



LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA JUNIOR

**TRATAMENTO PRÉ-GERMINATIVO DE
SEMENTES FLORESTAIS COM PERÓXIDO DE
HIDROGÊNIO**

LAVRAS - MG

2017

LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA JUNIOR

**TRATAMENTO PRÉ-GERMINATIVO DE SEMENTES FLORESTAIS
COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Silvicultura e Genética Florestal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Anderson Cleiton José

Orientador

Prof. Dr. José Márcio Rocha Faria

Coorientador

LAVRAS - MG

2017

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Oliveira Junior, Luiz Carlos de.

Tratamento pré-germinativo de sementes florestais com peróxido
de hidrogênio / Luiz Carlos de Oliveira Junior. - 2017.

71 p.

Orientador: Anderson Cleiton José.

Coorientador: José Márcio Rocha Faria

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Tratamento pré-germinativo. 2. Espécies reativas de oxigênio.
3. Fisiologia de sementes. I. José, Anderson Cleiton. II. Faria, José
Márcio Rocha. III. Título.

LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA JUNIOR

**TRATAMENTO PRÉ-GERMINATIVO DE SEMENTES FLORESTAIS
COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO**

***PRE-GERMINATIVE TREATMENT OF FOREST SEEDS WITH
HYDROGEN PEROXIDE***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Silvicultura e Genética Florestal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 20 de abril de 2017.

Prof. Dr. José Márcio Rocha Faria

UFLA

Prof. Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva

UNESP

Prof. Dr. Anderson Cleiton José

Orientador

LAVRAS - MG

2017

A todos que me ajudaram de alguma forma a concluir esta etapa tão importante
em minha vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Ciências Florestais (DCF), pela oportunidade concedida para a realização desta dissertação.

À Fundação de Amparo à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos professores da UFLA, pelos ensinamentos e harmoniosa convivência.

Aos professores Anderson Cleiton José e José Marcio Rocha Faria pela orientação e oportunidade a mim concedida. Ao professor Edvaldo Aparecido Amaral da Silva pela participação na banca de defesa.

Aos colegas do Laboratório de Sementes Florestais pelos ensinamentos.

À minha namorada Mayara, por estar ao meu lado sempre e pelos bons conselhos.

Aos meus pais Luiz Carlos e Claudia e ao meu irmão João Pedro pelo constante apoio e incentivo.

A toda minha família e amigos pela torcida e auxílio.

Muito obrigado.

RESUMO GERAL

Objetivou-se estudar a resposta fisiológica de sementes de ipê-amarelo, candeia e lobeira pré-embebidas em soluções de peróxido de hidrogênio. Sementes de ipê-amarelo foram embebidas nas concentrações 0, 10, 40 e 100 mM, por 24 e 48 horas. Sementes de candeia e lobeira foram embebidas nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 100 e 150 mM, por 5, 24 e 48 horas para candeia e por 48 horas para lobeira. Sementes de ipê-amarelo foram embebidas em soluções de peróxido de hidrogênio, nas concentrações 0, 10, 20, 30, 40 e 100 mM, por 48 horas, para estresse térmico e, nas concentrações de 0, 10, 40 e 100 mM, para estresse hídrico. Sementes de candeia foram embebidas em soluções nas concentrações de 0, 10, 40 e 100 mM, por 5 horas. Para a germinação das sementes de ipê-amarelo, foram utilizadas temperaturas de 15°C e 25°C e, para as sementes de candeia, as temperaturas de 10 °C e 35°C. Sementes de ipê-amarelo, após pré-embebição em soluções de H₂O₂, foram colocadas para germinar em soluções de PEG nos potenciais de 0, -0,2 e -0,9 MPa. Os tratamentos não interferem na germinação de ipê-amarelo, entretanto doses menores (10 mM) afetam a velocidade (IVG) e uniformidade de germinação ($U_{75,25}$). O tratamento melhora a germinação de sementes de candeia, quando o tempo de incubação é de 5h, nas concentrações entre 20 e 40 mM. Doses maiores (100 e 150 mM) apresentam efeito tóxico. Em condições de estresse térmico, o tratamento não afeta a germinação, porém melhora a uniformidade na dose de 40 mM. O tratamento com peróxido de hidrogênio não interfere na germinação de sementes de candeia, em estresse térmico, porém aumenta a uniformidade na concentração de 40 mM.

Palavras-chave: Tratamento pré-germinativo. Espécies reativas de oxigênio. Fisiologia de sementes.

GENERAL ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the physiological response of ipê-amarelo, candeia and lobeira seeds pre-soaked in solutions of hydrogen peroxide. Ipê-amarelo seeds were soaked in solutions at concentrations 0, 10, 40 and 100 mM, for 24 and 48 hours. Candeia and lobeira seeds were soaked in solutions at concentrations of 0, 10, 20, 30, 40, 100 and 150 mM, for 5, 24 and 48 hours for candeia and for 48 hours for lobeira. Seeds of ipê-amarelo were embedded in 0, 10, 20, 30, 40 and 100 mM concentrations of hydrogen peroxide solutions for 48 hours for the study of germination under thermal stress and at concentrations of 0, 10, 40 and 100 mM for the study of germination in water stress. Candeia seeds were soaked in solutions at concentrations of 0, 10, 40 and 100 mM, for 5 hours. For the germination of ipê-amarelo seeds, temperatures of 15 ° C and 25 ° C were used and for candeia seeds the temperatures of 10 ° C and 35 ° C. Ipê-amarelo seeds, after pre-soaking in H₂O₂ solutions were placed to germinate in solutions of PEG in potentials of 0, -0.2 and -0.9 MPa. The treatments do not affect the germination of ipê-amarelo. However, smaller doses (10 mM) affect the speed (IVG) and uniformity of germination ($U_{75,25}$). The treatment improves candeia seed germination when the incubation time is 5 h at concentrations between 20 and 40 mM. Larger doses (100 and 150 mM) have a toxic effect. Under thermal stress conditions, the treatment does not affect germination, but improves uniformity at the dose of 40 mM. The treatment with hydrogen peroxide does not interfere in the germination of candeia seeds in thermal stress, but increases the uniformity in the concentration of 40 mM.

Keywords: Pre-germinative treatment. Oxigen-reactive species. Seed physiology.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	9
1 INTRODUÇÃO	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1 Caracterização e importância das espécies	11
2.2 Vigor de sementes	12
2.3 Germinação	13
2.4 Estudo do estresse em plantas	14
2.5 Espécies Reativas de Oxigênio - EROS	15
2.6 Sistema antioxidante em plantas	17
REFERÊNCIAS	19
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	25
ARTIGO 1 - CONCENTRAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E TEMPO DE EMBEBIÇÃO INFLUENCIAM PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM SEMENTES FLORESTAIS	25
ARTIGO 2 - EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA RESPOSTA DE SEMENTES FLORESTAIS DURANTE A GERMINAÇÃO EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE	49

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Em virtude da crescente necessidade de se recuperar áreas, que foram degradadas no passado, assim como para utilização de árvores nativas, na arborização urbana, os estudos relacionados a sementes florestais vêm ganhando cada vez mais destaque visto que é necessário entender melhor o comportamento fisiológico das mais variadas espécies nativas, como também o desenvolvimento de técnicas que visem a melhorar o desempenho dessas sementes nas condições mais diversas de germinação.

Diversas espécies têm se destacado, para esses fins, como é o caso do ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius*), da candeia (*Eremanthus erythropappus*) e da lobeira (*Solanum lycocarpum*), espécies nativas que apresentam sementes ortodoxas e que, geralmente, apresentam germinação alta em condições ideais, porém reduz, quando essas sementes são colocadas, para germinar em condições de estresse, principalmente, em temperaturas baixas e em ambientes de estresse hídrico.

Diversos estudos apresentam que sementes submetidas a algum tipo de estresse o suficiente, para ativar mecanismos moleculares de tolerância, porém não tão drásticos a ponto de causarem grandes danos, podem melhorar seu desempenho durante a germinação em condições adversas. Para sementes florestais, as técnicas mais utilizadas são o choque térmico e o condicionamento fisiológico.

Uma nova técnica que vem se manifestando com grande potencial, para aumentar o desempenho germinativo de sementes, é o uso de soluções de peróxido de hidrogênio, uma molécula que está diretamente relacionada ao estresse oxidativo, nos seres vivos e que, em concentrações baixas, pode agir

como um agente sinalizador para diversos processos metabólicos importantes na tolerância ao estresse.

Diante do exposto, objetivou-se estudar a resposta fisiológica em condições ideais de germinação, estresse térmico e estresse hídrico, de sementes de ipê-amarelo, candeia e lobeira pré-embebidas em soluções de peróxido de hidrogênio.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Caracterização e importância das espécies

As espécies estudadas apresentam alta disponibilidade de sementes, durante o período de dispersão e apresentam importâncias que se relacionam entre si, porém abrangem regiões de desenvolvimento bem diversas.

Handroanthus serratifolius, conhecida popularmente como ipê-amarelo, é uma árvore pertencente à família Bignoniaceae, característica da savana brasileira, porém encontrada em quase todo o território nacional (LORENZI, 1998). A árvore adulta pode apresentar até 35 metros de altura. A espécie apresenta grande valor madeireiro, medicinal e ornamental, com uma vasta utilização na recuperação de áreas degradadas e na arborização urbana (POOT; POOT, 1994), o que demonstra a grande importância econômica e ecológica da espécie.

Candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MecLeish) é uma espécie arbórea pertencente à família Asteraceae. É uma espécie florestal de múltiplos usos e seus produtos mais valiosos são o óleo e a madeira que apresentam alta durabilidade natural. O óleo, cujo principal componente é o alfabisabolol, apresenta propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas, antimicóticas, dermatológicas e espasmódicas, sendo utilizado na indústria farmacêutica e de cosméticos, principalmente na forma de pomadas, géis, loções cicatrizantes e hidratantes (PÉRES, 2001; TEIXEIRA et al., 1996).

Solanum lycocarpum, conhecida popularmente como lobeira ou fruta do lobo, é uma arvoreta ou arbusto pertencente à família Solanaceae (ALMEIDA et al., 1998). Apresenta de 3 a 5 metros de altura, com copa arredondada e rala. Possui tronco tortuoso, com casca grossa e fissurada longitudinalmente. Sua germinação é relativamente lenta e desuniforme, o que pode trazer problemas, durante o processo de produção de mudas, quando se busca o plantio para

recuperação de áreas degradadas (PINTO et al., 2007; VIDAL; STACCIARINI-SERAPHIN; CÂMARA, 1999). Apresenta grande resistência ao déficit hídrico, e o excesso de água pode atrasar sua germinação (VIDAL; STACCIARINI-SERAPHIN; CÂMARA, 1999), o que torna essa espécie uma das mais indicadas, para plantios em locais onde há condições de estresse, como na recuperação de áreas degradadas (NERI et al., 2011). Também parece ser bem promissora no que diz respeito à produção natural de compostos medicinais antioxidantes, anti-inflamatórios e bactericidas (COSTA et al., 2015). Seus frutos servem como alimento para a fauna, sendo uma das principais fontes alimentícias do lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*), principalmente na estação seca (BUENO; BELENTANI; MOTTA-JUNIOR, 2002).

2.2 Vigor de sementes

A Association of Official Seed Analysts (AOSA, 2009) define vigor de sementes como aquelas propriedades que determinam o seu potencial para uma emergência rápida e uniforme e o desenvolvimento de plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais. Um dos principais testes utilizados, para se definir o vigor de um lote de sementes, é o índice de velocidade de germinação ($IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$; em que G1, G2, Gn = número de sementes germinadas ou emergidas computadas na primeira, na segunda e na última contagem; e N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem) (NAKAGAWA, 1994).

