



Tolerância de embriões de *Acrocomia Aculeata* à exposição ao H₂O₂

Introdução

A macaúba, (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart.), é uma palmeira oleaginosa de ampla distribuição geográfica na América tropical, sendo particularmente abundante no Cerrado brasileiro e no território de Minas Gerais [1]. Além da importância ecológica e social da espécie, a alta produtividade, qualidade do óleo e resistência à seca têm atraído cada vez mais o interesse de pesquisadores e investidores visando à produção de biocombustíveis [2].

A despeito do alto potencial econômico, o estabelecimento de plantações comerciais de *A. aculeata*, assim como a preservação de populações naturais, são limitados pelas dificuldades relacionadas à propagação. Sendo assim, os principais fatores responsáveis por tal entrave são a dormência pronunciada das sementes e a germinação lenta, desuniforme e em baixos níveis em condições naturais [3,4].

Apesar de espécies reativas de oxigênio serem conhecidas por causarem danos às moléculas orgânicas, estudos atuais têm focado nos efeitos positivos desses compostos. Evidências apontam que estas substâncias têm papel importante na sinalização de moléculas em plantas, assim como na regulação de crescimento e desenvolvimento, sinalização hormonal, resposta a condições de estresse, e sobretudo na germinação [5]. O peróxido de hidrogênio (H₂O₂) atua como molécula sinalizadora em uma série de processos de desenvolvimento, como alongamento e diferenciação celular e mostrou-se importante agente envolvido na superação de dormência em espécies como *Arabidopsis thaliana* [6] e *Oryza sativa* [7].

O teste de tetrazólio é um teste rápido, preciso e de baixo custo, que é viável na estimativa da qualidade de sementes. Além disso, este teste permite avaliar a viabilidade e vigor de embriões de *A. aculeata* pela associação dos padrões de coloração do embrião com o potencial germinativo [8]. Este método baseia-se na coloração diferencial entre tecidos vivos e mortos, em consequência da atividade de enzimas desidrogenases que formam o composto avermelhado trifenílformazan em tecidos vivos, pela redução do sal 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio [9].

Tendo em vista a ação do H₂O₂ como agente causador de estresse oxidativo aos componentes celulares e ao mesmo tempo promotor da germinação, estudos que visam distinguir concentrações capazes de causar efeito positivo de doses prejudiciais são imperativos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é testar a tolerância de embriões de *A. aculeata* à exposição de concentrações de peróxido de hidrogênio por meio da utilização do teste de tetrazólio.

Material e Métodos

Os frutos de macaúba foram coletados, após abscisão, de uma população natural no município de Montes Claros, MG (16°42'34"S; 43°52'48"W). As sementes foram extraídas dos frutos com o auxílio de um torno manual de bancada e mantidas em ambiente sombreado. Antes da realização dos experimentos, o teste de tetrazólio foi realizado para avaliar a viabilidade do lote das sementes.

Os embriões foram excisados das sementes com o auxílio de um estilete e dispostos em uma placa de petri contendo solução de 100 ppm de ácido ascórbico. Os embriões foram transferidos para tubos de ensaio (12x1 cm) contendo 5 mL de água destilada (grupo controle) ou de peróxido de hidrogênio nas concentrações: 0,1; 0,2; 1; 2 e 5%. A fim de evitar a perda de oxigênio pela solução, os tubos de ensaio foram vedados imediatamente e mantidos a temperatura de 25° C, por quatro horas. Os embriões foram submetidos à tríplex lavagem com água destilada e imersos em água destilada por duas horas.

A avaliação da viabilidade e vigor dos embriões foi realizada por meio do teste de tetrazólio, de acordo com o método proposto por Ribeiro *et al* [8]. Os embriões imersos foram isolados em tubos de ensaio de (12x1 cm) com 5 ml de solução de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio, a 0,5%, com pH 7,1, por quatro horas, na ausência de luz e à temperatura de 35°C em estufa. Após este período, os embriões foram lavados em água destilada e avaliados individualmente em esteromicroscópio com iluminação fluorescente. Os embriões foram avaliados em classes de vigor de acordo com a ocorrência da coloração do pecíolo cotiledonar e haustório [8].

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (quatro concentrações de solução de H₂O₂ e o grupo controle), em cinco repetições de dez embriões. O número de embriões viáveis e vigorosos foi calculado para cada repetição e os dados foram convertidos em percentual. Utilizou-se análise de variância, para se verificar o efeito dos tratamentos sobre o percentual de embriões viáveis e vigorosos. Quando



constatadas diferenças significativas, o teste de Tukey a 5% de probabilidade foi utilizado para comparação das médias. As análises foram feitas com o uso do programa SAS Institute [10].

