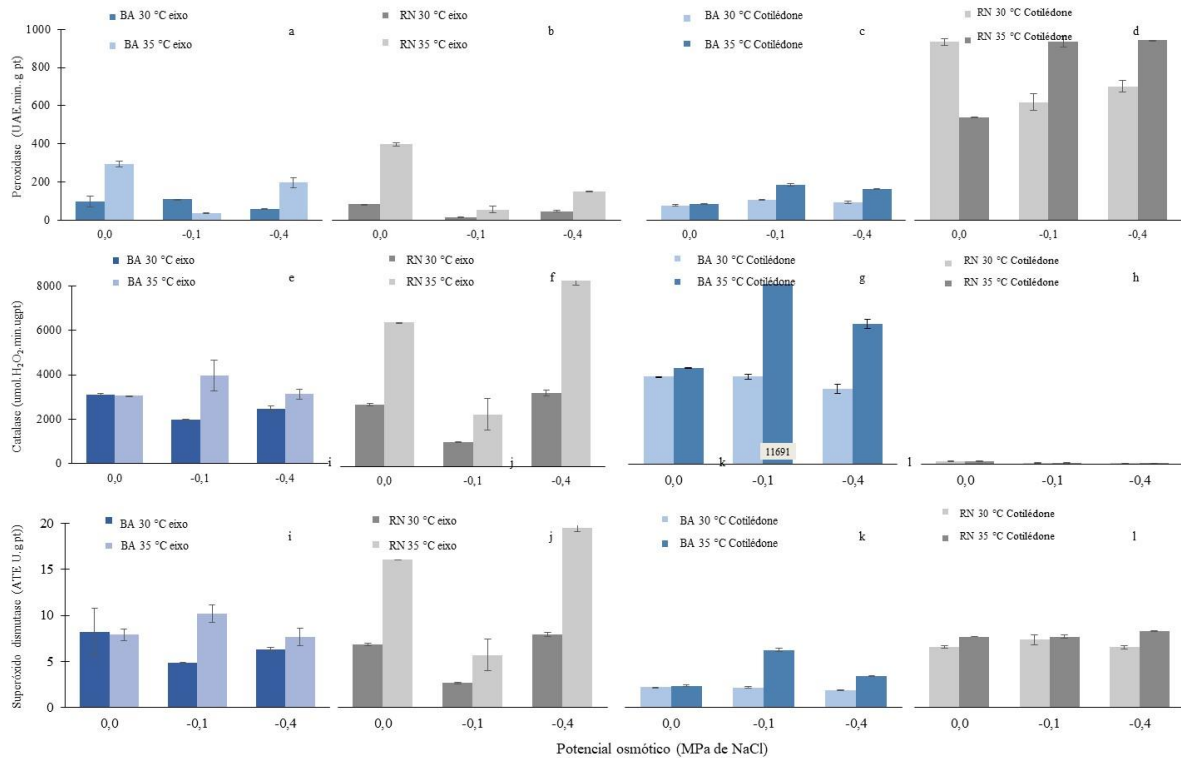


Figura 2. Atividade das enzimas peroxidase (a-d), catalase (e-h) e superóxido dismutase (i-l) em eixos embrionários com tamanho de 1 a 2 mm e cotilédones de *Cenostigma pyramidale* coletados, sob duas temperaturas e salinidade. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média.

Na ausência de salinidade, a atividade da enzima catalase e superóxido dismutase nos eixos embrionários de *C. pyramidale*, sob 30 e 35 °C, respondeu similarmente (Figura 2, a, b). Em *Melanoxylon brauna* Schott, na temperatura de 30 °C, a catalase apresentou pequenas alterações na sua atividade ao longo da germinação, sob diferentes temperaturas. Flores et al. (2014) consideram que provavelmente essas não são temperaturas que causem estresse às sementes. Em condições ótimas, os metabólitos de oxigênio potencialmente tóxicos são gerados em um nível baixo e existe equilíbrio apropriado entre a produção e a eliminação de ROS (LAXA et al., 2019).

Considerando a função protetora da enzima catalase, incremento da atividade da sua atividade está ligado à regulação da expressão gênica; com menor dano oxidativo (WENG et al., 2015), nos eixos embrionários do acesso RN verificou-se maior atividade, com o aumento do potencial osmótico de -0,1 para -0,4 MPa de NaCl, (Figura 2, f). No entanto, com a permanência das sementes nessa condição, maior exposição ao estresse, nota-se o dano oxidativo, e o inverso ocorreu: a enzima catalase diminuiu sua atividade (Figura 3, f). Fato semelhante aconteceu em *E. velutina*, em que houve aumento seguido de diminuição na atividade enzimática da catalase, nos eixos embrionários e cotilédones, com o aumento do potencial osmótico (RIBEIRO et al., 2014).

