

Adição de espermidina na germinação de sementes de duas forrageiras sob estresse osmótico

Effects of spermidine on the germination performance under osmotic stress of seeds of two forage species

Luiz Felipe Gevez De SOUZA², Maria Letícia Guindalini MELLONI³, Adriano Carlos FERNANDES⁴, Durvalina Maria Mathias Dos SANTOS⁵

¹Parte de trabalho de conclusão de curso do primeiro autor;

²Eng. Agr^o - FCAV/Unesp - Câmpus de Jaboticabal - SP. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, CEP 14884-900. lfg_souza@yahoo.com.br;

³Eng. Agr^a - FCAV/Unesp - Câmpus de Jaboticabal - SP. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, CEP 14884-900. letmell@yahoo.com.br;

⁴Autor para correspondência, Biólogo, Dr., FCAV/Unesp - Câmpus de Jaboticabal - SP. Av. Dr César Guarita, 340, CEP 14.882-080. adrianocarlos.f@terra.com.br;

⁵Prof^a Dr^a, DBAA/FCAV/Unesp - Câmpus de Jaboticabal - SP. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, CEP 14884-900. dumaria@fcav.unesp.br

Resumo

O presente trabalho teve por objetivo verificar se a aplicação exógena de espermidina (Spd) atenua os efeitos da restrição hídrica na germinação de sementes das leguminosas forrageiras alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 sementes. Os potenciais osmóticos de PEG 6.000 (ψ_s), com valores de pressão em MPa, usados para simular as condições de estresse osmótico, foram: 0,0 MPa (controle); -0,2 MPa; -0,4 MPa, e -0,6 MPa. Para avaliar a influência da poliamina nos referidos potenciais osmóticos, foram preparadas soluções contendo 0,5 mM de Spd. Para o 4^o e 10^o dias foi avaliadas a taxa de germinação e realizado o cálculo de P_{50} . No 10^o dia, também foi avaliada a massa de matéria seca das partes vegetativas. No 30^o dia, foi instalado um segundo experimento para avaliar a germinação de sementes, sendo determinados o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), o Tempo Médio de Germinação (TM) e o Sucesso de Germinação (T_{50}). Constatou-se que o estresse osmótico causou redução na porcentagem de germinação de ambas as forrageiras. A utilização de espermidina exógena atenua os efeitos da restrição hídrica no vigor das sementes de alfafa cv. Crioula. Quanto menor a quantidade de água no substrato, menor é o Índice de Velocidade de Germinação de ambas as culturas, isto é, menor é o vigor das sementes em substrato com elevado estresse osmótico.

Palavras-chave adicionais: poliamina, velocidade de germinação, estresse hídrico.

Abstract

The objective of this work was to verify if spermidine exogenously applied to seeds of alfalfa (cv. Crioula) and lablab (cv. Rongai) could reduce the effects of water deficit on seed germination performance. The osmotic potentials to which the seeds were submitted were of 0.0, -0.2, -0.4, and -0.6 MPa. Solutions of PEG 6000 were used to achieve those osmotic potentials. To evaluate the effect of spermidine on seed germination a 0.5 mM spermidine solution was added to the medium in which the seeds were placed to germinate. On days 4 and 10 after the beginning of the germination test germination rate and P_{50} values were determined. On day 10 seedling dry matter was also evaluated. Thirty days after the beginning of the first experiment, a second one was started to evaluate germination speed index (IVG), mean time for germination (TM), and germination success (T_{50}). The results showed that the osmotic stress reduced germination percentage of both forages. Spermidine attenuated the effects of osmotic stress on alfalfa seed vigor. The smaller the amount of water in the substrate, the smaller the germination speed index of both species.

Additional keywords: germination speed, water stress, polyamine.

Introdução

As plantas forrageiras alfafa (*Medicago sativa* L.) e labe-labe (*Lablab purpureus* (L.)

Sweet) estão distribuídas amplamente no mundo, apresentando como características: alta produtividade, qualidade proteica, palatabilidade, digestibilidade e capacidade de fixação de nitro-

gênio (IANNUCCI et al., 2002; BOTREL et al., 2005).

Dentre os estresses ambientais que reduzem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, a disponibilidade de água no substrato é considerada o principal fator para a produção agrícola. Nos vegetais, a deficiência hídrica pode ser definida como todo o conteúdo de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado de maior hidratação; à medida que a restrição hídrica no solo aumenta, seu potencial matricial (ψ_m) torna-se cada vez menor, e as plantas, por sua vez, só conseguem absorver água quando o potencial hídrico celular é menor que o potencial hídrico do solo (TAIZ & ZEIGER, 2009).

As plantas forrageiras ocupam posição de destaque no cenário agrícola brasileiro, constituindo-se a importante forma de alimentação animal em nosso País, que é detentor do maior rebanho comercial bovino do mundo (OBEID et al., 2006).

No processo de germinação, a embebição é a primeira etapa na sequência de eventos que culminam com a retomada do crescimento do embrião (DEMINICIS, 2005). A absorção de água pela semente inicia uma série de processos físicos, fisiológicos e bioquímicos, permitindo a reativação do metabolismo e o consequente crescimento do eixo embrionário, resultando na emissão da raiz primária, com posterior estabelecimento da plântula (VARELA et al., 2005). A deficiência hídrica ou estresse osmótico influencia negativamente sobre os processos de germinação, como a embebição e a protrusão da raiz primária (MACHADO NETO et al., 2006).

Os reguladores de crescimento são compostos que controlam a germinação e as respostas das sementes às condições adversas do ambiente. Entre os reguladores de crescimento, destacam-se as poliaminas, compostos nitrogenados alifáticos policatiônicos, que estão presentes nas plantas, animais e microrganismos (BOTELHO & PEREZ, 2001). Na literatura, utiliza-se o termo poliamina para designar aminas primárias que possuem dois ou mais agrupamentos amina, como putrescina (diamina), espermidina (triamina) e espermina (tetramina), podendo ocorrer na forma livre ou conjugada (MOGOR, 2005). Dentre as poliaminas responsáveis pelo metabolismo e pelas respostas das sementes ao ambiente, destaca-se a espermidina, pois atua na divisão e na diferenciação celular, prevenindo os efeitos deletérios dos estresses ambientais (FONSECA & PEREZ, 2003). Esta importância confirma-se pela aplicação exógena de espermidina no tratamento de sementes, mostrando proteger o tecido vegetal dos efeitos prejudiciais do

estresse osmótico e restaurando os padrões normais de crescimento, evidenciando a função essencial da espermidina no metabolismo celular (COLLI, 2004).

