

GERMINAÇÃO DE *CEDRELA FISSILIS* VELL. E *PARAPIPTADENIA RIGIDA* (BENTH)BREN. APÓS PRÉ-TRATAMENTO EM CONDIÇÕES HIPÓXICAS E POSTERIOR ESTOCAGEM A SECO

Marcia C.M. MARQUES¹
José A. PIMENTA²
Sandra COLLI²

RESUMO

Sementes de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) e *Parapiptadenia rigida* (Benth) Bren. (Mimosaceae) foram submersas em água por 5, 10 e 20 dias e colocadas para germinar em placas de Petri. Outro grupo de sementes, após o mesmo período de submersão, foi armazenado a seco por 20 dias antes de ser colocado para germinar. Visando obter informações a respeito da tolerância das sementes das duas espécies às condições hipóxicas, a porcentagem de germinação e a atividade da alfa-amilase foram avaliadas. As duas espécies apresentaram uma queda na porcentagem de germinação. Este efeito foi maior em *P. rigida* que teve a germinação inibida após 10 e 20 dias de submersão sendo que nas mesmas condições, *C. fissilis* ainda germinou. O período de estocagem a seco contribuiu ainda mais para a queda na germinação das duas espécies. A atividade da alfa-amilase após submersão e após a estocagem a seco, apresentou uma queda em *P. rigida*, o que não foi observado em *C. fissilis*, que a manteve constante. A queda na germinação das sementes de *C. fissilis* sugere que durante o período de submersão parte das reservas foram degradadas. É possível que a total inibição da germinação das sementes de *P. rigida* está relacionado, entre outros, com a queda na atividade da alfa-amilase.

Palavras-chave: *Cedrela fissilis*, *Parapiptadenia rigida*; hipoxia; germinação; alfa-amilase.

1 INTRODUÇÃO

Os mecanismos de sobrevivência das plantas ocorrentes em áreas inundáveis das regiões tropicais são pouco conhecidos. No período de anoxia, a germinação é um dos processos mais afetados, influenciando o estabelecimento da planta. Segundo Kramer & Kozlowski apud HOOK, 1984, a germinação após submersão das sementes, pode ser beneficiada dependendo da duração da inundação. PARASHER & SINGH (1984) verificaram que em sementes pré-tratadas em anaerobiose a porcentagem de germinação é reduzida. Isto pode ser o resultado da degradação do amido pela enzima alfa-amilase, durante o pré-tratamento. SMITH

ABSTRACT

Seeds of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) and *Parapiptadenia rigida* (Benth) Bren. (Mimosaceae) were placed under hypoxic conditions for 5, 10 and 20 days after this time were sown in Petri dishes. Another set of seeds, after the same period of submergence, was stored under dry conditions for 20 days before sowing. In order to know the tolerance of the two species to hypoxia, germination rate and alpha-amylase activity were tested. Germination rate in the two species dropped after anaerobiosis. In *P. rigida* germination was inhibited after 10 and 20 days of submergence but under the same condition the seeds of *C. fissilis* still germinated. Dry storage conditions affect significantly germination rate in both species. Alpha-amylase activity after anaerobic and dry storage treatments dropped in *P. rigida* and stayed constant in *C. fissilis*. The drop in germination rate of seeds of *C. fissilis* suggests that during the hypoxic period, there was a mobilization of reserves. It's possible that the total inhibition of germination of *P. rigida* is related to the drop of alpha-amylase activity.

Key words: *Cedrela fissilis*, *Parapiptadenia rigida*, hypoxia germination alpha-amylase.

et alii (1987) relataram que esta enzima tem sua atividade aumentada pelos níveis de etileno durante anaerobiose.