Resultados e Discussão

Houve efeito significativo dos tratamentos tanto no percentual de embriões viáveis quanto vigorosos ($p= 0.0030$ e 0.0057 , respectivamente). Os resultados do teste de tetrazólio não mostraram diferenças significativas quanto à viabilidade entre os tratamentos de 0 até 1% de H_2O_2 , mas evidenciaram diferenças em relação às concentrações 2 e 5% (Tab. 1). Além disso, os tratamentos não afetaram o vigor dos embriões nas concentrações de 0 até 2%. Por outro lado, na concentração de 5% de H_2O_2 , o vigor foi significativamente diminuído. Estudos futuros poderão ampliar os conhecimentos sobre a aplicação de peróxido de hidrogênio em embriões e sementes de macaúba e sobre o efeito no crescimento embrionário e germinação. Além disso, ensaios com outros tempos de exposição ao H_2O_2 acrescentariam mais informações sobre a tolerância dos embriões.

Conclusão

Os embriões de *A. aculeata* são relativamente tolerantes quando diretamente expostos a doses de peróxido de hidrogênio, por quatro horas, não tendo alterados a viabilidade e vigor iniciais em concentrações de até 1 e 2% de peróxido de hidrogênio, respectivamente.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo consentimento de bolsa BIPDT ao Leonardo Monteiro Ribeiro, à Universidade Estadual de Montes Claros pelo consentimento de bolsa de iniciação científica BIC/UNI à Amanda Mendes Fernandes e à Daiane de Souza Dias pela revisão do texto.

Referências

- [1] Motta, P. E. F.; Curi, N.; Oliveira-Filho, A. T.; Gomes, J. B. V. (2001). Ocorrência da macaúba em Minas gerais: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(7): 1023-1031.
- [2] Moura, E. F.; Ventrella, M.C.; Motoike, S. Y. (2010). Anatomy, histochemistry and ultrastructure of seed and somatic embryo of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). *Scientia Agricola*, 67 (4):375-495.
- [3] Lorenzi, H.; Noblick, L.; Kahn, F.; Ferreira, E. (2010). *Flora Brasileira: Arecaceae: Palmeiras*. Instituto Plantarium. Nova Odessa, Brasil. 384p.
- [4] Ribeiro, L. M.; Oliveira, T.G.S.; Carvalho, V.S.; Silva, P.O.; Neves, S.C.; Garcia, Q.S. (2012). The behaviour of macaw palm (*Acrocomia aculeata*) seeds during storage. *Seed Science and Technology*, 40 (3): 344-353.
- [5] Mittler, R.; Vanderauwera, S.; Gollery, M.; Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10): 490-498.
- [6] Liu, Y.; Ye, N.; Liu, R.; Chen, M.; Zhang, J. (2010). H_2O_2 mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in *Arabidopsis* seed dormancy and germination. *Journal of Experimental Botany*, 61(11): 2979-2990.
- [7] Ye, N.; Guohui, Z.; Yinggao, L.; Aying, Z.; Yingxuan, L.; Rui, L.; Lu, S.; Liguó, J.; Jianhua, Z. (2012). Ascorbic acid and reactive oxygen species are involved in the inhibition of seed germination by abscisic acid in rice seeds. *Journal of Experimental Botany*, 63(5): 1809-1822.
- [8] Ribeiro, L. M.; Garcia, Q. S.; Oliveira, D. M. T.; Neves, S. C. (2010) Critérios para o teste de tetrazólio na estimativa do potencial germinativo em macaúba. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45(4): 361-368.
- [9] Brasil. (1992) Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA. 365p.
- [10] SAS Institute. (1990) SAS user's guide: statistics version. Cary: SAS Institute. 846p.



Tabela 1. Percentuais médios de embriões de macaúba viáveis e vigorosos, determinados pelo teste de tetrazólio em embrião previamente submetidos a diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio ⁽¹⁾.

H ₂ O ₂ (%)	Viáveis (%)	Vigorosos (%)
0	86a	78a
0,1	80a	80a
0,2	90a	90a
1	86a	76ab
2	78b	68ab
5	56b	44b

⁽¹⁾ Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, entre os tratamentos do teste de tetrazólio, diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.