O presente trabalho teve por objetivo verificar se a aplicação exógena de espermidina (Spd) atenua os efeitos da restrição hídrica na germinação de sementes das leguminosas forrageiras alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai.

Material e métodos

Foram utilizadas sementes selecionadas de alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai, as quais foram acondicionadas em embalagens de papel e mantidas em câmara seca à temperatura de $\pm 20^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $\pm 13\%$. Os experimentos foram instalados no laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária (DBAA), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Câmpus de Jaboticabal- SP.

Para a obtenção das soluções com diferentes potenciais osmóticos, foram calculadas as concentrações de polietilenoglicol (PEG 6.000), baseando-se em VILLELA et al. (1991). Os potenciais osmóticos de PEG 6.000 (ψ_s), com valores de pressão em MPa, usados para simular as condições de estresse osmótico compreenderam, além do tratamento 0,0 MPa (controle), três níveis de estresse: -0,2 MPa; -0,4 MPa, e -0,6 MPa. Para avaliar a influência da poliamina nos referidos potenciais osmóticos, foram preparadas soluções adicionando 0,5 mM de espermidina (Spd) nas diferentes concentrações de PEG 6.000, calculados com base em VILLELA et al. (1991). Os tratamentos utilizados consistiram em diferentes soluções, que simulam condições de estresse osmótico sem espermidina (PEG), alterando o potencial osmótico, e com 0,5 mM de espermidina (PEG + Spd), com o propósito de atenuar o efeito do estresse.

No experimento, avaliou-se a germinação de 25 sementes colocadas em caixa de germinação tipo gerbox, previamente esterilizada, revestida com uma folha de papel germinativo umedecida com as respectivas soluções, sendo quatro repetições. A cada 48 horas, as sementes foram transferidas para outra caixa tipo gerbox, com papel germinativo recém-umedecido nas respectivas soluções, a fim de que as sementes permanecessem expostas às condições constantes dos tratamentos. Utilizou-se o germinador da marca FANEN Mod. 347 CDG na temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas. A contagem das sementes germinadas foi realizada em intervalos de 24 horas, sendo consideradas germinadas as

que apresentaram extensão da raiz primária ≥ 2 mm e curvatura geotrópica positiva (BRASIL, 2009).

As avaliações foram realizadas no 4^o e 10^o dias após a semeadura (DAS), com o objetivo de avaliar a taxa de germinação e realizar o cálculo de P_{50} . Ainda, no 10^o dia, foi avaliada a massa de matéria seca das partes vegetativas.

O cálculo de porcentagem de germinação sob as condições de estresse osmótico, com e sem espermidina, foi realizado conforme expressão descrita por LABOURIAU & AGUDO (1987): $G = (N/A) \times 100$, em que: G - porcentagem de germinação; N - número de sementes germinadas, e A - número total de sementes colocadas para germinar.

No cálculo de P_{50} , que corresponde ao potencial osmótico em que ocorre a redução da germinação de sementes para 50%, foi utilizada uma equação de ajuste: $y = a + bx + cx^2 + dx^3$, em que: y - porcentagem de germinação, e x - potencial osmótico, em MPa.

Ao final do experimento (10^o dia), foi determinada a massa de matéria seca das partes vegetativas. Para tanto, as plântulas foram separadas em raízes primárias e plúmulas, as quais foram secas em estufa de circulação forçada de ar, em temperatura de 60 - 80°C, e o peso seco foi obtido em balança analítica Denver Instrument Company AA-200, com precisão de 1×10^{-8} g.

Foi também avaliada a germinação de sementes no 30^o dia. Para isto, foi instalado um segundo experimento com duração de 30 dias, sendo que foram determinados o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), o Tempo Médio de Germinação (\bar{t}) e o Sucesso de Germinação (T_{50}),

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado pela fórmula descrita por AAS-SAQUI & CORLETO (1978): $IVG^1 = (100/N) \times \sum (n/j)$, em que: N - número de sementes semeadas; n - número de sementes germinadas no dia j, e j - número de dias após a semeadura.

O tempo médio de germinação foi calculado de acordo com o critério estabelecido por LABOURIAU & VALADARES (1976): $TM = (\sum n.t) / (\sum n)$, em que: n - número de sementes germinadas, e t - número de dias após a semeadura.

Para o cálculo do T_{50} , foi utilizada a equação de ajuste: $y = a + bx + cx^2 + dx^3$, em que: y - porcentagem de germinação, e x - tempo em dias.

Para satisfazer os requerimentos de normalidade, aplicou-se a transformação matemática $\arcsen \sqrt{x/100}$ aos dados de porcentagem de germinação. Procedeu-se à análise de variância pelo teste F, utilizando-se do teste de Tukey, com 5% de probabilidade para a

comparação entre médias dos fatores qualitativos (espécies forrageiras e espermidina). A análise de regressão polinomial foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade do fator quantitativo estresse osmótico (BANZATTO & KRONKA, 2006).

Resultados e discussão

Os resultados das análises de variância para a porcentagem de germinação de sementes para o 4^o dia após a semeadura evidenciam efeito significativo das concentrações de PEG nas leguminosas forrageiras (Tabela 1). A tendência quadrática evidencia que o estresse osmótico (menor quantidade de água no substrato) causou redução da germinação (%) de ambas as forrageiras no 4^o dia de germinação (Figura 1).

Esta resposta é concordante com as informações da literatura pertinente, que retratam os efeitos negativos do estresse osmótico na germinação de sementes, pelo fato de que a água é essencial para ativação de enzimas, quebra de ligações químicas, translocação e uso de substâncias armazenadas (MARIN et al., 2004). A menor quantidade de água disponível para a semente interfere na capacidade de absorção, reduzindo a embebição para disparar o metabolismo germinativo que promove o crescimento do embrião e a emissão da raiz primária (STEFANELLO et al., 2006). Comparando-se as tendências quadráticas decrescentes de ambas as leguminosas forrageiras, verifica-se que houve resposta de menor porcentagem de germinação da alfafa que do labe-labe (Figura 1).

Os resultados das análises de variância para a porcentagem de germinação de sementes no 10^o dia revelaram interação tripla FxHxSpd significativa (Forrageiras; Estresse Osmótico; Espermidina), embora não tenha sido observado efeito significativo da variável Spd isolada e nas interações duplas FxSpd e HxSpd (Tabela 1). Assim, diante deste fato, efetuando-se o desdobramento dos graus de liberdade da interação dupla FxH, verificou-se que houve tendência linear negativa para a germinação de alfafa e labe-labe, evidenciando que o aumento do estresse osmótico causa redução da germinação de ambas as sementes (Figura 2).

