



TATIANA ARANTES AFONSO VAZ

**EFEITO DO CONDICIONAMENTO
FISIOLÓGICO NA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT
HÍDRICO E NAS CARACTERÍSTICAS
MORFOFISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE
Solanum paniculatum L.**

**LAVRAS-MG
2012**

TATIANA ARANTES AFONSO VAZ

**EFEITO DO CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO NA TOLERÂNCIA
AO DÉFICIT HÍDRICO E NAS CARACTERÍSTICAS
MORFOFISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE *Solanum paniculatum* L.**

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.

Orientador

Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva

Coorientador

Dr. Jessé Marques da Silva Júnior

**LAVRAS- MG
2012**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Vaz, Tatiana Arantes Afonso.

Efeito do condicionamento fisiológico na tolerância ao déficit hídrico e nas características morfofisiológicas de sementes de *Solanum paniculatum* L. / Tatiana Arantes Afonso Vaz. – Lavras: UFLA, 2012.

65 p.: il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Edvaldo Aparecido Amaral da Silva.

Bibliografia.

1. Jurubeba. 2. Osmopríming. 3. Ultraestrutura. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.97379

TATIANA ARANTES AFONSO VAZ

**EFEITOS DO CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO NA
TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO E NAS CARACTERÍSTICAS
MORFOFISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE *Solanum paniculatum* L.**

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 23 de fevereiro de 2012.

Dr. João Almir de Oliveira – DAG-UFLA

Dr. Anderson Cleiton José – DCF-UFLA

Dr. Antonio Claudio Davide – DCF-UFLA

Orientador: Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva

Coorientador: Dr. Jessé Marques da Silva Júnior

**LAVRAS, MG
2012**

*Ao meu Tio Wandinho,
pelo exemplo de alegria e humildade.
À minha avó Mariana
pelo exemplo de força.
Aos meus avós José Antônio e Maria Adília,
pelo exemplo de união.
Dedico*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tanta benção proporcionada, por me dar força e perseverança para realizar este sonho.

Agradeço aos meus pais, Marco Antônio e Luciana, por toda dedicação e apoio incondicional em todos os momentos dessa longa caminhada. Esta conquista é uma maneira especial de agradecer-los por tudo o que fizeram por mim.

Agradeço aos meus irmãos, Gustavo e Bruna, por serem tão especiais e estarem sempre ao meu lado.

Agradeço a toda minha família, avós, tias, tios, cunhados, primos e primas por serem meu exemplo de força, união e dedicação. Agradeço às minhas tias Débora, Renata e Marina pelo apoio “*todo especial*” durante toda a minha vida.

Agradeço imensamente à Universidade Federal de Lavras, ao programa de pós-graduação em Engenharia Florestal e à FAPEMIG pela oportunidade de estudo.

Agradeço ao meu orientador Edvaldo A. Amaral da Silva pela paciência, pelos ensinamentos e principalmente pela confiança na realização deste trabalho.

Ao Prof. Antônio Cláudio Davide por cada palavra de auxílio e conselhos dados nos momentos difíceis e por todas as risadas.

Aos Professores José Márcio Rocha Faria e Anderson Cleiton José pela amizade, conselhos e ótimos momentos de descontração.

Aos meus professores do UNIARAXÁ, José Carlos, Gerê, Tianinha, Danielle, Carlos Manoel e TG meus incentivadores e eternos mestres.

À Janice, Ailton, Ana, Wilson e Olívia pela grande amizade, pelo incondicional apoio profissional e pessoal, pelo companheirismo e principalmente, pela paciência. Agradeço a Deus todos os dias por tê-los colocado em minha vida.

Aos meus queridos amigos Lucas, Antônio, Lorena, André, Giuliana, Cris, Natália, Meire, Diana, Dayane, Dayana, Joell, Kazmi, Bruno, Ezequiel, Túlio, Isaac e Paulo pelo companheirismo.

Ao meu coorientador Jessé Marques da Silva Júnior por dispensar tanto tempo e boa vontade para realização deste trabalho.

Ao Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa especialmente ao Prof. Eduardo Euclides de Lima e Borges e ao técnico Mauro Ferreira, pelo auxílio na realização deste trabalho.

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras pelo suporte técnico na realização das técnicas de microscopia eletrônica.

Ao Departamento de Agricultura em especial à Profa. Maria Laene Moreira de Carvalho pelo importante auxílio.

A todos os estagiários do LSF, especialmente à Michelle, que sempre auxiliam na realização dos nossos experimentos.

A todos aqueles que fazem parte da minha vida e direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

*“Ontem um menino que brincava me falou
Que hoje é semente do amanhã
Para não ter medo que esse tempo vai passar
Não se desespere não, nem pare de sonhar
Nunca se entregue, nasça sempre com as manhãs
Deixe a luz do sol brilhar no céu do seu olhar
Fé na vida, fé no homem, fé no que virá
Nós podemos tudo
Nós podemos mais
Vamos lá fazer o que será”*

Semente do amanhã – Gonzaguinha

RESUMO

O condicionamento fisiológico é um tratamento pré-germinativo utilizado em sementes de grandes culturas com o objetivo principal de acelerar e uniformizar a germinação de lotes. Já se sabe que o condicionamento fisiológico induz o reparo de membranas e macromoléculas, expressão de genes responsivos a diferentes estresses, dá mais robustez aos sistemas antioxidantes, além de outras melhorias. O objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico na tolerância ao déficit hídrico e nas características morfofisiológicas e citológicas de sementes de *Solanum paniculatum*. Para realização do condicionamento das sementes, as mesmas foram acondicionadas em tubos contendo soluções de polietilenoglicol (PEG) 8000 nos potenciais de 0.0, -0.4, -0.8, -1.0, -1.2 e -1.4 MPa e sementes não condicionadas como controle (NC), sendo incubadas na temperatura de 15 °C durante 15 dias em luz constante. A simulação de déficit hídrico foi realizada pelo uso de meio germinativo contendo de soluções de PEG 8000 nos potenciais de 0.0, -0.2, -0.4, -0.6, -0.8 e -1.0 MPa na temperatura de 25 °C e luz constante. Após a conclusão deste teste, o tratamento de condicionamento com melhor desempenho em déficit hídrico foi utilizado para realização dos estudos das alterações morfofisiológicas e histoquímicas das sementes antes e após o condicionamento, sendo utilizadas as seguintes técnicas: microscopia eletrônica de varredura, avaliação histoquímica e quantificação de açúcares. Foi observado que o condicionamento fisiológico nos potenciais de 0.0 (hidrocondicionamento), -0.8, -1.0, -1.2 E -1.4 MPa (osmocondicionamento), aumentaram a porcentagem final de germinação em condições de déficit hídrico de -0,4 MPa em relação às sementes não condicionadas (NC). Todavia, a formação de plântulas normais ocorreu nos tratamentos de -1.0 e -1.2 MPa. Considerando-se estes resultados, o condicionamento a -1.0 MPa foi usado nos estudos de alterações morfofisiológicas e citológicas, antes, durante e após o condicionamento. Foi

observada redução significativa no conteúdo dos açúcares sacarose, rafinose, frutose e estaquiose durante o condicionamento fisiológico. Após o tratamento, as principais alterações encontradas foram: formação de espaços vazios na região micropilar e aumento do espaço intercelular. Redução em número e tamanho de corpos lipídicos e aumento no conteúdo de amiloplastídeos e proteínas.

Palavras chave: Priming. Germinação. Estresse. PEG.

¹Comitê Orientador: Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva – UNESP (Orientador); Dr. Antonio Cláudio Davide – UFLA; Dr. José Márcio Rocha Faria – UFLA; Dr. Anderson Cleiton José - UFLA

ABSTRACT

Priming is a pre-germinative treatment used in crop seeds with the aim to accelerate and allow uniform germination. It is known that priming induces membrane and macromolecules repair, expression of genes linked to different stresses, enhanced the oxidant systems, among other improvements. Thus, the aim in this work was to induce tolerance to water deficit and perform a morphophysiological and cytological studies in *Solanum paniculatum* seeds. During priming treatment the seeds were placed in tubes containing polyethylene glycol (PEG) 8000 solutions with potential of 0.0, -0.4, -0.8, -1.0, -1.2 and -1.4 MPa and no primed seeds (NC), incubated at 15°C during 15 days under continuous light. The water deficit simulation was performed with in the presence of a substratum containing PEG 8000 solutions at the potential of 0.0, -0.2, -0.4, -0.6, -0.8 and -1.0 MPa at 25°C under continuous light. It was observed that priming in the potentials of 0.0 (hydropriming), -0.8, -1.0, -1.2 and -1.4 MPa (osmopriming) increased the final germination percentage in water deficit at -0.4 MPa as compared with control (NC). However, normal seedlings were observed in the treatments with -1.0 and -1.2 MPa. Therefore, -1.0 MPa was used for morphophysiological and cytological studies before, during and after priming. Thus, we found a significant reduction in the sugar content of sucrose, raffinose, stachyose and fructose during priming. After priming, the main changes were: formation of empty areas in the micropylar region and increased intercellular space. There were also reduction in number and size of lipid bodies and increased content of protein and amyloplast.

Key words: Priming. Germination. Stress. PEG

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Germinação acumulada de sementes de *Solanum paniculatum* L. incubadas na temperatura de 25 °C e luz constante 31
- Figura 2.** Porcentagem final de germinação de sementes condicionadas e não condicionadas (NC) de *Solanum paniculatum* L. expostas a diferentes níveis de estresse hídrico 33
- Figura 3.** Porcentagem plântulas normais de sementes condicionadas e não condicionadas (NC) de *Solanum paniculatum* L. expostas a diferentes níveis de estresse hídrico 34
- Figura 4.** Índice de velocidade de germinação de sementes condicionadas e não condicionadas (NC) de *Solanum paniculatum* L. expostas a diferentes níveis de estresse hídrico 35
- Figura 5.** Porcentagem final de germinação (A) e de plântulas normais (B) de sementes condicionadas e não condicionadas (NC) de *Solanum paniculatum* L. expostas aos diferentes níveis de estresse hídrico 36
- Figura 6.** Sementes de *Solanum paniculatum* L. A) Sementes secas B) Corte longitudinal de semente corada com Azul de Toluidina 39
- Figura 7.** Sementes de *Solanum paniculatum* L. antes (A) e após o condicionamento fisiológico a -1,0 MPa incubadas a 15 °C durante 15 dias sob luz constante (B) 40
- Figura 8.** Imagem de microscopia eletrônica de varredura do endosperma micropilar de sementes de *Solanum paniculatum* L. antes (A) e após (B) o condicionamento fisiológico a -1,0 MPa incubadas a 15 °C durante 15 dias sob luz constante..... 42
- Figura 9.** Concentração de oligossacarídeos em sementes de sementes de *Solanum paniculatum* L. durante o condicionamento fisiológico a -1,0 MPa incubadas a 15 °C durante 15 dias sob luz constante 44
- Figura 10.** Corte longitudinal de sementes de *S. paniculatum* L. coradas em solução de Comassie blue para detecção de proteínas 46
- Figura 11.** Cortes longitudinais de sementes de *S. paniculatum* L. corados em solução de lugol para detecção de amido 48

Figura 12. Cortes transversais de sementes de <i>S. paniculatum</i> L. corados em solução Sudan IV para detecção de lipídios	50
Anexo 1. Tabela de comparação de médias para porcentagem final de germinação em déficit hídrico de sementes de <i>Solanum paniculatum</i> L. submetidas ao condicionamento fisiológico	63
Anexo 2. Tabela para comparação de médias de porcentagem final de plântulas normais em déficit hídrico de sementes de <i>Solanum paniculatum</i> L. submetidas ao condicionamento fisiológico	64
Anexo 3. Tabela para comparação de médias de índice de velocidade de germinação em déficit hídrico de sementes de <i>Solanum paniculatum</i> L. submetidas ao condicionamento fisiológico	65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1	Coleta e beneficiamento das sementes	25
2.2	Determinação do grau de umidade	25
2.3	Teste de germinação	25
2.4	Condicionamento fisiológico	26
2.5	Germinação em condições de déficit hídrico	26
2.6	Caracterização morfológica das sementes	27
2.7	Alterações do endosperma após o condicionamento por microscopia eletrônica de varredura	27
2.8	Identificação e quantificação de açúcares durante o condicionamento	28
2.9	Caracterização anatômica e histoquímica após o condicionamento fisiológico	29
2.9.1	Lipídios	29
2.9.2	Proteínas	29
2.9.3	Amido	29
2.10	Análise estatística	30
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
3.1	Teste de germinação	30
3.2	Condicionamento fisiológico e germinação em déficit hídrico	31
3.3	Caracterização morfológica das sementes	38
3.4	Quantificação de açúcares durante o cond. fisiológico	43
3.5	Avaliações histoquímicas	44
4	CONCLUSÕES	51
	REFERÊNCIAS.....	52

ANEXOS.....	63
-------------	----

1 INTRODUÇÃO

No início da germinação até o crescimento da plântula os compostos de reserva são convertidos em metabólitos solúveis que podem ser mobilizados e utilizados para dar suporte ao crescimento e a respiração. Neste período, a plântula deve iniciar a atividade fotossintética antes da exaustão dos compostos de reserva para garantir o sucesso da colonização do ambiente (GRAHAM, 2008). As sementes possuem reservas armazenadas para desempenharem basicamente duas funções: manutenção e desenvolvimento do embrião e estabelecimento da plântula após a germinação, funcionando como fonte de energia para manutenção do metabolismo ou fonte de matéria para síntese dos tecidos vegetais da plântula. As reservas podem ser constituídas de carboidratos, lipídios ou proteínas, variando grandemente dentro e entre espécies e famílias (BUCKERIDGE et al., 2004). De acordo com Marcos Filho (2005) as sementes podem ser classificadas à partir de seu tipo de reserva predominante podendo ser amiláceas (amido), aleuro-amiláceas (amido+proteínas), oleaginosas (lipídios), aleuro-oleaginosas (lipídios + proteínas) ou córneas (reservas celulósicas).

Os carboidratos são a principal fonte de reserva das sementes, são eles a sacarose e os oligossacarídeos da série rafínósica, o amido e os polissacarídeos de parede celular. Dentre estes carboidratos, o amido é o de mais larga ocorrência entre as espécies (BUCKERIDGE et al., 2004). Os carboidratos contêm hidrogênio e oxigênio na mesma proporção que a água, apresentando fórmula geral $(CH_2O)_n$, sendo também conhecidos como hidratos de carbono ou glucídios. Sua função principal é o fornecimento de energia para a retomada de desenvolvimento do embrião durante a germinação. Os cereais e outras

gramíneas são especialmente ricos em carboidratos e armazenam menores quantidades de óleo e de proteínas (MARCOS FILHO, 2005).

