

### QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ERVILHA SOB ESTRESSE HÍDRICO E SALINO

ZANETTI, Rossana Bertaglia<sup>1</sup>; CARVALHO, Matheus Ferreira<sup>1</sup>; FAGUNDES, Júlia Peixoto<sup>1</sup>; FARIA, Gabriel Policarpo Tavares<sup>1</sup>; NEVES, Flávia de Oliveira Borges Costa<sup>2</sup>; FERREIRA, Victoria Cristina<sup>1</sup>; PELIZARRO, Gabriel Berteli<sup>1</sup>; PONTES, Brenda Santos<sup>1</sup>; SANTOS, Thaís Farias<sup>1</sup>; VIEIRA, Rafael Miguel Gonçalves<sup>1</sup>; CATÃO, Hugo César Rodrigues Moreira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Projeto de Pesquisa

<sup>1</sup>Graduando (a) em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, E-mail: [rossana\\_bertaglia\\_zanetti@hotmail.com](mailto:rossana_bertaglia_zanetti@hotmail.com); [math.10.carvalho1912@gmail.com](mailto:math.10.carvalho1912@gmail.com); [juiaip\\_11@hotmail.com](mailto:juiaip_11@hotmail.com); [gabrielpolicarpo28@hotmail.com](mailto:gabrielpolicarpo28@hotmail.com); [victoriaferreira@ufu.br](mailto:victoriaferreira@ufu.br); [gabriel\\_pelizaro@yahoo.com.br](mailto:gabriel_pelizaro@yahoo.com.br); [brendinha\\_spontes@hotmail.com](mailto:brendinha_spontes@hotmail.com); [thaisfarias.ufu@gmail.com](mailto:thaisfarias.ufu@gmail.com); [rafael.vieira@ufu.br](mailto:rafael.vieira@ufu.br)

<sup>2</sup>Eng.a Agrônoma, Mestranda em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, E-mail: [flavia.neves@ufu.br](mailto:flavia.neves@ufu.br)

<sup>3</sup>Prof. Dr. Produção e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, E-mail: [hugo.catao@ufu.br](mailto:hugo.catao@ufu.br)

### RESUMO

A ervilha é uma hortaliça com amplas alternativas de uso na alimentação. A resposta germinativa das sementes desta espécie, submetidas à condição de estresses artificiais são ferramentas para melhor entendimento da capacidade de sobrevivência e adaptação em condições adversas. Assim, objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica das sementes de ervilha sob efeito de diferentes potenciais hídricos e salinos. Foram utilizadas soluções de PEG 6000, NaCl e KCl com diferentes potenciais osmóticos (0,0; -0,2; -0,4; -0,6 e -0,8; -1,0 -1,2 e -1,4 MPa), sendo o experimento conduzido em esquema fatorial 3 x 7. Nos efeitos dos tratamentos, avaliou-se a qualidade fisiológica, em delineamento experimental inteiramente ao acaso, com quatro repetições. As simulações das condições de estresse prejudicaram o desempenho fisiológico e permitiu a constatação dos efeitos do estresse na germinação pelo decréscimo das variáveis observadas. O estresse hídrico e salino induzido pelas soluções NaCl e KCl foram mais drásticos do que o induzido por PEG.

**Palavras-Chave:** *Pisum sativum*, hortaliça, estresse hídrico e salino.

### 1. INTRODUÇÃO

A ervilha (*Pisum sativum*) é uma hortaliça de alto valor nutritivo e faz parte da Dieta Mediterrânea, reconhecida pela UNESCO (GUERREIRO, 2014). No Brasil, a ervilha é apreciada na forma de grão, vinda de uma produção em pequena escala, porém tente a expandir devida a sua alta qualidade alimentar e seu rico teor proteico.

Embora a germinação seja regulada pela constituição genética das espécies, essa expressão é frequentemente modificada por condições ambientais. A deficiência hídrica é um fator limitante na sobrevivência e no crescimento inicial das plantas, sendo a água o fator mais importante no processo germinativo, em virtude de ser a matriz onde ocorre a maioria dos processos bioquímicos e fisiológicos, que resultam na protrusão da raiz primária (FARIAS et al., 2009).