Apesar desta redução, nota-se também que a germinação do labe-labe foi maior que a da alfafa sob efeito dos tratamentos de estresse osmótico, independentemente da adição de Spd (Figura 2); fato este confirmado pelas médias do teste de Tukey, pois mostram também maior porcentagem de germinação do labe-labe, quando comparado à da alfafa (Tabela 1). É interessante notar que este comportamento germinativo também ocorreu no 4^o dia (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise de variância e médias do teste de Tukey da germinação de sementes, massa de matéria seca das raízes primárias e das plúmulas, Índice de Velocidade de Germinação e do Tempo Médio de Germinação de sementes de alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai, sob estresse osmótico com e sem aplicação de espermidina. *Germination, primary roots and plumule dry matter, speed of germination index, and mean germination time of alfalfa (cv. 'Crioula') and lablab (cv. 'Rongai') seeds under osmotic stress in the presence or absence of spermidine.*

Causa da variação	G.L.	Quadrados médios				² IVG	³ TM
		Germinação de sementes (%) ¹		Massa de matéria seca (mg)			
		4 ^o dia	10 ^o dia	Raízes primárias	Plúmulas		
Forrageiras (F)	1	12505,18**	8502,21**	2571372,60**	2363060,70**	10889,72**	59,30**
Estresse Osmótico (H)	3	3124,63**	1958,85**	101724,84**	521801,84**	10856,45**	38,75**
Espermidina (Spd)	1	33,33 ^{ns}	0,39 ^{ns}	16103,61 ^{ns}	3030,50 ^{ns}	0,69 ^{ns}	2,47**
F x H	3	1006,59**	776,48**	97938,36**	520074,57**	182,53**	9,81**
F x Spd	1	0,03 ^{ns}	16,31 ^{ns}	15419,43 ^{ns}	3366,90 ^{ns}	83,92*	1,86*
H x Spd	3	67,88 ^{ns}	13,30 ^{ns}	2918,46 ^{ns}	4192,56*	33,39 ^{ns}	1,43**
F x H x Spd	3	78,78 ^{ns}	160,88**	2478,20 ^{ns}	4815,01*	18,39 ^{ns}	1,59**
Resíduo	48	44,71	29,01	4737,62	1354,73	16,87	0,28
C.V.(%)		11,87	8,51	33,47	17,59	11,80	3,07
Forrageiras		Médias ²					
Alfafa		42,33 B	51,75 B	5,15 B	17,01 B	21,75 B	18,44 A
Labe-labe		70,29 A	74,80 A	406,04 A	401,32 A	47,84 A	16,51 B

¹ Dados de % de germinação transformados em arco-seno da raiz de x/100; ns: não significativo (P > 0,05); *: significativo (P < 0,05); **: significativo (P < 0,01); C.V.: coeficiente de variação; ² Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P > 0,05), ² Índice de velocidade de germinação, ³ Tempo médio de germinação.

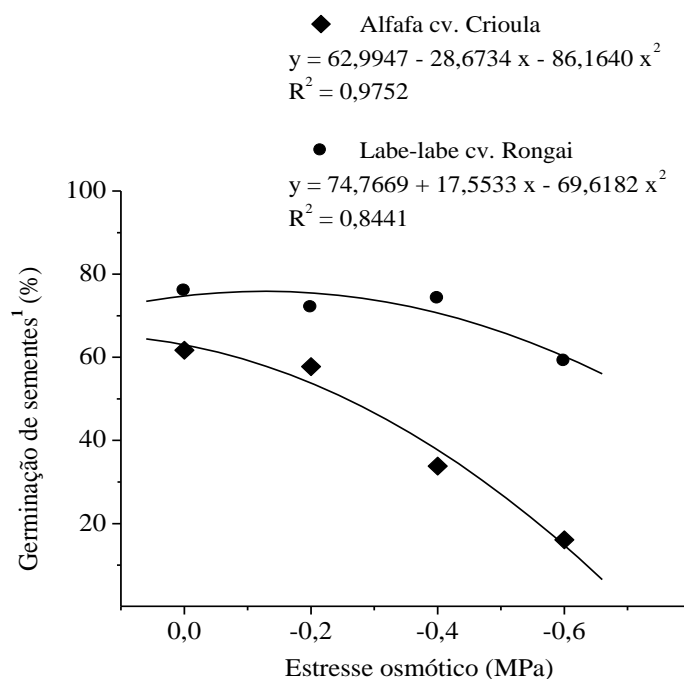


Figura 1 - Germinação de sementes de alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai, no 4^o dia após a semeadura sob estresse osmótico. ¹Dados de porcentagem de germinação transformados em arco-seno da raiz de x/100. *Germination of alfalfa (cv. 'Crioula') and lablab (cv. 'Rongai') submitted to osmotic stress 4 days after starting the test. Germination percentage values were transformed to arc-sine root x/100.*

Contudo, não se pode afirmar que as sementes de labe-labe cv. Rongai sejam mais tolerantes ou que as de alfafa cv. Crioula sejam mais sensíveis à menor quantidade de água no substrato, porque as médias do teste de Tukey mostram que a porcentagem de germinação da alfafa é menor que a do labe-labe (Tabela 1).

De acordo com RUIZ (2006), a germinação de sementes do labe-labe cv. Rongai não foi aumentada sob tratamentos de PEG com 0,5 mM de Spd. Ressalta-se que esta resposta é divergente para plantas tolerantes ao estresse

osmótico, as quais possuem ampla capacidade de aumentar a biossíntese de poliaminas em resposta ao estresse, elevando de duas a três vezes os níveis endógenos, e que sugere um envolvimento destas substâncias na proteção do metabolismo da célula vegetal (KASUKABE et al., 2004). Como exemplo, o desempenho germinativo da leguminosa arbórea canafístula sob estresse hídrico foi incrementado sob adição de espermidina nas concentrações de 5 e 10mM (BOTELHO & PEREZ, 2001).

