

Respostas Germinativas de *Psidium Guineense* Swartzs (Myrtaceae) e Plantas Jovens a Múltiplos Fatores de Estresse

Germ answers *Psidium Guinean* Swartz (Myrtaceae) and Young Plants Multiple Stress Factors

Vanessa de Mauro Barbosa^a; Michele Aparecida dos Santos Nobrega^a; Etenaldo Felipe Santiago^a

^aUniversidade Estadual de Mato Grosso do Sul, MS, Brasil

Resumo

Espécies nativas do Cerrado respondem a múltiplos estresses, sendo importante a compreensão de seus mecanismos de respostas. Objetivou-se avaliar as respostas germinativas e de plantas jovens de *Psidium guineense* (Swartz) (Myrtaceae), submetidas a diferentes temperaturas de armazenamento, concentrações de alumínio, tempo de radiação UV-C e alagamento de substrato. Avaliou-se a germinação, além da cinética de fluorescência da clorofila *a*. As sementes de *P. guineense* apresentaram melhores taxas germinativas na luz e na condição 25 °C, condição de espécie adaptada ao ambiente do Cerrado. Não foram encontradas diferenças significativas entre parâmetros médios de fluorescência da clorofila nas diferentes concentrações de alumínio, intensidades de radiação e alagamento, comportamento esperado para plantas de cerrado. O fato da condição alagada não afetar significativamente as relações de energia no PSII não era esperado, pois é uma condição atípica de tal Bioma, sugerindo a existência de mecanismos relacionados à fuga metabólica na condição de hipóxia.

Palavras-chave: Cerrado. Nativa. Adaptada. Fluorescência.

Abstract

*Native species from Brazilian savanna (Cerrado) respond to multiple stresses, being important studies to better understand their adaptive mechanisms. Was evaluate the germ and responses of young plants *Psidium guineense* (Swartz) (Myrtaceae), subjected to different storage temperatures, aluminum concentrations, UV-C radiation time and flooding of substrate. Was evaluated the germination and the kinetics of chlorophyll a fluorescence. The *P. guineense* seeds showed better germination rates under light and provided 25 °C, condition species adapted to the savanna environment. Differences in the parameters chlorophyll fluorescence, aluminum concentrations, radiation intensities and flooding, are not found what was expected for Cerrado plants, excepted for flooding. The fact that flooded condition had not affected the energy ratios in PSII, it is an unusual condition to this Biome, suggesting the existence of mechanisms related metabolic drain on hypoxia condition.*

Keywords: Cerrado (Brazilian Savanna). Native. Adapted. Fluorescence.

1 Introdução

Estudos que envolvem espécies nativas são fundamentais para gerar informações úteis nas práticas relacionadas ao desenvolvimento sustentável. O araçazeiro (*Psidium guineense* Swartz - Myrtaceae), espécie típica do Cerrado sul-matogrossense, apresenta potencial para exploração econômica devido à boa aceitação de seus frutos para consumo *in natura*, pelo elevado teor de vitamina C, além da alta capacidade de frutificação, resistência a doenças e pragas e capacidade de dispersão, fatores que podem indicar sua possível adaptação a diferentes ambientes (RASEIRA; RASEIRA, 1994).

A influência de fatores abióticos na germinação das sementes são essenciais para entender os aspectos ecofisiológicos e bioquímicos desse processo (LABOURIAU, 1983; BEWLEY; BLACK, 1995). Seus efeitos podem ser avaliados a partir de mudanças ocasionadas na porcentagem, velocidade e frequência relativa de germinação ao longo do tempo de incubação (LABOURIAU; PACHECO, 1977).

Dentre os diversos fatores que caracterizam o ambiente do Cerrado, vários autores destacam os aspectos químicos destes solos, alta radiação solar e restrições hídricas. O estabelecimento das plantas em condições específicas requer

das mesmas um conjunto de respostas associadas ao seu potencial gênico (PAHLICH, 1993) de modo a superar as limitações impostas pelo meio, tanto na germinação quanto no desenvolvimento inicial.