Cedrela fissilis (cedro) e *Parapiptadenia rigida* (angico) são espécies que podem ocorrer em solos úmidos de florestas ciliares (SALVADOR, 1987), podendo suas sementes estarem sujeitas à condições hipóxicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Teste de germinação - As sementes das duas espécies foram obtidas no Instituto de Terras, Cartografia e Florestas do Paraná - ITCF/PR - Londrina, sendo esterilizadas em hipoclorito de sódio 1,5% e lavadas em água destilada antes do início do experimento. As

(1) Pós graduação Biologia Vegetal-Depto de Botânica -IB- UNICAMP
(2) Depto de Biologia Animal e Vegetal - CCB - UEL

sementes foram colocadas em pré-tratamento em condições de anaerobiose, promovida pela submersão em recipiente estéril, com água destilada, onde permaneceram durante 0 (controle), 5, 10 e 20 dias, em câmara de germinação, a 25°C. Após estes períodos, metade das sementes foram imediatamente colocadas para germinar em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido, onde foram determinadas as porcentagens de germinação. A outra metade das sementes foi estocada em local seco por 20 dias e após este período colocadas para germinar.

Atividade da alfa-amilase - Sementes submetidas a 20 dias de anaerobiose e sementes que após 20 dias de anaerobiose foram estocadas a seco por mais de 20 dias, juntamente com sementes controle foram utilizadas para determinação da atividade da alfa-amilase, no início da germinação (protusão da radícula). O extrato cru foi obtido de 2g de cotilédones das sementes, que foram homogêneas a 4°C em 10 ml de tampão fosfato (10 mM, pH = 7,5) e 1g de polivinil-pirrolidona (PVP). Após a filtração, o extrato foi centrifugado a 4°C durante 15 minutos, a 20.000g, sendo o sobrenadante recolhido e medido seu volume. Para a reação, foram colocados em cada tubo 1ml de solução de amido (500 ug/ml), 0,5ml de solução de CaCl₂ (400 ug/ml) e 0,5ml de extrato cru contendo enzima ativa. Este meio foi incubado a 37°C por 15 minutos, quando a reação foi interrompida pela adição de 1 ml de lugol. A cada tubo foram

adicionados 10ml de água destilada para leitura da absorbância a 620nm. Um tubo sem atividade enzimática (controle) foi obtido pela adição de lugol antes do extrato cru ser colocado. A quantidade de amido que restou em cada tubo foi determinada mediante curva-padrão utilizando-se a equação de regressão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Germinação - Durante o período em que as sementes estavam submersas não se verificou germinação, mas, após a anaerobiose, houve progressiva queda na taxa de germinação, proporcional ao período em que permaneceram submersas, sendo este efeito mais drástico em *Parapiptadenia rigida*. (FIGURAS 1 e 2)

Em *Cedrelela fissilis* a queda na germinação ocorreu de forma gradual até 10^o dia de tratamento, sendo que após 5 dias a taxa foi semelhante ao controle. Após 20 dias de submersão as sementes estavam quase totalmente inviáveis. Já *Parapiptadenia rigida* teve uma queda de aproximadamente 50% na sua capacidade de germinar após 5 dias de submersão. Dez e vinte dias de tratamento foram suficientes para inibir totalmente a germinação.

A estocagem das sementes em ambiente seco por 20 dias após período de anoxia, reduziu ainda mais a taxa de germinação. Entretanto estes tratamentos a