O amido constitui a mais importante reserva de nutrição de todas as plantas superiores ocorrendo principalmente em sementes, tubérculos, rizomas e bulbos. Trata-se de substância metabolicamente inativa, armazenada em maiores quantidades nas sementes, principalmente no endosperma de gramíneas e no embrião de algumas leguminosas. É formado a partir de açúcares (principalmente sacarose) translocados para a semente, sendo depositado em organelas celulares derivadas de protoplastídios, denominadas amiloplastos (MARCOS FILHO, 2005).

Os polissacarídeos de reserva de parede celular são classificados, com base em sua estrutura química, em três grupos: os mananos, os xiloglucanos e os galactanos; os mananos são, por sua vez, subdivididos em mananos puros, glucomananos e galactomananos (BUCKERIDGE et al., 2000). Os mananos são cadeias polipeptídicas contendo mais de 90% de manose sem ramificações, podendo os outros 10% contar algumas ramificações de glicose ou galactose. Este composto é insolúvel e precipita-se em água (DEA et al. apud BUCKERIDGE; SANTOS; TINE, 2000). Devido à sua baixa ramificação, os mananos formam cristais na parede celular conferindo grande dureza ao endosperma protegendo o embrião de danos mecânicos. São encontrados principalmente na família *Arecaceae*, em sementes de café (WOLFRON; LAVER; PATIN, 1961), em pimenta (WATKINS et al., 1985) e tomate (GROOT et al., 1988). Em todas as espécies citadas foram confirmadas a ação da endo- β -mananase induzidas por ácido giberélico (GA) e inibida por ácido abscísico (ABA).

Os galactomananos são polissacarídeos compostos por cadeia linear de resíduos de manose unidas por ligações glicosídicas às ramificações de galactose. Estruturalmente são semelhantes aos mananos e ocorrem

principalmente em sementes de espécies pertencentes às famílias Leguminosae, Compositae e Convolvulaceae. A mobilização dos galactomananos ocorre de maneira semelhante a dos mananos, através de hidrólise envolvendo as enzimas α -galactosidase, endo- β -mananase e α -manosidase. A sacarose é o principal produto desta degradação o que segundo Buckeridge et al. (2000), é o açúcar que transportará os produtos da mobilização até o embrião. Juntamente com a degradação dos galactomananos, é observada produção de amido transitório nos cotilédones (BUCKERIDGE; DIETRICH, 1996).

Os oligossacarídeos são carboidratos formados pela conexão de dois a dez monossacarídeos que se separam por hidrólise. Os mais importantes para os seres vivos são os dissacarídeos, formados por dois monossacarídeos. Na maioria deles a ligação química que une os dois monossacarídeos é chamada de ligação glicosídica a qual é formada pela reação entre um grupo hidroxila de um dos açúcares e o carbono anomérico do outro açúcar (MARCOS FILHO, 2005). Os dissacarídeos e oligossacarídeos são comumente encontrados como reserva menores no embrião e em tecidos de reserva extraembrionários; constituem importantes fontes de energia para a respiração durante a germinação e o desenvolvimento inicial da plântula. A sacarose e os oligossacarídeos da série rafínosica são rapidamente degradados a partir do início da germinação, por isso são considerados compostos de reserva, porém, nas sementes ortodoxas fazem o papel de estabilizante de membranas quando a semente se encontra em estado seco (BUCKERIDGE et al., 2004).

Os lipídios são armazenados em organelas específicas denominadas corpos lipídicos. São depositados na forma de triglicerídeos, onde três ácidos graxos estão ligados a um glicerol. São considerados fontes de energia mais eficientes que os carboidratos, exercendo a função de reserva e de constituinte estrutural. A semente possui dois tipos de reservas lipídicas, os lipídios saturados contêm número par de átomos de carbono e não tem ligações duplas,

no entanto, os mais comuns são os insaturados, constituídos de uma ou mais ligações duplas nas cadeias de hidrocarbonetos, podendo assim tomar átomos de hidrogênio de um composto saturado. Durante a germinação, a hidrólise dos triglicerídeos forma glicerol e ácidos graxos, parte destes, são transformadas em açúcares liberando energia para germinação.

Além dos componentes de reserva, os lipídios tem importante função estrutural fazendo parte das membranas celulares, incluindo das organelas. A organização das membranas afeta diretamente todo o metabolismo celular, como a germinação das sementes, dormência, vigor, tolerância à dessecação e o sucesso de técnicas pré-germinativas (MARCOS FILHO, 2005). Mello et al. (2010) afirmam existir uma correlação entre o conteúdo de lipídios e a capacidade das sementes de tolerar o déficit hídrico, usando como base as informações da concentração total de lipídios de sementes ortodoxas (mais alto) e recalcitrantes (mais baixo ou nenhum). O tipo de lipídeo também interfere nesta tolerância, sendo sementes com maior proporção de ácido linolênico mais tolerantes que sementes que possuem principalmente ácidos graxos saturados (BERJAK; PAMMENTER, 2008).

Osbourne apud Buckeridge et al. (2004) desenvolveu um sistema em que as proteínas são classificadas de acordo com sua solubilidade: albuminas – solúveis em água, globulinas – solúveis em solução salina, prolaminas – solúveis em álcool e glutelinas – solúveis em soluções básicas. Atualmente, usa-se a classificação quanto a sua função: de reserva – armazenar nitrogênio, carbono e enxofre; estruturais e metabólicas – essenciais no crescimento e estrutura da semente; e de proteção – que conferem resistência à patógenos ou à estresses ambientais.

Pereira et al. (2010) estudaram a mobilização de reservas de sementes de *Cnidoscolus phyllacanthus*, constataram que a principal reserva armazenada eram lipídios, com presença de alguns corpos proteicos nos cotilédones. A partir

do início da germinação, foi verificada degradação dos lipídios e proteínas e aparecimento de grânulos de amido, evidenciando sua função como composto de reserva secundário. Tozzi e Takaki (2010) analisaram os aspectos histoquímicos da mobilização de reservas de sementes de *Passiflora edulis*. Seus resultados mostraram a presença de lipídios no endosperma que são utilizados como reserva, diminuindo em número e tamanho na medida em que ocorreu o avanço do processo germinativo. Os corpos protéicos foram consumidos antes da protrusão radicular. Assim como Pereira et al. (2010), estes autores também verificaram a síntese de amido temporário podendo ser proveniente da mobilização dos lipídios ou dos compostos da parede celular.

O conhecimento da composição química das sementes assim como seus processos metabólicos é fundamental para o estabelecimento de diretrizes visando sua utilização como fonte de alimento ou preservação das espécies. A variação na composição química das sementes está diretamente relacionada à sua qualidade e ao seu desempenho germinativo tanto em ambiente favorável, como em condições adversas.

O processo germinativo abrange todos os eventos que se iniciam com a embebição de água pelas sementes e terminam com o alongamento do eixo embrionário (BEWLEY; BLACK, 1994). Ainda de acordo com estes autores, a grande maioria das sementes apresenta um padrão de embebição trifásico (3 fases).

A fase I consiste em uma rápida absorção de água devido a reidratação das matrizes protéicas, um processo puramente físico, que leva ao aumento do peso fresco da semente. Ocorre também reparo das mitocôndrias, síntese de proteínas (mRNA pré existente) e reparo do DNA. Nesta fase, a entrada de água nas células das sementes secas resulta em perturbações temporárias na estrutura das membranas, levando a perda de solutos e metabólitos de baixo peso

molecular (BEWLEY; BLACK, 1994; CROWE; CROWE, 1992). Na fase II há estagnação do ganho de peso, porém a absorção de água ainda acontece.

Nesta fase o metabolismo da semente encontra-se ativo, porém não há expansão nem divisão celular. Além dos eventos que ocorrem na fase I, a fase II é marcada pela síntese de novos mRNAs (em detrimento dos estímulos ambientais) e mobilização de reservas armazenadas durante a maturação das sementes.

A fase III é marcada pela protrusão radicular, há pronunciado aumento no peso fresco da semente em decorrência da absorção de grande quantidade de água devido à expansão e divisão celular (BEWLEY; BLACK, 1994).

Estão presentes no embrião, mRNAs pré-formados associados ao processo de maturação das sementes os quais serão usados no início da germinação (COMAI; HARADA, 1990). Os mensageiros que codificam proteínas importantes durante a maturação e subsequente secagem das sementes (ex. *Late Embryogenesis Abundant* – LEAs) são rapidamente degradados ainda na fase I da embebição (JIANG; KERMODE, 1994). Na medida em que o processo germinativo avança (fase II), novos mRNAs são transcritos para manter o metabolismo celular normal, estando estes relacionados, principalmente, à mobilização das reservas armazenadas (BEWLEY; MARCUS, 1990) porém, há também a produção de mRNAs em respostas às condições ambientais (GUAN et al., 2009).

Normalmente, a germinação termina a partir do momento em que as células da radícula se expandem e rompem as estruturas ao seu redor, marcando o início do desenvolvimento da plântula. Neste momento, pouca ou nenhuma divisão celular é observada, atuando apenas a pressão exercida pelo turgor celular para que a expansão aconteça. Também é necessário que as paredes celulares das células do endosperma micropilar estejam enfraquecidas (COSGROVE, 1997; PINTO et al., 2007). A expansão pode ser resultado de um

maior potencial osmótico das células da radícula (em função do acúmulo de solutos durante a germinação), do enfraquecimento da parede celular (enzimas como endo- β -manannase; XET) ou de ambas as situações (BRADFORD, 1995; WU et al., 1994; TOOROP; VAN AELST; HILHORST et al., 1998; PINTO et al., 2007).

Durante a germinação, as sementes estão expostas a diferentes variáveis ambientais, tais como alterações na temperatura, umidade, salinidade, etc. Estas alterações podem ser sentidas pelas sementes na forma de um distúrbio ou estresse. O conceito de estresse em plantas foi definido por Lichtenthaler (1996) como condição ou substância desfavorável que afeta ou bloqueia o metabolismo, crescimento ou desenvolvimento da planta. Para Larcher apud Gaspar et al. (2002), estresse se define pelas mudanças na fisiologia que ocorrem quando as espécies são expostas à condições desfavoráveis que não necessariamente representem riscos à sobrevivência, mas induzem uma resposta de alarme. Apesar de atualmente haver grande interesse em torno do conceito de estresse, pouca atenção tem sido dada para as sementes (BEWLEY, 1997). O estresse pode ser induzido por fatores bióticos, como por exemplo fungos, pragas, insetos; ou por fatores abióticos como temperatura, água, salinidade, metais pesados, etc. (LEVITT, 1972).

Nem sempre o estresse traz resultados deletérios para as sementes, de acordo com Kranner et al. (2010), caso a intensidade e a duração do estresse sejam moderados podem induzir respostas de alarme nas sementes, preparando-as para enfrentar uma condição desfavorável durante a germinação e estabelecimento das plântulas. Para classificar essa intensidade, Lazarus (1966) dividiu em dois tipos: “eustress” e “distress”. As sementes expostas à um “eustress” terão suas funções melhoradas, ou seja, seu metabolismo estará preparado para responder à uma situação de risco mais rapidamente. Já o termo

“distress” se refere a um estresse persistente, que de tão severo, leva à danos irreversíveis e conseqüentemente à morte da semente.

Devido à grande variação na morfologia e fisiologia das sementes existem estímulos que podem ser entendidos de diferentes maneiras. Por exemplo, a secagem durante a maturação é sentida como um “eustress” pelas sementes ortodoxas, induzindo vários mecanismos que as prepararão para sobreviverem em estado seco, como a síntese de osmoprotetores, proteínas LEA, carboidratos, antioxidantes, etc (HOEKSTRA; GOLOVINA; BUITINK., 2001; BUITINK; LEPRINCE, 2004). Entretanto, as sementes recalcitrantes sentem a secagem como um “distress” que leva a um desarranjo estrutural de suas células, perda de solutos, danos oxidativos, entre outros (BERJAK; PAMMENTER, 2008) causando a sua morte.

Os dois tipos de variação ambiental mais críticos para a sobrevivência e reprodução das plantas são umidade e temperatura (ARAUS et al., 2002; CHAVES FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001) especialmente para aquelas que vivem em ambientes sazonalmente secos, como no Cerrado, onde extremos de temperatura e umidade podem ser comuns (SCHWINNING et al., 2004). O estresse hídrico acontece na natureza de maneira gradual e as plantas tolerantes desenvolveram mecanismos para se adaptarem às condições de baixa disponibilidade de água no solo (CHAVES FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001).

De acordo com Kurmar (2005), a seca pode ser definida como o período em que a falta de água afeta o crescimento e produtividade das plantas. Diferentemente dos demais tipos de estresse abiótico (alagamento, altas ou baixas temperaturas, salinidade, etc), a seca não acontece periodicamente em determinadas áreas (com exceção dos climas áridos), sua ocorrência depende da variação climática específica de cada ano, do tipo de solo, fatores antrópicos, dentre outros. Ainda de acordo com o autor, aproximadamente, 84% das terras

cultiváveis mundiais se encontram em áreas sujeitas à secas esporádicas, e tendo em vista o quadro atual de aquecimento global, estima-se que a precipitação média anual diminuirá em 15% , o que torna importante estudos acerca da tolerância à esse tipo de estresse.

Uma característica importante que distingue as plantas dos demais organismos multicelulares complexos é que elas são sésseis, sendo assim, tem que suportar as mudanças ambientais como salinidade, seca, frio etc. (ZHU, 2001). Espécies selvagens, típicas de habitats com severos períodos de seca, desenvolveram mecanismos ao longo dos anos para suportar ambientes cada vez mais extremos. Selecionar estas espécies e explorar seus mecanismos pode levar ao conhecimento de estratégias importantes e ao desenvolvimento de técnicas aplicáveis no melhoramento de espécies que não possuem essas características (FAROOQ et al., 2009). Uma das técnicas utilizadas para estudos acerca de indução de tolerância ao déficit hídrico é o condicionamento fisiológico, apresentando resultados positivos com várias espécies (SOARES, 2009; KAUR; GUPTA, 2002; KAIA et al., 2006; CASENAVE; TOSELI, 2007; PATANE; CAVALLARO, 2008; FRAIZ, 2011).