Nos solos do Cerrado a acidez elevada favorece a disponibilidade de alumínio (Al) em níveis que podem ser considerados tóxicos para plantas não adaptadas (KONRAD *et al.*, 2005).

Embora muitas respostas morfofisiológicas ao estresse por luz UV, como danos no aparelho fotossintético (KULANDAIVELU; NOORUDEEN, 1983), modificações no fototropismo (BASKIN; LINO, 1987) e redução no tamanho das folhas (TEVINI; TERAMURA, 1989) como respostas às radiações UV-B e UV-C, tenham sido descritas, os trabalhos que abordem as respostas de plantas tropicais a este fator de estresse são ainda incipientes.

A água impõe-se como fator restritivo tanto à germinação quanto ao desenvolvimento das plantas, sendo um fator limitante tanto pela falta quanto pelo excesso (PEREIRA *et al.*, 2012; NOVAES-JUNIOR *et al.*, 2012). Quando em excesso a água pode gerar a condição de hipóxia que limita o fornecimento de O₂ para a planta (GONÇALVES

et al., 2012). O efeito do estresse por saturação hídrica do solo sobre as plantas é complexo e dependente do estágio de desenvolvimento da planta e da duração desse estresse (SCHOFFEL *et al.*, 2001).

Quando expostas a estresse ambiental ou biótico, as plantas podem apresentar estratégias de ajuste do aparelho fotossintético (PEIXOTO *et al.*, 2002). Alterações no estado funcional das membranas dos tilacóides dos cloroplastos provocam mudanças nas características dos sinais de fluorescência, os quais podem ser quantificados nas folhas (RIBEIRO *et al.*, 2003; BAKER; ROSENQVST, 2004). Dessa forma, a ferramenta de fluorescência da clorofila *a* tem sido utilizada para identificar cultivares tolerantes ao Al (MOUSTAKA *et al.*, 1995), saturação luminosa (SILVA *et al.*, 2011) ou hídrica (GONÇALVES *et al.*, 2012). Nesse sentido, o estudo das respostas de plantas nativas a múltiplos fatores de estresse podem ampliar o conhecimento sobre os mecanismos adaptativos importantes para o entendimento do estabelecimento das plantas em condições de campo.

2 Material e Métodos

2.1 Teste germinativo

As sementes de *Psidium guineense* Swarts (araçá), obtidas de frutos recém-colhidos completamente maduros, foram coletados na Base de Estudos do Pantanal-BEP (19°34'37"S e 57°00'42" W) e encaminhados para o Centro Integrado de Análise e Monitoramento Ambiental – CInAM, para a extração manual das sementes. Após o beneficiamento, as sementes foram armazenadas, em sacos de papel, uma parte a 10 °C e outra parte a 25 °C durante 30 dias, constituindo dois tratamentos.

Cada tratamento foi constituído por um total de 100 sementes, sendo divididas em quatro caixas gerbox (repetições) contendo 25 sementes cada caixa. O experimento foi montado da mesma forma no claro, em caixas gerbox transparentes e no escuro, em caixas gerbox pretas. Cada caixa foi forrada com duas folhas de papel filtro. A fim de manter a umidade das sementes, foram colocados 5ml de solução em cada placa diariamente (Ramírez *et al.*, 2008). A germinação foi acompanhada durante 30 dias, sendo considerada germinada a sementes que apresentou exposição da raiz primária.

2.2 Respostas aos estressores

Para os testes com alumínio lotes de plântulas, com 20 indivíduos, foram submetidos a cinco tratamentos distintos: plantas mantidas na condição controle (T0), e sob diferentes concentrações de Al na forma de $Al_2(SO_4)_3 \cdot H_2O_{18}$, sendo: plantas submetidas à aplicação de 2 mL de solução duas vezes por semana (T1); 4 mL de solução (T2); 6 mL de solução (T3); 8 mL de solução (T4).