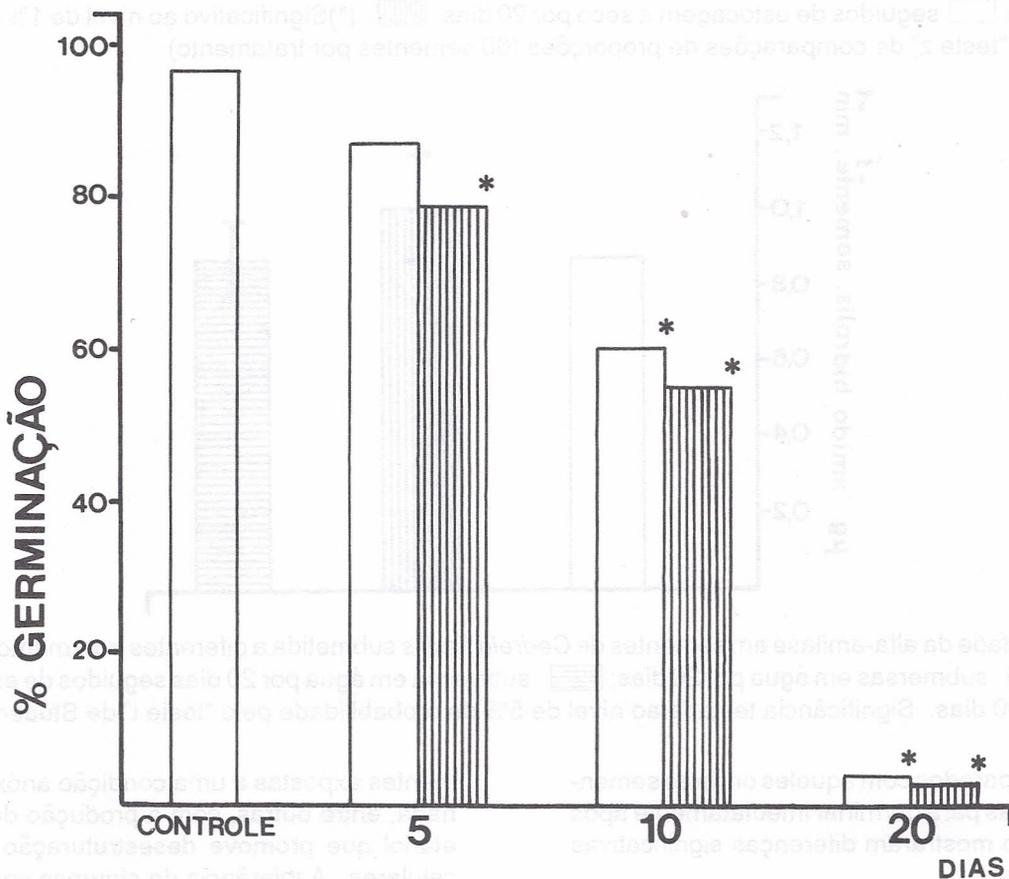


FIGURA 1 - Germinação das sementes de *Cedrelela fissilis* submetidas a diferentes períodos de submersão em água (□) seguidos de estocagem a seco por 20 dias (▨). (*)Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo "teste z" de comparação de proporções (60 sementes por tratamento)