O condicionamento fisiológico ou priming é um tratamento pré-germinativo aplicado em sementes com o objetivo de controlar a embebição de água (CHEN; ARORA; ARORA, 2010; MARCOS FILHO, 2005; MCDONALD, 2000; BRADFORD, 1986). Dentre as vantagens desse tratamento destacam-se: melhoria da uniformidade da germinação, superação de dormência, e indução de tolerância ao estresse hídrico em sementes e plântulas (CHEN; ARORA; ARORA, 2010; FAROOQ et al., 2009; MARCOS FILHO, 2005; ZHU, 2002; MCDONALD, 2000). Existem vários tipos de condicionamento, dentre eles, o hidrocondicionamento e osmocondicionamento.

O hidrocondicionamento consiste no controle da quantidade final de água disponível durante o processo germinativo. Já o osmocondicionamento é

feito pela exposição das sementes a soluções de potencial osmótico conhecido. As principais substâncias utilizadas são polietilenoglicol (PEG), manitol e sais orgânicos, dentre outros. O polietilenoglicol é muito utilizado por ser inerte, não é tóxico e de fácil manuseio. O condicionamento fisiológico deve durar tempo suficiente para que a semente tenha seu metabolismo ativado sem que haja protrusão da radícula (Marcos Filho, 2005). Este tratamento pode aumentar a tolerância a diversos tipos de estresse em sementes e plântulas, utilizando diversos mecanismos como aumento da atividade de sistemas antioxidantes, acúmulo de osmoprotetores, reparo e síntese de membranas e macromoléculas, dentre outros. (CHEN; ARORA; ARORA, 2010; FAROOQ et al., 2009; PANDITA; ANAND; NAGARAJAN, 2007; BAILLY et al., 2000).

Chiu et al. (1995) verificaram uma melhoria na germinação após o condicionamento fisiológico, possivelmente devido ao reparo das membranas celulares no momento da embebição. Dawidowicz-Grzegorzewska (1997) concluiu que o condicionamento fisiológico permitiu uma uniformização metabólica de sementes de cenoura provenientes de três estádios de maturação diferentes. O autor verificou que as sementes menos desenvolvidas atingiram o tamanho típico das sementes desenvolvidas após seis dias de tratamento. Durante o matricionamento, vários eventos metabólicos pertinentes ao processo germinativo foram ativados, como exceção daqueles relacionados a protrusão da radícula. Toorop et al. (1998) estudaram a relação entre o enfraquecimento do endosperma e a atividade de endo- β -mananase durante o condicionamento fisiológico e a germinação de *Solanum lycopersicon*. Foi encontrada forte correlação entre diminuição da restrição mecânica imposta pelo endosperma micropilar e aumento da atividade da enzimática.

O osmocondicionamento é feito através da exposição das sementes a soluções de potencial osmótico conhecido. As substâncias mais usadas são polietilenoglicol (PEG), manitol, sais orgânicos. O PEG é muito utilizado por ser

uma substância inerte (não será absorvida pelas sementes) e de fácil manuseio. A solução deve apresentar potencial osmótico adequado para evitar a protrusão da radícula, porém ser capaz de estimular as atividades metabólicas que ocorrem nas fases preparatórias do processo de germinação. Este método tem como principal desvantagem a necessidade de aeração artificial, pois a solubilidade do oxigênio é inversamente proporcional à concentração da solução de PEG (BRADFORD, 1986; KHAN, 1992; MARCOS FILHO, 2005).

Em trabalho realizado por Soeda e colaboradores (2005) com sementes de *Brassica oleracea*, foi constatada a expressão de genes relacionados ao início do processo germinativo (ativação de ciclo celular, mecanismo de tradução de sinais, enzimas do metabolismo de carbono, histonas, fatores de transcrição, dentre outros) confirmando que o condicionamento fisiológico ativa mecanismos germinativos, por isso, sementes submetidas a este tratamento germinam mais rápido que sementes não tratadas. Ainda neste estudo, foram encontrados genes relacionados a tolerância ao déficit hídrico após o priming, confirmando os resultados de Gallardo et al.(2000) com sementes de *Arabidopsis thaliana* que encontraram superexpressão de genes de proteínas LEA, desidrinas, e enzimas do sistema antioxidante.

Efeitos positivos do priming são evidentes sob condições de estresse, como já foi demonstrado em alguns trabalhos (EIRA; MARCOS FILHO, 1990; KAUR; GUPTA , 2002; KAIA et al., 2006; CASENAVE; TOSELI, 2007; PATANE; CAVALLARO, 2008). Desta maneira, o condicionamento fisiológico pode ser usado para conferir às sementes resistência ao estresse, melhorando seu desempenho sob condições adversas como, por exemplo, a baixa disponibilidade de água (BRADFORD, 1990; MARCOS FILHO, 2005). Assim, o objetivo neste trabalho foi avaliar os efeitos do condicionamento fisiológico na germinação de sementes de *S. paniculatum* submetidas ao déficit hídrico.

A Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) é uma espécie nativa do Brasil, ocorrendo em todo o território nacional e outras partes da América do Sul. Ela pertence à família Solanaceae, muito importante na área agrônômica e utilizada na produção de alimentos. Inicialmente, a jurubeba era considerada uma erva daninha, porém atualmente seus frutos são amplamente utilizados na produção de reservas, tempero, cachaça, dentre outros (LORENZI; MATOS, 2002; GARCIA et al., 2008).

Esta espécie é um arbusto, de aproximadamente 3 metros de altura, apresentando espinhos por todo o caule e folhas. Suas flores são liláces e seus frutos esféricos de cor verde clara (PANIZZA, 1997; GARCIA et al., 2008). Seu poder medicinal também é bem conhecido, Mesia-Vela et al. (2002) encontraram inibidores de ácidos gástricos em extratos aquosos de flores, folhas e caules, que podem ser usados no tratamento de úlceras. Lorenzi, Matos (2002) recomendam seu uso contra anemia e doenças no fígado. A espécie é recomendada como cicatrizante, para o tratamento de asma, bronquite, febre, etc (SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE, 1999). A jurubeba é uma planta colonizadora, surgindo imediatamente após uma perturbação que cause abertura de clareiras (ARAÚJO et al., 2001). É uma planta resistente a intempéries bióticas e abióticas, vive em solos arenosos e ocupa áreas colhidas, pomares e ao longo de estradas e rodovias (LORENZI; MATOS, 2002).

Segundo Farooq et al. (2009), é necessário conhecer os mecanismos de tolerância de plantas selvagens resistentes ao déficit hídrico para que se possa aprimorar os programas de melhoramento genético de plantas cultivadas. Considerando estes fatores, as características da espécie em estudo e a importância econômica de outras pertencentes à família Solanácea (tomate, batata, pimentão, pimenta, berinjela, dentre outras) o objetivo neste trabalho foi conhecer os efeitos do condicionamento fisiológico na indução de tolerância ao

déficit hídrico e nas características morfofisiológicas de sementes de *Solanum paniculatum* L.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e beneficiamento das sementes

Frutos maduros de *Solanum paniculatum* L. foram coletados de cinco matrizes na região de Lavras, MG (atitude 21° 14' S, longitude 45° 00' W Gr. e 918 m de altitude) no ano de 2009. Em seguida, foram levados ao Laboratório de Sementes Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) onde foram beneficiados. A polpa foi retirada manualmente e passada por peneira sob água corrente para a separação das sementes. As sementes foram secas em temperatura ambiente até atingirem 8% de umidade e armazenadas em câmara fria a 4 °C até o início dos experimentos em fevereiro de 2011.

2.2 Determinação do grau de umidade

A determinação do grau de umidade das sementes foi realizada, utilizando-se quatro amostras de 0,5 g de sementes cada, pelo método de estufa a 107 °C ±2 por 17 horas. Os resultados estão expressos em porcentagem média de umidade (ISTA, 2007).

2.3 Teste de germinação

As sementes foram colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro sobre duas folhas de papel germitest umedecido com 5 mL de água destilada e incubadas na temperatura de 25 °C sob luz constante, utilizando-se quatro

repetições de 25 sementes cada. A germinação foi avaliada diariamente durante 17 dias, usando como critério para sementes germinadas, radículas com 1 mm de comprimento. Foram consideradas plântulas normais àquelas que possuíam radícula, hipocótilo e cotilédones intactos.

2.4 Condicionamento fisiológico

As sementes secas foram acondicionadas em tubos contendo 6 mL de solução de PEG 8000 com potencial osmótico de 0,0; -0,4; -0,8; -1,0; -1,2 e -1,4 MPa e incubadas em germinador do tipo BOD na temperatura de 15 °C durante 15 dias. Para manter a aeração da solução, foi feito um pequeno orifício na tampa dos tubos, e em seguida, os mesmos foram colocados em mixer (Multifunctional mixer modelo MR-II, marca Biomixer) durante todo o período de condicionamento. Após este período as sementes foram lavadas em água corrente durante um minuto.

2.5 Germinação em condições de déficit hídrico

Após o condicionamento fisiológico, as sementes foram submetidas ao teste de germinação em situação de déficit hídrico. Para isso, foram colocadas duas folhas de papel germitest em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, umedecidas com 6 mL de solução de PEG 8000 nos potenciais osmóticos de 0,0; -0,2; -0,4; -0,6; -0,8 e 1,0 MPa. Para manter constante o potencial osmótico do meio germinativo, o substrato (papel germitest e a solução de PEG) foi trocado duas vezes na semana. Foram avaliados porcentagem de germinação (radículas com 1 mm), formação de plântulas normais e índice de velocidade de germinação (IVG), durante 30 dias após a semeadura. Após a realização deste teste, foi escolhido apenas um tratamento para realização dos testes a seguir

usando como critério aquele que apresentou melhor desempenho em déficit hídrico.

2.6 Caracterização morfológica das sementes

Foram observadas as características de cor e forma das sementes, e suas dimensões (comprimento, largura e espessura). Para esta determinação foram utilizadas 60 sementes. Para caracterização do interior das sementes antes e após o condicionamento, foi feito corte longitudinal seguido de observação em lupa. As imagens foram obtidas a partir de câmera digital (Marca Benq, modelo DC E1030).

2.7 Alterações do endosperma após o condicionamento por microscopia eletrônica de varredura

As amostras compostas de 5 sementes foram fixadas em Karnovsky modificado (glutaraldeído 2,5%; formaldeído 2,5% e tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,2, CaCl_2 0,001 M) por pelo menos 24 horas. Após isso, foram transferidas para uma solução de glicerol 30% por meia hora, sendo posteriormente feita a lavagem em água destilada (duas lavagens de 15 minutos). Após isto, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido com posterior criofratura obtida pressionando uma lâmina sobre a amostra congelada.

Preparados os cortes, as amostras foram desidratadas em série crescente de acetona (25, 50, 75 e 100%), por 10 minutos em cada concentração, sendo que as amostras foram mantidas na concentração de 100% por três vezes. As amostras, então desidratadas serão transferidas a um aparelho de ponto crítico modelo (Bal-Tec).

As amostras secas foram montadas em *stubs*, submetidas a um banho de ouro e examinadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) modelo LEO EVO 40 XVP, sendo as imagens registradas em velocidade de 9v.

2.8 Identificação e quantificação de açúcares durante o condicionamento

A identificação e quantificação de açúcares foram realizadas no Laboratório de Sementes Florestais da Universidade Federal de Viçosa (UFV), dividido em duas etapas, a extração dos lipídios totais e de açúcares. Foi coletado 1g de amostra de sementes a cada três dias durante os 15 dias de osmocondicionamento. Após a coleta, as sementes foram secas em estufa com circulação de ar na temperatura de 45 °C por 24 horas. Em seguida, foram maceradas e acondicionadas em cartuchos feitos á partir de papel germitest. Para realizar a extração dos lipídios, foram adicionado 100 mL de Éter de Petróleo ao extrator Soxhlet, onde as amostras permaneceram durante 24 horas. Em seguida, os cartuchos foram retirados do extrator e secos em estufa com circulação de ar a 45 °C por 24 horas.

Para extração dos açúcares, o macerado seco foi colocado em tubos adicionando-se 3 mL de etanol 80%. Em seguida, os tubos foram levados para banho Maria na temperatura de 75 °C por 30 minutos, centrifugados a 10000 rpm por 5 minutos, e o sobrenadante reservado em bécker. Este processo foi repetido quatro vezes para extração total dos açúcares. Após a realização deste processo, os béckeres contendo as soluções de etanol, foram levados para estufa com circulação de ar, na temperatura de 45 °C por 24 horas. Após a secagem, o macerado foi eluído em 10 mL água ultra pura enviado ao Laboratório BioAgro da Universidade Federal de Viçosa para separação e quantificação de sacarose, frutose, rafinose e estaquiose através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-sigla em inglês).

2.9 Caracterização anatômica e histoquímica após o condicionamento fisiológico

Foram separadas cinco sementes após o condicionamento (C) e cinco sementes não condicionadas (NC), foram cortadas manualmente no sentido transversal e/ou longitudinal e em seguida coradas para observação da estrutura geral e compostos celulares: lipídios, proteínas e amido, usando corantes específicos. As imagens foram feitas em microscópio ótico com câmera acoplada, imediatamente após a montagem das lâminas.

2.9.1 Lipídios

Os cortes foram completamente imersos em solução de Sudan IV 10% durante 10 minutos, lavados em etanol 70% e colocados em lâminas contendo solução de água glicerinada.

2.9.2 Proteínas

Para esta avaliação foi usado o corante Comassie Blue, onde os cortes foram imersos durante 10 minutos, lavados em água destilada e colocados em lâmina contendo solução de água glicerinada.

2.9.3 Amido

Para identificação de amido os cortes foram rapidamente imersos em solução de lugol e em seguida, lavados em água destilada e montados em lâminas contendo água glicerinada.