Outros métodos de se avaliar o vigor de sementes são o tempo, para ocorrência de 50% de germinação (T_{50}), o qual indica o tempo em dias em que 50% da germinação foram alcançadas, o intervalo de tempo entre a germinação de 25% e 75% das sementes viáveis ($U_{75,25}$) e a área abaixo da curva (AUC), que é a integração da curva de germinação entre $t = 0$ e o tempo final de germinação,

no qual o resultado combina informações da germinação máxima T_{50} e uniformidade (JOOSEN et al., 2010).

Os testes de vigor têm sido utilizados, principalmente, para identificar diferenças associadas ao desempenho de lotes de sementes, durante o armazenamento ou após a semeadura, procurando destacar lotes com maior eficiência para o estabelecimento do estande sob ampla variação das condições de ambiente (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009).

2.3 Germinação

Germinação de sementes em teste de laboratório é a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal, sob condições favoráveis de campo (BRASIL, 2009).

Fisiologicamente, o processo de germinação inicia-se com a absorção de água pela semente e termina com o início do alongamento de eixo embrionário, podendo ser identificado pela protrusão da radícula (BEWLEY; BLACK, 1982).

Conhecer as condições que proporcionam germinação rápida e uniforme das sementes é extremamente útil, para fins de semeadura, pois reduzem os cuidados por parte dos viveiristas, uma vez que as mudas se desenvolverão mais rapidamente, promovendo um povoamento mais uniforme no campo (PACHECO et al., 2006), ou mesmo propiciando um melhor chance de sobrevivência, em caso de semeadura direta, pois a plântula se instalará mais rapidamente em campo.

O processo de germinação é um sistema complexo, regulado por fatores intrínsecos e extrínsecos e em muitos estudos tem-se demonstrado que espécies reativas de oxigênio, também chamadas radicais livres, agem diretamente como moléculas sinalizadoras, durante a germinação de sementes, envolvidos tanto no aumento das taxas de carbonilação e *turnover* de proteínas quanto no balanço

entre os hormônios, aumentando as giberelinas e diminuindo o ácido abscísico e o etileno, por meio da ACC (ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano). Essas mudanças podem levar ao reinício do metabolismo em sementes, durante a embebição, o que é essencial para a germinação de sementes e emergência de plântulas (BARBA-ESPIN et al., 2010, 2011; DIAZ-VIVANCOS; BARBA-ESPIN; HERNANDEZ, 2013).

2.4 Estudo do estresse em plantas

A maioria das plantas vive em ambientes nos quais são constantemente expostas a um ou mais tipos de estresses abióticos, como temperaturas extremas, salinidade, seca e iluminação excessiva e bióticos, causados por organismos vivos como patógenos (bactérias, fungos, vírus), herbívoros, nematoides, assim como outras plantas que podem influenciar, consideravelmente, seu crescimento e desenvolvimento (ATKINSON; URWIN, 2012; SHARMA et al., 2013). Ao se tornarem sésseis, tem que desenvolver mecanismos específicos para detectar precisamente as mudanças no ambiente e responder, adequadamente, ao tipo de estresse a que está submetida, minimizando danos e conservando recursos importantes para sua manutenção assim como para reprodução (RIZHISKY; LIANG; MITTLER, 2002).

Essa interação é extremamente complexa, envolvendo mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, o que dificulta a identificação dos componentes de maior importância envolvidos, na regulação e resposta das plantas ao estresse (SHARMA et al., 2013), o que mostra a necessidade de diversos estudos, em pontos específicos, para se conseguir um conhecimento mais amplo sobre o assunto.

Estudos relacionados com a resposta germinativa de sementes, em condições de estresse, têm sido cada vez mais requisitados, a fim de se ter um

maior entendimento dos processos envolvidos, bem como estudos de técnicas que tornem as sementes mais resistentes a esses ambientes.

Apesar dos vegetais apresentarem mecanismos necessários, para tolerar ambientes de difícil desenvolvimento, muitas vezes, a resposta não é eficiente ou rápida o suficiente para que ocorra o desenvolvimento da forma ideal.

2.5 Espécies Reativas de Oxigênio - EROS

Os radicais livres ou espécies reativas de oxigênio são átomos ou moléculas altamente instáveis, muito reativas e de período de existência curto, que contêm um elétron desemparelhado na camada de valência. Os radicais livres formados são originados de reação de oxidação-redução, na qual a espécie que cede os elétrons, chamada de agente redutor, oxida-se, enquanto outro agente recebe os elétrons, ou seja, reduz seu número de oxidação (NOX), sendo denominado de agente oxidante (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Nas plantas, o peróxido de hidrogênio é uma molécula considerada uma espécie reativa de oxigênio (ERO), gerada como resultado de diversos processos moleculares. Essa molécula pode ser produzida como resposta a vários tipos de estresse, tanto bióticos quanto abióticos, que incluem déficit hídrico, baixas ou altas temperaturas e excesso de radiação (NEILL; DESIKAN; HANCOCK, 2002).

Em sementes, espécies reativas de oxigênio (EROs) são comumente consideradas como moléculas tóxicas e seu acúmulo pode levar à lesão celular e aos distúrbios nos processos de desenvolvimento e germinação (BAILLY, 2004).

É claro na literatura que o H_2O_2 age como uma molécula sinalizadora (DESIKAN; HANCOCK; NEILL, 2003; PRASAD et al., 1994), envolvido na morte programada de células (DE JONG et al., 2002; PELLINEN et al., 2002), embriogênese somática (CUI et al., 1999), resposta a injúrias (OROZCO-

CARDENAS; NARVAEZ-VASQUEZ; RYAN, 2001), mobilização de cálcio (MURATA et al., 2001), redução de dormência (WANG; HEIMOVAARA-DIJKSTRA; DUIJN, 1995), aumento da germinação pela redução dos níveis de ABA endógeno (BARBA-ESPIN et al., 2010), formação de raízes laterais (CHEN et al., 2013), promoção da germinação de sementes pela ressurgência do poder redutor e pela via pentose-fostato (BARBA-ESPIN et al., 2011) e regulação da expressão gênica (DESIKAN; HANCOCK; NEILL, 2003).

Muitos trabalhos têm demonstrado que a aplicação exógena de peróxido de hidrogênio em sementes tem proporcionado uma melhora significativa na sua germinação, inclusive, em ambientes de estresse. Ogawa e Iwabuchi (2001), trabalhando com *Zinia elegans*, puderam observar uma promoção da germinação em sementes pré-embebidas com H₂O₂, nas concentrações de 20 e 50 mM, por 48 horas, justificada pelo fato de ter ocorrido a oxidação de inibidores da germinação presentes no pericarpo. Çavusoglu e Kabar (2010) observaram que a pré-embebição de sementes de *Hordeum vulgare* L. com H₂O₂, na concentração de 30 mM, promoveu a germinação dessa espécie, em condições de altas temperaturas (30 e 35°C), além de promover uma melhora significativa na resistência ao estresse salino gerado por NaCl. Wahid et al. (2007) constataram que sementes de *Triticum aestivum* L. tratadas com 40, 80 e 120 µM de H₂O₂, por 8 horas, além de apresentarem uma melhora significativa, no tempo médio, para germinação em ambiente de salinidade média (150 mM de NaCl), ainda, observaram efeito dos tratamentos nas plântulas, com um aumento significativo na massa seca e fresca do caule em plântulas originadas de sementes pré-embebidas com 80 e 120 µM de H₂O₂, assim como uma maior área foliar para as pré-tratadas com 80 µM de peróxido.

Barba-Espin et al. (2011) mostraram que a pré-embebição de sementes de *Pisum sativum*, em solução de peróxido de hidrogênio, nas concentrações de 10 e 20 mM, aumenta a velocidade de germinação, que, com 12 horas de

embebição em condições de 25°C e no escuro, aproximadamente 70% das sementes pré-embebidas germinaram, enquanto as não tratadas apresentaram cerca de 8% de germinação nesse mesmo período. O mesmo comportamento foi observado, para o peso fresco e comprimento das plântulas, evidenciando a significância desse tratamento.

2.6 Sistema antioxidante em plantas

Antioxidantes podem ser definidos como substâncias cuja função se relaciona com a inibição e ou redução dos danos causados pelos radicais livres em células (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Podem ser classificados em enzimáticos e não enzimáticos, cujas funções são, respectivamente, compostos que bloqueiam o início da oxidação (removem as espécies reativas) e moléculas que se unem aos radicais orgânicos sendo consumidas durante as reações (CONTIGUIBA; SILVA, 2013). Dentre os antioxidantes enzimáticos, os mais importantes são a catalase, superóxido dismutase e peroxidase.

A exposição de sementes a algum tipo de estresse aumenta a expressão gênica relacionada a essas enzimas, como foi observado para sementes de mamona (*Ricinus communis* L.), sob estresse hídrico, milho (*Zea mays*), sob baixa temperatura de germinação e aveia (*Avena sativa* L.), armazenadas a 4°C por diferentes períodos de tempo (KONG; HUO; MAO, 2015; MORAES et al., 2015; SILVA-NETA et al., 2015).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. P. et al. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln, 2009. 105 p.
- ATKINSON, N. J.; URWIN, P. E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 63, n. 10, p. 3523-3544, Mar. 2012.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Wageningen, v. 14, n. 2, p. 93-107, 2004.
- BARBA-ESPÍN, G. et al. Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 981-994, June 2010.
- BARBA-ESPÍN, G. et al. Understanding the role of H₂O₂ during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 34, n. 11, p. 1907-1919, Nov. 2011.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seed in relation to germination**: viability, dormancy and environmental control. Berlin: Springer-Verlag, 1982. 375 p.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 2009. 399 p.
- BUENO, A. A.; BELENTANI, S. C. S.; MOTTA-JUNIOR, J. C. Feeding ecology of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* (illiger, 1815) (mammalia: Canidae), in the ecological station of Itirapina, São Paulo state, Brazil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 2, n. 2, p. 1-9, 2002.

ÇAVUSOGLU, K.; KABAR, K. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. **Eurasian Journal of Biosciences**, Ankara, v. 4, p. 70-79, Jan. 2010.

CHEN, H. et al. Transcriptome wide mapping of pea seed ageing reveals a pivotal role for genes related to oxidative stress and programmed cell death. **Plos ONE**, San Francisco, v. 8, n. 10, p. e78471, Oct. 2013.

CONTIGUIBA, G. G.; SILVA, J. R. N. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 15, n. 3, p. 231-237, 2013.

COSTA, G. A. F. et al. Antioxidant, antibacterial, cytotoxic, and anti-inflammatory potential of the leaves of *Solanumly cocarpum* A. St. Hil. (Solanaceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Cairo, v. 2015, p. 1-8, Jan. 2015.

CUI, K. et al. Effect of hydrogen peroxide on somatic embryogenesis of *Lyciumbarbarum* L. **Plant Science**, San Diego, v. 146, p. 9-16, 1999.

DE JONG, A. J. et al. A critical role for ethylene in hydrogen peroxide release during programmed cell death in tomato suspension cells. **Planta**, San Diego, v. 214, p. 537-545, 2002.

DESIKAN, R.; HANCOCK, J. T.; NEILL, S. J. Oxidative stress signalling. **Topics in Current Genetics**, Gotemburgo, v. 4, p. 129-149, 2003.