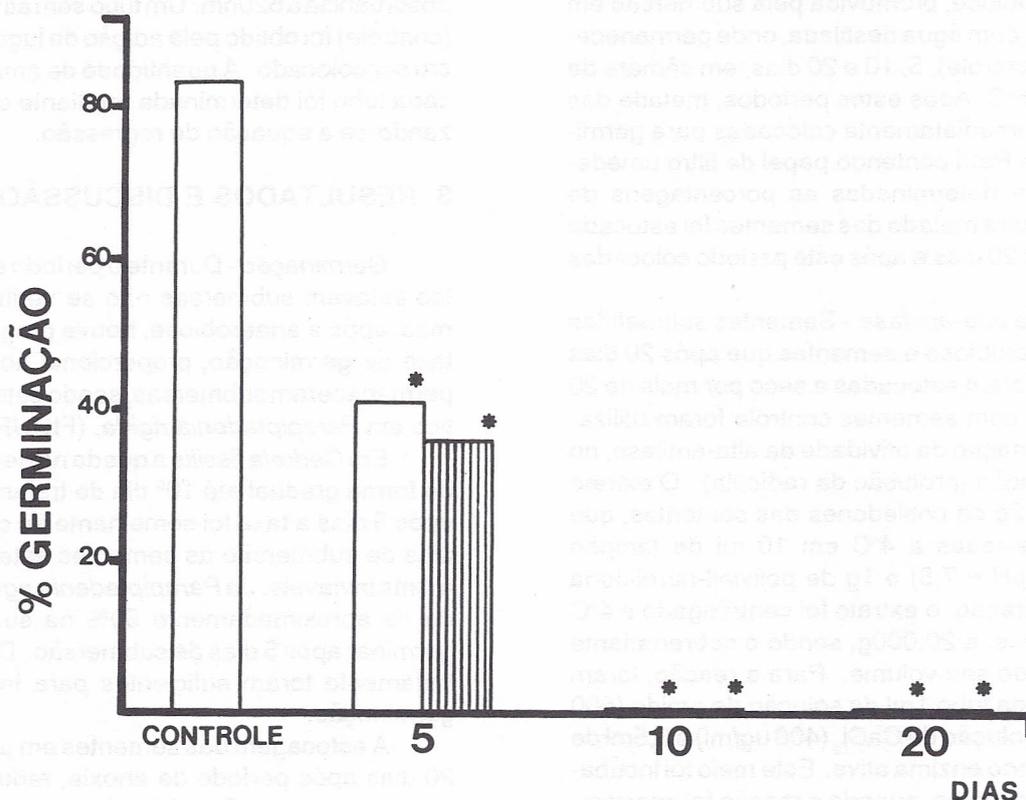


FIGURA 2 - Germinação de sementes de *Parapiptadenia rigida* submetidas a diferentes períodos de submersão em água □ seguidos de estocagem a seco por 20 dias ▨. (*)Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo "teste z" de comparações de proporções (60 sementes por tratamento)

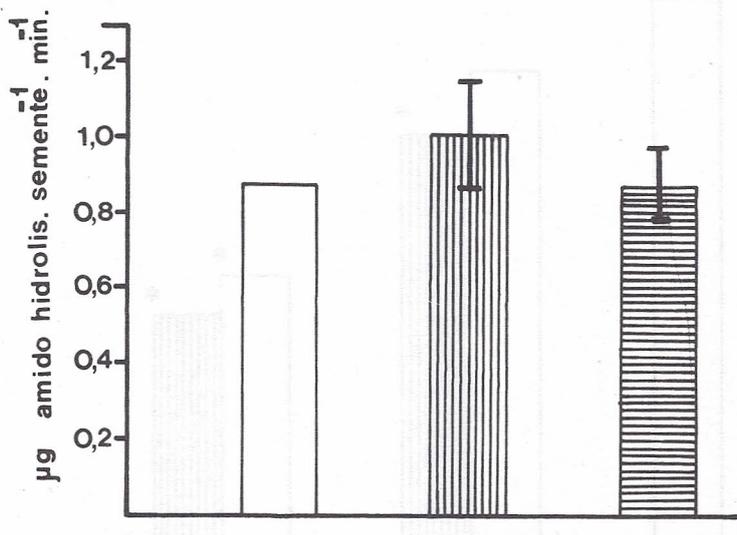


FIGURA 3 - Atividade da alfa-amilase em sementes de *Cedrela fissilis* submetida a diferentes tratamentos: □ controle; ▨ submersas em água por 20 dias; ▨ submersa em água por 20 dias seguidos de estocagem a seco por 20 dias. Significância testada ao nível de 5% de probabilidade pelo "teste t" de Student (n=3)

seco quando comparados com aqueles onde as sementes foram colocadas para germinar imediatamente após a submersão, não mostraram diferenças significativas nas duas espécies.

Durante a embebição, antes da ruptura da testa, as sementes estão naturalmente expostas à anoxia; o prolongamento deste período pode levar à morte da semente (CRAWFORD,1977). A inviabilidade de se-

mentes expostas a uma condição anóxica está relacionada, entre outras, com a produção de altos níveis de etanol que promove desestruturação de membranas celulares. A tolerância de algumas sementes à anoxia estaria relacionada com a regulação da glicólise, que evitaria o acúmulo deste metabólito (CRAWFORD, 1977).

Assim, como foi descrito por CRAWFORD, JOLY (1982) verificou que *Peltophorum dubium* e *Enterolobium*