Nos testes com radiação UV-C as plantas obtidas nos experimentos germinativos, foram mantidas em capacidade de campo, sendo divididas em quatro lotes com tratamentos

distintos com 20 plântulas cada: T0 - controle (C) plantas não irradiadas; e os lotes submetidos à radiação ultravioleta-C em Câmara de Fluxo Laminar expostas a uma lâmpada germicida (UV-C – 254 nm) (HUA NING; 30W; 240V): T1 - Folhas Irradiadas 15 min. (FI15); T2 - Folhas Irradiadas 30 min. (FI30); e T3 – Folhas Irradiadas 60 min. (FI60). Após cada exposição, as plantas foram transferidas para o viveiro, onde permaneceram para realização das leituras de fluorescência. As variáveis básicas de fluorescência da clorofila *a* bem como a cinética de emissão da fluorescência foram verificadas por meio de fluorímetro portátil Hansatech, a partir de folhas distendidas, mantidas por trinta minutos no escuro e submetidas a um flash de $1.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante um segundo.

Para o tratamento com saturação hídrica (alagado), foram utilizados dois lotes de plântulas, com 20 indivíduos cada, cultivados em tubetes de polietileno contendo substrato agrícola Plantmax®, sendo mantidas em caixa tipo “leiteira” com água até a borda (SANTIAGO; PAOLI, 2003). Sendo dispostas em viveiro com sombrite 50% e irrigação diária manual, no caso do tratamento em capacidade de campo.

3 Resultados e Discussão

A germinação diferiu entre os tratamentos, tanto nos percentuais finais quanto no comportamento germinativo ao longo do tempo, sugerindo efeitos tanto da temperatura quanto da condição de luz (Figura 1). As sementes mantidas a 10 °C no claro iniciaram a germinação em torno do 13º dia com 60% de germinação, ao passo que nos demais tratamentos, a germinação concentrou-se a partir do 20º dia, sendo que o tratamento 25 °C no claro obteve 89% de germinação. Para as médias de germinação por placa (Tabela 1), destacou-se o tratamento 25 °C no Claro, com maior média, contudo não houve significância estatística entre os tratamentos, sendo que $p < 0,05$. Quanto à frequência germinativa (Figura 2), o tratamento 10 °C claro apresentou um comportamento polimodal, já os demais tratamentos obtiveram comportamentos bimodais.

Figura 1: Porcentagem germinativa de sementes de *P. guineense* mantidas sob diferentes temperaturas de armazenamento

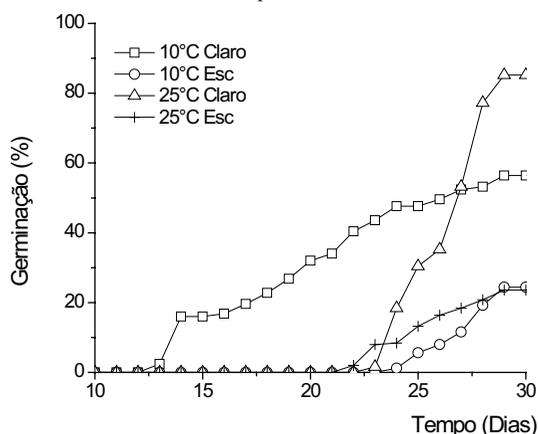
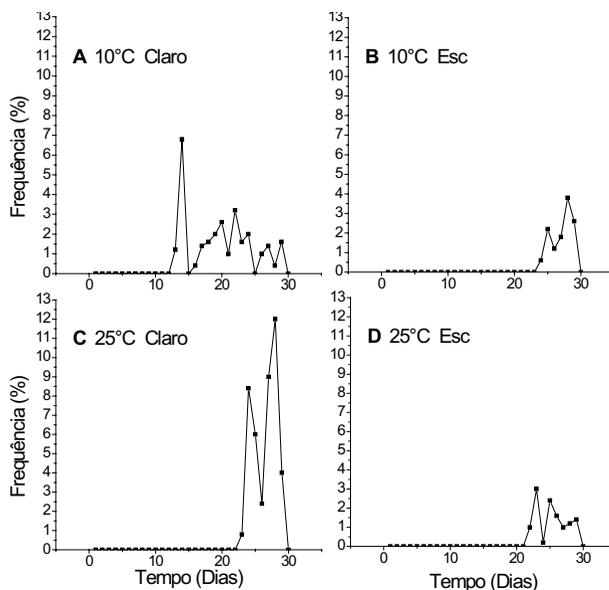