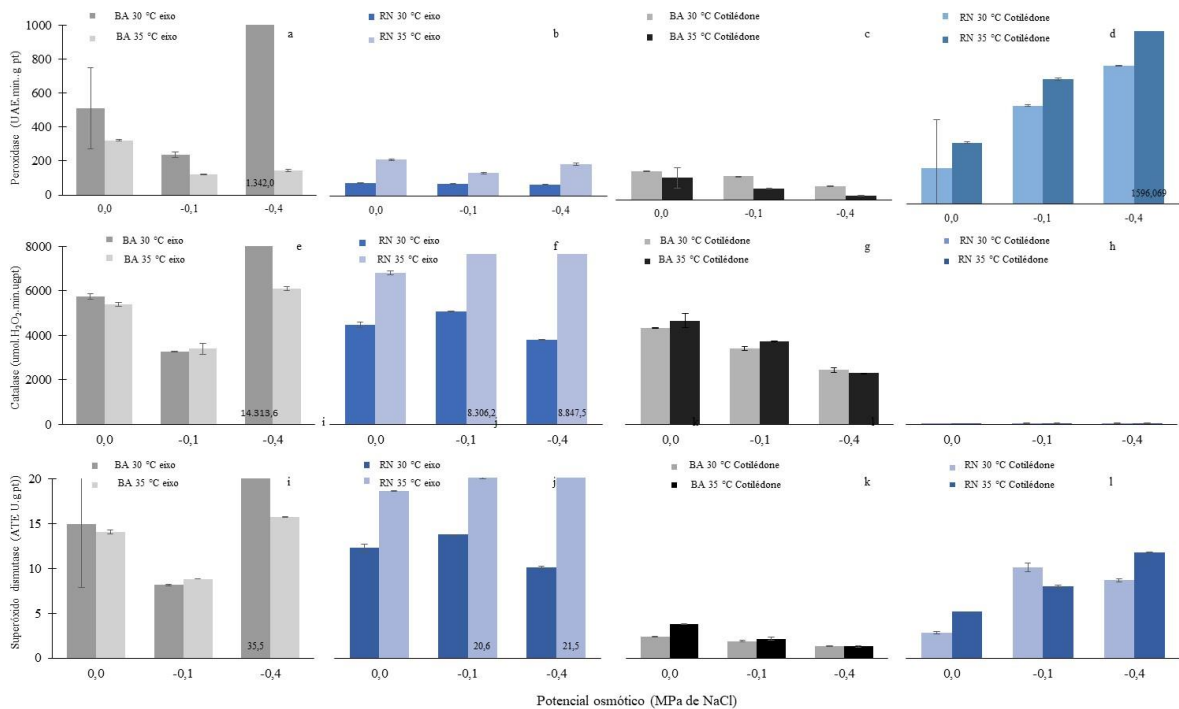


Figura 3. Atividade das enzimas peroxidase (a-d), catalase (e-h) e superóxido dismutase (i-l) em eixos embrionários com tamanho de 1 a 2 mm e cotilédones de *Cenostigma pyramidale* coletados, sob duas temperaturas e salinidade. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média.

A manutenção da atividade de catalase em plantas sob estresse indica que ocorreu a remoção do H₂O₂ fotorrespiratório, produzido quando as plantas estão especialmente sob graus severos de estresse (SOFO et al., 2015). Nestas condições, a fotorrespiração funciona como um dissipador de energia, impedindo a superredução da cadeia de transporte de elétrons fotossintética e a fotoinibição (PINTO et al., 2013). Por ser uma das enzimas mais eficazes na

defesa contra processos oxidativos, esse aumento da catalase em maior salinidade (Figura 2, f) representaria uma melhor capacidade de adaptação da espécie (AKCAY et al., 2010).

Em ambas as temperaturas, com o acesso RN sob -0,1 MPa de NaCl, ocorreu redução de atividade da catalase para os eixos embrionários, ao passo que o aumento do potencial osmótico para -0,4 MPa de NaCl aumentou esta atividade (Figura 2, f). Essa resposta, segundo Hameed et al. (2015), ocorre porque os mecanismos das espécies respondem ao estresse diferentemente; quanto à atividade da catalase, ocorre diminuição, seguida de aumento da atividade, após a recuperação. Esse efeito da salinidade nas atividades das enzimas antioxidantes varia entre espécies de plantas, órgãos e até mesmo potenciais osmóticos (ZHANG et al. 2014).

Para o incremento na atividade enzimática da catalase, sob maior temperatura, 35 °C, e no menor estresse salino de -0,1 MPa de NaCl, provavelmente houve efeito de estresse combinado, salinidade e temperatura (Figura 3, a,b).