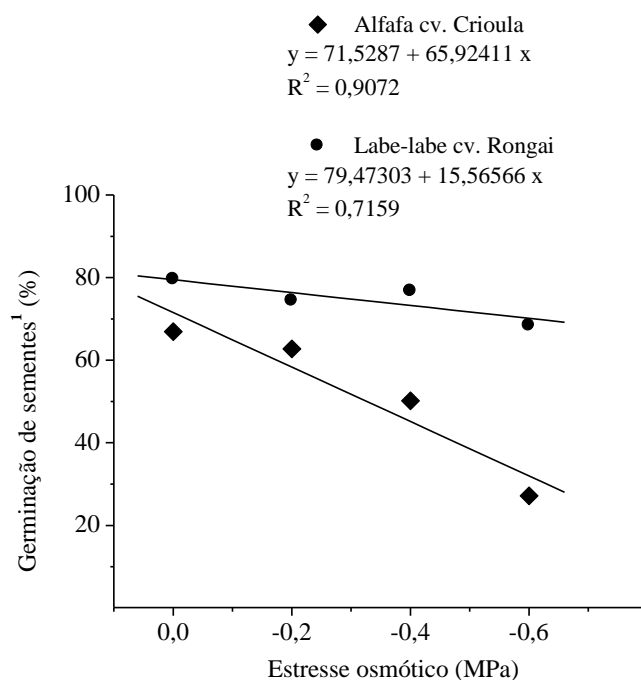


Figura 2 - Germinação de sementes de alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai no 10^o dia após a semeadura sob estresse osmótico. ¹Dados de % de germinação transformados em arco-seno da raiz de $x/100$. *Germination of alfalfa (cv. 'Crioula') and lablab (cv. 'Rongai') submitted to osmotic stress 10 days after starting the test. Germination percentage values were transformed to arc-sine root $x/100$.*

O efeito do estresse osmótico e de 0,5 mM de Spd na estimativa do P_{50} , isto é, a concentração osmótica em que ocorre redução da germinação de sementes para 50%, verificada para ambas as forrageiras revela que esta redução ocorreu apenas para a alfafa cv. Crioula, no 10^o dia após a semeadura (Figura 3).

Os resultados mostram que houve efeito da Spd nos diferentes níveis de estresse osmótico, apresentando P_{50} em -0,43 MPa em 0,0 mM de Spd (Figura 3A) e P_{50} em -0,47 MPa em 0,5 mM de Spd (Figura 3B), evidenciando que a aplicação exógena de espermidina causou atenuação do estresse osmótico na germinação de sementes de alfafa cv. Crioula no 10^o dia após a semeadura.

Os resultados das análises de variância para a massa de matéria seca das raízes primárias e plúmulas no 10^o dia após a semeadura evidenciam respostas significativas (Tabela 1).

Para o crescimento de raízes primárias, a análise de variância mostra que os fatores isolados F e H, exceto Spd, e a interação FxH foram significativas (Tabela 1). As médias do teste de Tukey mostram maior massa de matéria seca de labe-labe que de alfafa (Tabela 1). O desdobramento dos graus de liberdade do estresse osmótico (H) pela análise de regressão polinomial revela o efeito significativo apenas para o labe-labe, com tendência quadrática convexa (Tabela 1; Figura 4).

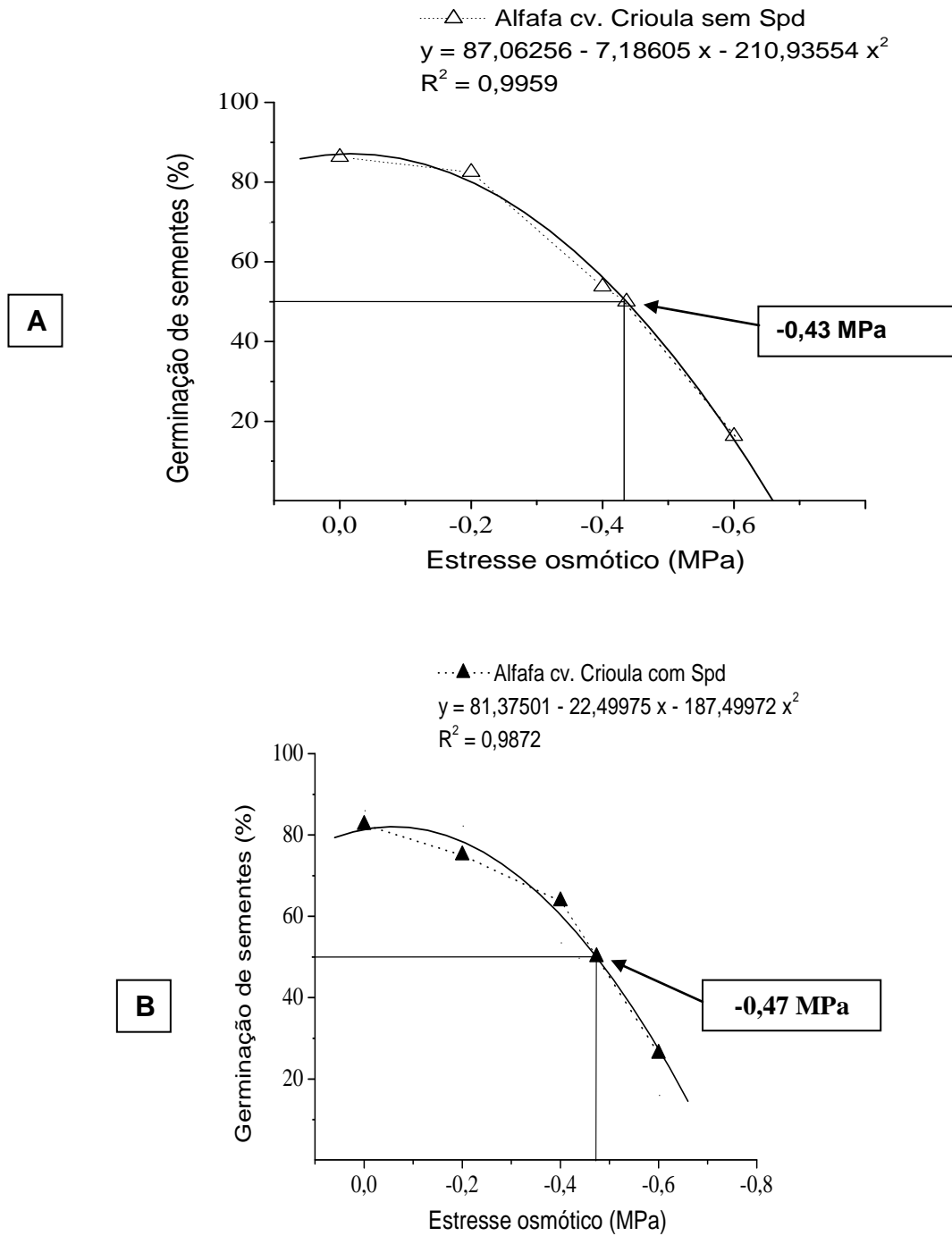


Figura 3 - Porcentagem de redução da germinação de sementes para 50% (P_{50}) de alfafa cv. Crioula, sob efeito do estresse osmótico, no 10^o dia. **A.** Ausência de Spd **B.** Presença de Spd. Linha pontilhada: resultados experimentais; Linha cheia: pontos teóricos. *Osmotic pressure necessary to reduce alfalfa (cv. 'Crioula') seed germination to 50% (P_{50}) under conditions of osmotic stress in the absence (A) and in the presence (B) of spermidine. Dotted line : experimental results; Full line : theoretical points.*