Tabela 1: Média Germinativa, Tempo Médio e Velocidade Média de germinação de *P. guineense* (Araçá) armazenadas em diferentes temperaturas e germinadas em diferentes condições de luminosidade

Tratamentos	Média Germinativa	Tempo Médio	Velocidade Média
10°C Claro	28,2ab	100.497a	0.010a
10°C Escuro	12,2b	212.777a	0.007a
25°C Claro	42,6a	137.079a	0.007a
25°C Escuro	11,8b	324.827a	0.007a

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si

Figura 2: Frequência germinativa de sementes de *P. guineense* mantidas sob diferente temperatura de armazenamento



Alguns autores estudando a influência da condição e o período de armazenamento na germinação de sementes de pitaya vermelha (*Hylocereus guatemalensis* Eichlam), observaram que a condição de armazenamento em câmara fria proporcionou maiores percentuais germinativos

(ANDRADE *et al.*, 2005). De maneira geral, condições de baixa temperatura são as mais recomendadas para armazenar sementes (VERTUCCI; ROSS, 1993). Por outro lado o armazenamento de sementes de camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H.B.K.) Mcvaugh) em condições de baixa temperatura (10°C) não foi favorável, havendo perda de viabilidade e vigor das sementes (FERREIRA; GENTIL, 2003).

Diferenças significativas não foram observadas na germinabilidade das sementes de *Tabebuia áurea* ((Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore) armazenadas em diferentes embalagens e submetidas aos tratamentos fotoblásticos. O percentual médio de germinação a 25°C na ausência de luz variou de 88 a 98%. Na presença de luz, a variação foi de 90 a 97%, sendo, portanto, fotoblásticas neutras (CABRAL *et al.*, 2003).

A sensibilidade das sementes à luz varia em função da espécie e da temperatura utilizada no processo de germinação (BEWLEY; BLACK, 1994). Nesse sentido, uma possível resposta deste trabalho seja o fato de que um grande número de espécies que ocorrem no cerrado são indiferentes à luz (FELIPPE; SILVA, 1984).

Não foram verificadas diferenças entre os parâmetros médios de fluorescência da clorofila *a* (F0, Fm, Fv, Fv/Fm e PI) nas diferentes concentrações de alumínio, condições de radiação e alagamento do substrato utilizadas. O parâmetro F0 é a fluorescência inicial quando Q_A (quinona receptora primária de elétrons do FSII) está totalmente oxidada e o centro de reação do FSII está aberto, situação iminente à ativação das reações fotoquímicas, sendo que neste experimento não foram encontradas diferenças significativas em F0. A análise de regressão para as médias de Fv/Fm nos tratamentos alumínio, radiação e alagamento (figuras 3 e tabela 2) indicaram comportamento geométrico para alumínio, com R² = 90,68 e radiação com R² = 67,04 e comportamento exponencial para alagamento, com R² = 75,79. Comparando os valores de R² o tratamento com alumínio indicou maior correlação entre o tratamento e o fenômeno biológico observado.

