

PADRÃO DE EMBEBIÇÃO E TEMPO PARA O PRIMING DE SEMENTES DE FEIJÃO

Maria Augusta Andrade, Ingrid Belchior dos Santos Silva, Breno de Souza Borges, Liana Hilda Golin Mengarda.

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto universitário, s/n, Alegre-ES, Brasil, mariaaugusta83176@gmail.com; ingrid.b.silva@edu.ufes.br; breno.borges@edu.ufes.br; liana.mengarda@ufes.br.

Resumo

O estudo de aspectos fisiológicos da germinação de sementes de feijão pode direcionar estudos que visam desenvolver técnicas de condicionamento de sementes (*priming*). Objetivou-se estudar o padrão de absorção de água durante a germinação de sementes de feijão da cultivar Serrano em água e em solução salina a fim de identificar as fases da germinação e o tempo ideal de *priming*. As sementes foram submetidas ao teste de germinação e vigor em água e em solução salina e, concomitantemente, foi determinado o padrão de absorção de água. Assim, identificou-se as fases da germinação em: Fase I – entre 0 e 6 horas de embebição, na qual houve o aumento de 10 para 30% de umidade; Fase II – entre 6-24 horas, com aumento de 30% para 50% de umidade. As primeiras 24 horas compreendem a fase I e II da germinação do feijão Serrano, quando se completa o processo no sentido estrito, sendo o intervalo adequado para aplicação de tratamentos de *priming* em feijão Serrano. Nestas fases não foram verificadas diferenças substanciais no padrão de embebição entre os tratamentos água e salinidade.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; condicionamento; germinação; salinidade; vigor de sementes.

Área do Conhecimento: Engenharia agrônômica, Agronomia.

Introdução

Feijão é o nome genérico para um grande grupo de plantas da família das leguminosas (Fabaceae), que tem como característica marcante a ocorrência do fruto do tipo legume, também conhecido como vagem. Na alimentação, o feijão é rico em nutrientes essenciais como proteínas, ferro, cálcio, vitaminas (principalmente do complexo B), carboidratos e fibras (Embrapa, 2012).

Estudos em produção vegetal buscam aumentar o rendimento das colheitas e a tecnologia de sementes retém uma grande importância para a formação dos cultivos de alta performance uma vez que as grandes culturas agrícolas, em sua maioria, são propagadas por via seminífera (Ferreira & Borghetti, 2004; Carvalho & Nakagawa, 2012). A utilização de tecnologias de *priming* de sementes (condicionamento) é uma abordagem muito promissora, eficiente e de baixo custo para aumentar a germinação, o crescimento vegetal, bem como a capacidade produtiva das lavouras. Além disso, técnicas de condicionamento de sementes podem, comprovadamente, aumentar a tolerância de culturas a estresses (Louis *et al.* 2023). Para que o *priming* seja efetivo, contudo, é necessário conhecer em detalhe o padrão de absorção de água das sementes da espécie alvo durante a germinação, para melhor conduzir o condicionamento.

O processo de germinação de sementes foi estabelecido como seguindo a um padrão trifásico de absorção de água (Nonogaki, 2010), com eventos fisiológicos específicos relacionados a cada fase, que permitem que a germinação ocorra de forma coesa, formando plântulas vigorosas (Taiz *et al.*, 2017). Em sumo, há uma fase inicial rápida de embebição (fase I), seguida por uma fase de platô de absorção, com teor de água estável (fase II), concluindo com uma explosão de absorção de água que ocorre no momento do alongamento do eixo embrionário e emergência da raiz primária (fase III) (Srivastava, *et al.*, 2021). Em geral, a fase I é dominada pelo aumento da respiração e pela ativação de mecanismos de reparo de DNA para restaurar qualquer dano causado pela desidratação intrínseca à maturação das sementes (Weitbrecht, Muller & Leubner-Metzger, 2011). Na fase II a absorção de água permanece estável e o tegumento da semente se rompe (Srivastava, *et al.*, 2021), há mobilização de reservas e

transcrição e tradução de novos mRNAs (Taiz *et al.*, 2017). As fases I e II são referidas juntas como germinação de sementes em sentido estrito, durante as quais as sementes embebidas mantêm sua tolerância à dessecação e retêm a capacidade de recapitular seus processos de maturação, mesmo em condições desfavoráveis (Nonogaki, 2019), sendo também o intervalo adequado para aplicar tratamentos de *priming*.