DIAZ-VIVANCOS, P.; BARBA-ESPIN, G.; HERNANDEZ, J. A. Elucidating hormonal/ ROS networks during seed germination: insights and perspectives. **Plant Cell Reports**, Estraburgo, v. 32, n. 10, p. 1491-1502, Oct. 2013.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

JOOSEN, R. V. L. et al. GERMINATOR: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. **The Plant Journal**, East Lansing, v. 62, n. 1, p. 148-159, Apr. 2010.

KONG, L.; HUO, H.; MAO, P. Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. **Frontiers in Plant Science**, Melbourne, v. 6, p. 168, 2015.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 384 p.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P.; LIMA, L. B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

MORAES, P. F. et al. Expressão gênica diferencial em genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidos a déficit hídrico induzido por PEG. **Bragantia**, Campinas, v. 74, n. 1, p. 25-32, 2015.

MURATA, Y. et al. Abscisic acid activation of plasma membrane Ca^{2+} channels in guard cells requires cytosolic NAD(P)H and is differentially disrupted upstream and downstream of reactive oxygen species production in *abi1-1* and *abi2-1* protein phosphatase 2c mutants. **Plant Cell**, Waterbury, v. 13, p. 2513-2523, 2001.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 49-85.

NEILL, S.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. Hydrogen peroxide signalling. **Current Opinion in Plant Biology**, Saint Louis, v. 5, p. 388-395, 2002.

NERI, A. V. et al. Espécies de cerrado com potencial para recuperação de áreas degradadas por mineração de ouro, Paracatu-MG. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 35, n. 4, p. 907-918, 2011.

OGAWA, K.; IWABUCHI, M. A mechanism for promoting the germination of *Zinnia elegans* seeds by hydrogen peroxide. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 42, n. 3, p. 286-291, 2001.

OROZCO-CARDENAS, M. L.; NARVAEZ-VASQUEZ, J.; RYAN, C. A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyljasmonate. **Plant Cell**, Waterbury, v. 13, p. 179-191, 2001.

PACHECO, M. V. et al. Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruonurundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 30, n. 3, p. 359-367, 2006.

PELLINEN, R. I. et al. Hydrogen peroxide activates cell death and defense gene expression in birch. **Plant Physiology**, San Diego, v. 130, p. 549-560, 2002.

PÉREZ, J. F. M. **Sistema de manejo para a candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish)**. 2001. 71 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

PINTO, L. V. A. et al. Mechanism and Control of *Solanum lycocarpum* seed germination. **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, p. 1175-1187, 2007.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do pantanal**. Brasília, DF: EMBRAPA, 1994. 320 p.

PRASAD, T. K. et al. Evidence for chilling-Induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. **The Plant Cell**, Waterbury, v. 6, p. 65-74, 1994.

RIZHSKY, L.; LIANG, H. J.; MITTLER, R. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. **Plant Physiology**, San Diego, v. 130, p. 1143-1151, 2002.

SHARMA, R. et al. Recent advances in dissecting stress-regulatory crosstalk in rice. **Molecular Plant**, New York, v. 6, n. 2, p. 250-260, Mar. 2013.

SILVA-NETA, I. C. et al. Expression of genes related to tolerance to low temperature for maize seed germination. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 2674-2690, 2015.

TEIXEIRA, M. C. B. et al. Influência da luz na germinação de sementes de candeia (*Vanillosmopsis erythropappa* Shuh. Bip.). In: ENCONTRO REGIONAL DE BOTÂNICA, 1996, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SBB; PUC-MG, 1996. p. 35-41.

VIDAL, M. C.; STACCIARINI-SERAPHIN, E.; CÂMARA, H. H. L. L. Crescimento de plântulas de *Solanumly cocarpum* St. Hil. (Lobeira) em casa de vegetação. **Acta Botanica Brasílica**, Belo Horizonte, v. 13, p. 271-274, 1999.

WAHID, A. et al. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. **Journal of Plant Physiology**, Toronto, v. 164, p. 283-294, 2007.

WANG, M.; HEIMOVAARA-DIJKSTRA, S.; DUIJN, B. van. Modulation of germination of embryos isolated from dormant and nondormant barley grains by manipulation of endogenous abscisic levels. **Planta**, San Diego, v. 195, p. 586-592, 1995.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

**ARTIGO 1 - CONCENTRAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E
TEMPO DE EMBEBIÇÃO INFLUENCIAM PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM SEMENTES FLORESTAIS**

Artigo formatado e Submetido para a revista Pesquisa Florestal Brasileira.
(VERSÃO PRELIMINAR)

Resumo

O objetivo foi de avaliar o efeito na germinação e vigor do pré-tratamento de sementes de ipê-amarelo, candeia e lobeira em diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio. Sementes de ipê-amarelo foram embebidas em soluções nas concentrações 0, 10, 40 e 100 mM, por 24 e 48 horas. Sementes de candeia e lobeira foram embebidas em soluções nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 100 e 150 mM, por 5, 24 e 48 horas para candeia e por 48 horas para lobeira. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os resultados mostram que o peróxido de hidrogênio não afeta a germinação de ipê-amarelo nas concentrações testadas, entretanto, doses menores (10 mM) afetam a velocidade (IVG) e uniformidade de germinação ($U_{75,25}$). O tratamento com peróxido de hidrogênio melhora significativamente a germinação de sementes de candeia quando o tempo de incubação é de 5h, nas concentrações entre 20 e 40 mM. Doses maiores (100 e 150 mM) apresentam efeito tóxico. Sementes de lobeira não respondem ao tratamento com H_2O_2 nas condições que o experimento foram realizados.

Palavras-chave: tratamento pré-germinativo. Espécies reativas de oxigênio. Fisiologia de sementes.

Abstract

The objective was to evaluate the effect on the germination and vigor of pre-treatment of ipê-amarelo, candeia and lobeira seeds in different concentrations of hydrogen peroxide. Seeds of ipê-yellow were soaked in solutions at concentrations 0, 10, 40 and 100 mM, for 24 and 48 hours. Candeia and lobeira seeds were soaked in solutions at concentrations of 0, 10, 20, 30, 40, 100 and 150 mM, for 5, 24 and 48 hours for candeia and for 48 hours for lobeira. The experiment was conducted in a completely randomized design. The results show that hydrogen peroxide does not affect the germination of ipê-amarelo in the tested concentrations. However, smaller doses (10 mM) affect speed (IVG) and uniformity of germination ($U_{75,25}$). The treatment with hydrogen peroxide significantly improves the germination of candeia seeds soaked for 5h, in the concentrations between 20 and 40 mM. Larger doses (100 and 150 mM) have a toxic effect. Lobeira seeds do not respond to treatment with H_2O_2 under the conditions that the experiment were performed.

Keywords: pre-germinative treatment. Reactive oxygen species. Seeds Physiology.

Introdução

A germinação das sementes é uma das etapas mais importantes da vida das plantas. É um processo muito complexo, que se inicia com a entrada de água na semente e envolve diversos eventos associados a transição da semente seca e quiescente até o reestabelecimento do metabolismo (Bewley et al., 2013).

O processo germinativo está associado a diversos eventos metabólicos que se desencadeiam desde o início da embebição até a protrusão da radícula. A reativação do metabolismo durante a germinação ocasiona um acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), que irão atuar diretamente nesse processo (Bailly, 2004), que são originadas da redução do oxigênio, sendo as principais o superóxido ($O^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (HO^{\cdot}) (Diaz-Vivancos et al., 2013).

Devido ao estresse oxidativo gerado por essas moléculas, principalmente durante a dessecação e o envelhecimento de semente, as EROs são geralmente associadas a perda de viabilidade, afetando negativamente a germinação, porém estudos tem mostrado que essas moléculas também desempenham papéis fundamentais como sinalizadores em diversos processos metabólicos, desde a germinação até a morte programada de células. Essa dualidade de efeitos das espécies reativas de oxigênio e como em baixas concentrações agem de forma a estimular a germinação são tópicos de grande interesse para a fisiologia de sementes (Moller et al., 2007).

A aplicação de peróxido de hidrogênio tem sido utilizada amplamente como um estimulante do processo germinativo (Barba-Espin, et al., 2010) e demonstrou resultados em muitas espécies, como *Zinia elegans*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Pisum sativum*, cevada e espinafre (Fontaine et al., 1994; Katzman et al., 2001; Ogawa et al., 2001; Wahid et al., 2007; Çavusoglu & Kabar, 2010).

Confirmada a eficiência dos tratamentos, os resultados ainda podem variar dependendo das concentrações das soluções de peróxido de hidrogênio e do tempo em que as sementes ficam expostas ao tratamento. Definir a melhor concentração e tempo de exposição é um passo importante para maximizar os efeitos positivos dos tratamentos pré-germinativos.

Apesar dos resultados para diversas espécies, são escassos os trabalhos com espécies florestais nessa linha. Baseado nisso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito na germinação e vigor do pré-tratamento de sementes de ipê-amarelo, candeia e lobeira em diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio sobre a germinação e vigor.

Material e métodos

Caracterização do material vegetal e local de estudo

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes de ipê-amarelo, candeia e lobeira, provenientes de coleta realizada, respectivamente, em outubro de 2015, outubro de 2007 e 2009, todos na região de Lavras – MG, beneficiados de acordo com as recomendações de cada espécie (Davide & Silva, 2008), secas e armazenadas em armazenadas em câmara fria (5°C), em sacos plásticos.

Pré-embebição em peróxido de hidrogênio

Sementes de ipê-amarelo foram embebidas em soluções de peróxido de hidrogênio nas concentrações 0, 10, 40 e 100 mM, por 24 e 48 horas. Sementes de candeia e lobeira foram embebidas em soluções nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 100 e 150 mM, por 5, 24 e 48 horas para candeia e por 48 horas para

lobeira. Sementes de ipê-amarelo foram colocadas em bandejas, sobre duas folhas de papel de germinação, contendo 100 ml da solução de interesse em cada bandeja. Sementes de candeia e lobeira foram pré-embebidas nas soluções em placas de petri, com duas folhas de papel de germinação, contendo 5 ml da solução de interesse por placa. Os recipientes foram vedados com papel filme e encubados nos tempos determinados em germinador do tipo BOD, na temperatura de 25 °C, no escuro.

Germinação

Após os tratamentos, as sementes foram lavadas rapidamente e colocadas para germinar a 25°C, com luz constante para ipê-amarelo, em rolos de papel. e candeia, em placas de petri sobre duas folhas de papel e em temperatura alternada de 20-30°C, com fotoperíodo de 12 horas para lobeira, em placa de petri sobre duas folhas de papel.

Avaliações

Para sementes de ipê-amarelo, foram realizadas contagens do número de sementes germinadas a cada 4 dias, e para candeia a cada 2 dias, sendo a contagem final aos 12 dias para ambas espécies. Para lobeira, foram realizadas contagens diárias, sendo a contagem final aos 21 dias. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentavam protrusão radicular de 2 mm para ipê-amarelo e lobeira e de 1 mm para candeia.

Com base nos resultados, foram calculados: porcentagem final de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo entre a germinação de 25% e 75% das sementes viáveis ($U_{75,25}$) e a área abaixo da curva (AUC) (Joosen et al., 2010).

Análise estatística

O experimento foi conduzido para cada espécie em delineamento inteiramente casualizado. Para ipê-amarelo, foi realizado em esquema fatorial duplo 4x2 (4 concentrações x 2 tempos de exposição) e para candeia foi realizado em esquema fatorial duplo 7x3 (7 concentrações x 3 tempos de exposição). As espécies não foram consideradas como um fator nos experimentos.

Foi realizada a análise de variância para todos os experimentos, considerando-se um nível de significância de $p \leq 0.05$. As médias que apresentaram diferença significativa foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, utilizando-se o Software R.