2.10 Análise estatística

Os dados percentuais foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk e se constatada ausência de normalidade ($p > 0,05$) os mesmos foram convertidos ao arco seno da $\sqrt{x}/100$. Dados normais (ou normalizados) foram analisados através da análise de variância e quando constatada diferença entre os tratamentos pelo teste F, foi realizado teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (dados qualitativos) ou análise de regressão (dados quantitativos). Dados não normalizados mesmo após a conversão foram analisados por meio de modelos lineares generalizados (GLM) e quando constatado diferença entre os tratamentos pelo teste Chisq realizou-se o teste de Tukey e análise de regressão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teste de germinação

Após 2 anos de armazenamento em câmara fria, as sementes de *S. paniculatum* apresentaram 8% de conteúdo de água. O teste de germinação teve duração de 17 dias com porcentagem final de germinação de 99% (Figura 1), sendo que todas as sementes germinadas resultaram em plântulas normais, a germinação das sementes iniciou ao sétimo dia após a semeadura. Assim como outras Solanáceas, *S. paniculatum* aparentemente, possui dormência devido ao endosperma rígido, necessitando de seu enfraquecimento para que a germinação ocorra. Este fato foi observado por Pinto et al. (2007) com sementes de *Solanum lycocarpum* St. Hil. e por Toorop, Van Aelst; Hilhorst (1998) com sementes de *Lycopersicon esculentum*. Espécies de outras famílias também passam por este processo de enfraquecimento do endosperma, como sementes de *Coffea arabica* (da SILVA et al., 2004), e *Genipa americana* (QUEIROZ et al., 2012) O enfraquecimento da parede celular das células do endosperma ocorre devido à

ação de algumas enzimas como endo- β -mananase, α e β -galactosidade, α -xilosidase, dentre outras (BUCKERIDGE et al., 2000).

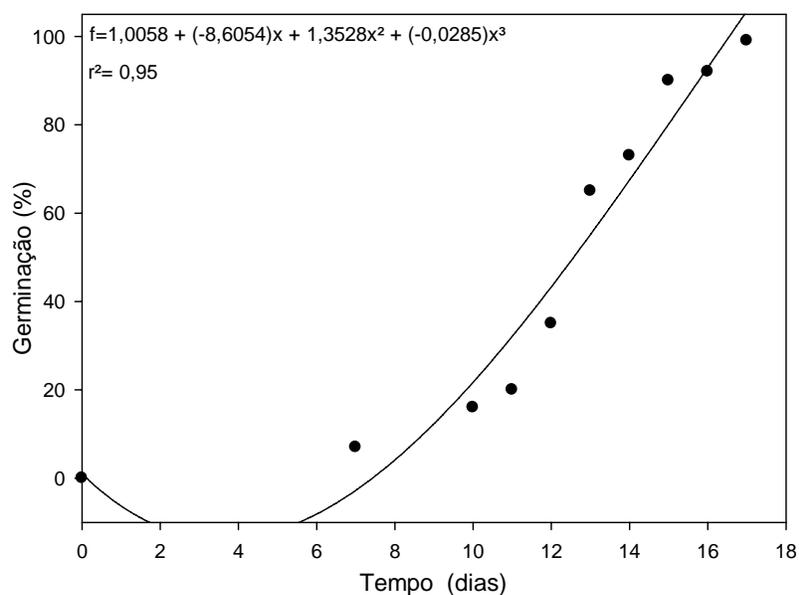


Figura 1: Germinação acumulada de sementes de *Solanum paniculatum* L. incubadas na temperatura de 25 °C e luz constante.

3.2 Condicionamento fisiológico e germinação em déficit hídrico

Na figura 2 observa-se que todos os tratamentos proporcionaram o mesmo comportamento das sementes quanto à porcentagem final de germinação em relação ao potencial osmótico do meio germinativo. Em água (0,0 MPa) e no meio germinativo de potencial -0,2 MPa a porcentagem final de germinação atingiu os maiores valores (acima de 90%) tanto para as sementes condicionadas quanto para as sementes NC. A partir daí, à medida que o potencial osmótico do meio germinativo diminuiu houve queda gradativa na porcentagem final de germinação chegando a zero nos meios germinativos com potencial osmótico de -0,8 e -1,0 MPa. Apenas as sementes condicionadas no potencial de -1,4 MPa

apresentaram comportamento diferente, não apresentando manutenção da porcentagem final de germinação no meio germinativo de potencial $-0,2$ MPa. A figura 3 apresenta porcentagem de plântulas normais de cada tratamento de condicionamento em função do potencial osmótico do meio germinativo, nota-se que estes dados apresentam o mesmo comportamento dos dados de porcentagem final de germinação.

Os dados de índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes condicionadas e não condicionadas (NC) apresentaram queda gradativa à medida que o potencial osmótico do meio germinativo diminui estabilizando-se em zero a partir do potencial de $-0,8$ MPa (Figura 4).

Esta queda na porcentagem final de germinação, de plântulas normais e IVG em função da diminuição do potencial osmótico do meio germinativo já foi constatada por outros autores. Souza et al. (2011) condicionaram sementes de *Physalis angulata* (Solanácea) no potencial osmótico de $-1,2$ MPa e as submeteram ao estresse salino. Estes autores observaram diminuição da porcentagem final de germinação e IVG na medida em que o potencial osmótico do meio germinativo (salino) se tornou mais negativo, tanto para as sementes submetidas ao condicionamento quanto para as sementes do grupo controle. Jeller et al. (2003) estudaram os efeitos do osmocondicionamento nos potenciais de $0,0$, $-0,2$, $-0,4$ e $-0,6$ MPa em sementes de *Cassia excelsa* submetidas ao déficit hídrico e observaram redução na germinabilidade das sementes em função da diminuição do potencial do meio germinativo. Outros autores também verificaram este comportamento ao submeter sementes condicionadas ou não ao déficit hídrico como Soares (2009) em sementes de *Eremanthus erythropapus*, Fraiz (2011) em sementes de *Eucalyptus grandis*, Patané e Cavallaro (2009) em sementes de *Sorghum bicolor*, Kaya e Ocku (2006) em sementes de *Helianthus annuus* e Chen, Arora e Arora (2010) em sementes de *Spinacea oleracea*.

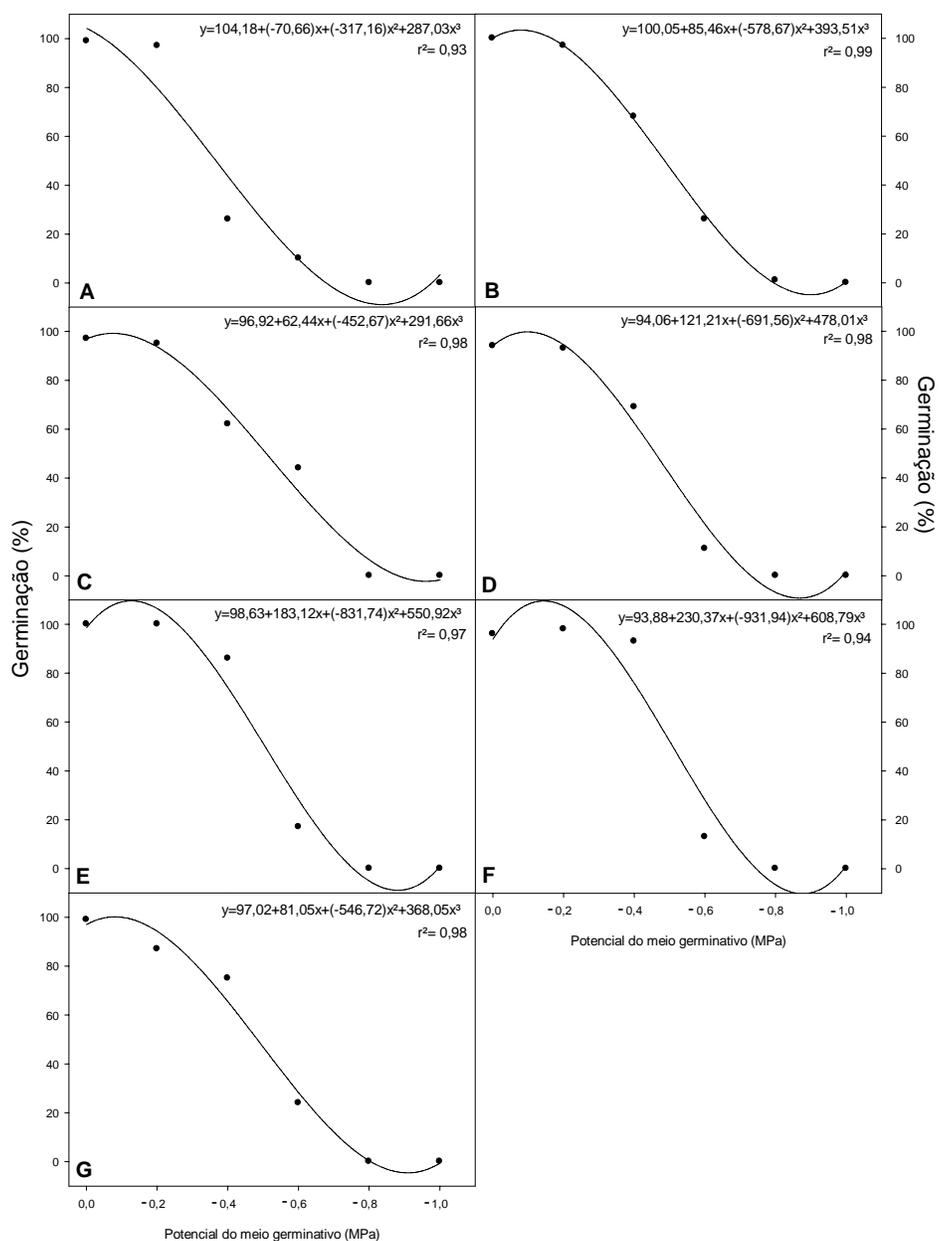


Figura 2. Porcentagem final de germinação de sementes condicionadas e não condicionadas (NC) de *Solanum paniculatum* L. expostas a diferentes níveis de estresse hídrico. A) NC (sementes não condicionadas). B) 0,0 (hidricondicionamento). C) Condicionadas em -0,4 MPa. D) Condicionadas em -0,8 MPa. E) Condicionadas em -1,0 MPa. F) Condicionadas em -1,2 MPa. G) Condicionadas em -1,4 MPa.

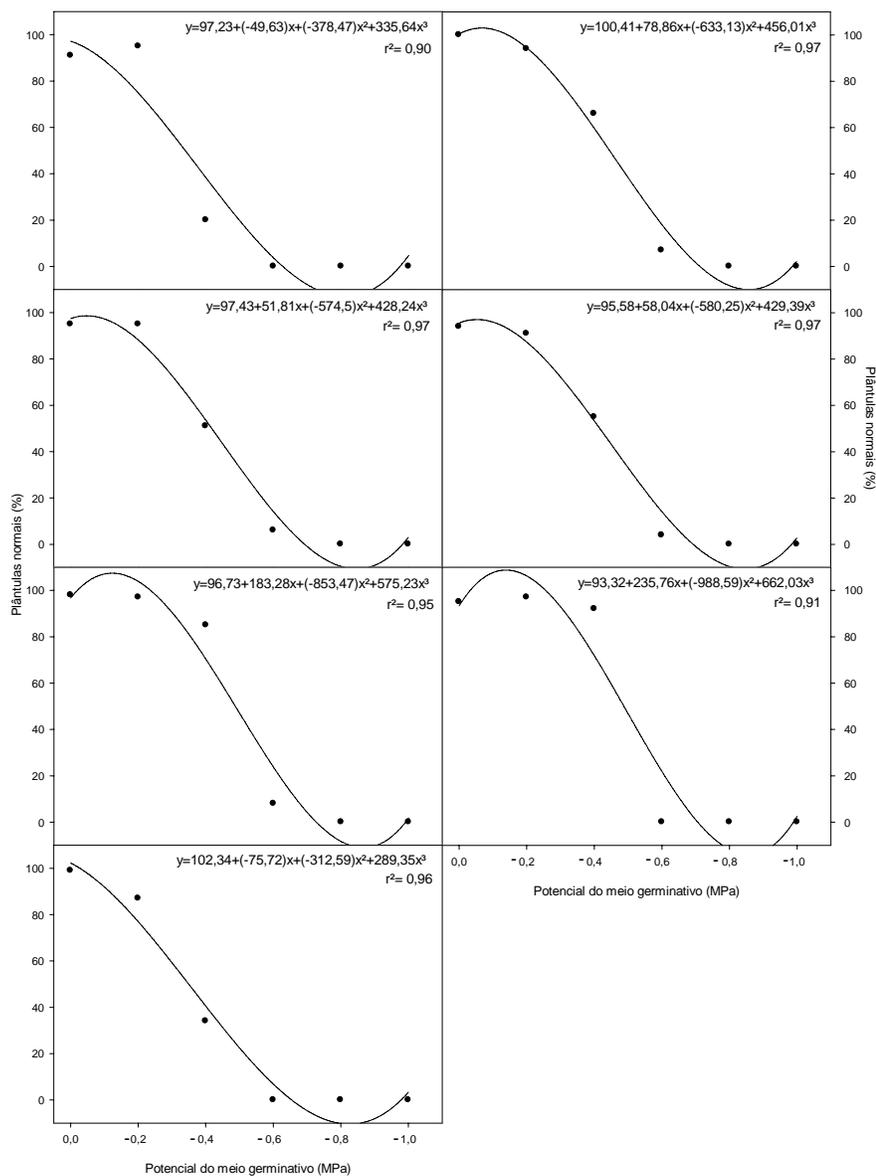


Figura 3. Porcentagem plântulas normais de sementes condicionadas e não condicionadas (NC) de *Solanum paniculatum* L. expostas a diferentes níveis de estresse hídrico. A) NC (sementes não condicionadas). B) 0,0 (hidricondicionamento). C) Condicionadas em -0,4 MPa. D) Condicionadas em -0,8 MPa. E) Condicionadas em -1,0 MPa. F) Condicionadas em -1,2 MPa. G) Condicionadas em -1,4 MPa.