Em eixos embrionários de *C. pyramidale*, sob maior salinidade (-0,4MPa de NaCl), e com aumento de temperatura de 30 para 35 °C, a atividade da SOD foi aumentada (Figura 4 a-b), indicando maior eficiência na eliminação de ROS (ROSSATTO et al., 2017). Este fato é verificado em plantas submetidas a um ambiente estressante, como salinidade e alta temperatura (SHARMA et al., 2012; ROSSATTO et al., 2017). A SOD atua na manutenção das condições fisiológicas normais, permitindo que o estresse oxidativo seja tolerado, regulando os níveis de ROS (MITTLER, 2002).

A restrição hídrica proporcionou ao acesso RN germinação superior quando comparada ao BA (Figura 5, a-d), que obteve germinação nula para a temperatura de 25 °C e potencial osmótico de -0,4 MPa (Figura 4). Possivelmente, a temperatura mais baixa afetou a velocidade de absorção de água pelas sementes desse acesso durante a germinação, pois é fato que as sementes absorvem água mais rapidamente sob temperaturas mais elevadas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

O Semiárido brasileiro, ambiente de ocorrência da espécie *C. pyramidale*, caracteriza-se pela irregularidade no regime de chuva, no espaço e no tempo, precipitação pluviométrica em torno de 800 mm ao ano, concentrada em períodos de três a cinco meses, temperatura média anual elevada (27 °C) e evapotranspiração potencial (2.000 mm/ano), apresentando balanço hídrico negativo em grande parte do ano (LIMA et al., 2011). A capacidade de as sementes germinarem sob um potencial osmótico baixo sugere que, em anos de baixa precipitação pluviométrica, poderá ocorrer germinação, ainda que em menor porcentagem (Figura 4).

Confirmando que os acessos se diferem na resposta germinativa, a restrição hídrica não prejudicou a germinação das sementes do acesso RN, sob 25 °C, ao passo que para o acesso RN, no potencial osmótico de -0,4 MPa de PEG 6000, não houve germinação (Figura 4). Constata-se, assim, que o limite tolerável das espécies sobreviverem em situação de baixa disponibilidade de água e o nível que reduzirá o crescimento das plântulas, difere entre e dentro da espécie. Por outro lado, a capacidade de recuperação da planta depende da duração e da intensidade do estresse imposto (CATUCHI, 2012).

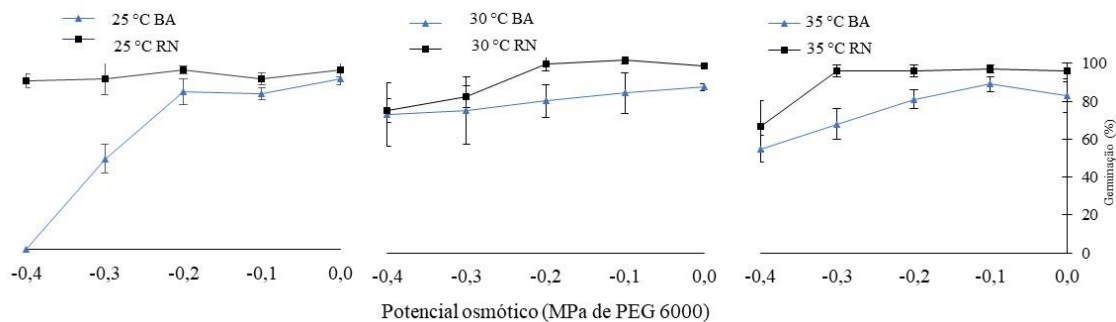


Figura 4. Germinação de acessos de sementes de *Cenostigma pyramidale* sob diferentes temperaturas e restrição hídrica. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média.

A variação da atividade enzimática sob estresse depende da duração do estresse, da espécie e fase avaliada (WENG et al., 2015). Ao elevar a temperatura de 30 para 35 °C, em 0 MPa, os eixos embrionários de ambos os acessos aumentaram a atividade da enzima POD (Figura 5, a-b). Com o aumento da restrição hídrica, 0 para -0,1 MPa, atividade decresceu (Figura 5, a-b).