Resultados

Ipê-amarelo

A análise dos dados de germinação das sementes de ipê-amarelo mostrou que não houve diferença significativa quanto a germinação de sementes pré-embebidas nas concentrações de 0, 10, 40 e 100 mM de peróxido de hidrogênio. Entretanto, quando analisado o IVG, verificou-se que as sementes pré-embebidas em solução com concentração de 10 mM apresentaram uma maior velocidade de germinação, onde, sementes incubadas por 48 horas apresentaram um maior IVG em relação aquelas encubadas por 24 horas (Figura 1).

Não houve diferenças significativas entre as concentrações para as variáveis t_{50} , $U_{75,25}$ e AUC. Quanto ao tempo de exposição às soluções de peróxido de hidrogênio, aquelas que ficaram expostas por 48 horas apresentaram menor t_{50} , maior $U_{75,25}$ e não apresentaram diferenças quanto ao AUC (Figura 2).

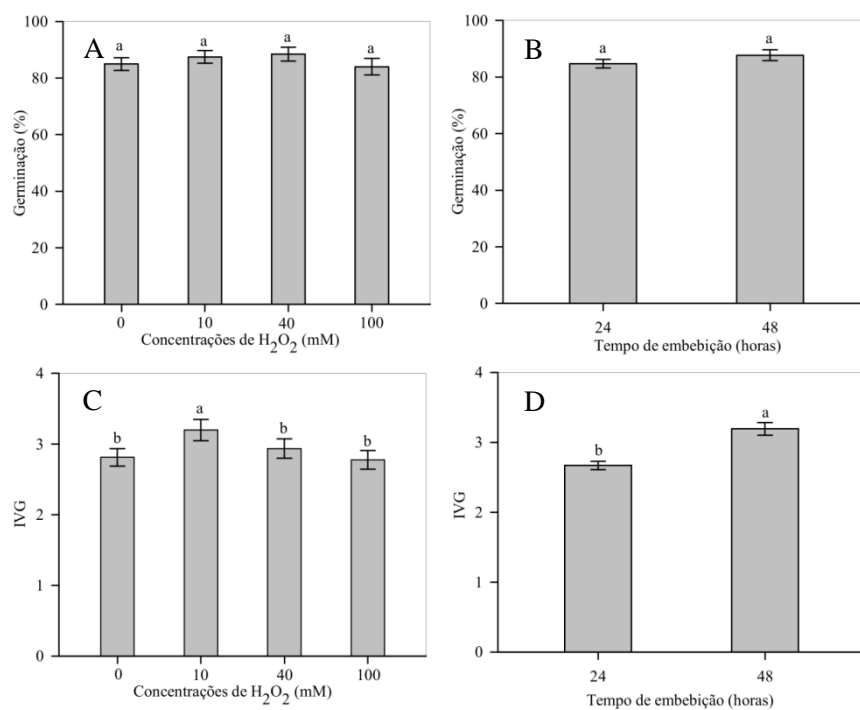


Figura 1 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio na germinação e IVG de sementes de ipê-amarelo. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

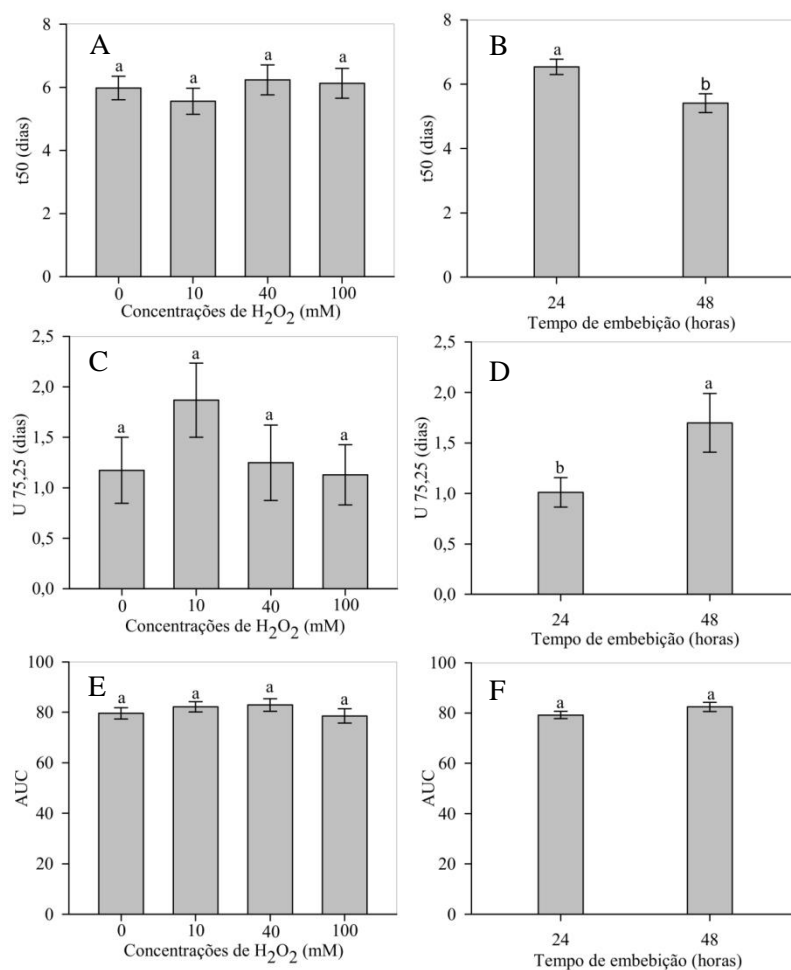


Figura 2 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio no t₅₀, U_{75,25} e AUC de sementes de ipê-amarelo. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott (p<0,05). Barras indicam o erro padrão da média.

Candeia

Através dos resultados obtidos pelo teste F a 5% de probabilidade na análise de variância, foi possível identificar que houve interação entre os fatores concentrações de peróxido de hidrogênio e tempo de exposição em sementes de candeia.

Verificou-se que sementes tratadas nas concentrações 20, 30 e 40 mM por 5 horas apresentaram germinação, IVG e AUC superiores àquelas tratadas nas demais concentrações, sendo que não apresentaram diferenças significativas para as variáveis t_{50} e $U_{75,25}$ (Figura 3). Doses maiores de peróxido de hidrogênio (100 e 150 mM) afetaram negativamente a germinação das sementes de candeia. Quando embebidas por 24 horas nessas soluções houve redução na germinação, IVG, AUC e aumento no t_{50} (Figura 4). Esse comportamento se manteve para sementes tratadas por 48 horas (Figura 5).

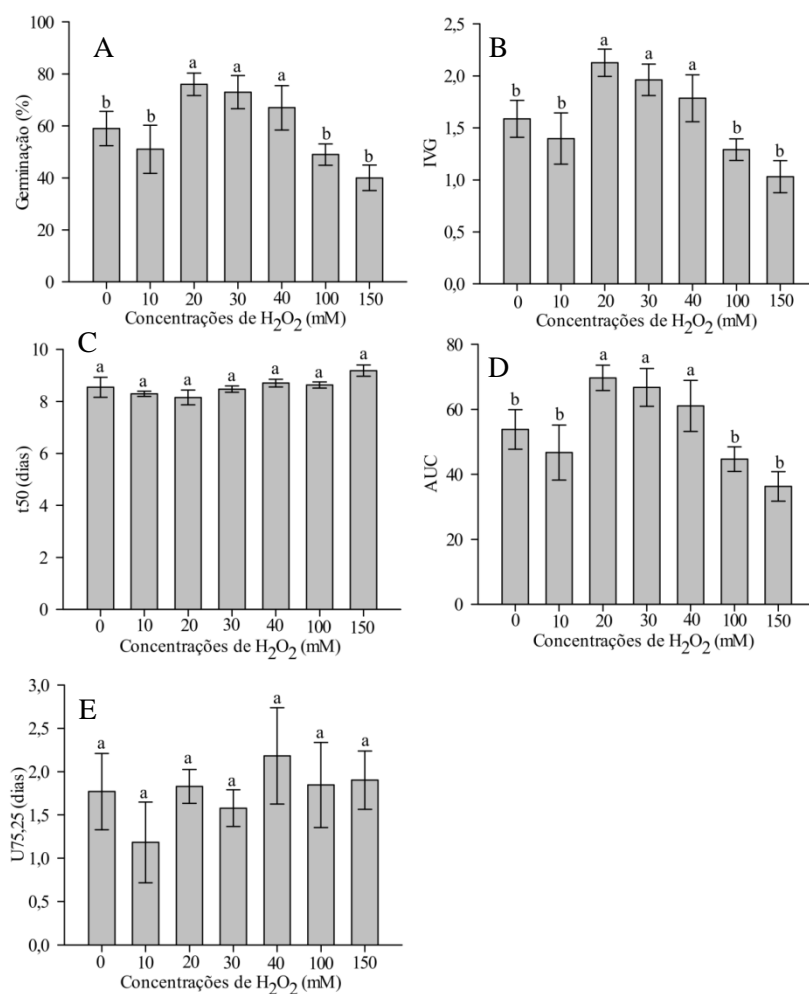


Figura 3 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio na germinação, IVG, t50, U_{75,25} e AUC de sementes de candeia pré-embebidas por 5 horas. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

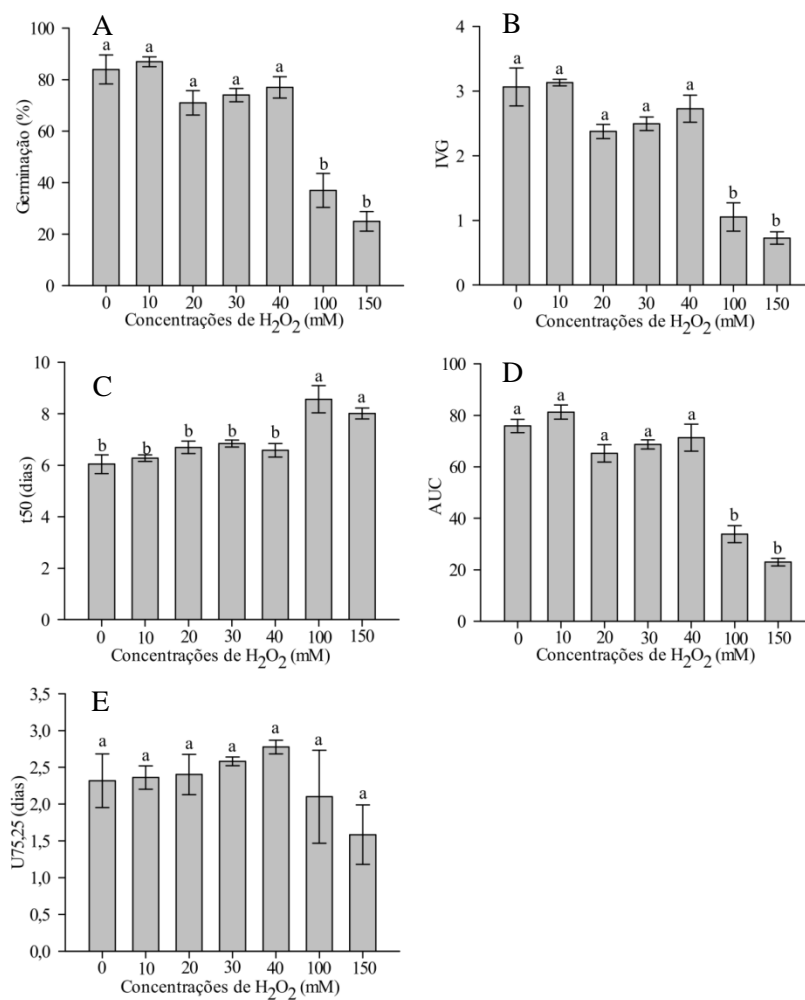


Figura 4 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio na germinação, IVG, t50, U_{75,25} e AUC de sementes de candeia pré-embeidas por 24 horas. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