Observa-se que, nos tratamentos com maior disponibilidade hídrica (0,0 MPa a -0,3 MPa), houve aumento do crescimento das raízes primárias, enquanto, nos tratamentos com menor disponibilidade hídrica (-0,3 MPa a

-0,6 MPa), houve acentuada diminuição do crescimento (Figura 4). O maior crescimento em -0,3 MPa pode ser devido aos efeitos do ácido abscísico (ABA) que induziu ao maior crescimento das células radiculares sob este

estresse osmótico. O ABA endógeno, segundo SHARP & LENOBLE (2002), parece promover o crescimento da raiz pela inibição da síntese de outro hormônio, o etileno, durante o crescimento do sistema radicular sob deficiência hídrica no substrato. Também, neste trabalho, verificou-se que os tratamentos mais severos não provocaram qualquer resposta no crescimento das raízes. Provavelmente, tais tratamentos devem ter inibido a síntese de ABA e, portanto, não houve estimulação do crescimento.

Para o crescimento de plúmulas, a análise de variância mostra que a interação FxHxSpd foi significativa (Tabela 1). As médias do teste de Tukey mostram maior massa de plúmulas de labe-labe que de alfafa (Tabela 1).

A concentração de 0,5 mM de Spd ocasionou maior massa de plúmulas nos estresses mais severos (-0,4 a -0,6 MPa) (Figura 5). Esse

resultado pode ter ocorrido porque, de acordo KUBÍŠ (2008), algumas Spds exógenas acumulam-se no interior da célula, aumentando os teores de Spds endógenas, podendo influenciar nos processos fisiológicos. Diversos autores (MOGOR, 2005; DEBIASI et al., 2007; VIU et al., 2009) observaram que poliaminas aplicadas exogenamente causam estimulação do crescimento. Os efeitos da Spd na estimulação do crescimento em plantas sob condições de estresses foram verificados por DESTRO et al. (2008). Em sementes, a aplicação exógena de Spd tem a função de proteger o tecido vegetal dos efeitos prejudiciais do estresse osmótico, restaurando os padrões normais de crescimento, evidenciando a função essencial da Spd no metabolismo celular (COLLI, 2004).

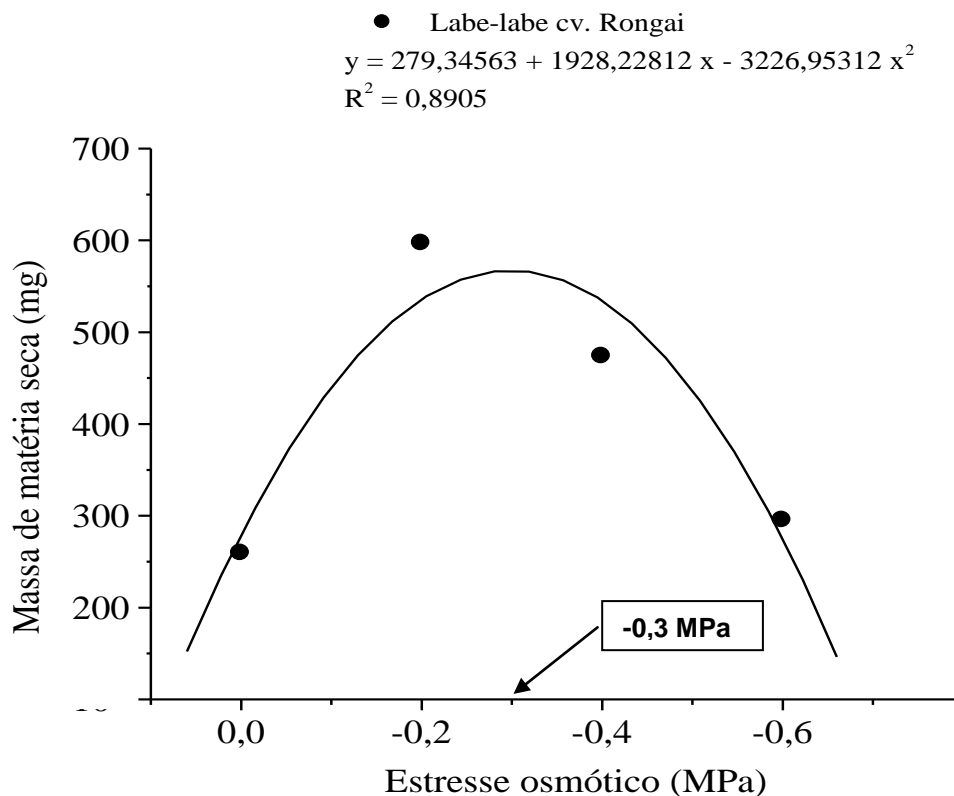


Figura 4 - Massa da matéria seca (mg) de raízes primárias de labe-labe cv. Rongai, no 10^o dia após a semeadura sob estresse osmótico. *Dry mass of primary roots of labe-labe cv. Rongai, 10 days after sowing under osmotic stress.*

Os resultados das análises de variância para o IVG das leguminosas forrageiras mostram respostas significativas com interação dupla FxH e FxSpd (Tabela 1). Ainda, as médias do teste de Tukey mostram maior índice de velocidade de germinação para o labe-labe que para alfafa (Tabela 1). Quanto maior o valor obtido do índice

de velocidade de germinação (IVG), maior é a velocidade de germinação e, conseqüentemente, maior o vigor (MAGUIRE, 1962). O desdobramento dos graus de liberdade do estresse osmótico (H) pela regressão polinomial revela o efeito significativo para ambas as leguminosas forrageiras com tendência linear negativa

(Tabela 1), mostrando que, conforme houve menor quantidade de água no substrato, menor foi o IVG obtido, isto é, menor é o vigor das

sementes em substrato com elevado estresse osmótico (Figura 6).