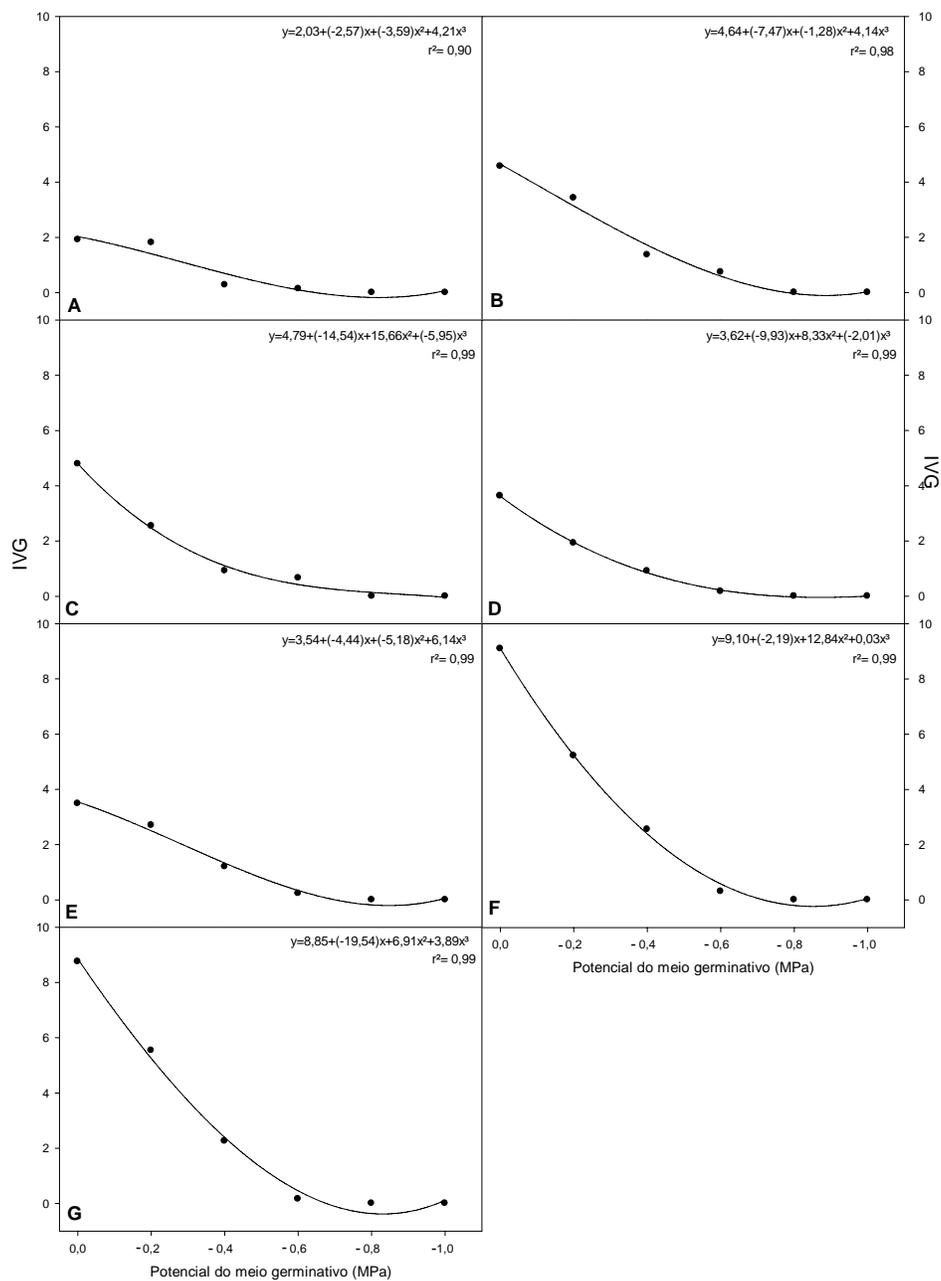


Figura 4. Índice de velocidade de germinação de sementes condicionadas e não condicionadas (NC) de *Solanum paniculatum* L. expostas a diferentes níveis de estresse hídrico. A) NC (sementes não condicionadas). B) 0,0 (hidricodicionamento). C) Condicionadas em -0,4 MPa. D) Condicionadas em -0,8 MPa. E) Condicionadas em -1,0 MPa. F) Condicionadas em -1,2 MPa. G) Condicionadas em -1,4 MPa.

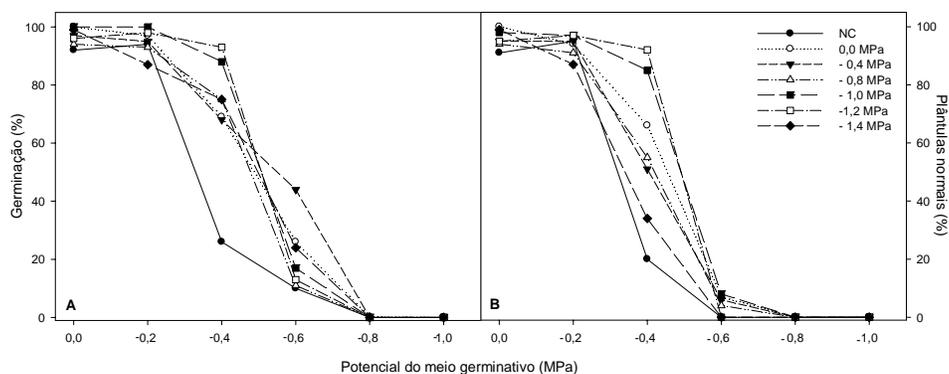


Figura 5. Porcentagem final de germinação (A) e de plântulas normais (B) de sementes condicionadas e não condicionadas (NC) de *Solanum paniculatum* L. expostas a diferentes níveis de estresse hídrico.

Ao avaliar o desempenho germinativo das sementes em situação de déficit hídrico (figura 5-A) observa-se que em estresse hídrico leve (-0,2 MPa) o comportamento das sementes é semelhante (condicionadas e NC), não havendo perda de germinação. A diferença no desempenho dos tratamentos inicia-se a partir do momento em que o potencial do meio germinativo diminui, caracterizando uma situação de estresse hídrico moderado (-0,4 e -0,6 MPa). No meio germinativo com potencial osmótico de -0,4 MPa nota-se que todos os tratamentos de condicionamento apresentaram porcentagem final de germinação superiores aos das sementes NC. Os tratamentos de hidrocondicionamento (0,0 MPa), -0,8, -1,0, -1,2 e -1,4 MPa apresentaram germinação estatisticamente superior que as sementes NC e condicionadas a -0,4 MPa (Anexo 1).

Apesar da maioria dos tratamentos terem se mostrado eficientes em aumentar a porcentagem final de germinação das sementes em estresse hídrico moderado (-0,4 MPa), para formação de plântulas normais isto não ocorreu. De todos os condicionamento testados, apenas os tratamentos de -1,0 e 1,2 MPa apresentaram formação de plântulas normais significativamente superior em relação ao demais tratamentos e ao controle (Figura 5-B e Anexo 2). Em estresse

hídrico severo (-0,8 e -1,0 MPa) não houve germinação, e portanto nem formação de plântulas normais. Tendo em vista estes resultados, o tratamento de condicionamento de -1,0 MPa à 15 °C durante 15 dias com 12 horas de fotoperíodo foi utilizado para as avaliações morfofisiológicas, citológicas e bioquímicas que acontecem antes, durante e após o condicionamento fisiológico de sementes.

As médias de IVG apresentaram diferença significativa ao comparar as sementes NC com as condicionadas (Anexo 3). O fato de as sementes condicionadas apresentarem maior atividade metabólica devido à sua alta umidade antes da semeadura colabora com o aumento da velocidade de germinação ao compará-las às sementes NC, que apresentavam umidade em torno de 8%.

Os possíveis efeitos benéficos do condicionamento fisiológico que levaram às sementes de *Solanum paniculatum* a tolerar déficit hídrico, podem estar associados expressão de determinados genes. Alguns eventos estão presentes durante o priming, dentre eles a síntese e reparo de DNA e proteínas, como por exemplo, a indução de genes ligados à síntese de catalase, enzima que participa do combate ao estresse oxidativo diminuindo os danos celulares. A expressão de genes relacionados às proteínas com atividade de chaperonas também foram observados após o condicionamento de sementes de *Arabidopsis thaliana*, estas proteínas participam da manutenção estrutural, e conseqüentemente funcional, de outras proteínas importantes para manutenção do processo germinativo (GALLARDO et al., 2001).

Cortez-Baheza et al. (2008), verificaram o aumento da expressão de proteínas LEA em função do tratamento com ácido giberélico (GA) com condicionamento em PEG em sementes de *Capsicum annuum*, estas proteínas estão relacionadas a aquisição de tolerância à dessecação em sementes ortodoxas, porém, sua função ainda não está bem definida (WISE, 2003).

Soeda et al. (2005) verificaram um declínio nos níveis de RNA do grupo das proteínas LEA durante a germinação de sementes de *Brassica oleraceae* em água, evento ocorrido em menor escala durante o osmocondicionamento. Estes autores ainda verificaram que sementes osmocondicionadas apresentaram diminuição do conteúdo de RNA relacionado à genes que conferem dormência às sementes, favorecendo a sua germinação. Outra característica importante induzida pelo condicionamento fisiológico é a melhoria dos sistemas antioxidantes.

Rouhi et al. (2011) estudando sementes de *Trifolium alexandrinum* após o condicionamento fisiológico, encontraram incremento significativo de importantes enzimas (SOD, catalase e peroxidase) atuantes nos sistemas antioxidantes das células.

Outros autores também reportaram melhoria nestes sistemas após o condicionamento dentre eles Chen, Arora e Arora (2010) em sementes de *Spinacea oleracea*; Bailly et al. (2000) em sementes de *Helianthus annuus* e El-Arabi e Hegazi (2004) em sementes de *Lycopersicon esculentum*. Assim, espera-se que estes resultados levem, no futuro, a identificação de genes associados com tolerância a déficit hídrico. Estes genes poderão ser utilizados no aprimoramento da qualidade de sementes de espécies de importância econômica, pertencente a família Solanaceae.

3.3 Caracterização morfológica das sementes

As sementes de *S. paniculatum* são ovaladas e achatadas, possuem tegumento amarelo claro, endosperma rígido e embrião classificado como tipo VI (encurvado) (Figura 6) de acordo com Nonogaki (2006). Seu endosperma é rígido, o que já foi constatado em outras espécies da família Solanaceae (PINTO et al., 2007; TOOROP; VAN AELST; HILHORST et al., 1998). As sementes

apresentam média de comprimento, largura e espessura de 2.48, 1.93 e 0.58 mm com desvio padrão de 0.14, 0.13 e 0.04, respectivamente. O peso de mil sementes é de aproximadamente 1,62 g.

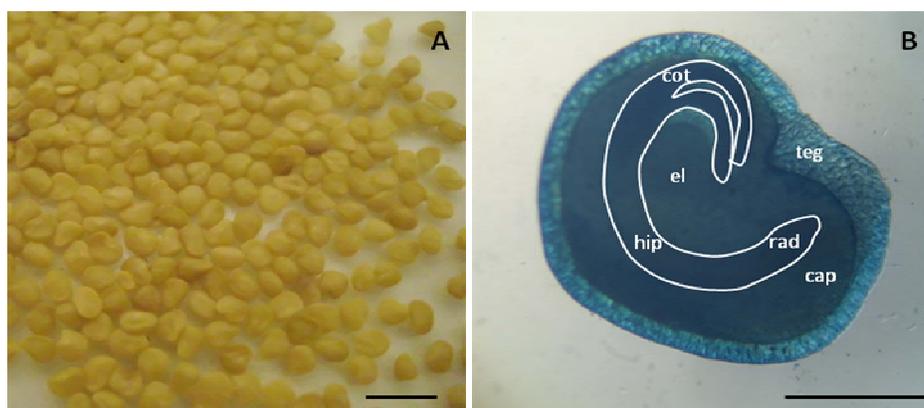


Figura 6. Sementes de *Solanum paniculatum* L. A) Sementes secas B) Corte longitudinal de semente corada com Azul de Toluidina destacando as seguintes estruturas: cotilédones (cot), endosperma lateral (el), hipocótilo (hip), radícula (rad), endosperma micropilar (cap) e tegumento (teg). Barra da figura 1ª indica 5 mm, barra da figura 1B indica 1 mm.

Observou-se a formação de espaço livre na região micropilar do endosperma após o condicionamento fisiológico em todas as sementes levadas ao microscópio de luz (Figura 7). Em estudo sobre as mudanças no endosperma de sementes de *L. esculentum* submetidas ao condicionamento fisiológico, Liu et al. (1993) verificaram que após o tratamento os espaços livres no endosperma aumentaram significativamente em diferentes partes das sementes, normalmente ao redor da radícula e cotilédones. Dawidowicz-Grzegorzewska (1996) também verificou consumo de reservas no endosperma micropilar após o matricionamento em sementes de cenoura. Esta ocorrência pode estar relacionada à aceleração da germinação, mobilizando reservas e facilitando a embebição (ARGERICK; BRADFORD apud LIU et al., 1993; DAWIDOWICZ-GRZEGORZEWSKA, 1996; GALLARDO et al., 2001).

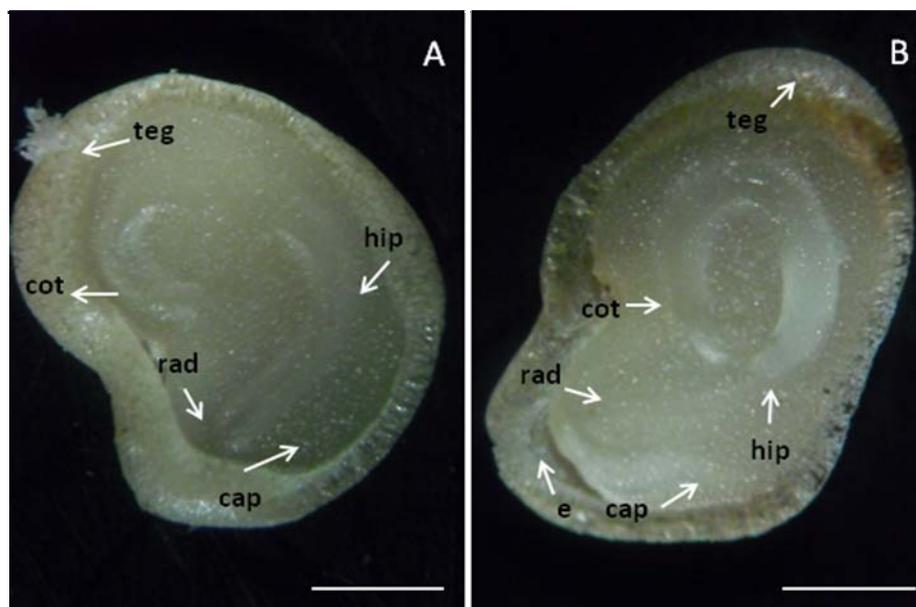


Figura 7: Sementes de *Solanum paniculatum* L. antes (A) e após o condicionamento fisiológico à -1,0 MPa incubadas à 15 °C durante 15 dias sob luz constante (B). Em destaque na imagem os cotilédones (cot), tegumento (teg), radícula (rad), endosperma micropilar (cap), hipocótilo (hip) e espaço formado após o condicionamento fisiológico (e). Barras indicam 1 mm.