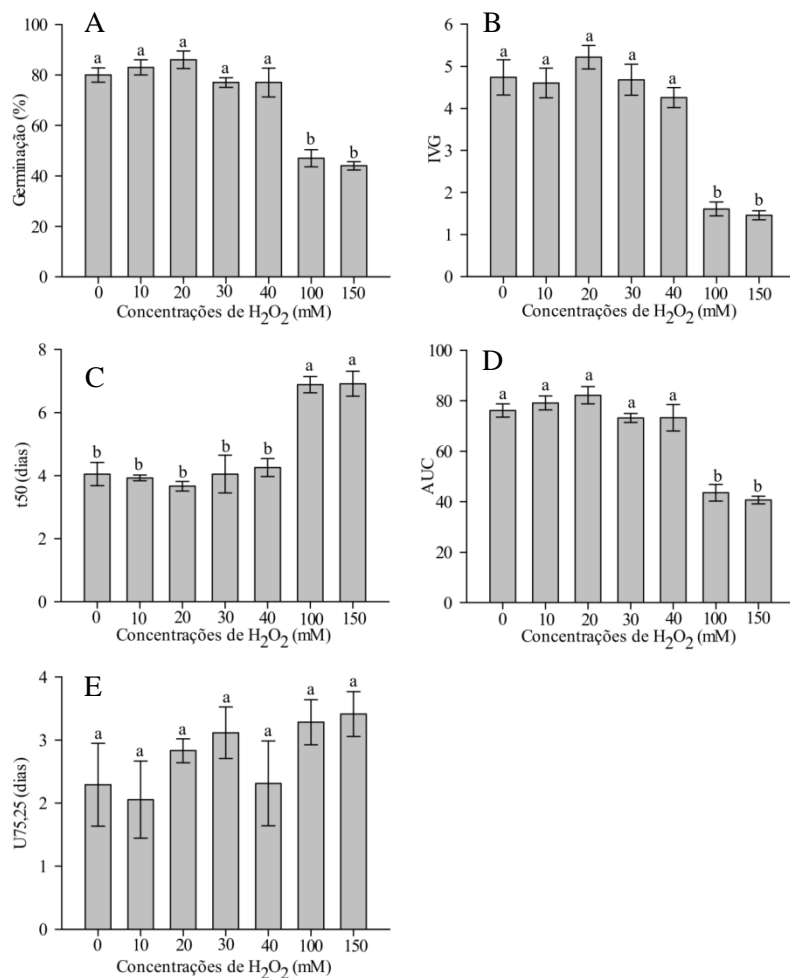


Figura 5 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio na germinação, IVG, t50, U_{75,25} e AUC de sementes de candeia pré-embebidas por 48 horas. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

Quanto ao tempo de embebição, sementes tratadas nas concentrações 0 (controle) e 10 mM apresentaram germinação inferior no tempo de exposição de 5 horas, enquanto na concentração de 150 mM, a porcentagem de germinação

foi inferior no tempo de 24 h, não havendo diferença nos demais. Por sua vez, o IVG foi superior no tempo de 48 horas para sementes tratadas nas concentrações 0, 10, 20, 30 e 40 mM e o t50 apresentou resultado inverso, apresentando valores inferiores nessas mesmas concentrações. Para 100 e 150 mM, não houve diferenças quanto ao IVG, sendo o t50 inferior naquelas embebidas por 48 h. Quanto aos dados de AUC, não houve diferenças entre os tempos 24 e 48 horas nas concentrações 0 e 10 mM, sendo ambas superiores a 5 horas de embebição. Para 150 mM, sementes embebidas por 5 e 24 horas apresentaram desempenho superior aquelas embebidas por 24 horas. Nas demais concentrações não houve diferença significativa entre os tempos de embebição. O $U_{75,25}$ foi superior para sementes embebidas por 48 horas, seguida por aquelas embebidas por 24 horas e por fim as embebidas por 5 horas (Tabela 1).

Tabela 1 - Efeito do tempo de embebição em cada concentração de peróxido de hidrogênio na porcentagem de germinação, IVG, t50, $U_{75,25}$ e AUC em sementes de candeia. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Concentração de H_2O_2 (mM)	Tempo de embebição (horas)	Germinação (%)	IVG	T50 (dias)	AUC	$U_{75,25}$ (dias)
0	5	59 B	1,588 C	8,544 A	53,830 B	1,769 B
	24	84 A	3,065 B	6,044 B	75,881 A	2,319 A
	48	80 A	4,735 A	4,048 C	76,147 A	2,291 A
10	5	51 B	1,398 C	8,296 A	46,724 B	1,183 B
	24	87 A	3,131 B	6,279 B	81,304 A	2,361 A
	48	83 A	4,604 A	3,928 C	79,165 A	2,056 A
20	5	76 A	2,127 B	8,155 A	69,715 B	1,829 B
	24	71 A	2,375 B	6,696 B	65,254 B	2,403 A
	48	86 A	5,217 A	3,665 C	82,192 A	2,831 A
30	5	73 A	1,963 C	8,475 A	66,764 A	1,578 B
	24	74 A	2,494 B	6,844 B	68,726 A	2,582 A
	48	77 A	4,679 A	4,048 C	73,202 A	3,114 A
40	5	67 A	1,785 A	8,705 A	61,096 A	2,182 A
	24	77 A	2,727 A	6,583 B	71,362 A	2,775 A
	48	77 A	4,256 A	4,255 C	73,269 A	2,313 A
100	5	49 A	1,292 A	8,630 A	44,722 A	1,845 B
	24	37 A	1,054 A	8,565 A	33,831 A	2,100 B
	48	47 A	1,608 A	6,886 B	43,549 A	3,281 A
150	5	40 A	1,031 A	9,186 A	36,312 A	1,902 B
	24	25 B	0,727 A	8,015 B	22,961 B	1,585 B
	48	44 A	1,460 A	6,911 C	40,692 A	3,412 A

Lobeira

O lote de sementes de lobeira estudado apresentou baixa germinação e uniformidade (Figura 6), dificultando a análise dos dados encontrados. Com base nos valores encontrados em sementes tratadas nas diferentes concentrações

de peróxido de hidrogênio, não foi possível definir o efeito das mesmas devido a grande variabilidade do lote.

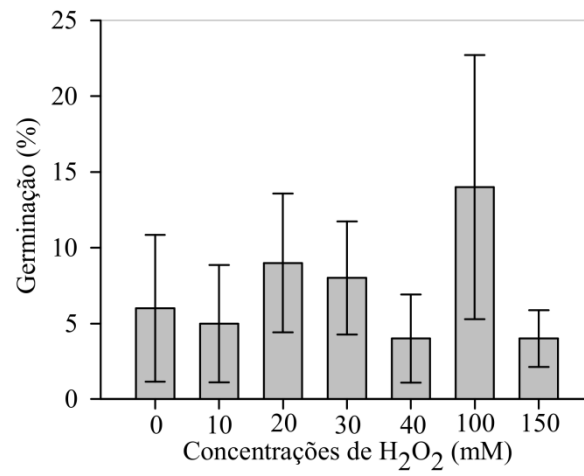


Figura 6 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio na porcentagem de germinação de sementes de lobeira. Barras indicam o erro padrão.

Discussão

Germinação de sementes é um dos mais importantes estágios do ciclo de vida da planta. Esse processo que determinará o sucesso do estabelecimento da planta e o correto desenvolvimento da planta.

Tratamentos pré-germinativos que propiciem a germinação mais rápida e uniforme de sementes florestais estão sendo cada vez mais requisitados, visto a importância do uso dessas para a recuperação de áreas degradadas, uso paisagístico e para o cultivo com fins comerciais. Nesse estudo, foram investigados a resposta fisiológica da pré-embrição de sementes de ipê-amarelo, candeia e lobeira em diversas concentrações de peróxido de hidrogênio em diferentes tempos, através de medidas de germinação, IVG, t50, U_{75,25} e AUC.

H₂O₂ é um agente oxidante que se acumula nas células devido a diversos fatores naturais da planta. Altos níveis de H₂O₂ podem causar danos severos às células, interferindo em diversos processos metabólicos dos vegetais, porém em baixas concentrações, essa molécula pode agir como um sinalizador da germinação e da tolerância ao estresse (Bailly et al., 2008).

A reativação do metabolismo, respiração celular, biogênese de mitocôndrias, reparo do DNA, tradução e degradação de mRNA armazenado, produção de novos mRNA e a mobilização de compostos de reserva são processos chave associados à germinação (Bewley et al., 2013). A reativação do metabolismo por si mesma já pode propiciar uma fonte de espécies reativas de oxigênio, incluindo o H₂O₂ (Bailly, 2004). Além da produção interna da própria semente, o H₂O₂, vem sendo largamente utilizado como um estimulante da germinação.

Em ipê-amarelo e candeia, o tratamento pré-germinativo propiciou um incremento no desempenho fisiológico, demonstrando a eficiência do tratamento, assim como encontrado para diversas outras espécies não florestais.

O efeito positivo da aplicação do peróxido de hidrogênio em sementes tem sido explicado através do fato de que os níveis mais elevados de H_2O_2 nas células ocasionam uma produção de O_2 para a respiração mitocondrial e a atividade do metabolismo (Katzman et al., 2001). Outra explicação é que o H_2O_2 auxilia na superação de dormência tegumentar, permitindo a absorção de água (Chen et al., 1993), que provavelmente não foi o caso do presente estudo. O H_2O_2 também pode contribuir para a decomposição de inibidores da germinação (Ogawa & Iwabuchi, 2001), principalmente no conteúdo de ácido abscísico (Wang et al., 1998; Muller, 2007).

Outros estudos demonstraram que a oxidação seletiva de proteínas e mRNAs pode agir positivamente na regulação da germinação (Barba-Espín et al., 2011; Bazin et al., 2011) principalmente na mobilização de reservas através da modificação de proteínas armazenadas (Verma et al., 2015).

O maior tempo de exposição às soluções apresentou efeito benéfico para ipê-amarelo e candeia, indicando que as baixas concentrações por tempos maiores não causaram danos ao processo germinativo.

Com 5 horas de embebição, sementes de candeia apresentaram melhor desempenho nas concentrações de 20, 30 e 40 mM. He et al. (2009), trabalhando com sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) em condições de estresse hídrico, também encontraram comportamento parecido, onde sementes tratadas na concentração de 80 mM de H_2O_2 apresentaram melhores resultado de peso seco de plântula que aquelas tratadas com 0, 20, 40, 60 100 e 120 mM. Isso pode ter ocorrido devido ao fato que as concentrações mais baixas não foram suficientes

para agirem significativamente nas sementes, enquanto as concentrações mais altas, o efeito tóxico dessa molécula pode ter ocasionado a perda do benefício do tratamento, fazendo com que a germinação se igualasse aos tratamentos com baixas concentrações.

Já quando sementes de candeia foram embebidas por 24 e 48 horas, pode-se observar que um maior tempo de exposição foi suficiente para que as concentrações menores de H_2O_2 pudessem agir sobre as sementes, enquanto as concentrações maiores de 100 e 150 mM, causaram efeito negativo sobre a germinação, IVG, t50 e AUC.