Diante do exposto, objetivou-se estudar o padrão de absorção de água durante a germinação de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) da cultivar Serrano em água e em solução salina (-0,6 MPa de NaCl) a fim de identificar as fases da germinação e, assim, conduzir o tempo ideal de condicionamento osmótico de sementes (*priming*).

Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes do Departamento de Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, na cidade de Alegre-ES.

Foram utilizadas sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) da cultivar Serrano EMCAPA 040, disponibilizadas pelo Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural (INCAPER)- Fazenda Experimental de Viana – ES. As sementes foram coletadas no período entre agosto e setembro de 2023. Essa variedade de feijão foi desenvolvida para melhorar o índice de produtividade das localidades situadas em regiões de baixa temperatura que sofrem com a alta incidência de antracnose.

As sementes foram caracterizadas quanto ao padrão de absorção de água concomitante ao teste de germinação e vigor.

Padrão de absorção de água durante a germinação

Para análise de embebição seguiu-se a metodologia descrita para o teste de germinação e vigor de *P. vulgaris* na Regra de Análise de Sementes (Brasil, 2009): rolos foram montados com a sobreposição de 3 folhas de papel tipo germitest que foram umedecidos com 3 vezes a massa do substrato (papel) seco. Os tratamentos foram constituídos de água destilada e solução salina de NaCl no potencial osmótico de -0,6MPa (Salisbury; Ross, 1991). As soluções utilizadas foram avaliadas quanto a condutividade elétrica, sendo: Água destilada: 1,4 $\mu\text{S}/\text{cm}$; Solução de NaCl -0,6 MPa: 9,10 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Os rolos foram dispostos verticalmente em Beckers, envoltos em plástico para não perder a umidade e colocados em BOD regulada a 25 °C.

As sementes foram avaliadas quanto ao ganho de peso (massa úmida), durante a germinação a fim de identificar as fases da germinação (Taiz *et al.*, 2017). Para isso, a umidade inicial foi determinada conforme Brasil (2009). 100 sementes foram distribuídas em quatro repetições de 25 sementes, sendo que o peso de cada repetição foi obtido no início do experimento. Após a montagem dos rolos em água e em solução salina, foi mensurado o ganho de peso de acordo com o intervalo de tempo: a cada 1 hora durante as primeiras 12 horas, às 24 horas e, após isso, a cada 24 horas, ou seja, diariamente, até completar 240 horas (10 dias).

Pela medida do peso das repetições em cada tempo e no teor de umidade inicial das sementes, foram calculados os teores de água em cada tempo. Com base na análise conjunta do padrão de embebição e do teste de germinação, foram determinadas as fases da germinação para feijão Serrano com base nas definições de Taiz *et al.* (2017) e Ferreira e Borghetti (2004).

Teste de germinação e vigor

Seguindo a mesma metodologia descrita para o padrão de absorção de água (acima), foi realizado o teste de germinação e vigor em rolos de papel (Brasil, 2009). 100 sementes foram distribuídas em quatro repetições de 25 sementes em cada rolo. A germinação (protrusão de raiz) foi avaliada diariamente durante 10 foi avaliado o Índice de velocidade de germinação (IVG), determinado concomitantemente com o teste de germinação, sendo computado diariamente o número de sementes que apresentaram protrusão da raiz primária com tamanho ≥ 2 mm. Aos 10 as plântulas foram avaliadas quanto ao comprimento e a massa seca de raiz e de parte aérea. Para medida de biomassa as plântulas foram acondicionadas em sacolas de papel tipo Kraft, mantidas em estufa de convecção a 60 °C por