Quando ocorre a remoção da água, seja por seca ou presença de sais, abaixo do limite suportado pela célula, pode promover aumento da concentração dos solutos, alteração do pH da solução intracelular, aceleração de reações degenerativas, desnaturação de proteínas, perda

da integridade das membranas e aumento na ocorrência de plântulas danificadas e anormais (PEREIRA et al., 2014). Seus potenciais osmóticos muito negativos retardam e diminuem a germinação, especialmente no começo da embebição, porque inviabilizam a sequência dos eventos germinativos durante a absorção de água (MORTELE; SCAPIM; LUCCA, 2008).

Para cada espécie de semente existe um valor de potencial hídrico no solo, que limita a germinação, ou seja, abaixo dele, não germina, sendo vista também, a existência de grande variação de resposta ao estresse entre as espécies, desde aquelas muito sensíveis até as mais tolerantes (BEWLEY; BLACK, 1994). Em condições de laboratório são realizados estudos com soluções aquosas de diferentes potenciais osmóticos para umedecer o substrato de germinação, procurando simular as condições de estresse hídrico e salino no solo, que geralmente atuam diminuindo a velocidade e a porcentagem de germinação das sementes.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a qualidade fisiológica das sementes de ervilha sob efeito de diferentes potenciais hídricos e salinos.

## 2. METODOLOGIA

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Sementes da Universidade Federal de Uberlândia. Para o trabalho foram utilizadas sementes de ervilha da cultivar Aragorn, cedidas pela empresa General Mills Brasil Alimentos Ltda., localizada na cidade Cambará - PR.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 3 x 7, sendo três tipos de condicionadores osmóticos (PEG 6000, KCl e NaCl) e sete potenciais 0,0 (testemunha, utilizando apenas água destilada sem a adição de condicionador osmótico); -0,2; -0,4; -0,6; -0,8; -1,0; -1,2 MPa com quatro repetições. As sementes foram submetidas à germinação em diferentes potenciais osmóticos, simulando situações de estresse hídrico e salino, e posteriormente foi avaliado o desempenho inicial das plântulas nessas condições.

As soluções de PEG 6000 foram preparadas de acordo com as especificações contidas na tabela citada por Villela, Doni Filho e Siqueira (1991) para se obter os diferentes potenciais osmóticos. As soluções salinas de KCl e NaCl foram preparadas com água deionizada e a concentração dos sais obtidos a partir da equação de Van't Hoff, citado por Salisbury e Ross (1991), ou seja:  $\Psi_{os} = -RTC$ , em que:  $\Psi_{os}$  = potencial osmótico (atm); R = constante geral dos gases perfeitos ( $8,32 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ); T = temperatura (K); C = concentração ( $\text{mol L}^{-1}$ ) e  $T \text{ (K)} = 273 + T \text{ (}^\circ\text{C)}$ . As concentrações de NaCl foram corrigidas de acordo com a curva de calibração estabelecida por Braccini et al. (1996), ou seja:  $\Psi_{os} = 0,194699 + 0,750394C$   $R^2 = 0,9999$ , em que:  $\Psi_{os}$  = potencial osmótico (bar); C = concentração ( $\text{g L}^{-1}$ ).

No teste de germinação, para cada tratamento, foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes que foram distribuídas em folhas de papel germitest e posteriormente organizadas em forma de rolo. O papel toalha foi umedecido com as soluções de PEG 6000, KCl e NaCl supracitadas na quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel não hidratado, sem adição posterior da solução, além do tratamento com água destilada e deionizada, representando a testemunha (controle).

Os rolos foram acondicionados e mantidos em sacos de plástico durante todo o período de teste para evitar evaporação da água e para garantir o potencial osmótico desejado. Posteriormente, os rolos com as sementes foram colocadas para germinar em câmara tipo *Biological Oxygen Demand* (B.O.D.) previamente regulado na temperatura de  $20^\circ\text{C}$ , mantendo-se a temperatura constante e com fotoperíodo de 12 horas de luz. As avaliações foram realizadas aos 5 e 8 dias após o início do teste cujo critério usado foi o de plântulas normais, ou seja, que haviam emitido a raiz primária e a parte aérea, sendo os resultados expressos em porcentagem. A primeira contagem foi realizada juntamente com o teste de

germinação, determinando-se a porcentagem de plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste. No oitavo dia após a semeadura foi realizada a contagem final de germinação e a avaliação de plântulas normais fortes obedecendo aos critérios estabelecidos pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o teste F e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. A análise dos dados para o potencial osmótico foi realizada por regressão polinomial com 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qualidade fisiológica das sementes de ervilha foi afetada pelos potenciais hídricos e salinos testados, tendo-se constatado no tratamento controle (0,0) os maiores percentuais de viabilidade e vigor. Na Tabela 1 podem ser observados os percentuais médios de primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM) e plântulas normais fortes (PNF).

