

RESTRIÇÃO E MEMÓRIA HÍDRICA DE SEMENTES DE SOJA TRATADAS COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

RESTRICTION AND WATER MEMORY OF SOYBEAN SEEDS TREATED WITH HYDROGEN PEROXIDE

¹MATEUS, Maria Vitória; ²NARDOTTO, Rafael Santos

¹Discente do Curso de Ciências Biológicas
Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos-UNIFIO

²Docente do Curso de Ciências Biológicas
Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos-UNIFIO

RESUMO

A resistência à seca em sementes de soja na agricultura tem sido muito estudada recentemente. Algumas cultivares de soja apresentam maior resistência à seca devido à presença de mecanismos bioquímicos que protegem a integridade celular da semente durante a dessecação, como a produção de açúcares solúveis e a expressão de genes envolvidos na regulação do estresse oxidativo. O tratamento das sementes com compostos bioestimulantes, como o peróxido de hidrogênio, pode aumentar a resistência à seca, melhorando a germinação e a emergência das plântulas sob condições de seca. A memória hídrica em sementes é um fenômeno pelo qual as sementes mantêm uma "lembrança" da quantidade de água disponível durante o desenvolvimento da semente, o que pode afetar a germinação e o desenvolvimento das plântulas sob condições de estresse hídrico. O uso de polietilenoglicol como tratamento de sementes é uma técnica amplamente utilizada para induzir o estresse por déficit hídrico em plantas. Essas estratégias são importantes para aumentar a tolerância da soja à seca, garantindo a segurança alimentar e nutricional em todo o mundo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do estresse ao déficit hídrico, induzido por polietilenoglicol 6000, na qualidade fisiológica das sementes de soja tratada com peróxido de hidrogênio, além de avaliar a presença de memória hídrica dessas sementes.

Palavras-chave: *Glycine max*; Estresse ao déficit hídrico; Tolerância a Dessecação de Sementes.

ABSTRACT

The Drought resistance in soybean seeds in agriculture has been extensively studied recently. Some soybean cultivars are more resistant to drought due to the presence of biochemical mechanisms that protect the cellular integrity of the seed during desiccation, such as the production of soluble sugars and the expression of genes involved in the regulation of oxidative stress. Treating seeds with biostimulant compounds such as hydrogen peroxide can increase drought resistance, improving germination and seedling emergence under drought conditions. Water memory in seeds is a phenomenon by which seeds maintain a "memory" of the amount of water available during seed development, which can affect germination and seedling development under water stress conditions. The use of polyethylene glycol as a seed treatment is a widely used technique to induce water deficit stress in plants. These strategies are important for increasing soybean tolerance to drought, ensuring food and nutritional security around the world. The objective of this work was to evaluate the effect of water deficit stress, induced by polyethylene glycol 6000, on the physiological quality of soybean seeds treated with hydrogen peroxide, in addition to evaluating the presence of water memory in these seeds.

Keywords: *Glycine max*; Water Deficit Stress; Tolerance To Seed Desiccation.

INTRODUÇÃO

A resistência à seca em sementes de soja é de grande importância na agricultura, uma vez que a soja é uma das principais culturas agrícolas do mundo e está frequentemente exposta a condições de seca. Estudos têm demonstrado que

algumas cultivares de soja apresentam maior resistência a seca em relação a outras, o que pode ser explicado pela presença de mecanismos bioquímicos que protegem a integridade celular da semente durante a dessecação. A produção de açúcares solúveis, como trealose e sacarose, e a expressão de genes envolvidos na regulação do estresse oxidativo, por exemplo, são mecanismos que têm sido associados à resistência a seca em sementes de soja (Souza *et al.*, 2016). Além disso, estudos têm demonstrado que o tratamento das sementes com compostos bioestimulantes pode aumentar a resistência a seca em sementes de soja, melhorando a germinação e a emergência das plântulas (Zhu *et al.*, 2019).

A tolerância ao estresse por déficit hídrico em sementes é uma característica agrícola muito valorizada pelos produtores, pois muitas regiões sojícolas tem disponibilidade de água limitada, além de serem comuns veranicos ou variações pontuais devida as mudanças climáticas. Algumas espécies vegetais apresentam maior tolerância ao estresse hídrico em relação a outras, o que pode ser explicado pela presença de mecanismos bioquímicos que protegem a integridade celular da semente durante a dessecação. (Taheri *et al.*, 2020).