Acredita-se que sementes de lobeira apresentam dormência do tipo fisiológica, ocasionada por altos níveis de ABA e que para que ocorra a germinação devem ser colocadas para germinar em condições de 20-30 °C, com fotoperíodo de 12 horas, porém apresenta baixa germinação mesmo nessas condições (Pinto et al., 2007). Bahin et al. (2011) propõe que o peróxido de hidrogênio age na superação da dormência de sementes de cevada, através da ativação de GAs e inibição da sinalização do ABA, resultando no balanço desses hormônios de forma a propiciar o início do processo germinativo. Entretanto, nas condições que o trabalho foi desenvolvido, não foi possível identificar efeito dos tratamentos com H_2O_2 na superação da dormência nem na germinação da espécie.

Conclusão

O peróxido de hidrogênio não afeta a germinação de ipê-amarelo nas concentrações testadas, entretanto, doses menores (10 mM) afetam a velocidade (IVG) e uniformidade de germinação ($U_{75,25}$).

O tratamento com peróxido de hidrogênio melhora significativamente a germinação de sementes de candeia quando o tempo de incubação é de 5h, nas concentrações entre 20 e 40 mM. Doses maiores (100 e 150 mM) apresentam efeito tóxico.

Sementes de lobeira não respondem ao tratamento com H₂O₂ nas condições que os experimentos foram realizados.

Referências

Bailly, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Volume 14, Issue 02, p. 93 - 107, 2004.

Bailly, C. et al. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**. 331:10, 806–814, 2008.

Barba-espín, G. et al. Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings. **Plant, Cell and Environment**. 33: 981–994, 2010.

Barba-Espín, G. et al. Understanding the role of H₂O₂ during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. **Plant, Cell and Environment**. 34: 1907–1919, 2011.

Bahin, E. et al. Crosstalk between reactive oxygen species and hormonal signalling pathways regulates grain dormancy in barley. **Plant, Cell and Environment**. 34, 980–993, 2011.

Bazin, J. et al. Targeted mRNA oxidation regulates sunflower seed dormancy alleviation during dry after-ripening. **Plant Cell**. 23, 2196–2208, 2011.

Bewley, J. D. et al. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. NY: Springer, 2013.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa /ACS, 399 p., 2009.

Çavusoglu, K. & Kabar, K. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses.

Eurasian Journal of Biosciences. 4, 70-79, 2010.

Chen Z. et al. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. **Science**. 262, 1883–1886. 1993.

Davide, A. C. & Melo, L. A. Produção de mudas de candeia. In: **O manejo sustentável da candeia**. Eds: Scolforo, J. R. S.; Oliveira, A. D.; Davide, A. C. Editora UFLA, 2012.

Davide, A. C. & Silva, E. A. A. **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**. Lavras: UFLA, 2008.

Diaz-Vivancos, P. et al. Elucidating hormonal/ ROS networks during seed germination: insights and perspectives. **Plant Cell Reports**. 32: 1491–1502, 2013.

Figliolia, M. B. **Conservação de sementes de essências florestais**. São Paulo: Instituto Florestal, 1988. 18p. (Boletim Técnico, 42).

Fontaine, O. et al. Dormancy breakage of *Hordeum vulgare* seeds: Effects of hydrogen peroxide and scarification on glutathione level and glutathione reductase activity. **Plant Physiology and Biochemistry**. 32: 677–683, 1994.

He, L., & Gao, Z. Pretreatment of seed with H₂O₂ enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **African Journal of Biotechnology**. 8 (22), 2009.

Joosen, R. V. L. et al. GERMINATOR: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. **The Plant Journal**, 2010.

Katzman, L. S. et al. Seed enhancements to improve spinach germination. **Hort Science**. 36, 979–981, 2001.

Moller, I. M. et al. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**. 58: 459–481, 2007.

Müller, K. et al. A role for reactive oxygen species in endosperm weakening, in **Seeds: Biology, Development and Ecology**, eds S. Adkins, S. Ashmore, and S. Navie (Wallingford: CAB International). 287–295, 2007.

Ogawa K. & Iwabuchi, M. A. Mechanism for promoting the germination of *Zinnia elegans* seeds by Hydrogen peroxide. **Plant Cell Physiology**. 42, 286–291, 2001.

Pinto, L. V. A. et al. Mechanism and Control of *Solanum lycocarpum* Seed Germination. **Annals of Botany** 100: 1175-1187, 2007.

Verma, G. et al. Reactive oxygen species mediate axis-cotyledon signaling to induce reserve mobilization during germination and seedling establishment in *Vigna radiata*. **J. Plant Physiology**. 184, 79–88. 2015

Wang M. et al. Effects of dormancy-breaking chemicals on ABA levels in barley grain embryos. **Seed Science and Research**. 129–137, 1998.

**ARTIGO 2 - EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA
RESPOSTA DE SEMENTES FLORESTAIS DURANTE A
GERMINAÇÃO EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE**

Artigo formatado e Submetido para a revista Pesquisa Florestal Brasileira.

(VERSÃO PRELIMINAR)

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito do tratamento pré-germinativo utilizando soluções de peróxido de hidrogênio sobre a germinação de sementes de ipê-amarelo e candeia em condições de estresse térmico e hídrico. Sementes de ipê-amarelo foram embebidas em soluções de peróxido de hidrogênio nas concentrações 0, 10, 20, 30, 40 e 100 mM, por 48 horas, para o estudo da germinação em estresse térmico e nas concentrações de 0, 10, 40 e 100 mM para o estudo da germinação em estresse hídrico. Sementes de candeia foram embebidas em soluções nas concentrações de 0, 10, 40 e 100 mM, por 5 horas. Para ipê-amarelo, foi realizado em esquema fatorial duplo 6x2 (estresse térmico) e 4x2 (estresse hídrico) e para candeia foi realizado em esquema fatorial duplo 4x2 (estresse térmico). O peróxido de hidrogênio não melhora a germinação e uniformidade de sementes de ipê-amarelo em condições de estresse hídrico e doses de 40 e 100 mM apresentam efeito tóxico. Em condições de estresse térmico, o tratamento não afeta a germinação, porém melhora a uniformidade na dose de 40 mM. O tratamento com peróxido de hidrogênio não interfere na germinação de sementes de candeia em estresse térmico, porém aumenta a uniformidade na concentração de 40 mM.

Palavras-chave: Tratamento pré-germinativo; Espécies reativas de oxigênio; Fisiologia de sementes.

Abstract

The objective in this study was to evaluate the effect of pre-germination treatment with hydrogen peroxide solutions on the germination of ipê-amarelo e candeia seeds in conditions of thermal and water stress. Seeds of ipê-amarelo were soaked in 0, 10, 20, 30, 40 and 100 mM for 48 hours for the study of germination under thermal stress and at concentrations of 0, 10, 40 and 100 mM for the study of germination in water stress. candeia seeds were soaked in solutions at concentrations of 0, 10, 40 and 100 mM, for 5 hours. For ipê-amarelo, it was done in a double factorial scheme 6x2 (thermal stress) and 4x2 (water stress) and for candeia was performed in a 4x2 double factorial scheme (thermal stress). Hydrogen peroxide does not improve the germination and uniformity of ipê-amarelo seeds under conditions of water stress and doses of 40 and 100 mM present toxic effect. Under thermal stress conditions, the treatment does not affect germination, but improves uniformity at the dose of 40 mM. The treatment with hydrogen peroxide does not interfere in the germination of candle seeds in thermal stress, but increases the uniformity in the concentration of 40 mM.

Keywords: pre-germinative treatment. Reactive oxygen species. Seeds Physiology.

Introdução

A maioria das plantas vive em ambientes onde estão constantemente expostas a diversos tipos de estresses abióticos, como extremos de temperatura, salinidade, seca e iluminação excessiva e bióticos, causados por organismos vivos como patógenos (bactérias, fungos, vírus), herbívoros, nematoides, assim como outras plantas, que podem competir por recursos como luz, água e nutrientes, e influenciar consideravelmente em seu crescimento e desenvolvimento (Atkinson & Urwin, 2012; Sharma et al., 2013).

Como são sésseis, as plantas tiveram que desenvolver mecanismos específicos para detectar precisamente as mudanças no ambiente e responder adequadamente ao tipo de estresse em que estão submetidas, minimizando danos e conservando recursos importantes para sua manutenção assim como para reprodução (Rizhsky et al., 2002).

É conhecido que a produção de peróxido de hidrogênio, uma espécie reativa de oxigênio que é gerada a partir do superóxido, que por sua vez tem origem durante processos que envolvam transporte de elétrons como a fotossíntese e a respiração mitocondrial (Bolwell et al., 2002), ocorre normalmente durante a vida da planta, funcionando como um agente sinalizador para diversos processos (Bailly et al., 2008; El-Maarouf-Bouteau & Bailly, 2008) porém, condições fora das ideais para o desenvolvimento podem ocasionar uma alta produção dessa molécula, superior ao metabolismo da mesma na célula, o que ocasiona o estresse oxidativo (Neil et al., 2002).

Quanto aplicado sobre as folhas, o peróxido de hidrogênio pode induzir resistência a seca, salinidade, altas temperaturas e estresse por metais pesados (Hossain et al., 2015). Em sementes, a aplicação de peróxido de hidrogênio tem sido utilizada amplamente como um estimulante do processo germinativo em condições ideais (Barba-Espin, et al., 2010), apresentando melhoria no

desempenho germinativo de muitas espécies, como *Zinia elegans*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Pisum sativum* e *Spinacia oleracea* (Ogawa et al., 2001; Çavusoglu & Kabar, 2010; Wahid et al., 2007; Barba-Espin et al., 2011; Fontaine et al., 1994; Katzman, et al., 2001).

Assim como em ambientes ideais de germinação, sementes pré-embecidas em peróxido de hidrogênio também demonstraram incremento germinativo em condições sub ótimas, como em sementes de trigo, onde sementes que passaram por esse tratamento aumentaram sua resistência ao estresse oxidativo (Wahid et al., 2007; Xu et al., 2011). Em sementes de cevada, o tratamento pré-germinativo com peróxido de hidrogênio ocasionou uma melhora significativa na germinação em condições adversas de temperatura, principalmente aumentando a velocidade de germinação (Çavusoglu & Kabar, 2010).

Apesar dos resultados para diversas espécies, são escassos os trabalhos com espécies florestais nessa linha. Baseado nisso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o do tratamento pré-germinativo utilizando soluções de peróxido de hidrogênio sobre a germinação de sementes de ipê-amarelo e candeia em condições de estresse térmico e hídrico.

Material e métodos

Caracterização do material vegetal e local de estudo

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes de ipê-amarelo e candeia, provenientes de coleta realizada, respectivamente, em outubro de 2015 e 2009, todos na região de Lavras – MG, beneficiados de acordo com as recomendações de cada espécie (Davide & Silva, 2008), secas e armazenadas em armazenadas em câmara fria (5°C), em sacos plásticos.

Pré-embebição em peróxido de hidrogênio

Sementes de ipê-amarelo foram embebidas em soluções de peróxido de hidrogênio nas concentrações 0, 10, 20, 30, 40 e 100 mM, por 48 horas, para o estudo da germinação em estresse térmico e nas concentrações de 0, 10, 40 e 100 mM para o estudo da germinação em estresse hídrico. Sementes de candeia foram embebidas em soluções nas concentrações de 0, 10, 40 e 100 mM, por 5 horas.

O tratamento das sementes de ipê-amarelo foi realizado colocando-se as sementes sobre duas folhas de papel de germinação, acondicionadas em bandejas plásticas, contendo 100 ml da solução de interesse em cada bandeja.