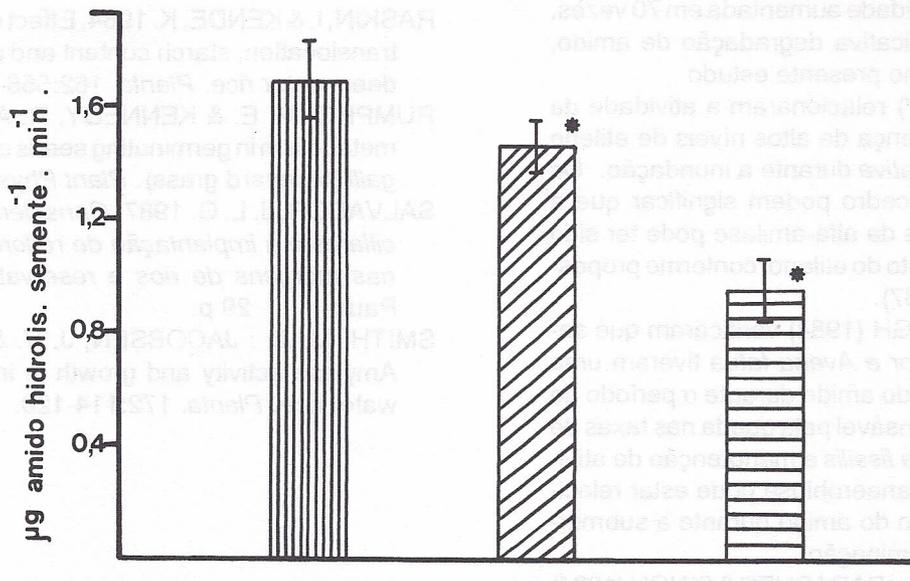


FIGURA 4 - Atividade de alfa-amilase em sementes de *Parapiptadenia rigida* submetidas a diferentes tratamentos:  controle;  submersas em água por 20 dias;  submersas em água por 20 dias seguidos de estocagem a seco por 20 dias. Significância testada ao nível de 5% de probabilidade pelo "teste t" de Student (n=3).

contortisiliquum tiveram a germinação altamente afetada após tratamento em anoxia em detrimento da alta produção de etanol. A produção de maiores níveis de etanol durante o período de anoxia pode ser responsável pela queda na porcentagem de germinação nas duas espécies aqui estudadas, como sugerido anteriormente.

Apesar de *Cedrela fissilis* apresentar uma queda na taxa de germinação, após 5 a 10 dias de anaerobiose ainda foi observada uma germinação razoável. Isto capacitaria esta espécie a sobreviver, ao menos parcialmente, nestas condições, o mesmo não ocorrendo com *Parapiptadenia rigida*. A boa germinação após curtos períodos de inundação pode decorrer da capacidade do cedro de produzir baixas quantidades de etanol neste período. A queda na porcentagem de germinação após 20 dias de anoxia poderia ser resultado de um acúmulo deste produto que neste momento atingiria níveis tóxicos para a semente. Por outro lado *Parapiptadenia rigida* poderia estar produzindo grandes quantidades de metabólitos já no início do período de anaerobiose, o que inibiu a germinação.

RUMPHO & KENNEDY (1981) verificaram que sementes de *Echinochloa crus-galli* mantidas em anoxia apresentaram alta produção de etanol e grande atividade da desidrogenase alcoólica (ADH). No entanto a tolerância desta espécie a tais condições, foi consequência da capacidade de eliminação do etanol, uma vez que 85% deste produto encontrava-se na solução externa à semente.

Estes autores comentaram ainda sobre as diferenças no grau de tolerância ao etanol que as espécies podem apresentar. Desta forma, as melhores taxas de germinação de *Cedrela fissilis* em relação a *Parapiptadenia rigida* podem estar relacionadas com a capacidade de eliminação ou de tolerância ao etanol.

Sementes de *Nyssa sylvatica var. biflora*, espécie típica de ambientes sujeitos à inundação, permaneceram viáveis por longos períodos de anoxia, germinando normalmente quando colocadas em solo drenado (DEBELL & NAYLOR, 1972).

Assim como foi verificado com *Cedrela fissilis* e *Parapiptadenia rigida*, PARASHER & SINGH (1984) observaram que *Avena fatua* e *Phalaris minor* tiveram um decréscimo na porcentagem de germinação proporcional ao tempo em que permaneceram em anaerobiose. No entanto, um período de estocagem a seco de 1 mês possibilitou a recuperação da viabilidade destas sementes. A tolerância de *Phalaris minor* foi menor que em *Avena fatua*, e isto foi explicado pela maior capacidade da primeira de entrar em dormência secundária, proporcionando assim melhor germinação após este período. Além disto, a tolerância de *Phalaris minor* foi relacionada com uma maior síntese de alguns aminoácidos durante a anoxia.