Figura 3: Comparação entre as médias dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* para plântulas de *P. guineense* submetidas a diferentes tratamentos, sendo, alumínio, radiação e alagamento

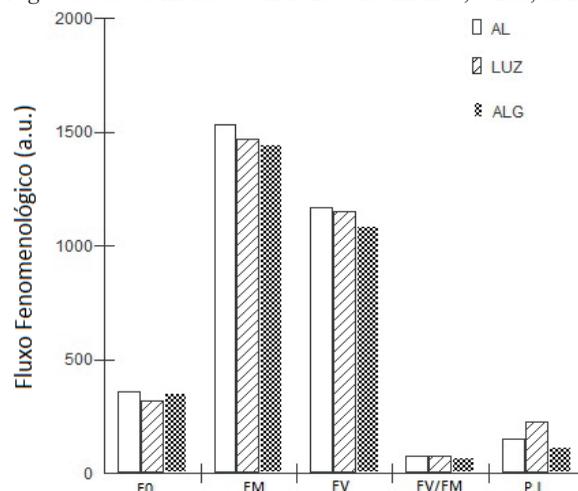


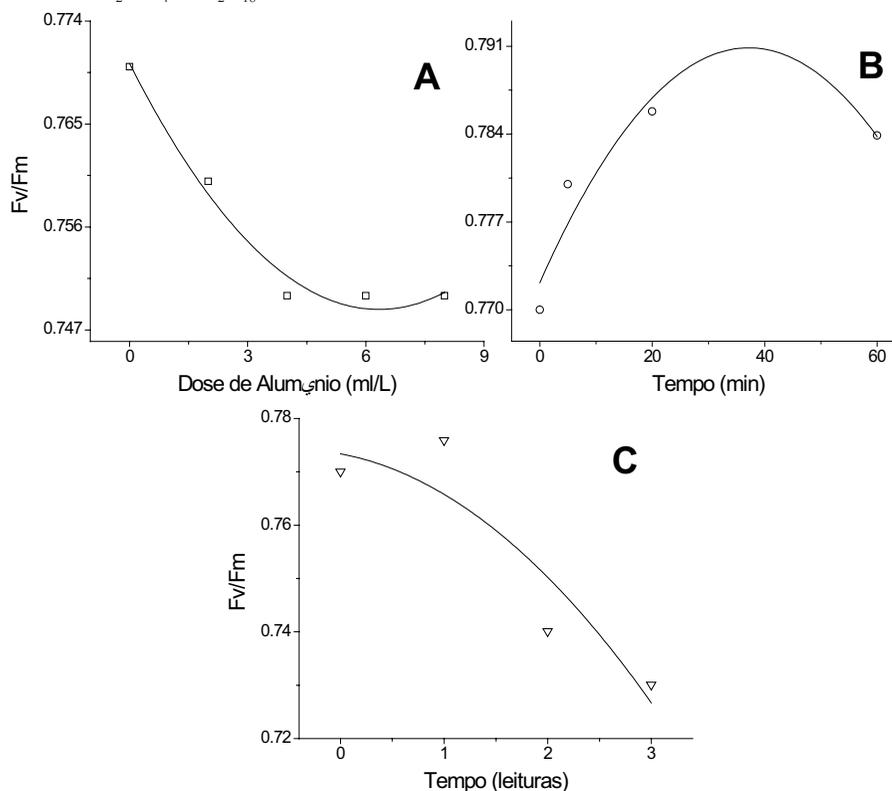
Tabela 2: Equações polinomiais para as médias de Eficiência quântica em plantas jovens de *P. guineense* (Araçá) submetidas aos tratamentos doses de alumínio ($Al_2(SO_4)_3 \cdot 3H_2O$), radiação UV-B ou alagamento do substrato

Tratamentos	Ajuste	R ²	Prob >F
Alumínio	$Y = 0,77 + (-0,00679)x + (5,35714)x^2$	0,96	0,01786*
Radiação	$Y = 0,77 + (0,00101)x + (-1,35513)x^2$	0,68	0,32509 ^{ns}
Alagamento	$Y = 0,77 + (-1,35513)x + (-0,00398)x^2$	0,54	0,38936 ^{ns}

*Significativo a 5% de probabilidade de erro.