Sementes de candeia foram pré-embebidas nas soluções de peróxido de hidrogênio em placas de Petri, com duas folhas de papel de germinação, contendo 5 ml de por placa. Os recipientes foram vedados com papel filme e incubados nos tempos determinados em germinador do tipo BOD, na

temperatura de 25 °C, no escuro. Após os tratamentos, as sementes foram lavadas rapidamente e colocadas para germinar nas condições de estresse.

As sementes das duas espécies foram colocadas para germinar em condições sub e supra ótimas. Para a germinação das sementes de ipê-amarelo, foram utilizadas temperaturas de 15°C e 25°C e para as sementes de candeia as temperaturas de 10 °C e 35°C.

Para o estudo do efeito do estresse hídrico utilizou-se somente sementes de ipê-amarelo. Para induzir o estresse hídrico as sementes dessa espécie, após pré-embebição em soluções de H₂O₂ foram colocadas para germinar em soluções de PEG nos potenciais de 0, -0,2 e -0,9 MPa, preparadas de acordo com recomendações de Sun (2002).

Avaliações

Para sementes de ipê-amarelo, foram realizadas contagens do número de sementes germinadas a cada 4 dias, e para candeia a cada 2 dias, sendo a contagem final aos 12 dias para ambas espécies. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentavam protrusão radicular de 2 mm para ipê-amarelo e de 1 mm para candeia.

Com base nos resultados, foram calculados: porcentagem final de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo entre a germinação de 25% e 75% das sementes viáveis ($U_{75,25}$) e a área abaixo da curva (AUC) (Joosen et al., 2010).

Análise estatística

O experimento foi conduzido isoladamente para cada espécie em delineamento inteiramente casualizado. Para ipê-amarelo, foi realizado em esquema fatorial duplo 6x2 (6 concentrações x 2 temperaturas) e 4x2 (4 concentrações x 2 potenciais de estresse hídrico) e para candeia foi realizado em esquema fatorial duplo 4x2 (4 concentrações x 2 temperaturas).

Foi realizada a análise de variância para todos os experimentos, considerando-se um nível de significância de $p \leq 0.05$. As médias que apresentaram diferença significativa foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, utilizando-se o Software R.

Resultados

Ipê-amarelo

Ao analisar os dados obtidos pela análise de variância ($p < 0,05$) verificou-se que não houve interação entre os fatores em nenhum dos dados analisados em sementes de ipê-amarelo. Não houve diferença significativa quanto a germinação, IVG, AUC e $U_{75,25}$ em sementes pré-embebidas nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 100 mM de peróxido de hidrogênio. Quanto ao t_{50} , pode-se constatar que as sementes pré-embebidas em solução com concentração de 40 mM, que houve uma redução no tempo para germinação de 50% das sementes, indicando uma germinação mais rápida (Figura 2 A).

Em relação à temperatura de germinação, sementes que foram colocadas para germinar na temperatura de 25°C apresentaram melhor desempenho do que aquelas colocadas na temperatura de 15 °C, apresentando maior porcentagem final de germinação, IVG e AUC, menos no t_{50} e $U_{75,25}$, onde a 15°C a uniformidade de germinação foi maior.

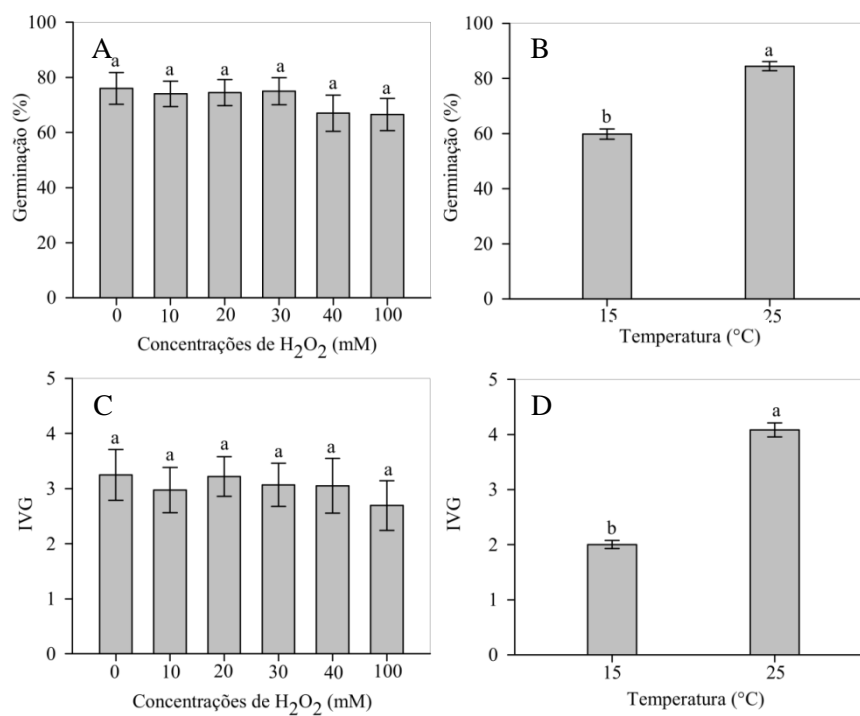


Figura 1 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio e temperatura de germinação na porcentagem de germinação e IVG de sementes de ipê-amarelo. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

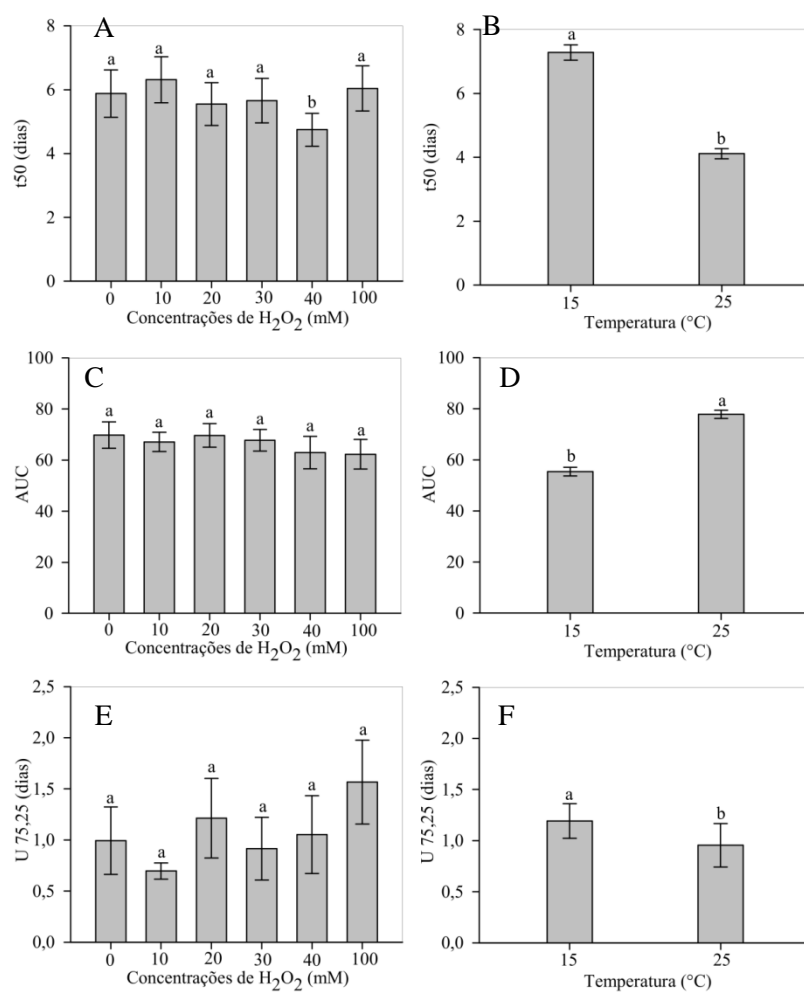


Figura 2 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio e temperatura de germinação no t50, U_{75,25} e AUC de sementes de ipê-amarelo. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

Ipê-amarelo em estresse hídrico

Verificou-se que não houve interação entre os fatores em nenhum dos dados analisados (ANAVA $p < 0,05$) em sementes de ipê-amarelo após tratamento com peróxido de hidrogênio e submetidas ao estresse hídrico.

Não houve diferença significativa quanto a germinação, IVG, AUC e $U_{75,25}$ de sementes pré-embebidas nas concentrações de 0, 10, 40 e 100 mM de peróxido de hidrogênio. Quanto ao t_{50} , pode-se constatar que as sementes pré-embebidas em solução com concentração de 40 e 100 mM apresentaram um valor maior, indicando uma germinação mais lenta (Figura 4 A). Quando analisados os potenciais hídricos de germinação, sementes que foram colocadas para germinar no potencial hídrico de -2 MPa apresentaram desempenho inferior comparado com o controle (germinação em água), representado pelo valor superior em todas as variáveis analisadas, menos em t_{50} , onde não houve diferença significativa. Não houve germinação do potencial de -0,9 MPa, logo os dados não foram adicionados nas análises.

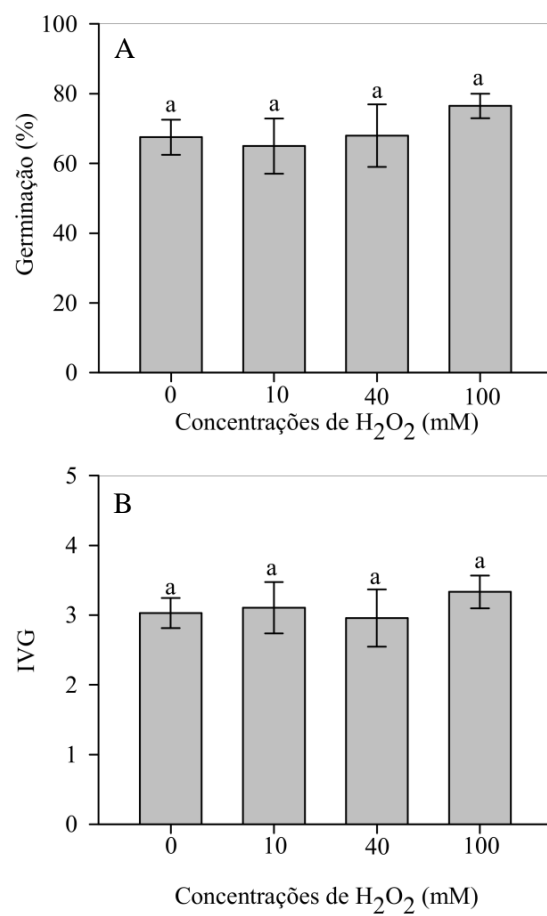


Figura 3 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio na porcentagem de germinação e IVG de sementes de ipê-amarelo germinadas em condições de estresse hídrico. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

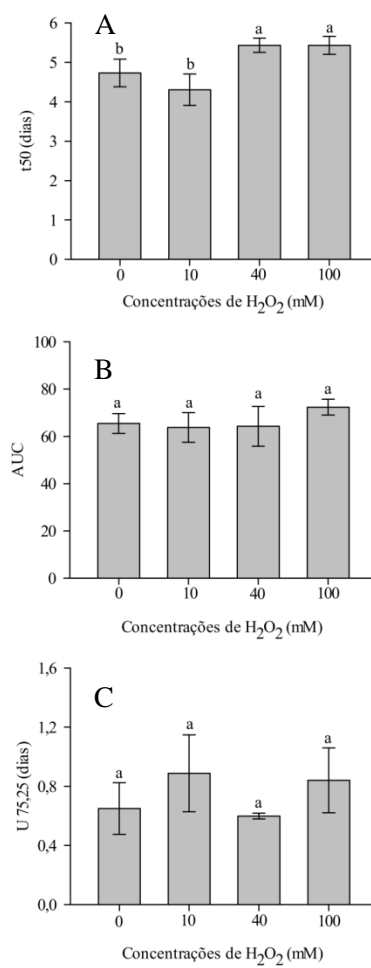


Figura 4 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio na germinação no t50, U_{75,25} e AUC de sementes de ipê-amarelo germinadas em condições de estresse hídrico. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

Candeia

Verificou-se que não houve interação entre os fatores concentrações de peróxido de hidrogênio e tempo de exposição em sementes de candeia durante a germinação (ANAVA $p < 0,05$).