Ao observar as sementes em microscópio eletrônico de varredura, verificou-se que após o condicionamento fisiológico as reservas lipídicas se encontram com aspecto degradado (Figura 8). Isto se deve ao fato que durante o condicionamento houve mobilização de compostos armazenados e seus produtos provavelmente usados nos mecanismos de reparo de danos celulares e no fornecimento de energia para continuação do processo germinativo (HEYDECKER; HIGGINS; GULLIVER, 1973; KHAN, 1992). Durante a mobilização, os corpos lipídicos sofrem pequenas alterações em seu tamanho à medida que a degradação ocorre (BEWLEY;BLACK, 1994) essa redução de tamanho pode ser observada na figura 8. Ainda é possível observar o aumento em número de amiloplástideos na região micropilar, este evento é característico de sementes com alto conteúdo de lipídios, uma vez que através da

gliconeogênese há metabolização e acúmulo de amido transitório em alguns tecidos da célula (BUCKERIDGE et al., 2004).

Também se notou que as paredes celulares perderam seu formato poligonal e adquiriram um aspecto mais arredondado (Figura 8), este afrouxamento levou à formação de espaços intercelulares, provavelmente as células estão se contraindo devido a mobilização das reservas da parede celular. Em algumas Solanaceas, o galactomanano é o principal composto de parede celular, dentre elas, *Solanum lycocarpum* (DAVIDE; SILVA, 2008) e *Solanum lycopersicon* (BUCKERIDGE et al., 2000). Em paralelo com a degradação do galactomanano, o amido transitório é produzido nos cotilédones (BUCKERIDGE; DIETRICH, 1996), neste trabalho foi observado após o condicionamento fisiológico, o acúmulo de amido no endosperma micropilar (Figura 8 e 12) e próximo aos cotilédones (Figura 5). Para que haja degradação do galactomanano é necessário a ação de algumas enzimas hidrolíticas como α -galactosidase e endo- β -mananase (BUCKERIDGE et al., 2000). Toorop, Van Aelst e Hilhorst (1998) avaliaram os efeitos do condicionamento fisiológico na germinação de sementes de *L. esculentum* e encontraram relação entre o enfraquecimento do endosperma e atividade da enzima endo- β -mananase, sendo que a medida em que a atividade enzimática aumenta, o endosperma se torna mais fraco facilitando a protrusão radicular. A atividade enzimática foi aumentada significativamente pelo tratamento com condicionamento fisiológico, e os autores verificaram através de microscopia eletrônica de varredura que as paredes celulares apresentaram grande porosidade quando comparadas às sementes que não passaram pelo condicionamento fisiológico. Essa porosidade pode estar relacionada a degradação das paredes celulares encontradas no presente estudo (Figura 8). O galactomanano, além de fornecer proteção mecânica ao embrião devido à sua dureza (BUCKERIDGE et al., 2000), também ajuda na manutenção da umidade em torno do eixo após o início da germinação

efeito conhecido como tampão de água (REID; BEWLEY apud BUCKERIDGE et al., 2000). Anese et al. (2011) estabeleceram um protocolo de condicionamento fisiológico para sementes de *Solanum lycocarpum* e verificaram a ação da enzima endo- β -mananase contribuiu para a diminuição da restrição mecânica do endosperma das sementes, favorecendo a sua germinação.

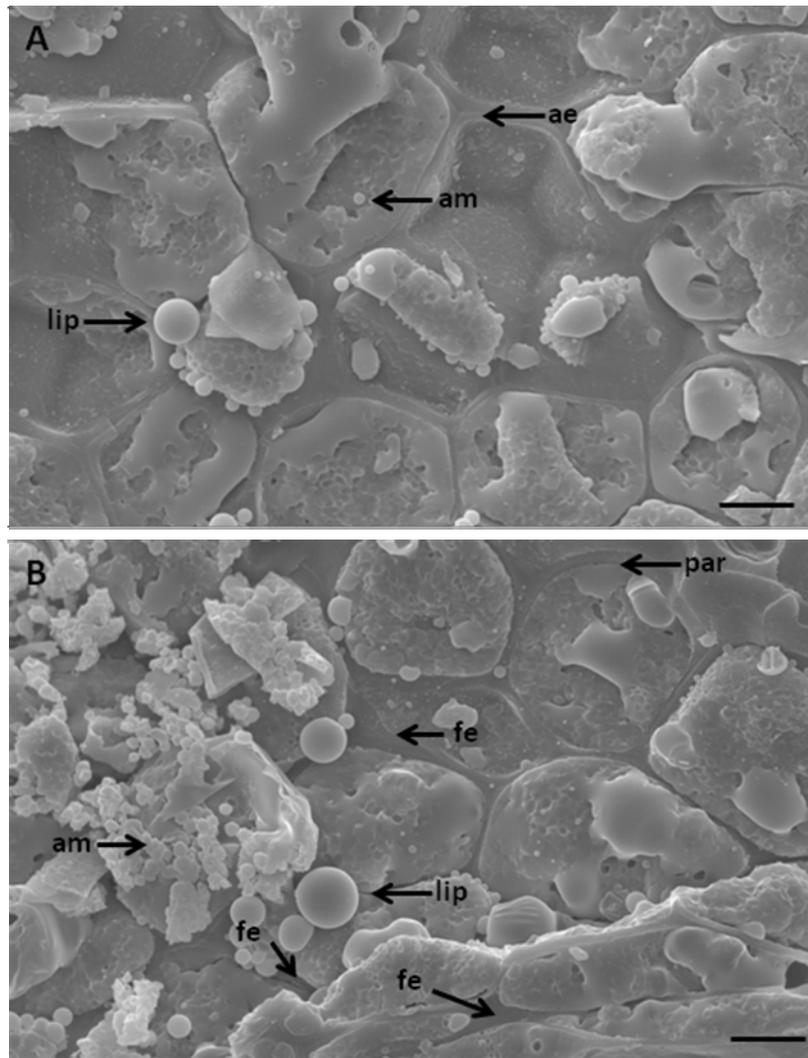


Figura 8. Imagem de microscopia eletrônica de varredura do endosperma micropilar de sementes de *Solanum paniculatum* L. antes (A) e após (B) o condicionamento fisiológico a -1,0 MPa incubadas a 15 °C durante 15 dias sob luz constante. Legenda: (am) amiloplastídeos, (ae) ausência de espaço intercelular, (lip) lipídios, (par) parede celular frouxa, (fe) formação de espaço intercelular. Barras indicam 10 μ m.

3.4 Quantificação de açúcares durante o condicionamento fisiológico

O condicionamento fisiológico permite o início do processo germinativo das sementes sem que haja protrusão radicular, sendo a mobilização de reservas uma das primeiras atividades observadas (KHAN, 1992). A figura 9 apresenta a concentração de oligossacarídeos (sacarose, frutose, rafinose e estaquiose) durante o condicionamento fisiológico das sementes de *S. paniculatum*. Todos os oligossacarídeos avaliados apresentam redução linear em seu conteúdo, com exceção da estaquiose. Este oligossacarídeo apresentou dois platôs, primeiro mantendo a sua concentração inicial seguido de queda brusca no conteúdo, e outra estabilização em uma concentração muito baixa.

Dentre os oligossacarídeos quantificados a sacarose é o que se encontra em maior quantidade nas sementes, seguido pela frutose, rafinose e estaquiose. Borges et al. (2002) avaliaram os efeitos do condicionamento fisiológico em sementes de *Platymiscium pubescens* e encontraram a sacarose como maior componente de reserva, também observaram redução significativa no seu conteúdo durante o tratamento, o mesmo foi observado para a estaquiose. A rafinose apresentou rápida redução, desaparecendo totalmente antes do término do osmocondicionamento. A diminuição destes açúcares pode ser explicada pela atividade metabólica ativada em função do condicionamento fisiológico, não apenas iniciando o processo germinativo, mas também ativando processos de reparo e proteção induzidos pelo estresse causado pelo tratamento com PEG.

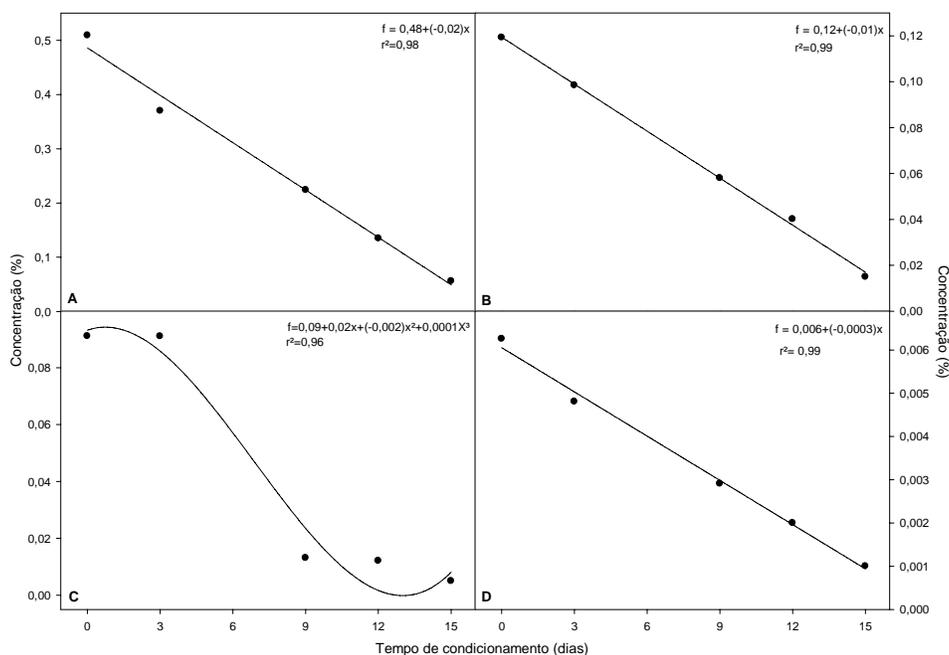


Figura 9. Concentração de oligossacarídeos em sementes de sementes de *Solanum paniculatum* L. durante o condicionamento fisiológico a -1,0 MPa incubadas a 15 °C durante 15 dias sob luz constante. A) concentração de sacarose. B) frutose. C) rafinose e D) estaquiiose.

3.5 Avaliações histoquímicas

Na figura 10 observa-se que antes do condicionamento (sementes NC) não houve detecção de corpos proteicos. Após o tratamento estes corpúsculos foram detectados por toda a semente (endosperma e embrião), com maior intensidade no endosperma lateral ao redor dos cotilédones. É de conhecimento comum que o condicionamento induz a síntese de proteínas como consequência do início do processo germinativo (KHAN, 1992; MCDONALD, 2000), porém diversos autores identificaram a expressão de determinadas proteínas relacionadas exclusivamente ao condicionamento fisiológico. Smith & Cobb (1991) verificaram o aumento do conteúdo de proteínas solúveis em sementes

osmocondicionadas de *Capsicum annuum*. Anuradha-Varier e Malavika (2010) após realização de experimentos com diversas espécies, afirmam que existem produtos da degradação de globulinas e cruciferinas apenas nas sementes que passaram pelo osmocondicionamento. Gallardo et al. (2001) e Soeda et al. (2005) também encontraram RNA de proteínas induzidas apenas pelo condicionamento fisiológico, além de maior conteúdo de RNA de proteínas ativadas durante a germinação, quando comparado com as sementes que não passaram pelo condicionamento fisiológico.

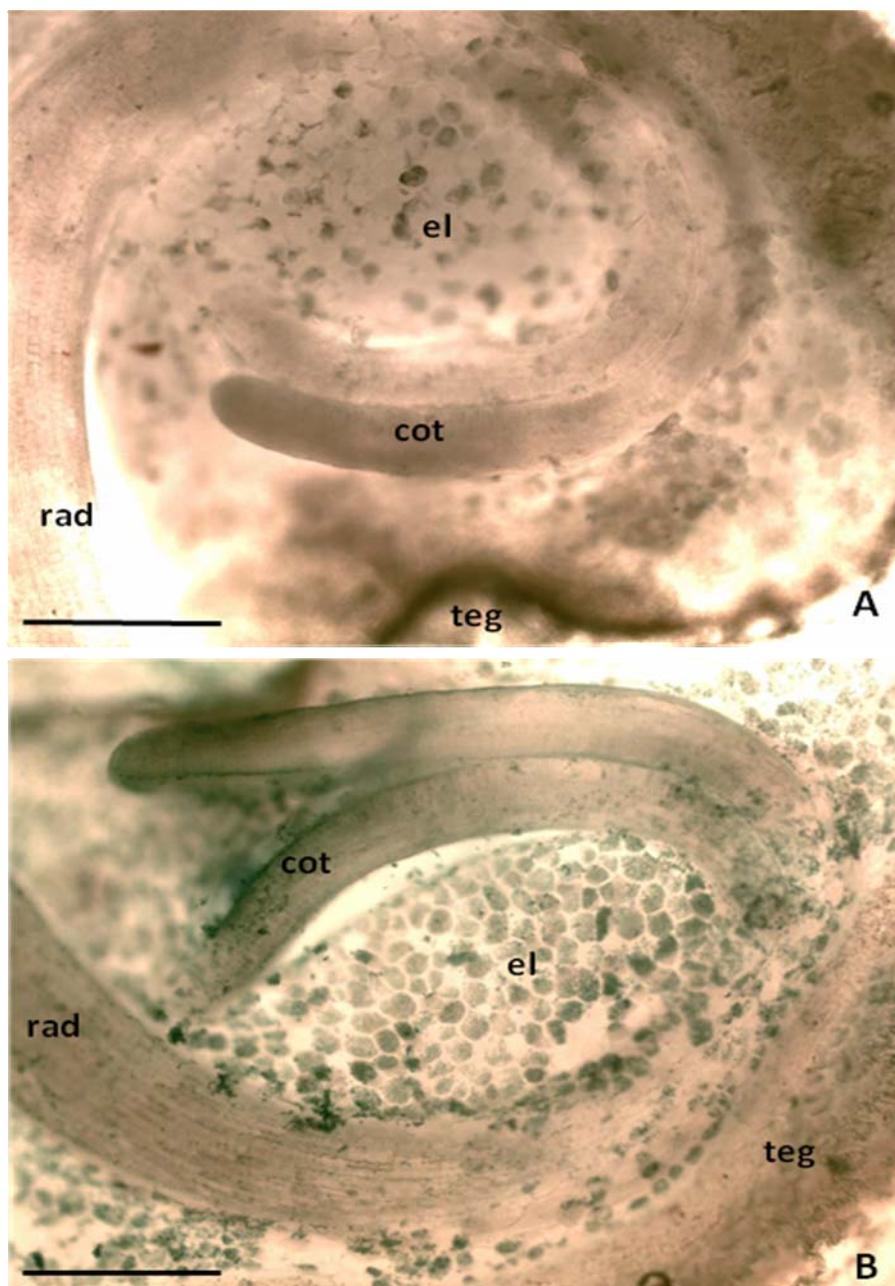


Figura 10. Corte longitudinal de sementes de *S. paniculatum* L. coradas em solução de Comassie blue para detecção de proteínas (pontos corados em azul). A) Semente NC e B) Após o condicionamento a -1,0 MPa incubadas a 15 °C durante 15 dias sob luz constante. Aumento de 10x em microscópio óptico de luz. Barras de 0,5 mm. cot (cotilédones), el (endosperma lateral), teg (tegumento), rad (radícula).