Alguns autores estudando trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de café sob estresse de alumínio, encontrou resultados diferentes, sendo que F0 e Fm (pico máximo de fluorescência da clorofila) aumentaram nas plantas em que foram aplicadas soluções de Al, afetando o FSII de todas as cultivares, o qual não foi observado em *P. guineense* (KONRAD *et al.*, 2005). Quando a planta está com

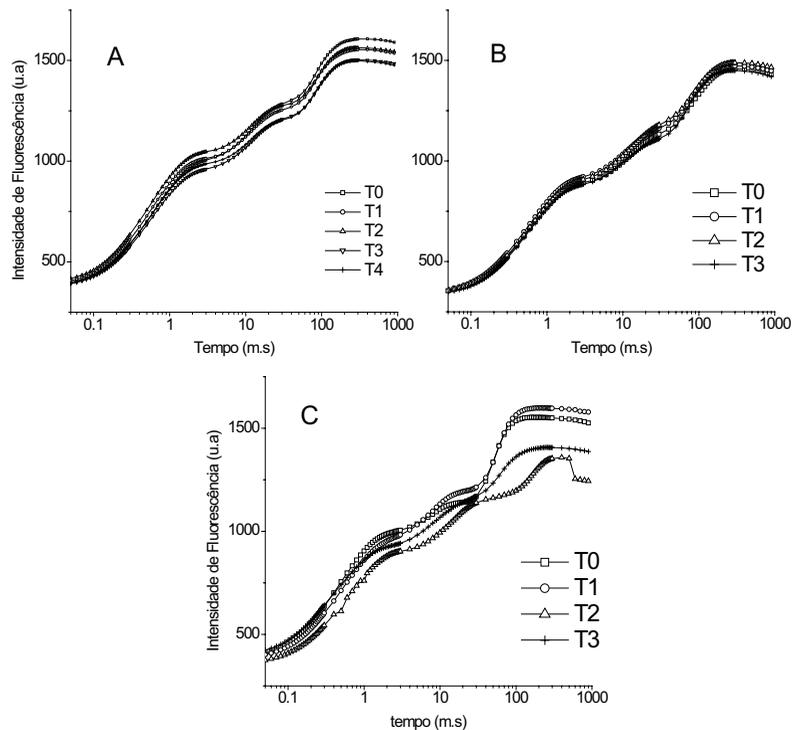
seu aparelho fotossintético intacto, a razão Fv/Fm (estimativa da eficiência quântica máxima da atividade fotoquímica do FSII, quando todos os centros de reação do PSII estão abertos) deve variar entre 0,75 e 0,85 (Figura 4) enquanto uma queda nesta razão reflete a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII (BOLHAR-NORDENKAMPF *et al.*, 1989).

Figura 4: Eficiência quântica para plântulas de *P. guineense* (Araçá) submetidas a (A) Diferentes doses de alumínio ($Al_2(SO_4)_3 \cdot H_2O$); (B) Tempo de exposição à radiação UV-B ou (C) Alagamento do substrato

Neste sentido, não foi percebido diferença significativa neste parâmetro para plântulas de *P. guineense* submetidas aos diferentes tratamentos. Embora não tenha sido verificada diferença significativa no índice de performance dos tratamentos alumínio, radiação e alagamento, essa metodologia pode ser considerada a que melhor forneceu informações sobre as respostas de fluorescência da clorofila *a* para essa espécie, na qual foi verificado que as médias para Índice de Performance (PI) decresceram com o aumento das concentrações de Al (Tabela 3) e alagamento (Tabela 1) e teve um acréscimo com o aumento da intensidade de radiação (Tabela 2).