Tabela 1. Primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação final e plântulas normais fortes originadas de sementes de ervilha submetidas ao estresse hídrico e salino em diferentes potenciais osmóticos.

$\Psi_0$ (MPa)	PCG (%)			GERM (%)			PNF (%)		
	PEG	NaCl	KCl	PEG	NaCl	KCl	PEG	NaCl	KCl
0,0	94a	100a	100a	100a	88a	95a	95a	58a	94a
-0,2	95a	99a	98a	99a	94a	88a	95a	73a	75a
-0,4	94a	97a	98a	99a	76b	90a	96a	42b	72a
-0,6	86b	100a	98a	88b	77b	74a	40b	31c	44b
-0,8	89b	91b	92b	76b	62b	53b	37b	22c	15c
-1,0	75c	93b	90b	62c	33c	22b	26c	5d	2c
-1,2	74c	57c	76c	45d	0d	7c	22c	0d	0c
CV (%)	5,01			5,39			6,45		

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Nos resultados da primeira contagem é possível verificar que o vigor das sementes reduziu a partir do potencial de -0,6 MPa para o PEG e -0,8 MPa para o NaCl e KCl (Figura 1). Os potenciais -0,2 e -0,4 MPa não foram observados redução no vigor das sementes. A germinação das sementes de ervilha reduziu significativamente a partir dos potenciais de -0,6 MPa de PEG, -0,4 MPa de NaCl e -0,8 MPa de KCl (Figura 2). Observa-se também que houve redução acentuada na porcentagem de plântulas normais fortes na medida em que a restrição hídrica ou salina foi aumentada (Figura 3).

Resultados semelhantes também foram relatados por outros autores que verificaram que potenciais osmóticos de até -0,9 MPa de PEG (ABREU et al., 2014), NaCl e Manitol (SOARES, et al., 2015) causaram redução na germinação de sementes de milho e soja, respectivamente. O decréscimo da viabilidade e do vigor de sementes de feijão caupi, também foi relatado por Ferreira et al. (2017), no qual potenciais osmóticos menores que -0,6 MPa comprometeram a qualidade das sementes.

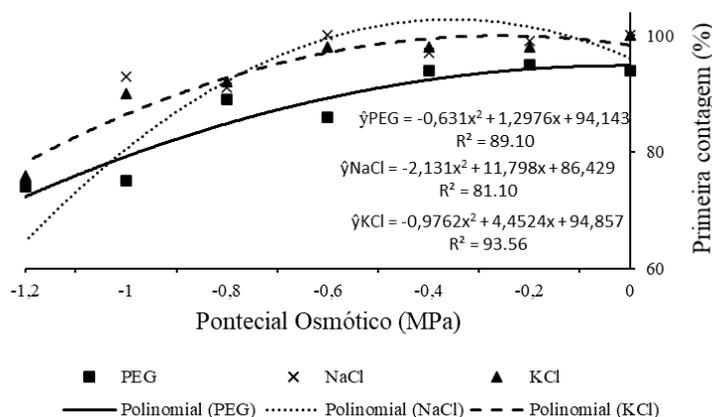


Figura 1. Primeira contagem de germinação de sementes de ervilha submetidas ao estresse hídrico e salino em diferentes potenciais osmóticos.

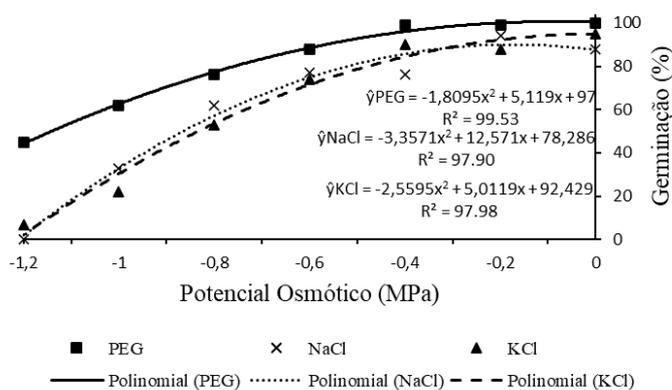


Figura 2. Germinação de sementes de ervilha submetidas ao estresse hídrico e salino em diferentes potenciais osmóticos.