Observa-se na figura 11-A a ausência de grânulos de amido no embrião e endosperma das sementes de *S. paniculatum* antes do condicionamento fisiológico. Após o tratamento houve intenso acúmulo destes grânulos na região do endosperma micropilar (Figura 11 B), e de maneira menos intensa no endosperma lateral. Na maioria das vezes o amido está ausente em sementes que possuem a hemicelulose (ex. galactomanano) como composto de reserva (DAVIDE; SILVA, 2008). Dawidowicz-Grzegorzewska (1996) avaliou as alterações causadas pelo condicionamento fisiológico em sementes de cenoura e verificou o acúmulo de amido temporário durante os primeiros dias de tratamento, sendo que a partir do momento em que as sementes foram colocadas para germinar esse amido foi rapidamente consumido. Tiné apud Buckeridge et al. (2000), afirma que durante a mobilização dos compostos de reservas de parede celular há grande acúmulo de açúcares livres e parte deles se encontra na forma de amido transitório, que será degradado para estabelecimento da plântula, assim, supõe-se que o condicionamento fisiológico ativou o programa germinativo nas sementes de *S. paniculatum*, o que tornará a germinação mais rápida e uniforme, além de favorecer o desenvolvimento do embrião e seu desempenho em condições adversas (MARCOS FILHO, 2005; MCDONALD, 2000; KHAN, 1992).

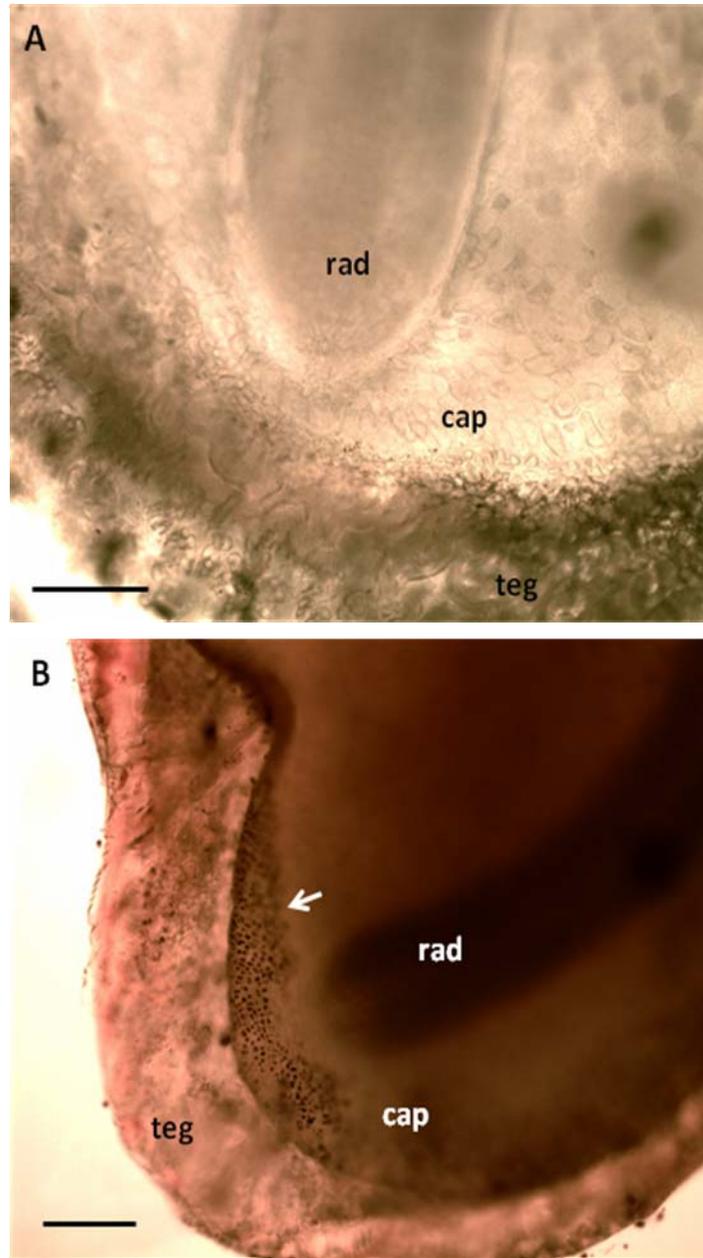


Figura 11. Cortes longitudinais de sementes de *S. paniculatum* L. corados em solução de lugol para detecção de amido. A) Sementes NC. B) Sementes após o condicionamento fisiológico a -1,0 MPa incubadas a 15 °C durante 15 dias sob luz constante. Setas indicam grânulos de amido. Barras indicam 0,25 mm. rad (radícula), cap (endosperma micropilar), teg (tegumento).

Após o condicionamento fisiológico (Figura 12 B) nota-se diminuição do conteúdo de lipídios no interior das células, fato não estritamente relacionado ao tratamento, e sim, ao início do processo germinativo. Diversos autores verificaram o consumo de reservas lipídicas durante a germinação de sementes, dentre eles Suda e Giordini (2000) em sementes de *Euphorbia heterophylla* L., Mansfield e Briarty (1996) em sementes de *Arabidopsis thaliana* e Tozzi e Takaki (2011) em sementes de *Passiflora edulis*. A degradação destas reservas leva à produção de Acetil Co-A, usado na síntese de sacarose pela gliconeogênese e pode ser armazenada na forma de amido quando seus níveis no citosol se encontram altos (BUCKERIDGE et al., 2004; GRAHAM, 2008; MANSFIELD; BRIARTY, 1996). Essa pode ser a explicação para a detecção de grânulos de amido em sementes de *S. paniculatum* submetidas ao condicionamento fisiológico (figura 11 B), resultado semelhante foi encontrado por Tozzi e Takaki (2011) durante o estudo da mobilização de reservas de sementes de *Passiflora edulis*. Dawidowicz-Grzegorzewska (1996) observou diminuição no número de corpos lipídicos durante o condicionamento e a associou ao aparecimento de grânulos de amido nos cotilédones, porém, este padrão não foi observado no endosperma das sementes de cenoura, não apresentando mudanças no número, morfologia e características estruturais dos corpos lipídicos durante o condicionamento. Os produtos da hidrólise dos corpos lipídicos podem ser usados na síntese de novos corpos lipídicos ou outras estruturas, ou convertidos a sacarose e usados como energia (BEWLEY; BLACK, 1994).

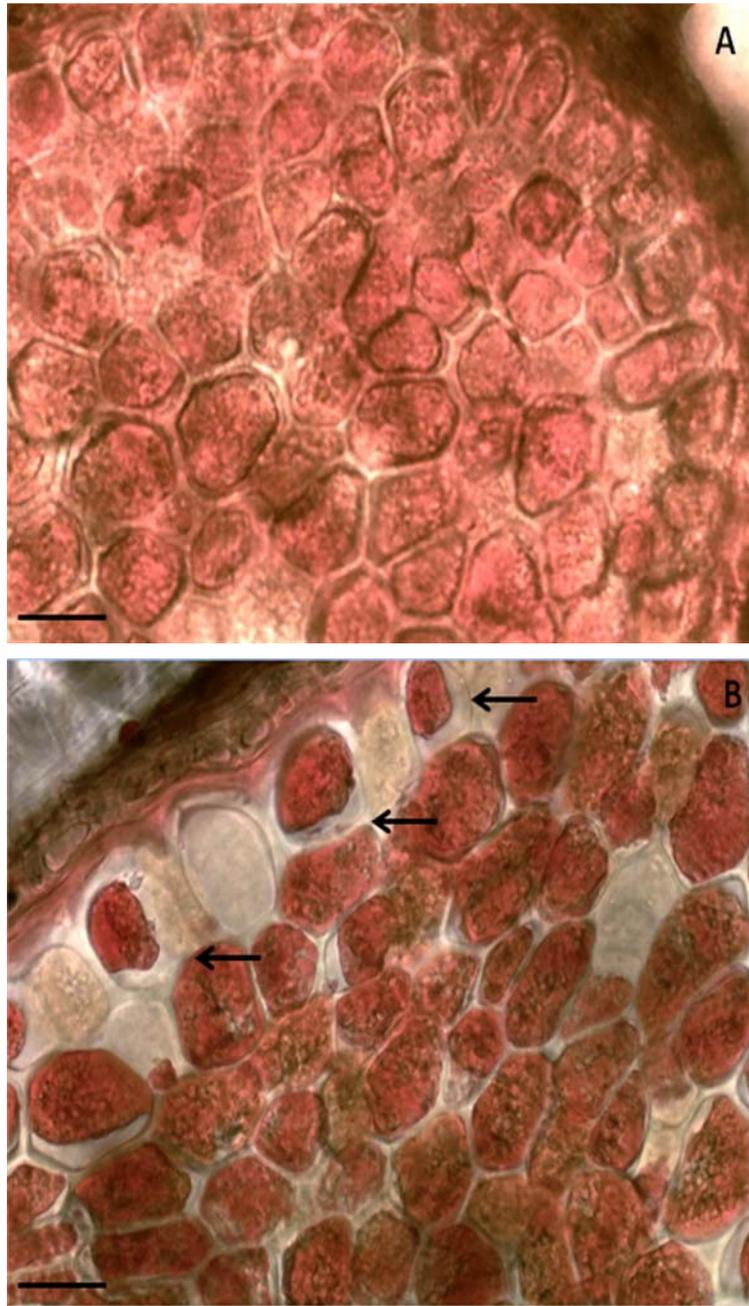


Figura 12. Cortes transversais de sementes de *S. paniculatum* L. corados em solução Sudan IV para detecção de lipídios (coloração vermelha). A) Sementes NC . B) Sementes submetidas ao condicionamento fisiológico a -1,0 MPa incubadas a 15 °C durante 15 dias sob luz constante. Barras indicam 0,12 mm. Setas indicam degradação parcial de lipídios dentro das células.

4 CONCLUSÕES

O déficit hídrico moderado e severo causou redução significativa na germinação de sementes de *S. paniculatum*.

O condicionamento fisiológico a -1,0 e -1,2 MPa a 15 °C durante 15 dias foi eficiente em induzir tolerância ao déficit hídrico moderado (-0,4 MPa) em sementes de *Solanum paniculatum* L.

Durante o condicionamento fisiológico a -1,0 MPa a 15°C durante 15 dias, foi constatada redução significativa na concentração de sacarose, rafinose, frutose e estaquiose.

Após o condicionamento fisiológico a -1,0 MPa a 15°C durante 15 dias foi observada a formação de espaços vazios na região do endosperma micropilar além de mudanças na conformação de suas paredes celulares e formação de espaço intercelular. Houve também redução em número e tamanho dos corpos lipídicos, acúmulo de proteínas e amido transitório em sementes de *S. paniculatum*.

REFERÊNCIAS

ANESE, S. et al. Seed priming improves endosperm weakening, germination, and subsequent seedling development of *Solanum lycocarpum* St. Hil. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 39, p. 125-139, 2011.

ANURADHA-VARIEI, A. K.; MALAVIKA, D. Subcellular basis of seed priming. **Current Science**, Bangalore, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

ARAÚJO, M. M et al. Densidade e composição florística do banco de sementes do solo de florestas seccionais na região do baixo Rio Guamá, Amazônia Oriental. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n. 59, p. 115-130, Jun. 2001.

ARAUS, J. L. et al. Plant breeding and drought in C3 cereals: what to breed for? **Annals of Botany**, London, v. 89, n. 7, p. 925–940, June 2002.

BAILLY, C. et al. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 1, p. 35-42, 2000.

BAILLY, C. et al. Changes in activities of antioxidant enzymes and lipoxygenase during growth of sunflower seedlings from seeds of different vigour. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 12, n. 1, p. 47–55, 2002.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From *Avicennia* to *Ziziana*: seed recalcitrance in perspective. **Annals of Botany**, London, v. 101, n. 2, p. 213–228, Jan. 2008.

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. **Plant Cell**, Rockville, v. 9, n. 7, p. 1055–1066, July 1997.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994.

BEWLEY, J. D.; MARCUS, A. Gene expression in seed development and germination. **Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology**, New York, v. 38, p. 165-193, 1990.

BINO, R. J. et al. Flow cytometric determination of nuclear replication stages in tomato seeds during priming and germination. **Annals of Botany**, London, v. 69, n. 3, p. 231–236, Mar. 1992.

BORGES, E. E. de L. et al. Comportamento fisiológico de sementes osmocondicionadas de *Platymiscium pubescens* Micheli (tamboril-da-mata). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 5, out. 2002.

BORGES, E. E. L. et al. Crescimento e mobilização de carboidrato em embrião de sementes de fedegoso (*Senna macranthera* Irwin et Barnaby) durante a germinação. **Revista Cerne**, Lavras, v. 7, n. 1, p. 101-113, 2001.

BRADFORD, K. J. Water relations in seed germination by osmotic seed treatment. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**, New York: Marcel Dekker, 1995, p. 351–396.

BRADFORD, K. J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1005-1112, 1986.

BUCKERIDGE, M. S. et al. Acúmulo de reservas. In FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: ARTMED, 2004. p. 31-50.

BUCKERIDGE, M. S. et al. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 137-162, jul. 2000.

BUCKERIDGE, M. S.; DIETRICH, S. M. C. Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae-Faboideae). **Plant Science**, Limerick, v. 117, n. 1-2, p. 33-43, May 1996.

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H. P.; TINE, M. A. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 38, p. 141-156, 2000.

BUITINK, J.; LEPRINCE, O. Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. **Cryobiology**, San Diego, v. 48, n. 3, p. 215-228, June 2004.

CARVALHO, P. C. B. et al. Temperature dependent germination and endo-B mannase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, p. 139-148, 2000.

CASENAVE, E. C.; TOSELLI, M. E. Hydropriming a pre-treatment for cotton germination under thermal and water stress conditions. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 35, p. 88-98, 2007.