Quanto às curvas de fluorescência da clorofila *a* (Figura 5) nos diferentes tratamentos de alumínio, radiação e alagamento, não foram observadas reduções na intensidade de fluorescência com perda da sigmoicidade nas curvas, analisando os *steps* O-J, J-I e I-P. Exceto para I-P na condição alagada, não foram observadas diferenças no comportamento das curvas. Não foram observadas intersecções nas curvas no intervalo J-I. Estas respostas indicam a não ocorrência de danos ao aparelho fotossintético e, conseqüentemente, a capacidade de captura de energia e transferência de elétrons continuou mesmo sob condição considerada estressante para espécies não adaptadas.

Figura 5: Médias dos Transientes de fluorescência da clorofila *a* para plantas jovens de *P. guineense* submetidas a (A) Diferentes doses de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_{18}$); (B) Tempo de exposição à radiação UV-B ou (C) Alagamento do substrato



Neste sentido, estudos envolvendo plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl) e cumaru (*Dipteryx odorata* (Aublet) Willd) expostas a dois ambientes de luz (sombra e sol), verificaram em ambas as espécies respostas de fotoinibição quando estas foram expostas à alta irradiância, resultados que foram observados pelas variáveis básicas da fluorescência e comportamento das curvas (GONÇALVES *et al.*, 2010). No presente estudo, a ausência de diferença nestas variáveis sustenta a afirmação que *P. guineense* é uma espécie adaptada a variações nas concentrações de alumínio no substrato e alta irradiância, como é o esperado para espécies de cerrado.

4 Conclusão

As sementes de *P. guineense* apresentaram melhores taxas germinativas na condição claro a 25 °C, o que reflete o comportamento de espécies pioneiras, adaptadas ao Bioma Cerrado;

A alta eficiência quântica nas diferentes concentrações de alumínio pode indicar a tolerância das plantas de *P. guineense* a este fator, característica esperada para plantas de cerrado que estão sujeitas a altas concentrações deste elemento no solo;

O fato das plantas testadas não se mostrarem sensíveis à radiação UV-C as quais foram submetidas sugerem a presença de mecanismos dissipatórios do excesso de energia, condição esta necessária à fitofisionomia Cerrado;

Quanto ao alagamento, o fato desta condição não afetar significativamente as relações de energia no PSII, sugerem a existência de mecanismos relacionados à fuga metabólica

à condição de hipoxia considerando que não ocorreram alterações morfológicas nas plantas submetidas à saturação hídrica;

A metodologia de fluorescência da clorofila *a* mostrou-se aplicável para explicar a existência ou não de estresse, assim como o conhecimento sobre os mecanismos adaptativos de tolerância ao alumínio, radiação UV-C e alagamento em uma espécie nativa do Cerrado.

Referências

- ANDRADE, R.A.; OLIVEIRA, I.V.M.; MARTINS, A.B.G. Influência da condição e período de armazenamento na germinação de sementes de pitaya vermelha. *Rev. Bras. Fruticul.*, v.27, p.168-170, 2005.
- BAKER, N.R.; ROSENQVST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Experimental Botany*, v.55, p.1607-1621, 2004.
- BASKIN, T. I.; LINO, M. An action spectrum in the blue and ultraviolet for phototropism in alfafa. *Photochem. Photobiol.*, v.46, p.127-136, 1987.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Book Review: Seeds physiology of development and germination. *Seed Sci. Res.*, v.5, p. 127-128, 1995.
- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R. *et al.* Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrument. *Functional Ecol.*, v.3, p.497-514, 1989.
- CABRAL, E.L.; BARBOSA, D.C.A.; SIMABUKURO, E.A. Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. *Acta Botanica Bras.*, v.17, p.609-617, 2003.