Este comportamento de redução na porcentagem de germinação quando o potencial osmótico se torna mais negativo ocorre em razão do aumento no tempo correspondente a fase III do processo de embebição, pois de acordo com o padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994), nesta fase ocorre a intensa absorção de água e a protrusão da raiz primária pelas sementes. Outro fator que também pode explicar esta redução na germinação é o alto peso molecular do polietileno glicol, que não é absorvido devido à alta viscosidade, que somada à baixa taxa de difusão de  $O_2$  pode comprometer a disponibilidade de oxigênio para as sementes, durante o processo germinativo (BRACCINI et al., 1996).

As sementes que foram induzidas ao estresse hídrico com PEG germinaram até o potencial de -0,4 MPa. Todos os outros potenciais, reduziram a germinação. Resultados semelhantes foram encontrados por Martins et al. (2011), em estudo com sementes de *Melaleuca quinquenervia* submetidas a estresse hídrico (induzidos por PEG e NaCl), em que sob potencial osmótico de -0,8 MPa, não houve germinação independentemente o agente osmótico utilizado. Na figura 1, pode ser observado que o NaCl foi o condicionador osmótico que mais proporcionou redução no vigor das sementes de ervilha. Contudo, o NaCl e KCl proporcionaram maior decréscimo de germinação a partir do potencial -0,6 MPa (Figura 2).

Mortele et al. (2006) atribui essa redução da germinação devido a quantidade de água absorvida pelas sementes em meio salino, com a redução do potencial osmótico das soluções. A alta concentração de sais é um fator de estresse para as plantas, pois a água é osmoticamente retida em solução salina, assim, o aumento da concentração salina torna-a cada vez menos disponível para as plantas (OLIVEIRA E GOMES-FILHO, 2009). As

espécies que são sensíveis à salinidade e, quando semeadas em soluções salinas, observa-se inicialmente uma diminuição na absorção de água, que atua reduzindo a velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos (FLOWERS, 2004). O excesso de sais provoca citotoxicidade, desidratação celular e reduz a atividade metabólica e síntese de novos tecidos de sementes, devido à redução da disponibilidade de água (MARCOS FILHO, 2015), resultando em uma menor velocidade de germinação e, em mais graves casos, a perda de capacidade de germinação

Oliveira e Gomes-Filho (2009) acrescentam que a inibição da germinação ocasionada pela salinidade se deve tanto ao efeito osmótico, ou seja, à “seca fisiológica” produzida, como ao efeito tóxico, resultante da concentração de íons no protoplasma. Assim pode-se constatar que o estresse salino pode ocasionar o estresse hídrico, ou seja, a germinação das sementes que sofreram apenas o estresse hídrico foi maior do que a germinação das sementes que foram submetidas ao estresse salino (Tabela 1 e Figura 2). Isso ocorre devido à toxicidade dos íons e também da falta de água para começar seus processos metabólicos.

Por meio das curvas de regressão plotadas na Figura 3 é possível observar que houve redução do número de plântulas normais à medida que a restrição hídrica e salina foi aumentada. A partir do potencial osmótico de -0,2 MPa, a porcentagem de plântulas normais fortes que foram submetidas ao estresse hídrico, foi maior do que a porcentagem das plântulas que foram submetidas ao estresse salino com KCl e NaCl, respectivamente. A partir do potencial osmótico de -0,6 MPa não houve diferença estatística significativa entre o KCl e o NaCl para o número de plântulas normais fortes (Figura 3).

Resultados semelhantes aos encontrados nesse estudo foram relatados por Abreu et al. (2014) e Moterle et al. (2008) avaliando o efeito do estresse hídrico e salino em sementes de milho e milho pipoca, respectivamente. Os autores citados verificaram redução na porcentagem de plântulas normais fortes a partir do potencial osmótico -0,3 MPa. Em alguns estudos avaliando aspectos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de soja também foram verificados resultados semelhantes (VIEIRA et al., 2013).