CASTRO, R. D. de et al. Cell division and subsequent radicle protrusion in tomato are inhibited by osmotic stress but DNA synthesis and formation of microtubular cytoskeleton are not. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 122, p. 327-335, Feb. 2000.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, jun. 2001.

CHEN, K.; ARORA, R.; ARORA, U. Osmopriming of spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Bloomsdale) seeds and germination performance under

temperature and water stress. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 38, p. 36-48, 2010.

CHIU, K. Y.; WANG, C. S.; SUNG, J. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging and hydration of watermelon seeds differing in ploidy. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 94, n. 1, p. 441–446, May 1995.

COMAI, L.; HARADA, J. J. Transcriptional activities in dry seed nuclei indicate the timing of the transition from embryogeny to germination. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, New York, v. 87, n. 7, p. 2671–2674, Apr. 1990.

CORTEZ-BAHEZA, E. et al. A new Lea gene induced during osmopriming of *Capsicum annuum* seeds. **International Journal of Botany**, México, v. 4, n. 1, p. 77-84, 2008.

COSGROVE, D. J. Relaxation in a high-stress environment: The molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement. **Plant Cell**, Rockville, v. 9, n. 7, p. 1031-1041, July 1997.

CROWE, J. H.; CROWE, L. M. Membrane integrity in anhydrobiotic organisms: Toward a mechanism for stabilizing dry seeds. In: SOMERO, G. N.; OSMOND, C. B.; BOLIS, C. L. (Ed.). **Water and life**, Berlin: Springer Verlag, 1992. p. 87-103.

DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. da (Org.). **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**. Lavras: Editora UFLA, 2008.

DAWIDIWICZ-GRZEGORZEWSKA, A. Ultrastructure of carrot seeds during matriconditioning with Micro-Cel E. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 5, p. 535-545, May 1997.

EIRA, M. T. S.; MARCOS FILHO, J. Condicionamento osmótico de sementes de alface: I. Efeitos sobre a germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 12, n. 1, p. 9-27, 1990.

EL-ARABY, M. M.; HEGAZI, A. Z. Responses of tomato seeds to hydro- and osmopriming, and possible relations of some antioxidant enzymes and endogenous polyamine fractions, **Egyptian journal of botany**, Cairo, v. 6, p. 81–93, 2004.

FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 29, n. 1, p. 18–212, 2009.

FRAIZ, A. C. R. **Indução de tolerância ao déficit hídrico e estresse térmico durante a germinação de sementes e produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill Ex.** 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GALLARDO, K. et al. Proteomic analysis of Arabidopsis seed germination and priming. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 126, n. 2, p. 835–848, June 2001.

GARCIA, J. et al. Effectiveness of methods to increase the germination ratio of Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) seeds. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 38, n. 3, p. 223-226, jul./set. 2008.

GASPAR, T. et al. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. **Plant Growth Regulation**, New York, v.37, n. 3, p. 263–285, 2002.

GRAHAM, I. A. Seed storage oil mobilization. **Annual Review of Plant Physiology**, Minneapolis, v. 59, p. 115-142, June 2008.

GROOT, S. P. C. et al. Gibberellin-induced hydrolysis of endosperm cell walls and gibberellin-deficient tomato seeds prior to radicle protrusion. **Planta**, Berlin, v. 174, n. 4, p. 500-504, 1988.

GROOT, S. P. C.; KARSSSEN, C. M. Gibberellins regulate seed germination in tomato by endosperm weakening: a study with gibberellin-deficient mutants.

Planta, Berlin, v. 171, n. 4, p. 525-531, 1987.

GUAN, Y. et al. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B**, Monthly, v. 10, n. 2, p. 427-433, June 2009.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R. L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. **Nature**, London, v. 246, n. 5427, p. 42-44, Nov. 1973.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in plant science**, Oxford, v. 6, n. 9, p. 431-438, Sept. 2001.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. international rules for seed testing. In: **CHAPTER 6: biochemical test for viability, the topographical tetrazolium test**. Basesrdorf: ISTA, 2007.

JELLER, H.; PEREZ, S. C. J. G. A. Condicionamento osmótico na germinação desementes de cássia-do-nordeste sob estresse hídrico, térmico e salino.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1025-1034, set. 2003.

JIANG, L.; KERMODE, A. R. Role of desiccation in the germination: expression of genes for storage proteins. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, p. 149-173, 1994.

KAUR, S.; GUPTA, A. K. Effect of osmo- and hydropriming of chickpea seeds on seedling growth and carbohydrate metabolism under water deficit stress.

Plant Growth Regulation, New York, v. 37, n. 1, p. 17-22, 2002.

KAYA, M. D.; OKCU, G. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **European Journal of Agronomy**, Oxford, v. 24, n. 4, p. 291-295, May 2006.

KHAN, A. A. Preplant physiological seed conditioning. **Horticultural Reviews**, New York, v. 13, n. 1, p. 131-181, Jan. 1992.

KRANNER, I. et al. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. **New Phytologist**, Cambridge, v. 188, n. 3, p. 655-673, Nov. 2010.

KURMAR, D. Breeding for drought resistance. In: ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. (Ed.). **Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches**. New York: Food Products, 2005. p. 145-175.

LAZARUS, R. S. **Psychological stress and the coping process**. New York: McGraw-Hill, 1966.

LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stresses**. London: Academic Press, 1972.

LICHTENTHALER, H. K. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 110, n.1, p. 4-14, Jan. 1996.

LIU, Y. et al. X-ray studies on changes in embryo and endosperm morphology during priming and imbibition of tomato seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 1, p. 171-178, 1993.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

MANSFIELD, G.; BRIARTY, L. G. The dynamics of seedling and cotyledon cell development in *arabidopsis thaliana* during reserve mobilization.

International Journal of Plant Sciences, Chicago, v. 157, n. 3, p. 280-295, 1996.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005.

McDONALD, M. B. Seed priming. In: BLACK, J. D.; BEWLEY, J. D. (Ed.). **Seed technology and its biological basis**. Sheffield: Sheffield Academic Press, 2000. p. 287-325.

MELLO, J. I. O. et al. Reserve carbohydrates and lipids from the seeds of four tropical tree species with different sensitivity to desiccation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53 n. 4, p. 889-899, July/Aug. 2010.

MESIA-VELA, S. et al. *Solanum Paniculatum* L. (Jurubeba): potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. **Phytomedicine**, Munique, v. 9, n. 6, p. 508-514, Sept. 2002.

NONOGAKI, H. Seed Germination: the Biochemical and molecular mechanisms. **Breeding Science**, Tokio, v. 56, n. 2, p. 93-105, Feb. 2006.

NONOGAKI, H.; MOROHASHI, Y. Temporal and spatial pattern of the development of endo- mannanase activity in germinating and germinated lettuce seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, p. 1307-1313, 1999.

PANDITA, V. K.; ANAND, A.; NAGARAJAN, S. Enhancement of seed germination in hot pepper following presowing treatments. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 35, n. 1, p. 282-290, 2007.

PANIZZA, S. **Plantas que curam**. 25. ed. São Paulo: Ibrasa, 1997.

PATANE, C.; CAVALLARO, V. Plant Emergence of PEG-osmoprimed seeds under suboptimal temperatures in two cultivars of sweet sorghum differing in

seed tannin content. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Cairo, v. 194, n. 4, p. 304–309, Aug. 2008.

PEREIRA, G. M. et al. Aspectos histoquímicos da mobilização de reservas em sementes de faveleira (*Cnidocolus phyllacantus* PAX & HOFFMAN). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 1., 2010, João Pessoa. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 1957-1961.

PINTO, L. V. A. et al. Mechanism and control of *Solanum lycocarpum* seed germination. **Annals of Botany**, London, v. 99, n. 6, p. 1175-1187, June 2007.

QUEIROZ, S. E. E. et al. Mechanism and control of *Genipa americana* seed germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 144, n. 3, p. 263-267, Mar. 2012.

ROUHI, H. R. et al. Effect of osmopriming on antioxidant activity of Bersim clover (*Trifolium alexandrinum* L.). **African Journal of Biotechnology**, África, v. 10, n. 82, p. 19084-19088, Dec. 2011.

SCHWINNING, S. et al. Thresholds, memory, and seasonality: understanding pulse dynamics in arid/semi-arid ecosystems. **Oecologia**, Berlin, v. 141, p. 191-193, Aug. 2004.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 333–341, Feb. 2002.

SILVA, E. A. A. da. et al. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seed germination. **Planta**, Berlin, v. 220, n. 2, p. 251–261, Aug. 2004.

SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE. **Como utilizar plantas medicinais**. Goiânia: Hospital de Medicina, 1999.

SMITH, P. T.; COB, B. G. Accelerated germination of pepper seed by priming with salt solutions and water. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 4, p. 417-419, Apr. 1991.

SOARES, G. C. M. **Condicionamento fisiológico em sementes de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish)**. 2009. 53 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SOEDA, Y. A. et al. Gene expression programs during *Brassica oleracea* seed maturation, osmopriming, and germination are indicators of progression of the germination process and the stress tolerance level. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 137, n. 1, p. 354–368, Jan. 2005.

SOUZA, C. L. M. et al. Morfologia de sementes e desenvolvimento pós-seminal de *Physalis angulata* L. [Acta Botanica Brasilica](#), Feira de Santana, v. 24, n. 4, p. 1082-1085, out./dez. 2010.

STILL, D. W.; BRADFORD, K. J. Endo-6-mannanase activity from individual tomato endosperm caps and radicle tips in relation to germination rates. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 113, n. 1, p. 21-29, Jan. 1997.

SUBBARAO, G. V. et al. Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 122, n. 3, p. 651–659, Mar. 2000.

SUDA, C. N. K.; GIORGINI, J. F. Seed Reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, n. 3, p. 226-245, 2000.

TOOROP, P. E.; VAN AELST, A. C.; HILHORST, H. W. M. Endosperm cap weakening and endo-b-mannanase activity during priming of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Moneymaker) seeds are initiated upon crossing a

threshold water potential. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 4, p. 583–491, 1998.

TOZZI, H. H.; TAKAKI, M. Histochemical analysis of seed reserve mobilization in *Passiflora edulis* Sims fo. *flavicarpa* O. Deg. (yellow passion fruit) during germination. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 71, n. 3, p. 701-708, Aug. 2011.

WANG, A. et al. Endo-b-mannanase and b mannosidase activities in rice grains during and following germination, and the influence of gibberellin and abscisic acid. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 15, n. 3, p. 219–227, 2005.

WATKINS, J. T. et al. Gibberellic acid stimulated degradation of endosperm in pepper. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 110, p. 61-65, 1985.

WISE, M. J. Leaping to conclusions: a computational reanalysis of late embryogenesis abundant proteins and their possible roles. **BMC Bioinformatics**, Cambridge, v. 4, n. 1, p. 52-70, Oct. 2003.

WOLFRON, M. L.; LAVER, M. L.; PATIN, D. L. Carbohydrates of the coffee bean. II. Isolation and characterization of mannan. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 26, p. 4533- 4531, 1961.

WU, Y. et al. Root growth maintenance at low water potentials. Increased activity of xyloglucan endotransglycosylase and its possible regulation by abscisic acid. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 104, n. 2, p. 607-615, Feb. 1994.

ZHU, J. K. Cell signaling under salt, water and cold stresses. **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v. 4, n. 5, p. 401–406, Oct. 2001.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 53, p. 247–273, June 2002.

ANEXOS

Anexo 1. Tabela de comparação de médias para porcentagem final de germinação em déficit hídrico de sementes de *Solanum paniculatum* L. submetidas ao condicionamento fisiológico.

PG	Potenciais de condicionamento (MPa)							p	cv
	NC	0,0	0,4	0,8	1,0	1,2	1,4		
0,0	99 a	100 a	97 a	94 a	100 a	96 a	99 a	0,25	5,59
0,2	97 ab	97 ab	95 ab	93 ab	100 a	98 a	87 b	0,018	4,91
0,4	26 b	68 a	62 ab	69 a	86 a	93 a	75 a	0,0002	17,7
0,6	10 a	26 a	44 a	11 a	17 a	13 a	24 a	0,08	16,03
0,8	0 a	1 a	0 a	0 a	0 a	0a	0 a	1	0
1,0	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0a	0 a	1	0
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
cv	40,43	24,48	27,62	35,65	38,38	40,83	29,10		

Letras iguais em uma mesma linha indicam ausência de diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação de 6,65. PG – potencial do meio germinativo (MPa).

Anexo 2. Tabela para comparação de médias de porcentagem final de plântulas normais em déficit hídrico de sementes de *Solanum paniculatum* L. submetidas ao condicionamento fisiológico.

PG	Potencial de condicionamento (MPa)								p	cv
	NC	0,0	0,4	0,8	1,0	1,2	1,4			
0,0	91a	100a	95a	94a	98a	95a	99a	0,2	5,53	
0,2	95a	94a	95a	91a	97a	97a	87a	0,14	5,7	
0,4	20d	66ab	51bcd	55abc	85a	92a	34cd	*	17,7	
0,6	0 a	7 a	6 a	4 a	8 a	0 a	0 a	0,06	66,8	
0,8	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	1	0	
1,0	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	1	0	
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001			
cv	61,8	35,14	34,05	44,7	47,77	49,08	42,99			

Letras iguais em uma mesma linha indicam ausência de diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação de 8,03. * indica $p < 0,0001$. PG – potencial do meio germinativo (MPa)

Anexo 3. Tabela para comparação de médias de índice de velocidade de germinação em déficit hídrico de sementes de *Solanum paniculatum* L. submetidas ao condicionamento fisiológico.

PG	Potencial de condicionamento (MPa)							p	cv
	NC	0,0	0,4	0,8	1,0	1,2	1,4		
0,0	1,91 d	4,57 b	4,78 b	3,62 c	3,48 c	9,09 a	8,75 a	*	7,23
0,2	1,80 d	3,42 b	2,53 bcd	1,92 cd	2,69 bc	5,21 a	5,53 a	*	14,85
0,4	0,27 c	1,35 b	0,91 bc	0,90 b	1,19 b	2,54 a	2,25 a	*	19,09
0,6	0,13	0,73	0,66	0,17	0,22	0,29	0,16	0,17	63
0,8	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	1	0
1,0	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	1	0
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
cv	59,79	40,7	40,5	53,15	40,45	40,5	42,99		

Letras iguais em uma mesma linha indicam ausência de diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação de 53,2. * indica $p < 0,0001$. PG – potencial do meio germinativo (MPa)