O tratamento de sementes via aplicação exógena de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em sementes tem sido usado como uma estratégia para aumentar a tolerância ao estresse hídrico em plantas e sementes, melhorando a germinação e o crescimento das plântulas sob condições de seca. O peróxido de hidrogênio atua como um sinalizador de estresse, isso ocorre porque o H₂O₂ atua como um sinalizador molecular, ativando vias de sinalização que regulam a expressão de genes envolvidos na resposta ao estresse hídrico, como os genes que codificam enzimas antioxidantes e proteínas de choque térmico (Taheri *et al.*, 2020). Além disso, o H₂O₂ pode melhorar a absorção de água pelas sementes, reduzindo os efeitos negativos do estresse hídrico sobre o metabolismo e a germinação (Silva *et al.*, 2016). No entanto, é importante avaliar as concentrações e o momento da aplicação do peróxido de hidrogênio para evitar efeitos negativos sobre o desenvolvimento das plantas.

Outra área atual de estudo em sementes frente ao estresse por déficit hídrico é a memória hídrica em sementes, que é um fenômeno pelo qual as sementes mantêm uma "lembrança" da quantidade de água disponível durante a fase final do desenvolvimento da semente. Isso pode afetar a germinação e o desenvolvimento das plântulas sob condições de estresse hídrico, já que a semente pode ajustar seu metabolismo para se adaptar às condições de seca (Kalenic *et al.*, 2018). Sabe-se que

a memória hídrica pode ser induzida por diferentes fatores, como a disponibilidade de água durante o desenvolvimento da semente, a temperatura e a luz (Cosentino *et al.*, 2011). Além disso, a memória hídrica pode ser explorada na produção agrícola por meio de técnicas como o *priming*, que consiste em pré-hidratar as sementes antes do plantio para melhorar sua tolerância ao estresse hídrico (Fernández *et al.*, 2018).

O uso de polietilenoglicol (PEG) como tratamento de sementes é uma técnica amplamente utilizada para induzir o estresse por déficit hídrico em plantas. O PEG é um agente osmótico que reduz a disponibilidade de água para as sementes, simulando condições de seca no ambiente (Silva *et al.*, 2020).

Dada à importância da soja para a alimentação humana e animal, sendo uma fonte importante de proteínas, óleos e outros nutrientes e sabendo-se que a produtividade da soja é frequentemente afetada pela seca, é fundamental buscar estratégias que possam aumentar a tolerância da soja à seca, garantindo a segurança alimentar e nutricional em todo o mundo.

Diante o exposto e considerando que a Região do Vale do Parana apenas  classificada pela Embrapa Soja como a Macrorregião Sojcola 2 – Centro Sul - Região 201, o presente estudo apresenta relevância na área de pesquisa frente a tolerância a dessecao e compreensão da memória hídrica da espécie *Glycine max*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do estresse ao déficit hídrico, induzido por polietilenoglicol 6000, na qualidade fisiológica das sementes se soja tratada como peróxido de hidrogênio, além de avaliar a presença de memória hídrica dessas sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

DETERMINAOES FÍSICAS E FISIOLÓGICAS INICIAIS DO LOTE

As sementes foram caracterizadas, inicialmente, quanto ao teor de água, contdo de massa seca, germinao e capacidade de produo de plântulas normais. O teor de água e o contdo de massa seca foram determinados gravimetricamente, pelo método de estufa a 103C por 17 horas (Ista 1985), com quatro repetioes de 10 sementes, sendo os resultados apresentados em porcentagem, em base úmida, para teor de água e em mg.semente⁻¹, para massa seca (Brasil, 2009).

O teste de germinao e de produo de plântulas normais foi conduzido em

rolo de papel para germinação, com duas folhas para a base e outra para cobertura, pré-umedecidas na proporção de duas vezes e meia o peso do papel com quatro repetições de 50 sementes, colocados em germinador, regulado para a temperatura constante de 25 °C e luz constante. As avaliações foram realizadas na sua primeira contagem ao quinto dia e contagem final ao oitavo dia (Brasil 2009), e ao último de avaliação serão contabilizados os que mantiverem a capacidade de produzir as plântulas normais (plântulas com sistema radicular e eofilos desenvolvidos e sem defeitos aparentes), biometria, massa fresca e posteriormente massa seca.

TRATAMENTOS PROPOSTOS

Os tratamentos propostos inicialmente estão descritos abaixo, porém foram necessárias algumas adaptações:

Etapa A: Tratamento de sementes de soja com peróxido de hidrogênio e testemunha

- A.1. Sementes não tratadas – testemunha – Semente sem qualquer tratamento, seja com água, seja com peróxido de oxigênio
- A.2. Semente pré-tratadas com água - 9 h de embebição – Secagem na porcentagem inicial – Embebição ocorrerá em gerbox preto
- A.3. Semente pré-tratadas com H₂O₂ concentração 10 mM – 9 h de embebição - Lavar e secar até porcentagem inicial – Embebição ocorrerá gerbox preto (para evitar a fotodegradação)

Figura 1 - Peróxido de hidrogênio (100 Vol) da marca Êxodo® utilizado no tratamentode soja.