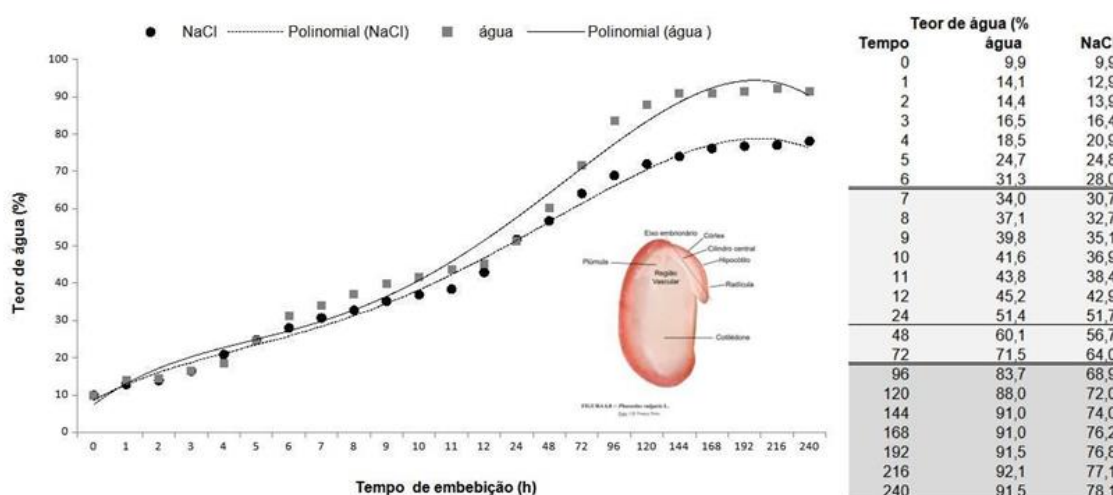
72 horas. Posteriormente, as amostras foram pesadas em balança analítica (0,0001g), e os resultados expressos em mg plântula-1.

Resultados

Com base na análise conjunta do padrão de embebição (aumento do teor de água), da protrusão da raiz primária (germinação), além da emissão e alongamento da parte aérea e expansão foliar (fase pós-germinativa), foram identificadas as fases da germinação do feijão Serrano.

Em água, a fase inicial, ou fase I, foi caracterizada pelo rápido aumento no teor de água nas primeiras 6 horas, durante as quais o teor de água aumentou aproximadamente 20%. Nesse período, as sementes secas absorveram rapidamente tanto a água destilada (0,0 Mpa) quanto a solução de NaCl (-0,6 MPa), iniciando a reativação do metabolismo e o processo de germinação.

Figura 1- Incremento do teor de água (umidade das sementes) durante a germinação de sementes de Feijão Serrano de 0 a 240 horas (10 dias), em 0,0 Mpa (água destilada) e em -0,6 MPa de NaCl.



Fonte: Autor (2024). Esquema da estrutura interna das sementes de feijão de J.B. França Neto, Brasil (2009).

A partir das 6 horas, iniciou-se a fase II da germinação, marcada por uma absorção de água mais lenta, contudo, não foi verificada a estabilização (platô). Durante este período, o teor de água aumentou de cerca de 30% às 6 horas para 50% às 24 horas, totalizando um incremento de 20% em 18 horas (Figura 1). Assim, as primeiras 24 horas compreendem a fase I e II da germinação do feijão Serrano, quando se completa o processo no sentido estrito. Não se verificou diferenças substanciais no padrão de absorção de água até as 24h entre os tratamentos água e salinidade.

Em água, a fase III, ou fase pós-germinativa, compreende o intervalo entre 24 e 72 horas (1 a 3 dias), podendo se estender até 216 horas (9 dias). De modo geral, o teor de água estabiliza às 144 horas de embebição em água. Durante este período, observa-se um aumento significativo no teor de água, chegando a um aumento de 40% e alcançando 90% de água. Nesta fase, ocorre um aumento na absorção de solutos pelos tecidos e na mobilização das reservas dos cotilédones para sustentar o estabelecimento e o desenvolvimento da plântula em raízes e parte aérea.

Em contrapartida, em solução salina (NaCl) a fase III, no mesmo intervalo de 24 a 72 horas, e se estendendo até as 216 horas, apresenta um incremento de umidade inferior comparado ao da água. Neste intervalo temos um aumento de aproximadamente 26% de solução na semente, atingindo um teor de 77% aos 9 dias da germinação.

Em água, 99% das sementes de feijão Serrano germinaram, enquanto a sob salinidade a germinação foi de 97%. Os valores do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foram superiores sob salinidade, indicando uma germinação mais rápida (Tabela 1).