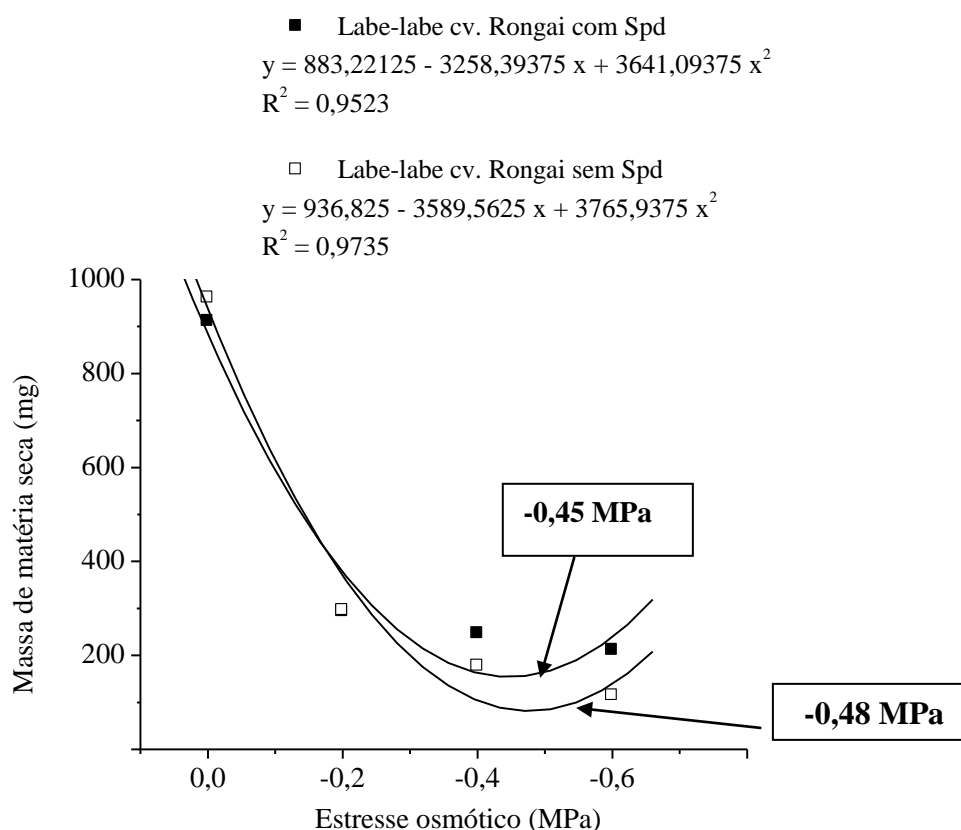


Figura 5 - Massa da matéria seca (mg) de plúmulas de labe-labe cv. Rongai, no 10º dia após a semeadura sob estresse osmótico, com e sem aplicação de espermidina. *Dry mass of the plumule of lablab cv. 'Rongai' 10 day old seedlings developed under osmotic stress in the presence and absence of spermidine.*

O desdobramento dos graus de liberdade de FxSpd, pelas médias do teste de Tukey, evidencia que não houve efeito de 0,5 mM de Spd no IVG, indicando que o vigor das sementes de as ambas forrageiras não é influenciado pela poliamina exógena (Tabela 1).

Os resultados da análise de variância para o tempo médio de germinação (*i*) revelaram interação tripla FxHxSpd (Tabela 1). Ainda, pelos valores obtidos com as médias do teste de Tukey, verifica-se menor tempo médio de germinação do labe-labe comparado à alfafa (Tabela 1).

O desdobramento dos graus de liberdade pela análise de regressão polinomial da interação tripla, para ambas as espécies, revela efeito significativo. Observa-se que a diminuição da disponibilidade de água no substrato causou maior tempo médio ou atraso na germinação (Figura 7).

O efeito da Spd exógena ocorreu somente em alfafa, evidenciando que o tempo médio de germinação das sementes tratadas com 0,5 mM de Spd foi significativamente menor, comparado com o tratamento isento de Spd (Figura 7). Considerando que o tempo médio de germinação é o inverso da velocidade de germinação (VG), pode-se inferir que as sementes tratadas com 0,5 mM de Spd possuem maior VG. Realmente, quanto maior for o valor obtido para o tempo médio de germinação, maior será a demora em ocorrer a germinação das sementes (LABOURIAU & VALADARES, 1976). Todavia, comparando-se a velocidade de germinação de ambas as forrageiras, pode-se notar que os efeitos incrementadores da Spd na VG de alfafa não foram suficientes para atingir e/ou superar a velocidade da germinação de sementes de labe-labe com ou sem Spd (Figura 7).

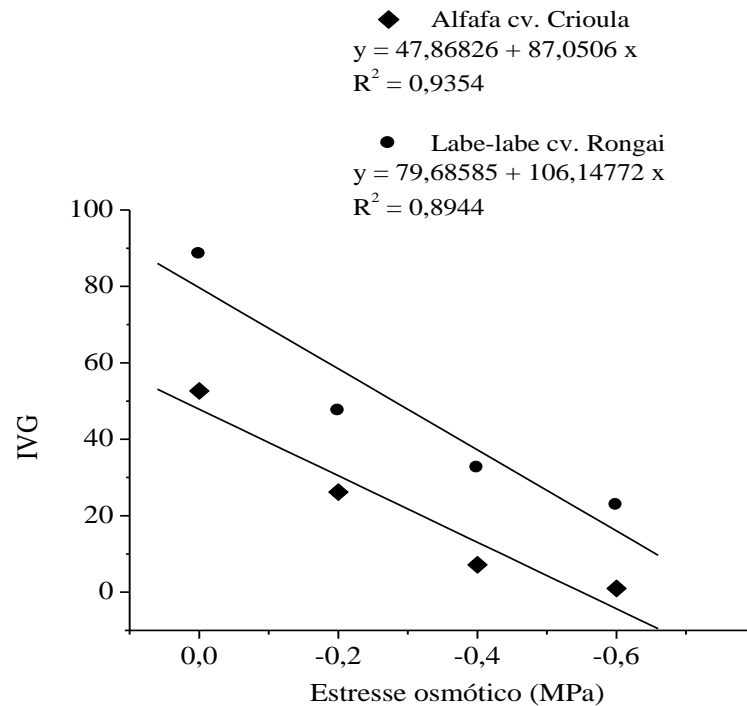


Figura 6 - Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai, no 30^o dia após a semeadura sob estresse osmótico. *Speed of germination index (IVG) of alfalfa (cv. 'Crioula') and lablab (cv. 'Rongai') seeds submitted to osmotic stress 30 days after sowing.*