Fonte: Autora.

Nesta etapa A, o planejado era que faríamos a secagem para posteriormente montar os testes de germinação, mas como é possível observar na Figura 2, após a secagem foi observado muitos danos de embebição no tegumento, por essa razão a tomada de decisão foi que utilizaríamos as sementes imediatamente após a etapa de embebição (tratamentos A.2 e A.3).

Figura 2 - Sementes de soja apresentando danos de embebição em seu tegumento após secagem.



Fonte: Autora.

Etapa B: Testes de sementes tratadas com peróxido de hidrogênio e testemunhas para avaliações fisiológicas

B.1 Após pré-tratamento (com água e com H_2O_2) – Montar testes de germinação de Rolo de papel com em PEG nas concentrações: 0 (testemunha), -0,05, -0,1, -0,2, -0,4 e - 0,6 Mpa – Permanece até oitavo dia para avaliações fisiológicas (BRASIL, 2009).

B.2 Após pré-tratamento (com água e com H_2O_2) e secagem - Montar testes de germinação de Rolo de papel com em PEG nas concentrações: 0 (testemunha), -0,05, - 0,1, - 0,2, -0,4 e - 0,6 Mpa - 9 h de embebição – realizar nova secagem.

B. 2.1. Reidratação em rolo de papel com água de todas as repetições que foram tratadas com PEG 6000 - Permanece até oitavo dia no teste de germinação para

verificação de memória hídrica e avaliações fisiológicas

B. 2.2. Reidratação em rolo de papel com PEG 6000 nas mesmas concentrações anteriores - Permanece até oitavo dia no teste de germinação para verificação de memória hídrica e avaliações fisiológicas

PREPARO DE SOLUÇÃO DE PEG 6000

A solução de polietileno glicol 6000 (PEG) com os diferentes potenciais sugeridos (-0,05, -0,1, -0,2, -0,4 e -0,6 Mpa) foram preparadas calculando-se a quantidade de PEG segundo fórmula descrita por Michel & Kaufmann (1973).

Figura 3 - Polietileno glicol 6000 (PEG), da marca ACS® utilizado na produção de diferentes soluções em concentrações osmóticas de -0,05, -0,1, -0,2, -0,4 e -0,6Mpa



Fonte: Autora.

Análises biométricas

Para determinação a biometria da plântula foram utilizados paquímetros digitais.

A massa de matéria seca da parte aérea e raízes foram obtidas após secagem do material vegetal em estufa de ventilação forçada (60 °C), até atingir massa constante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada a análise de variância, para verificarmos a interação entre os fatores, tratamentos e concentrações de PEG, onde foi possível observar que houve interação entre as variáveis analisadas até o momento, sendo elas Primeira Contagem,

Segunda Contagem e Plântulas normais. Como a interação foi significativa, foi necessário a análise em conjunto.

Tabela 1 - Variáveis Primeira Contagem, Segunda Contagem e Plântulas normais de sementes de soja tratadas com água, peróxido de hidrogênio e testemunha.

Variáveis Analisadas			
Tratamento	Primeira contagem	Segunda contagem	Plântulas Normais
Testemunha	19.25 a	15.71 a	13.32 a
Embebição com água	13.75 b	15.11 a	13.32 b
Embebição com peróxido de hidrogênio	16.25 ab	13.32 b	0.11 c
CV (%)	17.70	13.24	39.24

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo critério do Teste de Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade.

Para primeira contagem houve diferenças significativas entre os tratamentos, concentrações e a interação entre eles. A concentração teve um impacto significativo na primeira contagem de germinação.

Na segunda contagem, as Diferenças significativas foram observadas entre os tratamentos, concentrações e a interação entre eles. A concentração teve um impacto significativo na segunda contagem de germinação. O teste Tukey mostrou que sementes tratadas com peróxido de hidrogênio é significativamente diferente das tratadas com água e a Testemunha.