- FELIPPE, G. M.; SILVA, J. C. S. Estudos de germinação em espécies do cerrado. *Rev. Bras.Botânica*, v.7, p.157-163, 1984.
- FERREIRA, S. A. N.; GENTIL, D. F. O. Armazenamento de sementes de camu-camu (*Myrciaria dubia*) com diferentes graus de umidade e temperaturas. *Rev. Bras. Fruticul.*, v.25, p.440-442, 2003.
- GONÇALVES, J.F.C. *et al.* Análise dos transientes da fluorescência da clorofila *a* de plantas jovens de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* submetidas a dois ambientes de luz. *Acta Amazonica*, v.40, p.89-98, 2010.
- GONÇALVES, J.F.C. *et al.* Estratégias no uso da energia luminosa por plantas jovens de *Genipa spruceana* Steyererm submetidas ao alagamento. *Acta Botanica Bras.*, v.26, p.391-398, 2012.
- KONRAD, M.L.F. *et al.* Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. *Bragantia*, v.64, p.339-347, 2005.
- KULANDAIVELU, G.; NOORUDEEN, A. M. Comparative study of the action of UV-C and UV-B on photosynthetic electron transport. *Physiol. Plantarum*, v.58, p.389-394, 1983.
- LABOURIAU, L.G. A germinação das sementes. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, p.174, 1983.
- LABOURIAU, L.G.; PACHECO, A. On the frequency of isothermal germination in seeds of *Dolichos biflorus* L. *Plant e Cell Physiology*. v.19, p.507-512, 1977.
- MOUSTAKA, M; OUZOUNIDOU, G.; LANNOYER, R. Aluminum effects on photosynthesis and elemental uptake in an aluminum-tolerant and non-tolerant wheat cultivar. *Journal of Plant Nutrition*. v.18, p.669-683, 1995.
- NOVAES-JUNIOR, E.S.; *et al.* Emergência e vigor de sementes de soja em função da disponibilidade hídrica do solo. *Rev. Verde*, v.7, p.34-40, 2012.
- PAHLICH, E. Larcher's definition of plant stress: A valuable principle for metabolic adaptability research. *Rev. Bras. Fisiol. Vegetal*. v.5, p.209-216, 1993.
- PEIXOTO, P.H.P.; DA MATTA, F.M.; CAMBRAIA, J. Responses of the photosynthetic apparatus to aluminum stress in two sorghum cultivars. *J. Plant. Nutrition.*, v.25, p.821-832, 2002.
- PEREIRA, M.R.R. *et al.* Influência do estresse hídrico e salino na germinação de *Urochloa decumbens* e *Urochloa ruziziensis*. *Biosc. J.*, v.28, p.537-545, 2012.
- RAMÍREZ, W.A. *et al.* Phytotoxic effects of sewage sludge extracts on the germination of three plant species. *Ecotoxicol.*, v.17, p.834-844, 2008.
- RASEIRA, A.; RASEIRA, M.C.B. “Ya-cy”. Cultivar de araçazeiro lançada pela EMBRAPA/CPACT. *Hirti Sul.*, v.3, p.37-39, 1994.
- RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F. Early photosynthetic responses of sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. *Physiol. Molecular Plant Pathol.*, v.62, p.167-173, 2003.
- SANTIAGO, E.F.; PAOLI, A.A.S. O aumento em superfície em *Adelia membranifolia* (Müll. Arg.) Pax & K. Hoffm. e *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. em resposta ao estresse por deficiência nutricional e alagamento do substrato. *Rev. Bras. Bot.*, v.26, p.503-513, 2003.
- SCHOFFEL, E.R.; *et al.* Excesso hídrico sobre os componentes do rendimento da cultura da soja. *Ciênc. Rural*, v.31, p.7-12, 2001.
- SILVA, P.E.M. *et al.* Fluorescência da clorofila *a* e variação da simetria como ferramentas de investigação de plantas sob estresse. *Idesia*, v.29, p.45-52, 2011.
- TEVINI, M.; TERAMURA, A.H. UV-B effects in terrestrial plants. *Photochem. Photobiol.*, v.50, p.479-487, 1989.
- VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.E. Seed storage, temperature and relative humidity: response. *Seeds Sci. Res.*, v.3, p.215- 216, 1993.