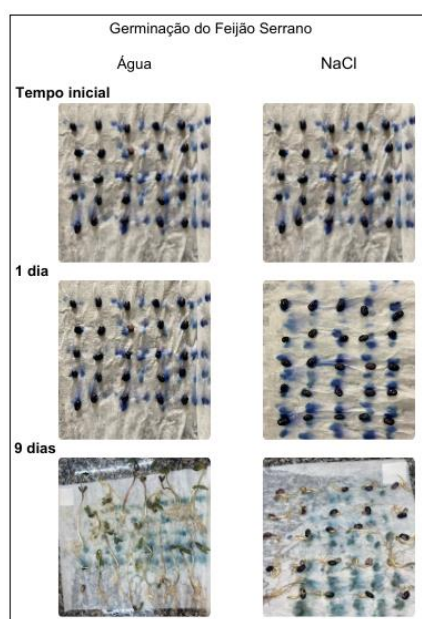
Tabela 1- Germinação e vigor de sementes de *P. vulgaris* cultivar Serrano em água e em solução salina no potencial osmótico de -0,6 MPa de NaCl. G (%) = porcentagem de germinação; IVG= índice de velocidade de germinação; CPA(cm)= comprimento de parte aérea; CR(cm)= comprimento de raiz; MSPA(g)= massa seca da parte aérea, MSR(g)=massa seca da raiz, TMG= tempo médio de germinação. (Médias seguidas de $\pm$ o erro padrão da média).

Características	Água	NaCl
G (%)	99,0 $\pm$ 1,0	97,0 $\pm$ 1,9
IVG	10,9 $\pm$ 0,2	12,8 $\pm$ 0,6
CPA (cm)	11,9 $\pm$ 0,5	7,09 $\pm$ 0,3
CR (cm)	9,47 $\pm$ 0,4	5,03 $\pm$ 0,4
MSPA (g)	2,65 $\pm$ 0,04	2,94 $\pm$ 0,12
MSR (g)	0,45 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,02
TMG	2,45 $\pm$ 0,10	2,15 $\pm$ 0,14

Fonte: o autor.

Apesar das sementes de feijão terem germinado sob condições salinas, o crescimento das plântulas foi reduzido em -0,6 Mpa de NaCl, com valores de Comprimento de Parte Aérea (CPA) e Comprimento de Raiz (CR) inferiores aos obtidos em água, assim, como pode ser comparado na Figura 2. Isto indica que, embora a salinidade não tenha influenciado de forma significativa a germinação no sentido estrito (fases I e II), o período pós-germinativo (fase III) da germinação foi influenciado pela salinidade.

Figura 2 - Imagens representativas dos tempos de incremento em 0,0 MPa água destilada e em -0,6 MPa de NaCl.



Fonte: Autores (2024).

Discussão

A análise do padrão absorção de água das sementes (embebição) associada a observação da protrusão da raiz primária (germinação), da emissão e alongamento da parte aérea e expansão foliar (fase pós-germinativa) de feijão Serrano permitiu identificadas as fases da germinação, sendo: Fase I – entre 0 e 6 horas de embebição; Fase II – entre 6-24 horas; e Fase III – entre 24 e 219 horas. As primeiras 24 horas compreendem a fase I e II da germinação do feijão Serrano, quando se completa o processo no sentido estrito (Nonogaki, 2019), sendo o intervalo adequado para aplicação de tratamentos de *priming* em feijão Serrano (Nonogaki, 2019; Pedrini, et al., 2020). Nestas fases, não foram verificadas diferenças substanciais no padrão de absorção de água entre os tratamentos água e salinidade.

Geralmente as fases de germinação seguem uma linearidade parecida com a descrita por De Nonogaki *et al.*, (2010): na fase I, as sementes secas embebem rapidamente pois a água flui em direção a potencial hídrico mais baixo. A absorção de água cessa quando a diferença no potencial hídrico entre a semente e o ambiente se torna zero, o que geralmente ocorre na fase II. Na fase III, a absorção de água reinicia à medida que as células se alongam e plântula se estabelece (Taiz *et al.*, 2017).

A fase II pode, assim, ser imaginada como uma fase preparatória que precede o crescimento, durante a qual o potencial do soluto (Ψ_s) do embrião torna-se gradualmente mais negativo devido à queda das reservas estocadas e à liberação de solutos ativos osmoticamente (Taiz *et al.*, 2017). Como uma fase preparatória para que haja o correto desenvolvimento do eixo embrionário e o crescimento da raiz e da parte aérea do vegetal, é também neste momento que o condicionamento de sementes pode ser efetivo no sentido de condicionar as plantas. Quanto realizado de forma adequada, as técnicas de *priming*, as quais submetem os tecidos vegetais a um estresse controlado por determinado tempo, podem auxiliar a tolerância a estresses nas etapas subsequentes à germinação (Louis *et al.*, 2023).