Associa-se o aumento na atividade da peroxidase com a diminuição na expansão celular durante o estresse hídrico, devido à formação de ligações cruzadas fenólicas entre os componentes da parede celular (TENHAKEN, 2014). Na temperatura de 35 °C, o acesso BA apresentou decréscimo na germinação (Figura 4) e decréscimo na atividade da peroxidase (Figura 5, a), no entanto, a permanência sob deficiência hídrica demonstra que houve desintoxicação de ROS sob déficit hídrico (SILVA et al., 2019), apenas em maior tempo de exposição (Figura 6, a)

Para o acesso BA, a atividade da catalase decresceu nos eixos embrionários, sob 30 °C, na medida em que o potencial osmótico aumentou, de -0,1 para -0,3 MPa de PEG 6000 (Figura 6 b, c). No entanto, o para o RN a resposta foi oposta (Figura 6, f). A sensibilidade

aos níveis de estresse pode variar em função do tempo de exposição (DEUNER et al., 2011). Na situação de maior exposição ao estresse e temperatura de 35 °C, os acessos comportaram-se semelhantemente, apresentando aumento na atividade da catalase (Figura 6, b, d).

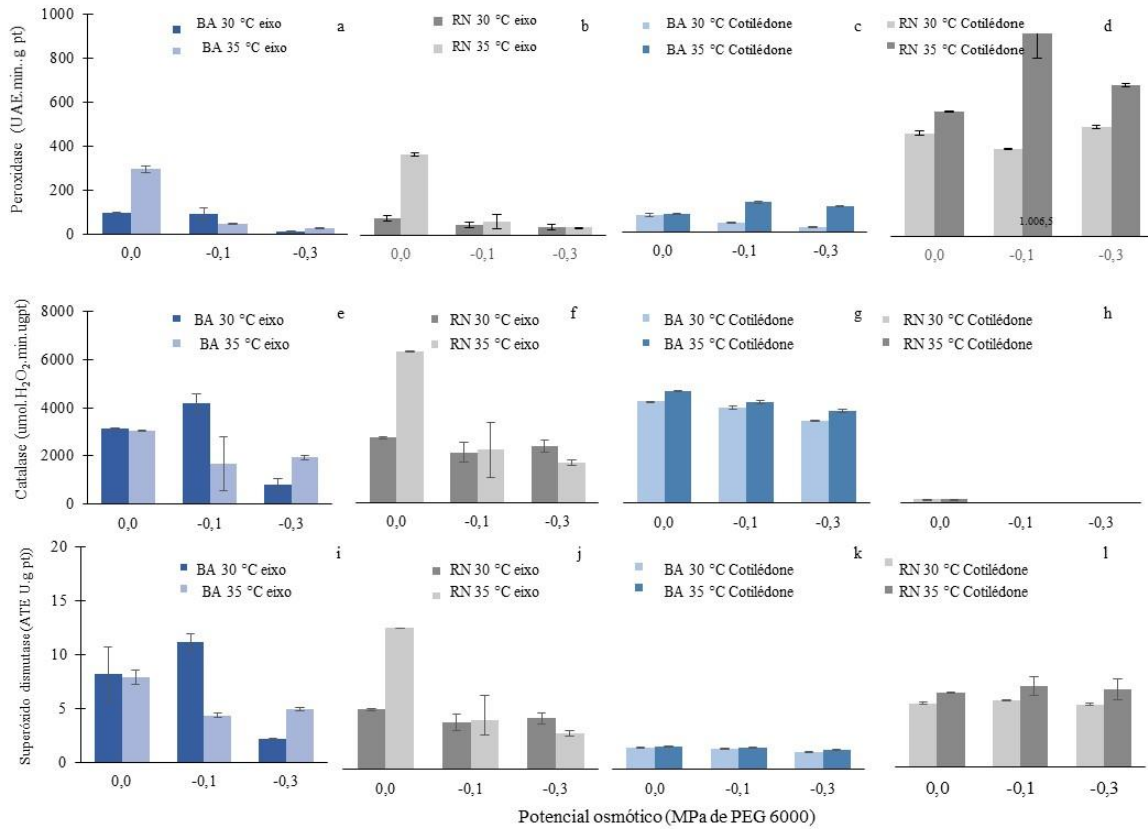


Figura 5. Atividade das enzimas peroxidase (a-d), catalase (e-h) e superóxido dismutase (i-l) em eixos embrionários com tamanho de 1 a 2 mm e cotilédones de *Cenostigma pyramidale* coletados, sob duas temperaturas e restrição hídrica. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média.

Em *E. velutina*, constatou-se aumento na atividade da catalase para o potencial osmótico de -0,2 MPa de PEG 6000, principalmente nos eixos embrionários, diminuindo posteriormente, com o aumento da restrição hídrica até -0,6 MPa (RIBEIRO et al., 2014). Para *C. pyramidale*, acesso RN, essa redução mostrou-se mais acentuada no eixo do que nos cotilédones (Figura 5, 6, h), divergindo do esperado, já que a atividade da catalase normalmente aumenta com o incremento da intensidade do estresse hídrico (SAHITYA et al., 2018).