Por outro lado, sementes tratadas na concentração de 40 mM apresentaram IVG superior àquelas tratadas nas demais concentrações (Figura 5 B), sendo que não apresentaram diferenças significativas para a variável germinação, t_{50} , AUC e $U_{75,25}$ (Figura 6).

Quanto a temperatura de germinação, sementes de candeia apresentaram resultados superiores de IVG e $U_{75,25}$ na temperatura de 35 °C, enquanto o t_{50} foi superior na temperatura de 25 °C. Não houve diferença significativa entre as temperaturas na germinação e no AUC.

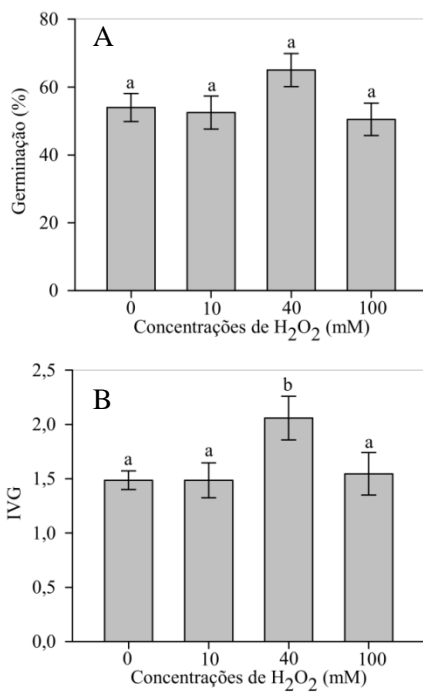


Figura 5 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio na germinação e IVG de sementes de candeia submetidas a temperatura supra ótima de germinação. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

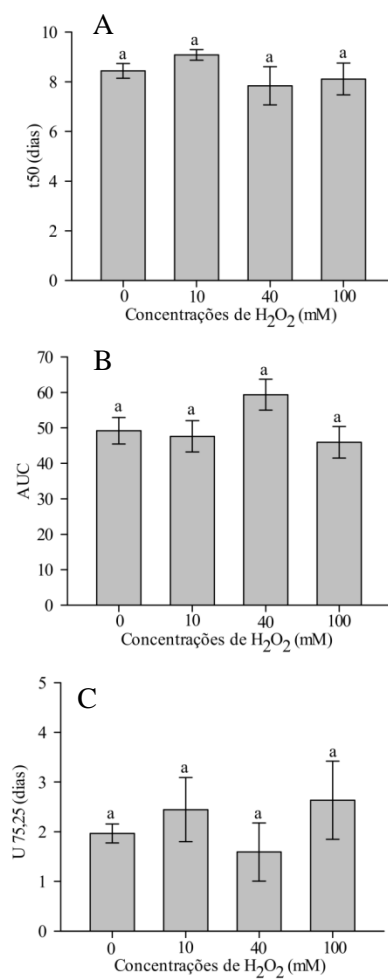


Figura 6 - Efeito das concentrações de peróxido de hidrogênio no t50, U_{75,25} e AUC em sementes de candeia submetidas a temperatura supra ótima de germinação. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Barras indicam o erro padrão.

Discussão

Devido ao fato da germinação ser um processo dependente da diferenciação celular, várias condições ambientais (água, nutrientes, características do solo, temperatura, etc.) podem alterar negativamente a atividade das células. Sendo a fase mais sensível do desenvolvimento da planta, deve-se levar em conta que a exposição a condições de estresse durante esse estágio poderá impactar todo o desenvolvimento da planta (Cahill & McNickle, 2011).

Potenciais osmóticos negativos podem atrasar ou reduzir a germinação e a disponibilidade hídrica necessária para a germinação dependerá de fatores intrínsecos da semente como sua composição química e permeabilidade do tegumento (Verslues et al., 2006). Nogueira et al., (2017) mostraram que sementes de *Mimosa ophthalmocentra* apresentaram redução na germinação em condições de -0,2 e -0,4 MPa, como também foi encontrado por Miranda et al. (2014), em sementes de *Prosopis juliflora*.

Kilic & Kahraman (2016), trabalhando com sementes de cevada em estresse hídrico puderam observar que sementes pré-embebidas em solução de peróxido de hidrogênio na concentração de 30 μM apresentaram um desempenho superior aos demais tratamentos, assim como encontrado no presente trabalho com sementes de ipê-amarelo e candeia em condições de estresse térmico (temperatura supra ótima). Hossain et al. (2015) especulam que os tratamentos que envolvem a embebição de sementes ou a pulverização foliar com H_2O_2 ocasionam um estresse oxidativo em baixo nível, que por sua vez, induz a acumulação de proteínas de defesa, resultando em uma melhor resposta em ambientes de estresse.

A germinação também varia consideravelmente dependendo da temperatura. Uma forte hipótese para tal acontecimento é que em temperaturas

mais altas, há uma maior velocidade de absorção de água e das reações químicas envolvidas no processo germinativo. Temperaturas extremas tendem a afetar negativamente a germinação (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Sementes de ipê-amarelo não apresentaram melhora no desempenho germinativo em ambiente de estresse hídrico após tratamento com H_2O_2 . Essa resposta pode ter ocorrido devido ao fato de que as concentrações de H_2O_2 não foram suficientes para ativar o metabolismo de defesa das sementes, não propiciando ganhos. Houve ainda uma redução no desempenho nas concentrações de 40 e 100 mM, observada através do aumento do t_{50} , indicando que essas concentrações interferiram negativamente na velocidade de germinação das sementes. Por possuir forte capacidade de oxidação, o H_2O_2 em concentrações maiores pode interagir com a maioria das moléculas da semente, ocasionando danos celulares. A peroxidação de lipídeos é uma das principais efeitos tóxicos ocasionados pelo H_2O_2 , porém ácidos nucleicos e proteínas também podem ser alvo da oxidação ocasionada por essa molécula (El-Maarouf-Bouteau & Bailly, 2008), causando danos que podem interferir na germinação das sementes.

A temperatura de germinação interfere diretamente no desempenho das sementes estudadas, independente da concentração de H_2O_2 utilizada. Os resultados encontrados corroboram com os encontrados por Santos et al. (2007) com ipê-amarelo, os quais indicam que a temperatura e o potencial hídrico ideal para a germinação propiciam um melhor desempenho das sementes, por permitirem o pleno desenrolar dos processos metabólicos envolvidos. Por outro lado, os resultados obtidos para candeia, contrastam com os encontrados por Tonetti et al. (2006), onde encontraram que a temperatura ideal para germinação foi de 20-30 °C, possivelmente pelo fato das sementes tratadas com H_2O_2

apresentarem de forma geral um melhor desempenho em temperaturas mais elevadas.

Conclusão

O peróxido de hidrogênio não melhora a germinação e uniformidade de sementes de ipê-amarelo em condições de estresse hídrico e doses de 40 e 100 mM apresentam efeito tóxico. Em condições de estresse térmico, o tratamento não afeta a germinação, porém melhora a uniformidade na dose de 40 mM.

O tratamento com peróxido de hidrogênio não interfere na germinação de sementes de candeia em estresse térmico, porém aumenta a uniformidade na concentração de 40 mM.

Referências

- Atkinson, N. J & Urwin, P. E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. **Journal of experimental botany**. v. 63, n. 10, p. 3523-3543, 2012.
- Bailly, C. et al. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**. 331:10, 806–814, 2008.
- Barba-Espín, G. et al. Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings. **Plant, Cell and Environment**. 33: 981–994, 2010.
- Barba-Espín, G. et al. Understanding the role of H₂O₂ during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. **Plant, Cell and Environment**. 34: 1907–1919, 2011.
- Bolwell, G. P. et al. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. **Journal of Experimental Botany**. 53,1367–1376, 2002.
- Cahill, J. F. & Mcnickle, G. G. The behavioral ecology of nutrient foraging by plants. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**. 42, 289, 2011.
- Carvalho, N.M. & Nakagawa E.J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal, Funep, 2000.
- Çavusoglu, K. & Kabar, K. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. **Eurasian Journal of Biosciences**. 4, 70-79, 2010.
- Davide, A. C.& Silva, E. A. A. **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**. Lavras: UFLA, 2008.
- El-Maarouf-Bouteau, H.& Bailly, C. Oxidative signaling in seed germination and dormancy. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 3, p. 175-182, 2008.
- Fontaine, O. et al. Dormancy breakage of *Hordeum vulgare* seeds: Effects of hydrogen peroxide and scarification on glutathione level and glutathione reductase activity. **Plant Physiology and Biochemistry**. 32: 677–683, 1994.

- Hossain, M. A. et al. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 420, 2015.
- Joosen, R. V. L. et al. GERMINATOR: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. **The Plant Journal**, 2010.
- Katzman, L. S. et al. Seed enhancements to improve spinach germination. **Hort Science**. 36, 979–981, 2001.
- Kilic, S.& Kahraman, A. The mitigation effects of exogenous hydrogen peroxide when alleviating seed germination and seedling growth inhibition on salinity-induced stress in barley. **Polish Journal of Environmental Studies**. v. 25, n. 3, 2016.
- Miranda, R. Q. et al. Germination of *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. seeds at different osmotic potentials and temperatures. **Plant Species Biology**, v.29, p.9-20, 2014.
- Neill, S. et al. Hydrogen peroxide signalling. **Current Opinion in Plant Biology**, 5:388–395, 2002.
- Nogueira, N. W. et al. ‘Jurema-de-embira’ seed germination under water stress and at different temperatures. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 21(4), 244-248, 2017.
- Ogawa, K.& Iwabuchi, M. A Mechanism for Promoting the Germination of *Zinnia elegans* Seeds by Hydrogen Peroxide. **Plant Cell Physiology**, 42(3): 286–291, 2001.
- Rizhsky, L. et al. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. **Plant Physiology**. 130,1143–1151. 2002.
- Santos, D. L. et al. Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich, *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. e *Tabebuia roseo-alba* (Ridl) Sand-Bignoniaceae. 2007.
- Sharma, R. et al. Recent advances in dissecting stress-regulatory crosstalk in rice. **Molecular Plant**. 6, 250–260. 2013.
- Sun, W. Q. Methods for study of water relations under desiccation stress. In: **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Eds.

Black, M.; Pritchard, H. W. Cabi Publishing, Wallingford, Oxon, UK, p. 47-91, 2002.

Tonetti, O. A. O. et al. Qualidade física e fisiológica de sementes de *Eremanthus erythropappus* (DC.) Mac. Leish. **Revista Brasileira de Sementes**. 28(1), 114-121, 2006.

Verslues, P. E. et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stress that affect plant water status. **The Plant Journal**, v.45, p.523-539, 2006.

Wahid, A. et al. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. **Journal of Plant Physiology**. v. 164, n. 3, p. 283-294, 2007.

Wahid, A. et al. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. **Journal of Plant Physiology**. 164, 283-294, 2007.

Xu, F. J. et al. Pretreatment with H₂O₂ Alleviates Aluminum-induced Oxidative Stress in Wheat Seedlings. **Journal of integrative plant biology**. v. 53, n. 1, p. 44-53, 2011.