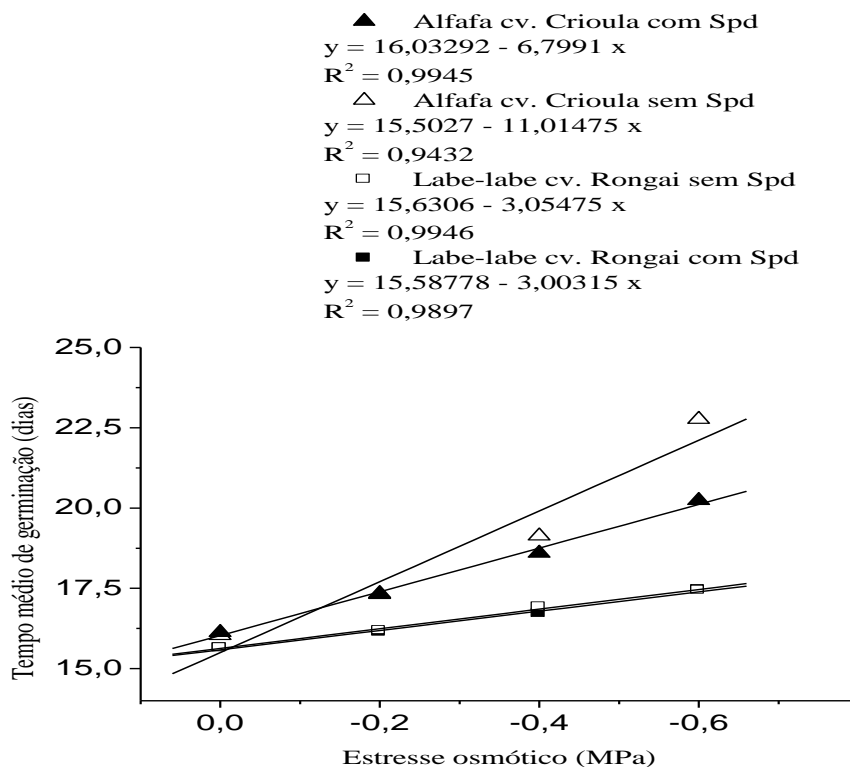


Figura 7 - Tempo médio de germinação (\bar{t}) de sementes de alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai, no 30^o dia após a semeadura, sob estresse osmótico com e sem aplicação de espermidina. *Mean time for germination of alfalfa (cv. 'Crioula') and lablab (cv. 'Rongai') seeds submitted to osmotic stress in the presence or absence of spermidine, 30 days after sowing.*

Os resultados da avaliação do sucesso de germinação (T_{50}) para ambas as forrageiras mostram que, tanto para alfafa cv. Crioula quanto para labe-labe cv. Rongai, não houve efeito atenuante da Spd no T_{50} sob estresse osmótico (Figuras 8). Com aplicação de Spd, T_{50} continua atingindo dois e cinco dias nas concentrações de 0,0 MPa e -0,2 MPa, respectivamente.

Para o labe-labe cv. Rongai, os resultados de T_{50} de sementes, com ou sem Spd, foram atingidos nos dias um, dois, quatro e quatro, respectivamente, nos tratamentos 0,0, -0,2, -0,4 e -0,6 MPa. O aumento do estresse diminui a velocidade de germinação e, conseqüentemente, atrasa o sucesso de germinação (EASTON & KLEINDORFER, 2009).