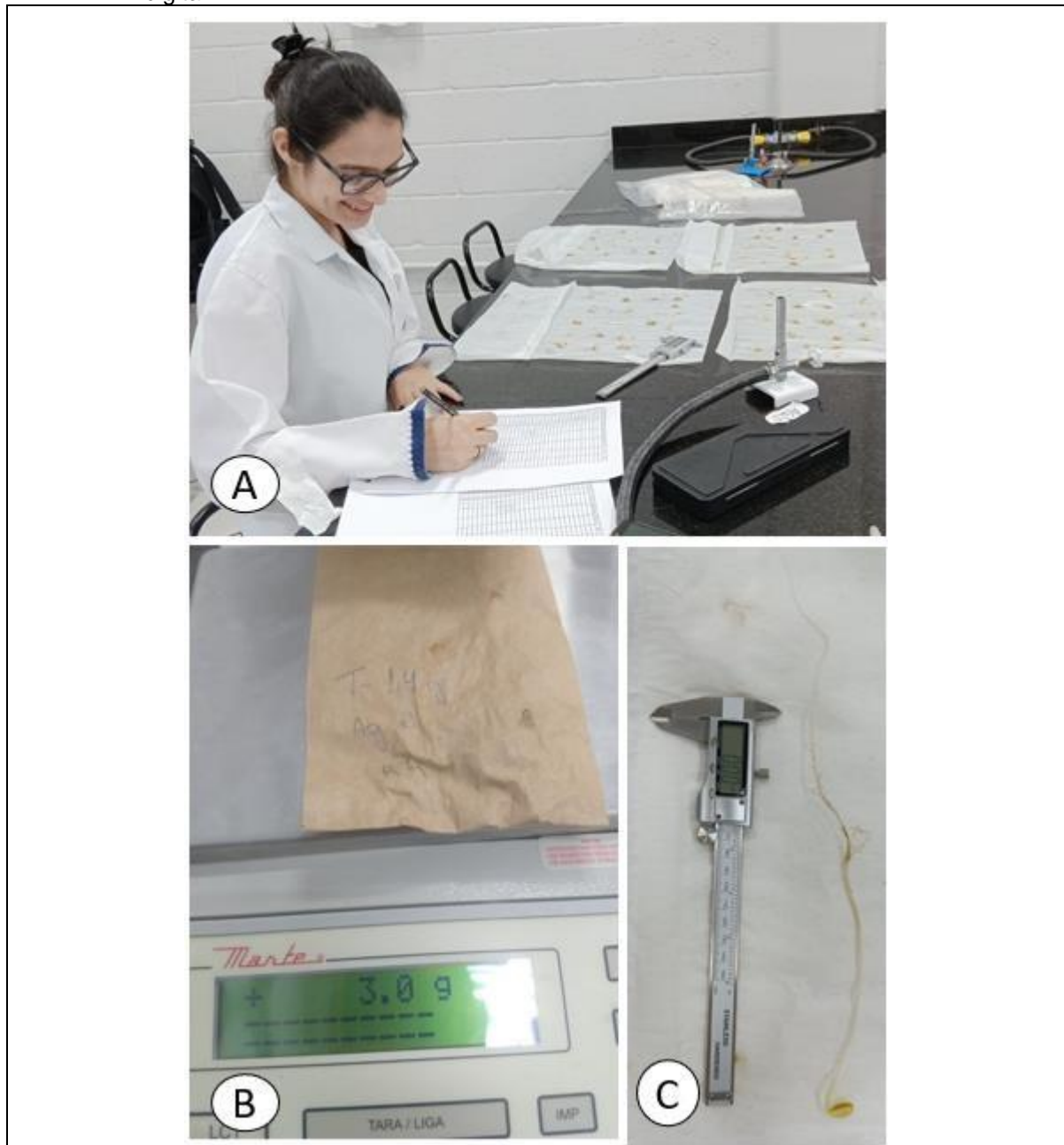
Para a variável formação de plântulas normais, todas as fontes de variação (tratamentos, concentrações e a interação) tiveram efeitos significativos nas plântulas normais. A concentração teve um impacto particularmente significativo nas plântulas normais. O teste Tukey indicou diferenças significativas entre as médias de sementes tratadas com peróxido de hidrogênio, sementes tratadas com água e testemunha.

Figura 4 - Testes de germinação com diferentes tratamentos em diferentes concentrações de PEG, onde é possível verificar a formação de plântulas normais e anormais.