Fase III, que compreende o período entre 24 e 219 horas (1 a 9 dias), ocorre a emissão e alongamento da parte aérea e expansão foliar (fase pós-germinativa) (Taiz *et al.*, 2017). Neste estudo, embora a germinação não tenha sido influenciada pela salinidade, o crescimento e desenvolvimento das plântulas foram negativamente influenciados pela salinidade, o que confere um estresse osmótico. Os valores de Massa Seca de Raiz (MSR) em NaCl foram menores comparados aos observados em água. A diminuição de massa seca, tanto da parte aérea como das raízes, está relacionada com a falta de água para o metabolismo, o que reduz a velocidade das reações metabólicas e, conseqüentemente, diminui o acúmulo de matéria seca (Marur *et al.*, 1994). Além disso, a presença de íons sódio ou potássio pode desestabilizar o equilíbrio osmótico e/ou das membranas, o que deslocaria o metabolismo para a realização de reparos nas estruturas celulares, levando a redução drástica de crescimento e acúmulo de matéria seca (Yang e Poovaiah, 2002).

Conclusão

As primeiras 24 horas compreendem as fases 1 e 2 da germinação do feijão Serrano, quando se completa o processo no sentido estrito, sendo o intervalo adequado para aplicação de tratamentos de *priming* em feijão Serrano. Sugere-se o intervalo entre 2 e 6 para a aplicação de *priming* de sementes de feijão. Não se verificou diferenças substanciais no padrão de absorção de água nas fases 1 e 2 da germinação (ou seja, até as 24 h) entre os tratamentos água e salinidade. Já no período pós-germinativo (fase III) o feijão Serrano é influenciado negativamente pela salinidade.

Assim, a partir do estudo do padrão de embebição do feijão Serrano, foi possível identificar as fases de germinação, sendo levantadas informações importantes para conduzir futuros estudos de condicionamento osmótico de sementes desta cultivar de feijão.

Referências

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Regras para análise de sementes**. 2009.

CARVALHO. N.M.; NAKAGAWA. J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012.

EMBRAPA. O feijão nosso de cada dia. 2012. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1462995/o-feijao-nosso-de-todo-dia>>. Acesso em: 09 de agos. 2024

Ferreira, A. G.; Borghetti, F. (2004). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 323.

LOUIS, Noble; DHANKHER, Om Parkash; PUTHUR, Jos T. Seed priming can enhance and retain stress tolerance in ensuing generations by inducing epigenetic changes and trans-generational memory. *Physiologia Plantarum*, v. 175, n. 2, p. e13881, 2023.

MARUR, C.J.; SODEK, L.; MAGALHÃES, A.C. **Free aminoacids in leaves of cotton plants under water deficit**. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campinas, v.6, p.103-108, 1994.

Nonogaki, H. (2019). **Seed germination and dormancy: the classic story, new puzzles, and evolution**. *Journal of Integrative Plant Biology* 61(5), 541–563.

Nonogaki, H., Bassel, G. W., and Bewley, J. D. (2010) **Germination—Still a mystery**. *Plant Sci*

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology** 4th ed. Belmont: Wadworth, 1991.

SRIVASTAVA, Ashish Kumar; SURESH KUMAR, Jisha; SUPRASANNA, Penna. **Seed ‘primeomics’: plants memorize their germination under stress**. *Biological Reviews*, v. 96, n. 5, p. 1723-1743, 2021.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

Weitbrecht, K., Muller, K. & Leubner-Metzger, G. (2011). **First off the mark: early seed germination**. *Journal of Experimental Botany* 62(10), 3289–3309.

YANG, T.; POOVAIAH, B.W. **Hydrogen peroxide homeostasis: Activation of plant catalase by calcium/calmodulin**. *Proceedings of Natural Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v.99, p.4097-4102, 2002.

Agradecimentos

À Universidade Federal do Espírito Santo pelo fornecimento do ensino de qualidade.