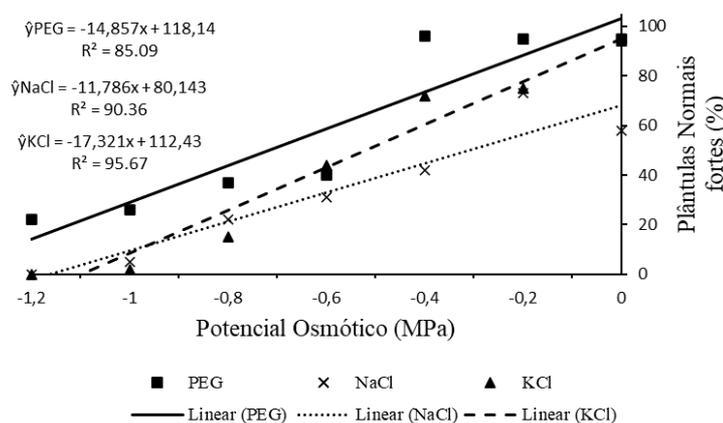


Figura 3. Plântulas normais fortes de ervilha originadas de sementes submetidas ao estresse hídrico e salino em diferentes potenciais osmóticos.

#### 4 CONCLUSÕES

A simulação de estresse hídrico e salino, em laboratório, por meio dos potenciais osmóticos permite a constatação dos efeitos do estresse no desempenho fisiológico das sementes de ervilha, pelo decréscimo dos parâmetros avaliados. O estresse hídrico e salino induzido pelas soluções NaCl e KCl foram mais prejudiciais do que o induzido por PEG 6000 para a espécie estudada.

### REFERÊNCIAS

- ABREU, V. M.; VON PINHO, É. V. R.; VON PINHO, R. G.; NAVES, G. M. F.; SILVA NETA, I. C.; GUIMARÃES, R. M.; CARVALHO, M. R. Physiological performance and expression of isozymes in maize seeds subjected to water stress. *Journal of Seed Science*, v. 36, n. 1, p. 40-47, 2014.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BRACCINI, A. L.; RUIZ, H. A.; BRACCINI, M. C. L.; REIS, M. S. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 18, n. 1, p. 10 - 16, 1996.
- FARIAS, S.; G.; G.; FREIRE, A.; L.; O.; SANTOS, D.; R.; BAKKE, I.; A.; SILVA, R.; B. Efeitos dos estresses hídrico e salino na germinação de sementes de gliricídia [*Gliricidia sepium* (JACQ.) STEUD. *Revista Caatinga*, v.22, n.4, p.152-157, 2009.
- FERREIRA, A. C. T.; FELITO, R. A.; ROCHA, A. M.; CARVALHO, M. A. C.; YAMASHITA, O. M. Water and salt stresses on germination of cowpea (*Vigna unguiculata* cv. BRS Tumucumaque) seeds. *Revista Caatinga*, v. 30, n. 4, p. 1009 –1016, 2017.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p. 1039 - 1042, 2011.
- FLOWERS, T.J. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, v.55, n.396, p.307-319, 2004.
- GUERREIRO, J. A dieta mediterrânica, um desafio de qualidade. *A Dieta Mediterrânica em Portugal: Cultura, Alimentação e Saúde*. Algarva: Faro, 2014. 296 p.
- MARCOS FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. 2. ed. Londrina, PR: ABRATES, 2015. 659 p.
- MARTINS, C. C.; PEREIRA, M. R. R.; MARTINS, D.; MARCHI, S. R. Germinação de sementes de *Melaleuca quinquenervia* em condições de estresse hídrico e salino. *Planta Daninha*, v. 29, n. 1, p. 1-6, 2011.
- MORTELE, L. M.; LOPES, P. C.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico e salino. *Revista Brasileira de Sementes*, v.28, n.3, p.169-176, 2006.
- MOTERLE, L. M.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, A. L.; RODOVALHO, M. A.; BARRETO, R. R. Influência do estresse hídrico sobre o desempenho fisiológico de sementes de híbridos simples de milho-pipoca. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.6, p.1810 - 1817, 2008.
- OLIVEIRA, A. B.; GOMES-FILHO, E. Germinação e vigor de sementes de sorgo forrageiro sob estresse hídrico e salino. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 31, n. 3, p. 48-56, 2009.
- PEREIRA, M. R. R.; MARTINS, C. C.; D. MARTINS.; SILVA, R. J. N. Estresse hídrico induzido por soluções de PEG e de NaCl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. *Bioscience Journal*, v. 30, n. 3, p. 687 - 696, 2014.
- 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*, v. 45, n. 4, p. 370-378, 2015.
- VIEIRA, F. C. F. et al. Aspectos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de soja submetidos a déficit hídrico induzido por PEG 6000. *Bioscience Journal*, v. 29, n. 2, p. 543 - 552, 2013.