Fonte: autora

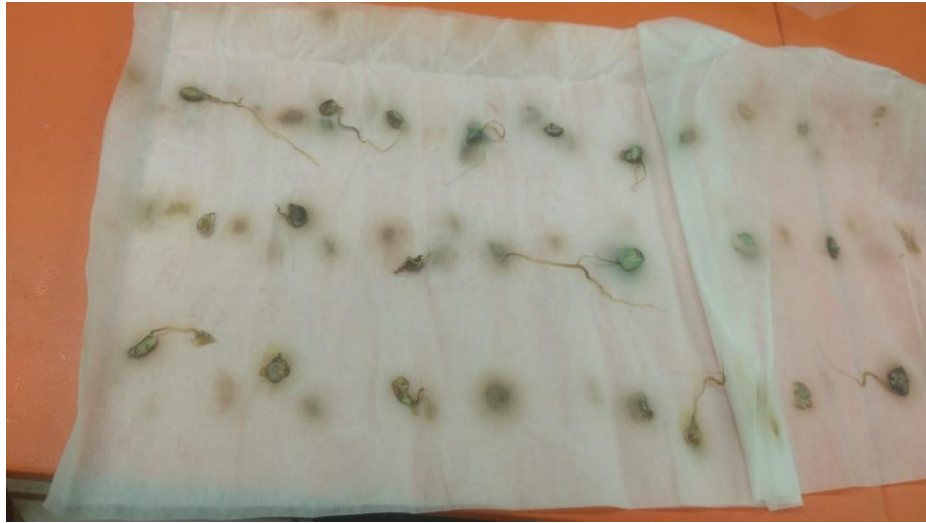
Figura 5 - Avaliação dos testes de germinação com diferentes tratamentos em diferentes concentrações de PEG. A: Discente fazer a avaliação de segunda contagem; B. Pesagem de material para massa fresca e seca; C. Biometria realizada com paquímetro digital.



Fonte: autora

Em um último teste, onde as sementes, que já haviam sido tratadas, foram reidratadas e submetidas novamente a diferentes concentrações de PEG 6000, obtivemos sementes que sofreram com as concentrações em que foram submetidas, principalmente quando tal concentração era mais baixa. Onde ficaram “derretidas e com aspecto de mofadas

FIGURA 6 - Sementes submetidas a concentração -0,2mpa de PEG 6000



Fonte: autora

FIGURA 7- Sementes submetidas a concentração -0,6mpa de PEG 6000



Fonte: autora

Tabela 2 - Média de sementes inteiras em casa concentração de PEG 6000 usado

CONCENTRAÇÃO DE PEG 6000	MÉDIA DE SEMENTES INTEIRAS
0,00	3,00
-0,05	3,58
-0,1	4,33
-0,2	6,25
-0,6	6,33
-0,8	7,33

Fonte: autora

CONCLUSÕES

Em todas as variáveis, os tratamentos e concentrações tiveram efeitos significativos. A interação entre tratamento e concentração também influenciou os resultados. A concentração é um fator crucial para as variáveis relacionadas à germinação e desenvolvimento de plântulas.

Conclui-se, portanto, que sementes submetidas a grandes concentrações de PEG 6000 conseguem manter sua forma melhor que as sementes submetidas a concentrações baixas de PEG 6000

Essas conclusões fornecem uma visão geral dos efeitos dos tratamentos e concentrações nas variáveis estudadas, oferecendo insights valiosos para a compreensão do processo de germinação e desenvolvimento de plântulas.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa, 2009. 395 p.

COSENTINO, S. L. *et al.* Water memory: a possible mechanism related to the fitness of crop seeds. **Seed Science Research**, v. 21, n. 2, p. 63-71, 2011.

FERNÁNDEZ, J. A. *et al.* Pre-sowing seed priming in vegetable species: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 237, p. 29-38, 2018.

HASANUZZAMAN, M. *et al.* Hydrogen Peroxide Priming-Induced Tolerance to Abiotic Stress in Plants: A Review. **Biology**, v. 9, n. 12, p. 474, 2020.

KALENIĆ, M. *et al.* Seed memory in drought stressed seeds of common bean. **BMC Plant Biology**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2018.

ISTA. International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, v. 13, p. 356-513, 1985.

KAUFMANN, M. R.; MICHEL, B. E. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, v. 51, p. 914-916, 1973.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. Brasília: Editora da Universidade de Brasília, 2004. 248 p.

SILVA, E. M. *et al.* Hydrogen peroxide improves seed germination of sweet corn under water deficit. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 2, p. 124-132, 2016.

SILVA, R. L. *et al.* Uso do polietilenoglicol como agente osmótico para a indução de estresse hídrico em sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 42, n. 4, p. 1-10, 2020.

SOUZA, J. S. *et al.* Biochemical and physiological responses of soybean seeds to water stress. **Ciência Rural**, v. 46, n. 6, p. 1109-1115, 2016.

TAHERI, S. *et al.* Hydrogen peroxide-induced drought tolerance in plants: a review. **Biologia Plantarum**, v. 64, n. 2, p. 201-209, 2020.

ZHU, X. *et al.* Algal extracts improve drought stress tolerance of soybean seeds by enhancing germination and root growth. **Scientia Horticulturae**, v. 257, p. 108672, 2019.