A SOD é um componente importante de defesa das plantas na célula, destacando-se como o primeiro mecanismo de defesa contra aumentado das EROS, acumuladas pelo estresse abiótico (SAIBI; BRINI, 2018). O aumento na atividade dessa enzima é acompanhado por

mecanismos aprimorados de eliminação de H_2O_2 , como a catalase, que constitui em uma das estratégias importante para lidar com o estresse oxidativo (WENG et al., 2015).

A catalase é uma das principais enzimas produzidas contra o estresse oxidativo, para a produção celular, com o incremento da intensidade do estresse hídrico (SAHITYA et al., 2018), demonstra seu papel na eliminação das EROs presentes nas células. O aumento da atividade da catalase é associado à regulação da expressão gênica e ao menor dano oxidativo, considerando a função protetora dessa enzima (SOFO et al., 2015). Embora nos eixos embrionários acesso RN a catalase tenha apresentado incremento da sua atividade, nos respectivos cotilédones essa atividade foi baixa, independentemente da restrição hídrica e tempo de exposição nessa condição (Figura 5, 6, h).

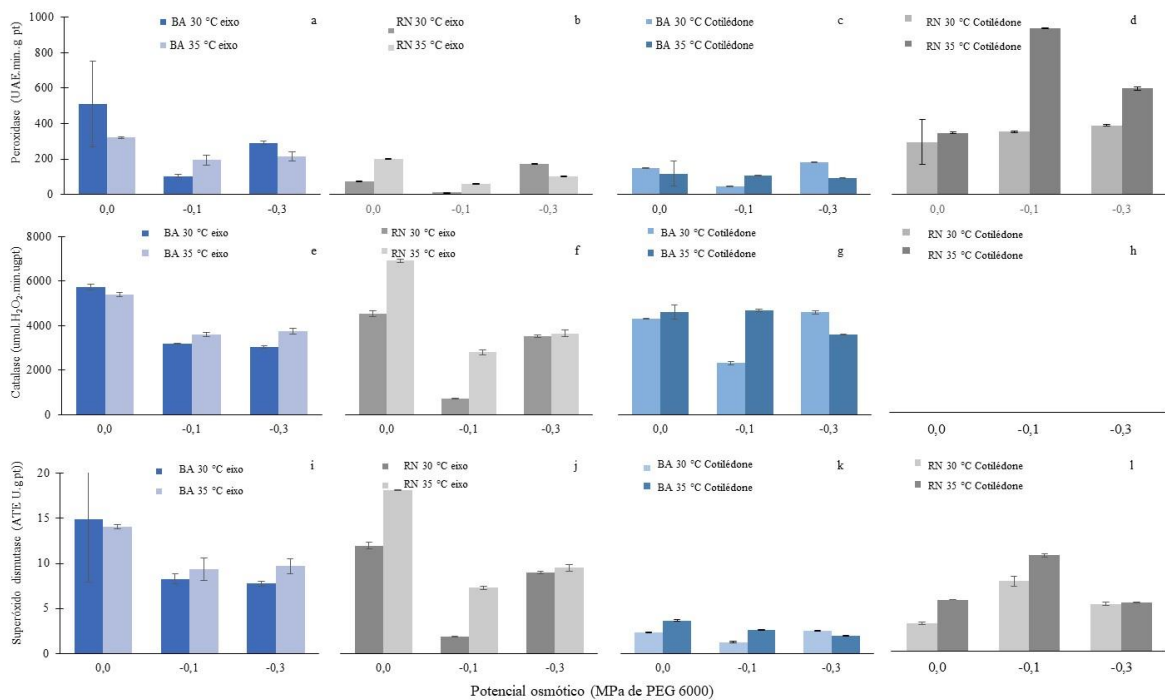


Figura 6. Atividade das enzimas peroxidase (a-d), catalase (e-h) e superóxido dismutase (i-l) em eixos embrionários com tamanho de 2 a 4 mm e cotilédones de *Cenostigma pyramidale* coletados, sob duas temperaturas e salinidade. Valor médio de quatro repetições \pm erro padrão da média

Eixos embrionários de *C. pyramidale*, acesso BA, sob 30 °C, cuja exposição ao estresse hídrico se deu em menor período, no potencial osmótico de -0,1 MPa de PEG 6000, aumentaram a atividade da enzima SOD (Figura 5, i), fato que caracteriza a eficiência na detoxificação das EROs (SHARMA et al., 2012). Para o acesso RN, ocorreu diminuição dessa atividade (Figura 5, j). Normalmente, esse aumento na atividade enzimática é frequentemente

relacionado ao aumento da tolerância da planta contra os estresses ambientais (SHARMA et al., 2012).