O mesmo não ocorreu com o cedro e o angico pois o período de estocagem a seco, que corresponderia no ambiente natural da espécie, ao período em que o curso d'água tivesse seu nível rebaixado, não teve significância para a recuperação da germinação, tornando a viabilidade da semente mais comprometida.

Atividade da alfa-amilase - Apesar das variações na porcentagem de germinação após os períodos de submersão e estocagem a seco, a atividade da alfa-amilase nas sementes de *Cedrela fissilis* não foi significativamente afetada após os tratamentos, enquanto em *Parapiptadenia rigida* esta enzima apresentou uma queda na atividade. (FIGURAS 3 e 4).

RASKIN & KENDE (1984) verificaram que em entrenós de *Oryza sativa* submetidos à submersão, a

alfa-amilase teve sua atividade aumentada em 70 vezes, coincidindo com a significativa degradação de amido, fato este não verificado no presente estudo

SMITH et alii (1987) relacionaram a atividade da alfa-amilase com a presença de altos níveis de etileno em entrenós de *Oryza sativa* durante a inundação. Os resultados obtidos com cedro podem significar que a manutenção da atividade da alfa-amilase pode ter sido promovido por um aumento do etileno, conforme proposto por SMITH et alii. (1987).

PARASHER & SINGH (1984) verificaram que sementes de *Phalaris minor* e *Avena fatua* tiveram uma significativa degradação do amido durante o período de anoxia, o que seria responsável pela queda nas taxas de germinação. Em *Cedrela fissilis* a manutenção da atividade da alfa-amilase na anaerobiose pode estar relacionada com a degradação do amido durante a submersão, o que diminui a germinação.

Foi sugerido ainda por PARASHER & SINGH (1984) que o metabolismo dos carboidratos é limitado pela fermentação alcoólica que inibe a biosíntese de açúcar, causando uma diminuição na porcentagem de germinação. Em *Parapiptadenia rigida* a alfa-amilase, que deve ser mais sensível aos produtos do metabolismo anaeróbico que em *Cedrela fissilis*, pode ter sido afetada já no início do tratamento, impossibilitando a quebra do amido e germinação após o período de submersão. Além destas considerações, outras reações enzimáticas envolvidas no metabolismo dos amido podem ter sido alteradas, levando a uma queda na porcentagem de germinação.

Considerando estes resultados, conclui-se que o processo de germinação das sementes de *Cedrela fissilis* e *Parapiptadenia rigida* é afetado pela condição de hipóxia, não apresentando recuperação com um período de arejamento normal. Os motivos desta inibição são provavelmente distintos nas duas espécies no que se refere a alfa-amilase. No entanto, estudos complementares que avaliem outras etapas do metabolismo dos carboidratos nestas espécies são necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRAWFORD, R. M. M. 1977. Tolerance of anoxia and ethanol metabolism in germinating seeds. *New phytologist*, 79:511-517.
- DE BELL, D. S. & NAYLOR, A. W. 1972. Some factors affecting germination of swamp tupelo seeds. *Ecology* 53(3):504-506.
- HOOK, D. D. 1984. Adaptation to flooding with fresh water. In: *Flooding and plant growth*. KOZLOWSKI, T. T. ed Academic Press. London.
- JOLY, C. A. 1982. *Flooding tolerance mechanisms of some brasilian trees*. PhD Thesis. University of St. Andrews. Scotland.
- PARASHER, V. & SINGH, O. S. 1984. Physiology of anaerobiosis in *Phalaris minor* Rentz and *Avena fatua* seeds. *Seed Res.* 12(2):1-7.

- RASKIN, I. & KENDE, K. 1984. Effect of submergence on translocation, starch content and amylolytic activity in deep-water rice. *Planta*. 162:556-559.
- RUMPHO, M. E. & KENNEDY, R. A. 1981. Anaerobic metabolism in germinating seeds of *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass). *Plant Physiol.* 68:165-168.
- SALVADOR, J. L. G. 1987. *Considerações sobre metas ciliares e a implantação de reflorestamentos mistos nas margens de rios e reservatórios*. CESP. São Paulo 29 p.
- SMITH, M. A. ; JACOBSEN, J. V. & KEND, H. 1987. Amylase activity and growth in internodes of deep-water rice. *Planta*. 172:114-120.