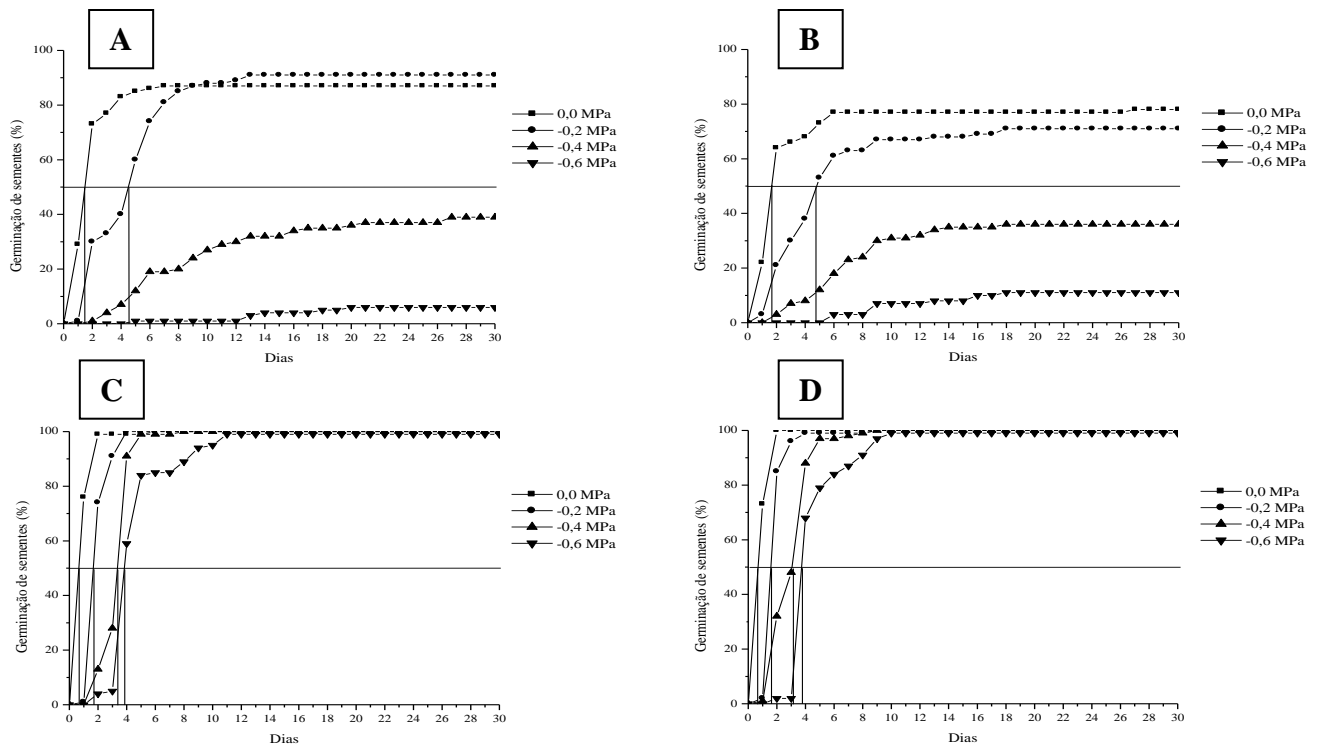


Figura 8 - Porcentagem acumulada e sucesso de germinação (T_{50}) de sementes de alfafa cv. Crioula sem aplicação de espermidina (A) e com aplicação de espermidina (B), e labe-labe cv. Rongai sem aplicação de espermidina (C) e com aplicação de espermidina (D), no 30º dia após a sementeira, sob estresse osmótico. *Accumulated germination and success of germination (T_{50}) of alfalfa (cv. 'Crioula') and lablab (cv. 'Rongai') seeds submitted to osmotic stress. A : alfalfa without spermidine; B : alfalfa with spermidine; C : lablab without spermidine, and D : lablab with spermidine.*

Conclusões

1. Conclui-se que o estresse osmótico causou redução na porcentagem de germinação de ambas as forrageiras.
2. A utilização de espermidina exógena atenua os efeitos da restrição hídrica no vigor das sementes de alfafa cv. Crioula.
3. Quanto menor a quantidade de água no substrato, menor é o Índice de Velocidade de Germinação de ambas as culturas, isto é, menor é o vigor das sementes em substrato com elevado estresse osmótico.

Referências

- A-AS-SAQUI, M.; CORLETO, A. Effect of seed presowing hardening on seedling emergence of four forage species. **Seed Science & Technology**, Zürich, v. 6, p. 701-709, 1978.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.
- BOTELHO, B. A.; PEREZ, S. C. J. G. A. Estresse hídrico e reguladores de crescimento na germinação de sementes de canafístula. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 43-49, 2001.

- BOTREL, M. A.; LÉDO, F. J. S.; EVANGELISTA, A. R.; VIANA, M. C. M.; PEREIRA, A. V.; SOUZA-SOBRINHO, F.; OLIVEIRA, J. S.; XAVIER, D. F.; HEINEMANN, A. B. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de alfafa avaliadas em Minas Gerais. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 409-414, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399p.
- COLLI, S. Outros reguladores: brassinosteroides, poliaminas, ácido jasmônico e salicílico. In: KERBAY, G. B. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. p.333-340.
- DEBIASI, C.; FRAGUAS, C. B.; LIMA, G. P. P. Study of polyamines in the morphogenesis in vitro of *Hemerocallis* sp. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1.014-1.020, 2007.
- DEMNICIS, B. B. **Germinação de sementes de leguminosas forrageiras tropicais sob tratamentos químicos, físicos e biológicos**. Seropédica: UFRRJ, 2005. 47 p.
- DESTRO, M. V. P.; SANTOS, D. M. M.; VOLLET, V. C.; MARIN, A.; BANZATTO, D. A. Estresse salino associado com aplicação exógena de espermidina no acúmulo de glicina betaína em guandu. **Bragantia: revista de ciências agronômicas**, Campinas, v. 67, n.3, p. 593-597, 2008.
- EASTON, L. C.; KLEINDORFER, S. Effects of salinity levels and seed mass on germination in Australian species of *Frankenia* L. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 65, n 2-3, p. 345-352, 2009.
- FONSECA, S. C. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. Ação do polietileno glicol na germinação de sementes de *Adenantha pavonina* L. e o uso de poliaminas na atenuação do estresse hídrico sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes, Brasília** v.25, n.1, p. 1-6, 2003.
- IANNUCCI, A.; DI FONZO, N.; MARTINIELLO, P. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed yield and quality under different forage management systems and irrigation treatments in a Mediterranean environment. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 65-74, 2002.
- KASUKABE, Y.; HE, L.; NADA, K.; MISAWA, S.; IHARA, I.; TACHIBANA, S. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 45, n. 6, p. 712-722, 2004.
- KUBIŚ, J. Exogenous spermidine differentially alters activities of some scavenging system enzymes, H₂O₂ and superoxide radical levels in water-stressed cucumber leaves. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 165, n. 4, p. 397-406, 2008.
- LABOURIAU, L. G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. II. Light-temperature interactions: preliminary results. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 1/2, p. 57-69, 1987.
- LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. B. On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 48, p. 174-186, 1976.
- MACHADO NETO, N. B.; CUSTODIO, C. C.; COSTA, P. R.; DONA, F. L. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. **Revista brasileira de Sementes, Brasília**, v.28, n.1, p. 142-148, 2006.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.
- MARIN, A.; SANTOS, D. M. M.; BANZATTO, D. A.; FERRAUDO, A. S. Germinação de sementes de guandu sob efeito da disponibilidade hídrica e de doses subletais de alumínio. **Bragantia**, Campinas, v.63, n.1, p.13-24, 2004.
- MOGOR, G. **Compostos fenólicos e peroxidase em *Aloe vera* (L.) Burm. (babosa) micro-propagada**. 2005. 75 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências – Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2005.
- OBEID, J.A.; PEREIRA, O.G.; PEREIRA, D.H. et al. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: consumo, digestibilidade e desempenho produtivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.35, n.6, p.2.434-2.442, 2006.
- RUIZ, M. P. **Poliamina (espermidina) na germinação de sementes de labe-labe sob condições de estresse hídrico**. 2006. 50 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

SHARP, R. E.; LENOBLE, M. E. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.53, n.366, p.33-37, 2002.

STEFANELLO, R.; GARCIA, D. C.; MENEZES, N. L.; MUNIZ, M. F. B.; WRASSE, C. F. Efeito da luz, temperatura e estresse hídrico no potencial fisiológico de sementes de funcho. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 2, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Trad. Eliane Romanato Santarém et al. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

VARELA, V. P.; RAMOS, M. B. P.; MELO, M. F. Substrate moisture and temperature in germination of angelim pedra (*Dinizia excelsa* Ducke) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 130-135, 2005.

VILLELA, F. A.; FILHO, L. D.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6.000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 11-12, p. 1.957-1.968, 1991.

VIU, A. F. M.; VIU, M. A. O.; TAVARES, A. R.; VIANELLO, F.; LIMA, G. P. P. Endogenous and exogenous polyamines in the organogenesis in *Curcuma longa* L. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 121, n. 4, p. 501-504, 2009.