Restrição hídrica e aumento de temperatura, simulando estresse múltiplo, por menor período, resultou em menor atividade no acesso BA do que o RN das enzimas peroxidase, catalase e superóxido dismutase nos cotilédones de *C. pyramidale* e com atividade catalase expressivamente baixa no acesso RN. Diferentes compartimentos das sementes comportam-se de maneira específica. Em cotilédone, por se tratar de tecidos de reserva, espera-se que não haja atividade, sem os mecanismos de proteção, caracterizados pelas enzimas de decomposição das EROs (FLORES et al., 2014).

Com o aumento do estresse, a formação de espécies reativas de oxigênio se intensifica, de forma que a eliminação deve ocorrer constantemente para evitar o estresse oxidativo (WENG et al., 2015). Dessa forma, a ação sincronizada das enzimas responsáveis pela remoção das EROs confere maior tolerância às plantas sob condições de estresse (DEUNER et al., 2011). É importante ressaltar que cada espécie responde de maneira diferente às condições de estresse e sob condições de campo, e muitas vezes as plantas sofrem estresses combinados. No entanto, os mecanismos de sinalização de EROs são potencialmente significativos para estudos visando a conhecer a tolerância da espécie a estresses ambientais (REZVANI; ZAEFARIAN, 2017).

O entendimento dos mecanismos antioxidantes desempenha papel importante na resposta das plantas a uma combinação de estresses (SUZUKI et al., 2014). Portanto, isso evidencia a importância dos mecanismos de defesa contra o dano oxidativo, ativados durante o estresse, para regular os níveis tóxicos de EROs (MULLINEAUX; BAKER, 2010). A combinação de dois ou mais estresses abióticos acarretará impacto negativo nas plantas, que será maior do que de cada um dos diferentes estresses isolados (BYRT et al., 2018). Em conjunto, restrição hídrica e temperatura ou salinidade e temperatura resultam na ativação de respostas únicas do transcriptoma que pode envolver centenas de transcrições não alteradas por cada um dos diferentes estresses individualizados (SUZUKI et al., 2014).

CONCLUSÕES

Os acessos de *C. pyramidale* diferem no mecanismo enzimático adotado na sinalização aos estresses abióticos.

A temperatura influencia na tolerância de sementes de *C. pyramidale* à salinidade e restrição hídrica.

As atividades das enzimas antioxidativas em eixos embrionários e cotilédones de plântulas de *C. pyramidale* variam entre os acessos, temperaturas e estresses.

REFERÊNCIAS

- AKCAY, U. C.; ERCAN, O.; KAVAS, M.; YILDIZ, L.; YLMAZ, C.; OKTEM, H. A.; YUCEL, M. Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hygaeae* L.) seedling. **Plant Growth Regulation**, v. 61, n. 1, p. 21-28, 2010.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. Third Edition. Local: Springer, 2013.
- BYRT, C. S.; MUNNS, R.; BURTON, R. A.; GILLIHAM, M.; WEGE, S. Root cell wall solutions for crop plants in saline soils. **Plant Science**, v. 269, p. 47-55, 2018.
- CARVALHO, F. E. L.; LOBO, A. K. M.; BONIFACIO, A.; MARTINS, M. O.; LIMA NETO, M. C.; SILVEIRA, J. A. G. Aclimação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H₂O₂. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 4, p. 416-423, 2011.
- CATUCHI, T. A.; GUIDORIZI, F. V. C.; GUIDORIZI, K. A.; BARBOSA, A. M.; SOUZA, G. M. Respostas fisiológicas de cultivares de soja à adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 4, p. 519-527, 2012.
- CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39 n. 1, p. 1-6, 2016.
- CHOUDHURY, F. K.; RIVERO, R. M.; EDUARDO BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, v. 90, n. 5 p. 856-867, 2017.
- DANTAS, B. F.; RIBEIRO, R. C.; MATIAS, J. R.; ARAÚJO, G. G. L. Germinative metabolism of Caatinga forest species in biosaline agriculture. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 2, p. 194-203, 2014.
- DEUNER, C.; MAIA, M. S.; DEUNER, S.; ALMEIDA, A. S.; MENEGHELLO, G. E. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de fenótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 711-720, 2011.
- FABRICANTE, J. R.; FEITOSA, S. S.; BEZERRA, F. T. C.; FEITOSA, R. C.; XAVIER, K. R. F. Análise populacional de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae Lindl.) na Caatinga da região do Seridó nordestino. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 3, p. 285-290, 2009.
- https://www.researchgate.net/publication/256095681_Analise_populacional_de_Caesalpinia_pyramidalis_Tul_Fabaceae_Lindl_na_caatinga_da_regiao_do_Serido_Nordestino

- FLORES, A.V.; BORGES, E.E.L.; GUIMARÃES, V.M.; GONÇALVES, J.F.C.; ATAÍDE, G.M.; BARROS, D.P.; Atividade enzimática durante a germinação de sementes de *Melanoxylon brauna* Schott sob diferentes temperaturas. **CERNE**, v. 20 n. 3, p. 401-408, 2014. doi.org/10.1590/01047760201420031399
- HAMEED, A.; GULZAR, S.; IRFAN, A.; HUSSAIN, T.; BILQUEES, G.; KHAN, M.A. Effects of salinity and ascorbic acid on growth, water status and antioxidant system in a perennial halophyte. **AoB Plants**, v.7, 2015. doi.org/10.1093/aobpla/plv004.
- HARTER, L.S.H.; HARTER, F.S.; DEUNER, C.; MENEGHELLO, G.E.; VILLELA, F.A. Salinidade e desempenho fisiológico de sementes e plântulas de mogango. *Horticultura Brasileira*, v.32, n.1, p.80-85. 2014. doi.org/10.1590/S0102-05362014000100013.
- HUSEYNOVA, I.M; DURNA R.; ALIYEVA, D.; ALAMDAR, C.H.; MAMMADOV, A.C.; ALIYEV, J.A. Hydrogen peroxide generation and antioxidant enzyme activities in the leaves and roots of wheat cultivars subjected to long-term soil drought stress. **Photosynthesis Research**, v.125, n.1-2, p.79-289, 2015. doi.org/10.1007/s11120-015-0160-7.
- IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (2013) Summary for Policymakers. In: **Climate Change: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. STOCKER, T.F.; QIN, D.; PLATTNER, G.K.; TIGNOR, M.; ALLEN, S.K.; BOSCHUNG, J.; NAUELS, A.; XIA, Y.; BEX, V.; MIDGLEY P.M. (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 2013.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, n.2, p.315-319, 1976. doi.org/10.1104/pp.57.2.315
- LAXA, M.; LIEBTHAL, M.; TELMAN, W.; CHIBANI, K.; DIETZ, K.J. The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. **Antioxidants**, v.8, n.94, p.1-31, 2019. doi:10.3390/antiox8040094
- LIMA, G.P.P; FRÁGUAS, C.B., PLAZA, J.J.G., RAMOS, P.R.R. Poliaminas e atividade da peroxidase em *colocasia esculenta* micropropagadas tratadas com NaCl. **Científica**, v.35, n.1, p.22-30, 2007. doi.org/10.15361/1984-5529.2007v35n1p22++30
- LIRA, R.M.; SILVA, E.F.F.; WILLADINO, L.; FILHO; R.A.O.; ANDRADE, G.R. Activity of antioxidative enzymes in watercress and Chinese cabbage plants grown under hydroponic system with brackish water. **Horticultura Brasileira**, v.36, n.2, p.205-210, 2018. doi.org/10.1590/s0102-053620180210
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina-PR: ABRATES, 2015. 666 p.

- MARINI, P.; BANDEIRA, J.M.; BORBA, I.C.G.; MARTINS, A.B.N.; MORAES, D.M.; AMARANTE, L.; VILLELA, F.A. Antioxidant activity of corn seeds after thermal stress. **Ciência Rural**, v.43, n.6, 2013. doi.org/10.1590/S0103-84782013005000064
- MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, v.13, n.6, p.1091-1101, 1972. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a074815
- MENEZES, S.M.; TILLMANN, M.A.A.; DODE, L.B.; VILLELA, F.A. Detecção de soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato por métodos baseados na atividade de enzimas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 2, p. 150-155, 2004.
- MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, v. 33, n. 4, p. 453-467, 2010.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.
- MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytology**, v. 167, n. 3, p. 645-663, 2005.
- MUSCOLO A.; PANUCCIO, M. R.; HESHEL, A. Ecophysiology of *Pennisetum clandestinum*: a valuable salt tolerant grass. **Environmental and Experimental Botany**, v. 92, p. 55-63, 2013.
- PARMESAN, C.; HANLEY, M.E. Plants and climate change: complexities and surprises. **Annals of Botany**, v. 116, n. 6, p. 849-864, 2015.
- PINTO, M. C.; LOCATO, V.; SGOBBA, A.; ROMERO-PUERTAS, M. D. C.; GADALETA, C.; DELLEDONNE, M.; GARA, L. S-nitrosylation of ascorbate peroxidase is part of programmed cell death signaling in tobacco Bright Yellow-2 cells. **Plant Physiology**, v. 163, n. 4, p. 1766-1775, 2013.
- REN, J.; SUN, L.N.; ZHANG, Q.Y.; SONG, X.S. Drought tolerance is correlated with the activity of antioxidante enzymes in *Cerasus humilis* seedlings. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-9, 2016.
- REZVANI, M.; ZAEFARIAN, F. Effect of some environmental factors on seed germination of *Eryngium caeruleum* M. Bieb. Populations. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 220-228, 2017.
- RIBEIRO, M.F. **Tratamentos alternativos para conservação de sementes de café arábica**. Viçosa, UFV, 2013. 97p. Disponível em:

- <<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/1205/texto%20completo.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 25 abr. 2018.
- RIBEIRO, R. C.; MATIAS, J. R.; PELACANI, C. R.; DANTAS, B. F. Activity of antioxidant enzymes and proline accumulation in *Erythrina velutina* Willd. seeds subjected to abiotic stresses during germination. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 2, p. 231-239, 2014.
- ROSSATTO, T.; AMARAL, M. N.; BENITEZ, L. C.; VIGHI, I. L.; BRAGA, E. J. B.; MAGALHAES JUNIOR, A. M.; MAIA, M. A. C.; PINTO, L. S. Gene expression and activity of antioxidant enzymes in rice plants, cv. BRS AG, under saline stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, n. 4, p. 865-875, 2017.
- SAHITYA, L. U.; KRISHNA, M. S. R.; DEEPTHI, R. S.; PRASAD, S. G.; KASIM, D. P. Seed antioxidants interplay with drought stress tolerance indices in chilli (*Capsicum annuum* L.) seedlings. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1-14, 2018.
- SAIBI, W.; BRINI, F. **Superoxide dismutase: structure, synthesis and applications**. Edition: 2018, Cap.: 3, Publisher: Nova Science Publishers, Inc., Editors: Sergei Magliozzi, p.101-142. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/322551748_Superoxide_dismutase_SOD_and_abiotic_stress_tolerance_in_plants_An_overview>. Acesso em: 29 abr. 2018.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4.ed. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1992.
- SANCHO, M. A.; FORCHETTI, S. M.; PLIEGO, F.; VALPUESTA, V.; QUESADA, M. A. Peroxidase activity and isoenzymes in the culture medium of NaCl adapted tomato suspension cells. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 44, n. 2, p. 161-167, 1996.
- 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**, v. 2012, p. 1-26, 2012.
- SILVA, M. F.; ARAÚJO, E. F.; SILVA, L. J.; AMARO, G. T. R.; DIAS, L. A. S.; DIAS, D. C. F. S. Tolerance of crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) to salinity and water stress during seed germination and initial seedling growth. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras-MG, v. 43, p. 1-13, 2019.
- SOFO, A.; SCOPA, A.; NUZZACI, M.; VITTI, A. Ascorbate Peroxidase and Catalase Activities and Their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 6, p. 13561-13578, 2015.

- SUN, Y. I.; OBERLEY, L. W.; LI, Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. **Clinical chemistry**, v. 34, n. 3, p. 497-500, 1988. Disponível em: <<http://clinchem.aaccjnls.org/content/clinchem/34/3/497.full.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2018.
- SUZUKI, N.; RIVERO, R.M.; SHULAEV, V.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, v. 203, p. 32-43, 2014.
- TENHAKEN, R. Cell wall remodeling under abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 771, p. 1-9, 2014.
- VARJOVI, M. M. B.; VALIZADEH, M.; BANDEHAGH, A. Primary antioxidant enzymes and their important role in oxidative stress in plants and mammalian. **Biological Forum - An International Journal**, v. 7, n. 1, p. 148-154, 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/281229812_Primary_Antioxidant_Enzymes_and_Their_Important_Role_in_Oxidative_Stress_in_Plants_and_Mammalian>. Acesso em: 20 abr. 2018.
- VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 11/12, p. 1957-1968, 1991.
- WENG, M.; CUI, L.; LIU, F.; ZHANG, L. M.; SHAN, U.; YANG, S.; DENG, X. Effects of drought stress on antioxidant enzymes in seedlings of different wheat genotypes. **Pakistan Journal of Botany**, v. 47, n. 1, p. 49-56, 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação de diferentes acessos permitiu amplo entendimento quanto à germinação e aos mecanismos bioquímicos e enzimáticos durante o processo germinativo, sob estresses abióticos.

Os acessos responderam metabolicamente de forma diferente, seja por meio de ajuste osmótico ou diferenciação na desintoxicação das enzimas. O acesso proveniente do distrito de Massaroca, Juazeiro, Bahia, mostrou-se mais tolerante e eficiente quanto ao mecanismo de adaptação aos estresses ambientais do que o oriundo do município de Currais Novos, Rio Grande do Norte. Essa diferenciação na resposta dos acessos de sementes de *C. pyramidale* aos estresses abióticos pode estar ligada às condições edafoclimáticas das diferentes regiões, localização das plantas e tipo de estresse.